

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL

Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas



**Tesis para la obtención del Grado Académico de Doctor en
Ciencias Biológicas**

**“FORMULACIÓN DE PRODUCTOS NUTROTÉRAPIA
DE INTERÉS SOCIAL APTOS PARA TRATAMIENTOS
HOSPITALARIOS”**

Lic. María Gimena Galán

Directora: Dra. Silvina R. Drago

**Área de Cereales y Oleaginosas
Instituto de Tecnología de Alimentos - Facultad de Ingeniería
Química – UNL.**

2014

No dejes para mañana lo que puedes hacer hoy

San Expedito

A mis hermanos.
Por el reencuentro.
Por la posibilidad de toda una vida juntos.

La presente tesis dio lugar a las siguientes publicaciones y presentaciones a reuniones científicas:

➤ ***Publicaciones en revistas científicas:***

Galán MG, Drago SR (2014). *Food matrix and cooking process affect mineral bioaccessibility of enteral nutrition formulas*. Journal of the Science of Food and Agriculture; 94(3): 515–521. ISSN: 1097-0010. Ed Wiley Blackell Publishing Inc (London England, UK, Ltd). DOI: 10.1002/jsfa.6280.

Galán MG, Drago SR (2014). *Effects of soy protein and calcium levels on mineral bioaccessibility and protein digestibility from enteral formulas*. Plant Foods for Human Nutrition; 69(3): 283 – 289. ISSN: 0921-9668. Ed. Springer Publishing Company (New York).

➤ ***Trabajos completos presentados en reuniones científicas:***

Galán MG, Drago SR (2011). *Disponibilidad de minerales de fórmulas enterales incluidas en preparaciones dulces*. XIII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CYTAL), 4º Simposio Internacional de Nuevas Tecnologías, II Simposio Latinoamericano sobre Higiene y Calidad de Alimentos, Simposio sobre Normativas Alimentarias, Buenos Aires, Argentina. ISBN: 978-987-22165-4-2.

Galán MG, Drago SR (2011). *Análisis de la calidad proteica de fórmulas para nutrición enteral*. XIII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CYTAL), 4º Simposio Internacional de Nuevas Tecnologías, II Simposio Latinoamericano sobre Higiene y Calidad de Alimentos, Simposio sobre Normativas Alimentarias, Buenos Aires, Argentina. ISBN: 978-987-22165-4-2.

Galán MG, Drago SR (2012). *Control de rotulado nutricional de fórmulas comerciales para nutrición enteral*. IV Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. 14, 15 y 16/11/12 Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina. ISBN: 978-950-33-1069-4.

Galán MG, Drago SR (2012). *Evaluación de la dializabilidad de Fe y del contenido de Fe y ácido ascórbico de fórmulas enterales comerciales*. IV Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. 14, 15 y 16/11/12 Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina. ISBN: 978-950-33-1069-4.

Galán MG, Drago SR (2013). *Efecto de la matriz alimentaria y del calentamiento sobre la bioaccesibilidad de minerales de fórmulas para nutrición enteral*. Modalidad de presentación: oral. XVII Encuentro de Jóvenes Investigadores de la Universidad Nacional del Litoral. 04 y 05/09/2013. Santa Fe, Argentina. Libro de resúmenes: trabajo 3.1.1.

Agradecimientos

A mi marido, Martín Ávila, por apoyarme en todos mis proyectos y por estar siempre presente con su amor incondicional. Gracias por tu confianza y paciencia en este largo proceso.

A mi mamá, por contenerme, protegerme, apoyarme, empujarme, aconsejarme y sobre todo por amarme tanto y acompañarme siempre en la vida.

A mis hermanos, los “viejos” y los “nuevos”, por ser parte fundamental de mi vida, los pilares incondicionales que con sus consejos siempre logran que las cosas parezcan más fáciles.

Un agradecimiento muy especial a Silvina Drago y Rolando González, porque además de haber sido mis guías en este proceso de formación, me enseñaron valores fundamentales y a ser mejor persona. Gracias por confiar en mí, por todo su tiempo y por brindarme esta oportunidad tan importante. Gracias por sus consejos y por estar siempre presentes.

A mis amigas de la vida: Meli, Mari, Nati, Emi, Sole. Por esas largas charlas y consejos tan importantes y por todos los momentos inolvidables.

A todos mis compañeros del Instituto de Tecnología de Alimentos, por ayudarme siempre y por todos los días compartidos.

A la Educación Pública y Gratuita, particularmente a la Universidad Nacional del Litoral, la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas y el Instituto de Tecnología de Alimentos de la Facultad de Ingeniería Química por la calidad de la enseñanza recibida y por la posibilidad de continuar formándome.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), por las becas internas Tipo 1 y 2 recibidas, con las cuales pude realizar la presente tesis.

A todos ¡¡MUCHAS GRACIAS!!

Índice de Contenidos

Índice de Contenidos	vii
Índice de Tablas	xv
Índice de Figuras	xix
Abreviaturas y Símbolos	xxiii
Resumen	xxix
Abstract	xxxv
I. INTRODUCCIÓN.....	2
I.1. NUTRICIÓN ENTERAL	3
I.1.1. Evolución histórica.....	3
I.1.2. Definición.....	5
I.1.3. Indicaciones.....	6
I.1.4. Equipamiento	8
I.1.4.1. Sondas nasointerales.....	8
I.1.4.2. Sondas de ostomía.....	9
I.1.4.3. Contenedores, nutrilineas y bombas.....	10
I.1.5. Vías de acceso para nutrición enteral.....	12
I.1.5.1. Vía oral.....	14
I.1.5.2. Sondas nasointéricas.....	15
I.1.5.3. Ostomías.....	16
I.1.6. Métodos de administración de la nutrición enteral	18
I.1.6.1. Administración en bolo	18
I.1.6.2. Administración continua	19
I.1.7. Bases fisiológicas de la nutrición enteral	19
I.1.7.1. Ventajas del soporte nutricional enteral	20
I.1.8. Contraindicaciones	24
I.1.9. Complicaciones	25
I.1.9.1. Complicaciones de las vías de administración.....	25
I.1.9.2. Complicaciones gastrointestinales	27
I.1.9.3. Complicaciones pulmonares	31
I.1.9.4. Complicaciones metabólicas	31
I.1.9.5. Complicaciones infecciosas	32
I.2. FÓRMULAS PARA NUTRICIÓN ENTERAL	32
I.2.1. Definición.....	32

I.2.2. Clasificación.....	34
I.2.2.1. Complejidad de las proteínas	34
I.2.2.2. Nivel proteico	35
I.2.2.3. Densidad calórica	35
I.2.2.4. Osmolalidad y osmolaridad.....	36
I.2.2.5. Contenido de fibra y lactosa.....	36
I.2.2.6. Fórmulas comerciales y artesanales	37
I.2.2.7. Fórmulas especiales.....	37
I.2.2.7.1. Fórmulas para insuficiencia hepática	37
I.2.2.7.2. Fórmulas para insuficiencia renal	38
I.2.2.7.3. Fórmulas para insuficiencia respiratoria	39
I.2.2.7.4. Fórmulas para hiperglucemia y Diabetes Mellitus.....	39
I.2.2.7.5. Fórmulas para pacientes críticos	40
I.2.2.7.6. Otras formulaciones específicas.....	40
I.2.3. Tipos de sistemas	41
I.2.4. Nutrientes en nutrición enteral	42
I.2.4.1. Macronutrientes.....	42
I.2.4.1.1. Hidratos de carbono	42
I.2.4.1.2. Proteínas	43
I.2.4.1.3. Grasas	46
I.2.4.2. Vitaminas y minerales	46
I.2.4.3. Fibra	47
I.2.4.4. Aporte de agua	49
I.2.5. Incorporación de fórmulas enterales en preparaciones alimenticias.....	49
I.3. VIDA ÚTIL DE UN ALIMENTO	50
I.3.1. Definición y generalidades.....	50
I.3.2. Cinética de reacción	50
I.3.3. Efecto de la temperatura.....	51
I.3.4. Estimación de la Vida Útil	52
I.3.5. Vida útil de fórmulas enterales.....	53
I.4. BIODISPONIBILIDAD DE MINERALES.....	54
I.4.1. Definición.....	54
I.4.2. Hierro	55
I.4.2.1. Fuentes dietarias y absorción del hierro	55

I.4.2.2. Biodisponibilidad del hierro no hemínico	58
I.4.3. Zinc.....	60
I.4.3.1. Fuentes dietarias y absorción del zinc.....	60
I.4.3.2. Biodisponibilidad del zinc dietario	61
I.4.4. Calcio	62
I.4.4.1. Fuentes dietarias y absorción del calcio.....	62
I.4.4.2. Biodisponibilidad del calcio dietario.....	63
I.4.5. Cobre	64
I.4.5.1. Fuentes dietarias y absorción del cobre.....	64
I.4.5.2. Biodisponibilidad del cobre dietario	64
I.4.6. Magnesio	66
I.4.6.1. Fuentes dietarias y absorción del magnesio	66
I.4.6.2. Biodisponibilidad del magnesio dietario.....	67
I.4.7. Metodologías para evaluar la biodisponibilidad de minerales.....	67
I.4.7.1. Determinación en humanos.....	67
I.4.7.2. Métodos que utilizan animales de laboratorio.....	68
I.4.7.3. Métodos <i>in vitro</i> para estimar la bioaccesibilidad.....	68
I.4.7.3.1. Solubilidad de minerales	69
I.4.7.3.2. Dializabilidad de minerales.....	69
I.4.7.3.3. Cultivos celulares	69
II. OBJETIVOS	72
II.1. Objetivo general.....	72
II.2. Objetivos específicos	72
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	75
III.1. EVALUACIÓN DE FÓRMULAS ENTERALES COMERCIALES (FEC)....	75
III.1.1. Materias primas	75
III.1.2. Composición centesimal	75
III.1.3. Actividad de agua (Aw)	75
III.1.4. Sólidos totales y sólidos solubles.....	75
III.1.5. Distribución porcentual de los macronutrientes.....	75
III.1.6. Estudio de la composición lipídica.....	76
III.1.6.1. Perfil de ácidos grasos.....	76
III.1.6.2. Determinación de sustancias reactivas con el ácido tiobarbitúrico (TBARS).....	76

III.1.7. Estudio de la composición proteica.....	77
III.1.7.1. Estimación de la proteína potencialmente utilizable.....	77
III.1.7.1.1. Determinación de Lisina disponible (LD).....	77
III.1.7.1.2. Nitrógeno total (NT), Nitrógeno No Proteico (NNP), Nitrógeno de Proteína Verdadera (NPV) y Solubilidad Proteica (SP).....	77
III.1.7.1.3. Digestibilidad proteica <i>in vitro</i> (%DP).....	78
III.1.7.2. Electroforesis en gel de poliacrilamida en condiciones desnaturalizantes (SDS- PAGE).....	79
III.1.8. Ácido fólico (AF) y azúcares reductores (AR)	79
III.1.9. Ácido ascórbico (AA)	80
III.1.10. Determinación del contenido de minerales (Fe, Zn, Ca, Na, K, Ca, Mg y P)..	80
III.1.11. Evaluación de la bioaccesibilidad de minerales <i>in vitro</i> (%DFe, %DZn, %DCa, %DCu, %DMg).....	80
III.2. INCLUSIÓN DE FÓRMULAS ENTERALES COMERCIALES EN DISTINTAS MATRICES ALIMENTARIAS, CON DIFERENTES PROCESOS DE COCCIÓN	81
III.2.1. Preparaciones dulces	81
III.2.2. Contenido de minerales	82
III.2.3. Bioaccesibilidad y aporte potencial (AP) de Fe, Zn y Ca	82
III.3. DESARROLLO DE FORMULAS ENTERALES EXPERIMENTALES (FEE).	82
III.3.1. Ingredientes	82
III.3.2. Evaluación de las materias primas	82
III.3.2.1. Análisis de la composición centesimal.....	83
III.3.2.2. Contenido de minerales	83
III.3.2.3. Determinación de fitatos y actividad de inhibidor de tripsina	83
III.3.3. Desarrollo de las FEE.....	83
III.3.4. Evaluación del efecto de factores vinculados a la composición de las fórmulas sobre las propiedades nutricionales, utilizando diseños experimentales	84
III.3.4.1. Diseño experimental N° 1: Efecto del contenido de proteínas de soja (PS) y de calcio sobre la bioaccesibilidad de minerales y la digestibilidad proteica.	85

III.3.4.2. Diseño experimental N° 2: Efecto de la relación proteínas de soja:caseína y del contenido de povidexrosa sobre la bioaccesibilidad de minerales y la digestibilidad proteica	86
III.3.4.3. Respuestas evaluadas	87
III.3.5. Desarrollo de fórmulas enterales poliméricas normocalóricas y normoproteicas con distintas fuentes proteicas y evaluación de variaciones en la composición sobre las propiedades nutricionales	87
III.3.5.1. Evaluación de la incorporación de fibra.....	87
III.3.5.2. Desarrollo de fórmulas oligoméricas	87
III.3.5.2.1. Preparación de los hidrolizados.....	87
III.3.5.2.2. Propiedades nutricionales evaluadas	88
III.3.5.3. Estudio del efecto de distintas fuentes de Fe en la bioaccesibilidad de minerales.....	88
III.3.6. Evaluación la formulación experimental selecta desde el punto de vista fisicoquímico y microbiológico	88
III.3.6.1. Evaluación de la viscosidad	89
III.3.6.2. Evaluación de los sólidos solubles y solubilidad proteica	89
III.3.6.3. Evaluaciones microbiológicas.....	89
III.3.7. Evaluación del efecto de la inclusión de la formula enteral experimental selecta en distintas matrices alimentarias, con diferentes procesos de cocción..	89
III.3.7.1. Incorporación de la fórmula experimental en las mismas matrices alimentarias utilizadas para las fórmulas comerciales.....	89
III.3.7.2. Incorporación de la fórmula experimental en preparaciones culinarias que podrían mejorar sus propiedades nutricionales.....	89
III.4. EVALUACIÓN DEL TIEMPO DE VIDA ÚTIL LA FÓRMULA ENTERAL EXPERIMENTAL SELECTA.....	90
III.5. Análisis estadísticos	91
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	93
IV.1. EVALUACIÓN DE FÓRMULAS ENTERALES COMERCIALES.....	93
IV.1.1. Ingredientes	93
IV.1.2. Composición centesimal	93
IV.1.3. Sólidos totales y sólidos solubles	96
IV.1.4. Distribución porcentual de los macronutrientes.....	97
IV.1.5. Estudio de la composición lipídica.....	99

IV.1.5.1. Perfil de ácidos grasos.....	99
IV.1.5.2. Oxidación de lípidos.....	101
IV.1.6. Estudio de la composición proteica.....	101
IV.1.6.1. Lisina Disponible	101
IV.1.6.2. Proteína potencialmente utilizable	104
IV.1.6.3. Electroforesis SPS-PAGE	108
IV.1.7. Contenido de ácido fítico (AF), azúcares reductores (AR) y ácido ascórbico (AA).....	111
IV.1.8. Contenido de minerales (Fe, Zn, Ca, Cu, Mg, Na, K y P)	112
IV.1.9. Bioaccesibilidad de minerales <i>in vitro</i> (%DFe, %DZn, %DCa, %DCu, %DMg)	115
IV.1.10. Conclusiones parciales	118
IV.2.EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE FÓRMULAS ENTERALES COMERCIALES EN DISTINTAS MATRICES ALIMENTARIAS, CON DIFERENTES PROCESOS DE COCCIÓN.....	121
IV.2.1. Bioaccesibilidad de minerales (%DFe, %DZn y %DCa) de FEC incluidas en preparaciones dulces	121
IV.2.2. Efecto de la matriz alimentaria en la bioaccesibilidad de minerales de FEC.....	123
IV.2.3. Efecto del calentamiento sobre la bioaccesibilidad de minerales de FEC	125
IV.2.4. Aporte potencial de minerales de FEC y de preparaciones dulces	125
IV.2.5. Conclusiones parciales	129
IV.3. DESARROLLO DE FORMULAS ENTERALES EXPERIMENTALES.....	131
IV.3.1. Evaluación de las materias primas utilizadas en el desarrollo de las FEE....	131
IV.3.2. Diseño experimental N°1: Efecto del contenido de proteínas de soja y de calcio sobre la bioaccesibilidad de minerales y la digestibilidad proteica.....	131
IV.3.2.1. Prueba del valor predictivo de la ecuación utilizada en el diseño experimental N°1	133
IV.3.2.2. Efecto de la composición de FEE sobre la bioaccesibilidad de Fe	134
IV.3.2.2.1. Influencia del contenido de proteínas de soja	135
IV.3.2.2.2. Influencia del contenido de Ca.....	136
IV.3.2.3. Efecto de la composición de FEE sobre la bioaccesibilidad de Zn.....	137
IV.3.2.3.1. Influencia del contenido de proteínas de soja	138
IV.3.2.3.2. Influencia del contenido de Ca.....	140

IV.3.2.4. Efecto de la composición de FEE sobre la bioaccesibilidad de Ca.....	140
IV.3.2.4.1. Influencia del contenido proteínas de soja	141
IV.3.2.4.2. Influencia del contenido de Ca.....	141
IV.3.2.5. Efecto de la composición de FEE sobre la digestibilidad proteica	141
IV.3.2.5.1. Influencia del contenido proteínas de soja	142
IV.3.2.5.2. Influencia del contenido de Ca.....	142
IV.3.2.6. Evaluación de los niveles óptimos de Ca y de proteínas de soja	143
IV.3.3. Diseño experimental N°2: Efecto de la relación proteínas de soja:caseína y del contenido de povidexrosa sobre la bioaccesibilidad de minerales y la digestibilidad proteica.....	143
IV.3.3.1. Prueba del valor predictivo de la ecuación utilizada en el diseño experimental N°2	146
IV.3.3.2. Efecto de la relación proteínas de soja:caseína en la bioaccesibilidad de minerales y en la digestibilidad proteica	147
IV.3.3.3. Efecto del contenido de Px sobre la bioaccesibilidad de minerales y la digestibilidad proteica	149
IV.3.3.4. Evaluación de los niveles óptimos de Px y relación PS:C.....	150
IV.3.4. Desarrollo de fórmulas enterales normocalóricas y normoproteicas con distintas fuentes proteicas	150
IV.3.4.1. Evaluación del efecto del contenido de Px sobre la bioaccesibilidad mineral y digestibilidad proteica	152
IV.3.4.2. Efecto de la hidrólisis de las fuentes proteicas sobre la bioaccesibilidad de minerales, la digestibilidad proteica y el contenido de lisina disponible: Desarrollo de fórmulas oligoméricas.....	156
IV.3.4.3. Efecto de la fuente de hierro sobre la bioaccesibilidad de minerales...	160
IV.3.4.4. Evaluaciones fisico-químicas y microbiológicas de la FEE selecta	164
IV.3.4.5. Evaluación del efecto de la inclusión de la FEE selecta en distintas matrices alimentarias, con diferentes procesos de cocción	168
IV.3.4.6. Conclusiones parciales	172
IV.4. EVALUACIÓN DEL TIEMPO DE VIDA ÚTIL DE LA FÓRMULA ENTERAL EXPERIMENTAL SELECTA	175
IV.4.1. Modificación del contenido de diferentes componentes de FEE durante el almacenamiento	175
IV.4.1.1. Evolución del color	175

IV.4.1.2. Evolución de la actividad acuosa	180
IV.4.1.3. Evolución del ácido ascórbico.....	183
IV.4.1.3.1. Determinación de la Energía de activación (Ea) de la reacción de deterioro del AA en FEE:.....	184
IV.4.1.4. Evolución de la oxidación de lípidos	185
IV.4.1.4.1. Determinación de la Energía de activación (Ea) de la reacción de oxidación de lípidos en FEE	187
IV.4.1.5. Evolución del contenido de lisina disponible.....	188
IV.4.1.5.1. Determinación de la Energía de activación (Ea) de la reacción de deterioro de la lisina disponible en FEE	190
IV.4.1.6. Evolución de la digestibilidad proteica	191
IV.4.1.7. Evolución de la bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn) y Ca (%DCa).....	192
IV.4.2. Estimación de la vida útil de la FEE	195
IV.4.3. Conclusiones parciales	197
V. CONCLUSIONES GENERALES	200
VI. BIBLIOGRAFÍA	205

Índice de Tablas

Tabla I.1: Causas de diarrea en pacientes con nutrición enteral

Tabla I.2: Tipos de sistemas en los que se comercializan las fórmulas para nutrición enteral

Tabla I.3: Fuentes de macronutrientes en fórmulas enterales.

Tabla I.4: Factores promotores e inhibidores de la absorción de hierro

Tabla III.1: Diseño experimental N° 1. Efecto del contenido de proteínas de soja y de calcio sobre la bioaccesibilidad de minerales y la digestibilidad proteica.

Tabla IV.1: Fuentes de carbohidratos, proteínas, grasas y fibra de Fórmulas Eenterales Comerciales.

Tabla IV.2: Composición centesimal y valor energético de Fórmulas Eenterales Comerciales.

Tabla IV.3: Contenido de ácidos grasos de Fórmulas Enterales Comerciales, expresados como porcentaje de la grasa total, y contenido de malondialdehído (MDA).

Tabla IV.4. Contenido de nitrógeno no proteico (NNP), relación porcentual entre nitrógeno total y NNP (%NNP/NT), nivel proteico declarado en el rótulo, proteína bruta (PB), proteína verdadera (PV), digestibilidad proteica (%DP), porcentaje de solubilidad proteica (%SP) y lisina disponible (LD) en Fórmulas Enterales Comerciales.

Tabla IV.5: Contenido de ácido fítico (AF), azúcares reductores (AR) y ácido ascórbico (AA) de Fórmulas Enterales Comerciales.

Tabla IV.6.a: Contenidos minerales de Fórmulas Enterales Comerciales: de Fe, Zn, Ca y relación molar ácido ascórbico:Fe (AA:Fe).

Tabla IV.6.b: Contenidos minerales de Fórmulas Enterales Comerciales: Cu, Mg, Na, K.

Tabla IV.7: Bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn), Ca (%DCa), Cu (%DCu) y Mg (%DMg) de Fórmulas Enterales Comerciales.

Tabla IV.8. Bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn) y Ca (%DCa) de Fórmulas Enterales Comerciales incluidas en preparaciones dulces.

Tabla IV.9: Efecto de la matriz alimentaria sobre la bioaccesibilidad de minerales de Fórmulas Enterales Comerciales incluidas en preparaciones dulces.

Tabla IV.10: Efecto del calentamiento sobre la bioaccesibilidad de minerales de Fórmulas Enterales Comerciales incluidas en preparaciones dulces.

Tabla IV.11.a: Aporte potencial de Fe, Zn y Ca (μg) de Fórmulas Enterales Comerciales y de preparaciones dulces.

Tabla IV.11b: Valor medio y rango de aporte potencial de Fe, Zn y Ca (μg) de Fórmulas Enterales Comerciales y de preparaciones dulces, y porcentajes que se cubren de los requerimientos diarios al consumir una porción (200 g).

Tabla IV.12: Efecto de la matriz alimentaria (a) y del calentamiento (b) sobre el aporte potencial de minerales de Fórmulas Enterales Comerciales.

Tabla IV.13: Composición de materias primas utilizadas en Formulas Enterales Experimentales.

Tabla IV.14: Bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn) y Ca (%DCa) y digestibilidad proteica (%DP) de las formulaciones del Diseño Experimental N°1.

Tabla IV.15: Análisis de Varianza para el efecto global de las dos variables sobre la bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn) y Ca (%DCa) y la digestibilidad proteica (%DP) de las formulaciones del diseño experimental N°1.

Tabla IV.16: Coeficientes de regresión de la ecuación polinómica de segundo orden para la bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn) y Ca (%DCa) y la digestibilidad proteica (%DP) de las formulaciones del diseño experimental N°1.

Tabla IV.17: Predicción y valores experimentales de bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn) y Ca (%DCa) y digestibilidad proteica (%DP), utilizando una fórmula experimental de prueba, para el diseño experimental N°1.

Tabla IV.18: Bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn) y Ca (%DCa) y digestibilidad proteica (%DP) de las formulaciones del Diseño Experimental N°2.

Tabla IV.19: Análisis de Varianza para el efecto global de las dos variables sobre la bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn) y Ca (%DCa) y la digestibilidad proteica (%DP) de las formulaciones del diseño experimental N°2.

Tabla IV.20: Coeficientes de regresión de la ecuación polinómica de segundo orden para la bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn) y Ca (%DCa) y la digestibilidad proteica (%DP) de las formulaciones del diseño experimental N°2.

Tabla IV.21: Predicción y valores experimentales de bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn) y Ca (%DCa) y digestibilidad proteica (%DP), utilizando una fórmula experimental de prueba, para el diseño experimental N°2.

Tabla IV.22: Bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn), Ca (%DCa) y digestibilidad proteica (%DP) en Fórmulas Enterales Experimentales con distinta fuente proteica, con y sin agregado de povidexosa.

Tabla IV.23: ANOVA Multifactorial de los efectos de la fuente proteica y de la incorporación de la Px en la bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn), Ca (%DCa) y digestibilidad proteica (%DP) en Fórmulas Enterales Experimentales

Tabla IV.24: Bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn), Ca (%DCa), digestibilidad proteica (%DP) y lisina disponible (LD) en Fórmulas Enterales Experimentales oligoméricas con distinta fuente proteica.

Tabla IV.25: ANOVA Multifactorial de los efectos de la fuente proteica y de la hidrólisis en la bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn), Ca (%DCa), digestibilidad proteica (%DP) y lisina disponible (LD) en Fórmulas Enterales Experimentales

Tabla IV.26: Bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn) y Ca (%DCa) de Fórmulas Enterales Experimentales con distinta fuente de hierro y distinta fuente proteica.

Tabla IV.27: ANOVA Multifactorial de los efectos de la fuente proteica y de fuente de Fe en la bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn), Ca (%DCa) en Fórmulas Enterales Experimentales.

Tabla IV.28: Propiedades fisicoquímicas de la Fórmula Enteral Experimental selecta en comparación con una Fórmula Enteral Comercial.

Tabla IV.29: Evaluación microbiológica de la Fórmula Enteral Experimental selecta.

Tabla IV.30: Bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn) y Ca (%DCa) de la Fórmula Enteral Experimental selecta incluida en preparaciones alimenticias.

Tabla IV.31: Efecto del calentamiento sobre la bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn) y Ca (%DCa) de la Fórmula Enteral Experimental selecta incluida en preparaciones alimenticias.

Tabla IV.32: Aporte potencial de Fe, Zn y Ca de la Fórmula Enteral Experimental selecta incluida en preparaciones alimenticias y porcentajes que se cubren de los requerimientos diarios (%Req) al consumir una porción (200 g).

Tabla IV.33: Efecto del calentamiento sobre el aporte potencial de Fe (APFe), Zn (APZn) y Ca (APCa) de la Fórmula Enteral Experimental selecta incluida en preparaciones alimenticias.

Tabla IV.34: Evaluación de actividad acuosa (Aw), ácido ascórbico (AA), malondialdehído (MDA), lisina disponible (LD), digestibilidad proteica (%DP), bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn) y Ca (%DCa) la Fórmula Enteral Experimental selecta, almacenada a 5, 15, 30 y 45 °C, durante 90 días.

Tabla IV.35: Efecto del tiempo (0, 30, 60 y 90 días) y la temperatura (5, 15, 30 y 45 °C) de almacenamiento sobre la actividad acuosa (Aw), ácido ascórbico (AA), malondialdehído (MDA), lisina disponible (LD), digestibilidad proteica (%DP), bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn) y Ca (%DCa) de la Fórmula Enteral Experimental selecta.

Tabla IV.36: Parámetros del sistema CIE de la Fórmula Enteral Experimental selecta, almacenada a 5, 15, 30 y 45 °C, durante 90 días.

Tabla IV.37: Tiempo de vida útil (ts) la Fórmula Enteral Experimental selecta a diferentes temperaturas de almacenamiento.

Índice de Figuras

Figura I.1: Sonda para nutrición nasointestinal

Figura I.2: Sonda para ostomía (a) y sonda de bajo perfil o tipo botón (b)

Figura I.3: Contenedores (a), nutrilíneas (b) y bombas de infusión (c) utilizadas en nutrición enteral.

Figura I.4. Vías de acceso para nutrición enteral.

Figura I.5: Selección de la vía de administración de NE.

Figura III.1. Esquema de las Fórmulas Enterales Experimentales desarrolladas.

Figura IV.1. Sólidos totales y sólidos solubles de Fórmulas Enterales Comerciales

Figura IV.2: Distribución energética porcentual (E%) en función de los macronutrientes: hidratos de carbono (%HC), proteínas (%P) y grasa (%GR), de Fórmulas Enterales Comerciales

Figura IV.3. Contenido de lisina disponible (LD) en función de las distintas fuentes proteicas utilizadas en las Fórmulas Enterales Comerciales.

Figura IV.4. Digestibilidad proteica (%DP) de Fórmulas Enterales Comerciales en función de la fuente proteica declarada en los rótulos.

Figura IV.5.a. Electroforesis SDS-PAGE de Fórmulas Enterales Comerciales: FEP 2, 4, 5, 6, 7 y 8. A: Patrón de pesos moleculares; B: Patrón de C.

Figura IV.5.b. Electroforesis SDS-PAGE de Fórmulas Enterales Comerciales: FEL 12, 13, 14, 15, 18 y 20. A: Patrón de pesos moleculares; B: Patrón de C.

Figura IV.5.c. Electroforesis SDS-PAGE de Fórmulas Enterales Comerciales: FEP 1 y 9 y FEL 16, 17 y 19. A: Patrón de pesos moleculares; B: Patrón de C; C: Patrón de APS.

Figura IV.5.d. Electroforesis SDS-PAGE de Fórmulas Enterales Comerciales: FEP 3, 10 y 11. A: Patrón de pesos moleculares; B: Patrón de C; C: Patrón de APS; D: Patrón de WPC.

Figura IV.6. Control de contenido mineral de Fórmulas Enterales Comerciales.

Figura IV.7: Superficie de respuesta para la bioaccesibilidad de Fe (%DFe). Diseño experimental N°1.

Figura IV.8: Relación entre la bioaccesibilidad de Fe (%DFe) y la relación molar fitatos/Fe en Fórmulas Enterales Experimentales.

Figura IV.9: Superficie de respuesta para la bioaccesibilidad de Zn (%DZn). Diseño experimental N°1.

Figura IV.10: Relación entre la bioaccesibilidad del Zn (%DZn) y la digestibilidad proteica (%DP) en Fórmulas Enterales Experimentales.

Figura IV.11: Relación entre el contenido de Zn de fortificación ($ZnSO_4$) y la bioaccesibilidad de Zn (%DZn) en Fórmulas Enterales Experimentales.

Figura IV.12: Relación entre la bioaccesibilidad del Zn (%DZn) y la bioaccesibilidad del Fe (%DFe) en Fórmulas Enterales Experimentales.

Figura IV.13: Superficie de respuesta para la bioaccesibilidad de Ca (%DCa). Diseño experimental N°1.

Figura IV.14: Relación entre la bioaccesibilidad de Ca (%DCa) y la relación molar fitatos/Ca en Fórmulas Enterales Experimentales.

Figura IV.15: Superficie de respuesta para la digestibilidad proteica (%DP). Diseño experimental N°1.

Figura IV.16: Gráficas de superposición (a) y de deseabilidad (b) para la optimización de las respuestas analizadas en el Diseño Experimental N° 1.

Figura IV.17: Superficie de respuesta para la bioaccesibilidad de Fe (%DFe). Diseño Experimental N°2.

Figura IV.18: Superficie de respuesta para la bioaccesibilidad de Zn (%DZn). Diseño experimental N°2.

Figura IV.19: Superficie de respuesta para la bioaccesibilidad de Ca (%DCa). Diseño experimental N°2.

Figura IV.20: Superficie de respuesta para la digestibilidad proteica (%DP). Diseño experimental N°2.

Figura IV.21: Gráficas de superposición (a) y de deseabilidad (b) para la optimización de las respuestas analizadas en el Diseño Experimental N° 2.

Figura IV.20: Reogramas de la determinación de la viscosidad de una Fórmula Enteral Comercial (a) y de de una Fórmula Enteral Experimental (b).

Figura IV.21: Evolución del índice de amarillamiento (YI) de una Fórmula Enteral Experimental selecta almacenada a 5, 15, 30 y 45 °C, durante 90 días

Figura IV.22: Evolución de la actividad acuosa (A_w) la Fórmula Enteral Experimental selecta almacenada a 5, 15, 30 y 45 °C, durante 90 días.

Figura IV.23: Diagrama psicrométrico a 1 atmósfera.

Figura IV.24: Evolución del contenido de ácido ascórbico de la Fórmula Enteral Experimental selecta almacenada a 5, 15, 30 y 45 °C, durante 90 días.

Figura IV.25: Determinación de los valores de k para cada temperatura, correspondiente a la reacción de deterioro del ácido ascórbico.

Figura IV.26: Influencia de la temperatura sobre la constante de reacción de deterioro del ácido ascórbico durante el almacenamiento.

Figura IV.27: Evolución del contenido de MDA (malondialdehído) la Fórmula Enteral Experimental selecta almacenada a 5, 15, 30 y 45 °C, durante 90 días.

Figura IV.28: Determinación de los valores de k para la reacción de generación de malondialdehído durante el almacenamiento.

Figura IV.29: Influencia de la temperatura sobre la constante de reacción de generación de malondialdehído durante el almacenamiento.

Figura IV.30: Evolución del contenido de lisina disponible la Fórmula Enteral Experimental selecta almacenada a 5, 15, 30 y 45 °C, durante 90 días.

Figura IV.31: Determinación de los valores de k para la reacción de pérdida de la lisina disponible durante el almacenamiento.

Figura IV.32: Influencia de la temperatura sobre la constante de reacción de deterioro de lisina disponible durante el ensayo de almacenamiento.

Figura IV.33: Evolución de la digestibilidad proteica la Fórmula Enteral Experimental selecta almacenada a 5, 15, 30 y 45 °C, durante 90 días.

Figura IV.34: Evolución de la bioaccesibilidad de Fe (%DFe) la Fórmula Enteral Experimental selecta almacenada a 5, 15, 30 y 45 °C, durante 90 días.

Figura IV.35: Evolución de la bioaccesibilidad de Zn (%DZn) la Fórmula Enteral Experimental selecta almacenada a 5, 15, 30 y 45 °C, durante 90 días.

Figura IV.36: Evolución de la bioaccesibilidad de Ca (%DCa) la Fórmula Enteral Experimental selecta almacenada a 5, 15, 30 y 45 °C, durante 90 días.

Figura IV.37: Pérdida de calidad por aumento del contenido de malondialdehído de la Fórmula Enteral Experimental selecta almacenada a 5, 15, 30 y 45 °C, durante 90 días.

Abreviaturas y Símbolos

AA: ácido ascórbico

Aa: aminoácidos

AaA: aminoácidos aromáticos

AaCR: aminoácidos de cadena ramificada

AC: Aceite de coco

ACa: Aceite de canola

ACAO: Aceite de cártamo alto oleico

ADN: ácido desoxiribonucleico

AF: ácido fítico

AG: Aceite de girasol

AGAO: Aceite de girasol alto oleico

AGCC: ácidos grasos de cadena corta

AGCL: ácidos grasos de cadena larga

AGCM: ácidos grasos de cadena media

AGM: ácidos grasos monoinsaturados

AGP: ácidos grasos poliinsaturados

AGS: ácidos grasos saturados

AIT: actividad del inhibidor de tripsina

AL: arroz con leche

AM: aceite de maíz

AMH: almidón de maíz hidrolizado

ANMAT: Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica

AP: aporte potencial

APa: aceite de palma

APCa: aporte potencial de Ca

APFe: aporte potencial de Fe

APS: aislado de proteínas de soja

APZn: aporte potencial de Zn

AR: azúcares reductores

ARN: ácido ribonucleico

AS: aceite de soja

Aw: actividad del agua

C: caseína.

CAA: Código Alimentario Argentino

Cal: preparaciones culinarias que producen calentamiento de las fórmulas enterales

CC: caseinato de calcio

Cel: celulosa

CPP: caseínfosfopéptidos

CS: caseinato de sodio

D: dextrosa

%DCa: bioaccesibilidad porcentual de Ca

%DCu: bioaccesibilidad porcentual de Cu

%DFe: bioaccesibilidad porcentual de Fe

%DMg: bioaccesibilidad porcentual de Mg

%DMi: dializabilidad de minerales

%DP: digestibilidad proteica

%DZn: bioaccesibilidad porcentual de Zn

Ea: energía de activación.

E%: distribución energética porcentual

EE.UU: Estados Unidos de América

EMD: ésteres de mono y diglicéridos

F: fructosa

FA: fibra de avena

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

FD: fibra dietética

FDA: Food and Drug Administration

FE: fórmula para nutrición enteral

FE-APS + Bis: FE con aislado de proteínas de soja como fuente proteica y bisglicinato ferroso como fuente de Fe.

FE-APS + EF: FE con aislado de proteínas de soja como fuente proteica y EDTA férrico como fuente de Fe.

FE-APS + Px 0,8: FE con aislado de proteínas de soja como fuente proteica y Px como fuente de fibra en un nivel de 0,8 g/100 mL.

FE-APS + Px 2,5: FE con aislado de proteínas de soja como fuente proteica y Px como fuente de fibra en un nivel de 2,5 g/100 mL.

FE-APS + SF: FE con aislado de proteínas de soja como fuente proteica y sulfato ferroso como fuente de Fe.

FE-APS: FE con aislado de proteínas de soja como fuente proteica.

FE-APS: FE con aislado de proteínas de soja como fuente proteica.

FE-APSH: FE con aislado de proteínas de soja hidrolizado como fuente proteica.

FEC: fórmula enteral comercial.

FE-C + Bis: FE con caseína como fuente proteica y bisglicinato ferroso como fuente de Fe.

FE-C + EF: FE con caseína como fuente proteica y EDTA férrico como fuente de Fe.

FE-C + Px 0,8: FE con caseína como fuente proteica y Px como fuente de fibra en un nivel de 0,8 g/100 mL.

FE-C + Px 2,5: FE con caseína como fuente proteica y Px como fuente de fibra en un nivel de 2,5 g/100 mL.

FE-C + SF: FE con caseína como fuente proteica y sulfato ferroso como fuente de Fe.

FE-C: FE con caseína como fuente proteica.

FE-C: FE con caseína como fuente proteica.

FE-CH: FE con caseína hidrolizada como fuente proteica.

FEE: fórmula enteral experimental.

FEL: fórmulas enterales líquidas

FEP: fórmulas enterales en polvo

FE-WPC + Bis: FE con proteínas de suero lácteo como fuente proteica y bisglicinato ferroso como fuente de Fe.

FE-WPC + EF: FE con proteínas de suero lácteo como fuente proteica y EDTA férrico como fuente de Fe.

FE-WPC + Px 0,8: FE con proteínas de suero lácteo como fuente proteica y Px como fuente de fibra en un nivel de 0,8 g/100 mL.

FE-WPC + Px 2,5: FE con proteínas de suero lácteo como fuente proteica y Px como fuente de fibra en un nivel de 2,5 g/100 mL.

FE-WPC + SF: FE con proteínas de suero lácteo como fuente proteica y sulfato ferroso como fuente de Fe.

FE-WPC: FE con proteínas de suero lácteo como fuente proteica.

FE-WPC: FE con proteínas de suero lácteo como fuente proteica.

FE-WPCH: FE con proteínas de suero lácteo hidrolizado como fuente proteica

FOS: fructooligosacáridos

FS: fibra de soja

FT: fibra de trigo

GA: goma arabica

GALT: tejido linfoide asociado al intestino

GE: gelatina

GEP: gastrostomía endoscópica percutánea

GH: grado de hidrólisis

GMP: glicomacropéptido

GO: gastrostomía

%GR: aporte energético porcentual de las grasas

%HC: aporte energético porcentual de los hidratos de carbono

I: inulina

IDA: ingesta diaria admisible

IDR: ingestas dietéticas recomendadas

JG: jarabe de glucosa

JM: jugo de manzana

JN: jugo de naranja

Kcal: Kilocalorías

LB: licuado de banana

LD: lisina disponible

M: maltodextrina

MDA: malondialdehído

Mi: mineral

NE: nutrición enteral

NNP: nitrógeno no proteico

NPT: nutrición parenteral total

NPV: nitrógeno de proteína verdadera

Nsf: no suplementado con fibra

NT: nitrógeno total

OMS: Organización Mundial de la Salud

%P: aporte energético porcentual de las proteínas

PB: proteína bruta

PC: postre de chocolate

PM: peso molecular

PP: puré de papas

PS: proteínas de soja

PV: proteína verdadera

Px: povidona

S/Cal: preparaciones culinarias que no producen calentamiento de las fórmulas enterales

S: sacarosa

SND: sonda nasoduodenal

SNG: nasogástrica

SNY: sonda nasoyeyunal

SP: solubilidad proteica

T: té

TBA: ácido tiobarbitúrico

TBARS: sustancias reactivas con el ácido tiobarbitúrico

TCA: ácido tricloroacético

TCL: triglicéridos de cadena larga

TCM: triglicéridos de cadena media

VCT: valor calórico total

VU: vida útil

WPC: concentrado de proteínas de suero lácteo

YI: índice de amarillamiento

YO: yeyunostomía

Resumen

La desnutrición en sus diversas formas es la más común de las enfermedades. El aumento de la incidencia de complicaciones infecciosas, el retardo en los procesos de reparación tisular y, en general, el aumento de la morbi-mortalidad de este grupo de pacientes ha sido bien demostrado. Como consecuencia, la estancia hospitalaria y los costos de la terapia se incrementan. Con la demostración de la prevalencia de malnutrición en poblaciones hospitalarias y del beneficio de la reposición nutricional en estos pacientes, se impulsó el desarrollo de un nuevo campo en la Medicina: el Soporte Nutricional Clínico, que se basa en el aporte de nutrientes necesarios para mantener las funciones vitales, ya bien sea con nutrición parenteral total (NPT), nutrición enteral, (NE) o ambas, y es indicado cuando no es posible o adecuado utilizar la alimentación apropiada de la manera convencional. Tiene por objetivo principal reducir la morbi-mortalidad asociada a la malnutrición mediante el suministro de nutrientes adecuados y de manera oportuna. La NE es el aporte de nutrientes a través de cualquier nivel del tubo digestivo, incluyendo la vía oral. Presenta numerosas ventajas con respecto a la NPT ya que: es fisiológica, estimula el trofismo de la mucosa intestinal, refuerza el efecto protector de la mucosa intestinal, tiene menor riesgo de complicaciones graves y de infecciones, es de más fácil manejo y reduce los costos del tratamiento. La composición de las fórmulas enterales (FE) empleadas son mezclas de proteínas, grasas e hidratos de carbono, que se obtienen a partir de productos alimentarios y que luego se pueden complementar con vitaminas y minerales. Las FE comercialmente preparadas fueron desarrolladas para reemplazar en ciertos casos las dietas hechas en la cocina en nutrición clínica, por las ventajas que ofrecen sobre ellas: composición definida de todos los nutrientes, los cuales pueden ser modificados en las proporciones y calidad requerida, facilidad de preparación, de administración y de almacenamiento. Sin embargo, estas preparaciones presentan el inconveniente de su elevado costo, constituyendo éste una parte muy importante del presupuesto de los hospitales destinados a la alimentación de los pacientes. Por otro lado, las FE son sistemas complejos por tener en su constitución numerosos ingredientes. Los componentes de las FE pueden interaccionar con los minerales y otros nutrientes, disminuyendo su absorción, y reduciendo las cualidades nutricionales. Debido a que las FE en ocasiones son utilizadas en tratamientos prolongados, que pueden durar varios meses e incluso años, se las suele mezclar con alimentos convencionales o incluir en preparaciones de manera de buscar nuevos sabores, texturas y evitar la monotonía, cuando son administrados por la vía oral, como suplemento de la alimentación normal. Sin embargo,

no hay estudios en los que se analice la modificación de las propiedades nutricionales de las FE al interactuar con otros nutrientes, otras matrices alimentarias y al sufrir procesos de cocción.

Por lo expresado anteriormente, el objetivo general de la tesis fue desarrollar productos nutroterápicos con distintos fines, de alta calidad y bajo costo cuya fabricación pueda ser encarada por organismos provinciales y cuya utilización esté dirigida en principio a hospitales públicos.

En una primera etapa, se evaluaron 20 fórmulas enterales comerciales (FEC) en relación a su composición y características fisicoquímicas y nutricionales. Para ello, se utilizaron las técnicas propuestas por la AOAC, se determinó la actividad acuosa, sólidos totales y solubles, perfil nutricional (que fue comparado con las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud, OMS), perfil de ácidos grasos y la oxidación de lípidos (compuestos reactivos al TBA). Se estudió la composición proteica y se estimó la proteína potencialmente utilizable a través de la evaluación del nitrógeno total, nitrógeno no proteico, solubilidad, digestibilidad proteica (DP), lisina disponible (LD) y electroforesis SDS-PAGE. Además, se determinó el contenido de ácido fólico, azúcares reductores, ácido ascórbico (AA), contenido de minerales (Fe, Zn, Ca, Na, K, Cu, Mg, P) y bioaccesibilidad de minerales (%DFe, %DZn, %DCa, %DCu, %DMg).

Posteriormente, se incorporaron estas FEC en distintas preparaciones culinarias (arroz con leche: AL, postre de chocolate: PC, té: T y licuado de banana: LB), lo cual es una práctica hospitalaria muy común, para evaluar el efecto de las distintas matrices alimentarias y de los procesos de cocción, sobre la bioaccesibilidad y aporte potencial (AP) de Fe, Zn y Ca. Las preparaciones que involucraron procesos de cocción fueron T y PC.

En una segunda etapa, se procedió al desarrollo de fórmulas enterales experimentales (FEE). En primer lugar, se realizaron dos diseños experimentales para evaluar el efecto de la composición de las distintas formulaciones sobre algunas propiedades nutricionales (%DFe, %DZn, %DCa y %DP). Todas las FEE desarrolladas en este punto fueron normocalóricas (1 Kcal/mL) y poliméricas. En el primer diseño se evaluó el efecto del contenido de Ca (50 -100 mg/ 100 mL), utilizando citrato de calcio, y de proteínas de soja (2,5, 3,75 y 5,0 g de proteína/100 mL). Se obtuvieron FE hipoproteicas (las proteínas aportan menos del 15 del valor calórico total, VCT), normoproteicas (15-18% del VCT) e hiperproteicas (más del 18% del VCT), respectivamente. En el segundo diseño se evaluó el efecto del contenido de

polidextrosa (Px) (0,8 - 2,5 g/100 mL) y la relación proteínas de soja: caseína (0:100 a 100:0), trabajando con fórmulas normoproteicas (4 g proteína/100 mL).

En una tercera etapa, se desarrollaron otras formulaciones normocalóricas y normoproteicas, evaluando tres fuentes proteicas distintas (aislados de proteínas de soja: APS, caseína: C y proteínas del suero lácteo: WPC). En primer lugar, se evaluó la incorporación de fibra en las tres FEE sobre el %DFe, %DZn, %DCa y la %DP. Luego, se evaluó el efecto de la hidrólisis de las fuentes proteicas (para obtener FEE oligoméricas), sobre %DFe, %DZn, %DCa, la %DP y la LD. Por último, se estudió el efecto de distintas fuentes de fortificación de Fe (sulfato ferroso, bisglicinato ferroso y FeNaEDTA) sobre %DFe, %DZn, %DCa en una FEE normocalórica y normoproteica de caseína, sin fibra.

En base a los resultados obtenidos, se seleccionó una FEE normocalórica, normoproteica, polimérica, sin fibra, con caseína como fuente proteica, con sulfato ferroso como fuente de Fe y con citrato de Ca como fuente de calcio (100 mg/100mL). Se evaluaron propiedades físico-químicas (viscosidad, sólidos solubles y solubilidad proteica) y se llevó a cabo un análisis microbiológico, para determinar si dicha formulación cumplía con las exigencias del Código Alimentario Argentino (CAA).

Esta FE seleccionada fue incorporada en las mismas matrices alimentarias que se habían utilizado para las FEC y se evaluó su efecto sobre la bioaccesibilidad y aporte potencial de Fe, Zn y Ca, de manera de poder comparar los resultados obtenidos previamente. Además, se probaron cuatro nuevas preparaciones alimenticias (jugo de naranja: JN, jugo de manzana: JM, gelatina: G y puré de papas: PP) y se compararon los resultados con los obtenidos en una FEC de similares características de composición.

En la cuarta etapa, se estudió el tiempo de vida útil de la FEE selecta, evaluando las muestras a cuatro temperaturas de almacenamiento: 5, 15, 30 y 45°C, usando cámaras termostalizadas, durante 3 meses, en lapsos adecuados de tiempo (0, 15, 30, 60 y 90 días). Los parámetros evaluados fueron los siguientes: color, actividad de agua, contenido de AA, oxidación de lípidos, LD, %DFe, %DZn, %DCa y %DP.

Los resultados obtenidos en la primera etapa mostraron que existen discrepancias entre los valores declarados en los rótulos de las FEC y los valores determinados experimentalmente; menos del 15% de las FEC se ajustaron a las recomendaciones de la OMS, pese a ser fórmulas de uso general; más del 70% de las FEC cumplieron con las recomendaciones en cuanto al perfil de ácidos grasos, pero sólo el 35% de las FEC cumplió

con las recomendaciones en cuanto a la relación n-6/n-3. Por otro lado, se hallaron valores elevados de oxidación de lípidos, lo que podría producir efectos negativos en la salud de los pacientes. Además, los valores de proteína utilizable se encontraron comprendidos en un rango de 5,68 – 99,19%, con un valor promedio de $62,30 \pm 29,99\%$. Teniendo en cuenta el valor de PV y la %DP, sólo la mitad de las FEC serían normoproteicas. Los valores de LD fueron bajos en general y el 75% de las FEC no alcanzaron los valores de lisina recomendados por el CAA para alimentos de régimen (58 mg/g proteína). Las fuentes proteicas declaradas aparentemente coinciden con lo hallado en el perfil electroforético, pero algunas parecen tener algún grado de hidrólisis y en otras no fue posible identificar las proteínas de declaradas. Por último, la bioaccesibilidad de minerales resultó baja en general y el %DFe se relacionó negativamente con el contenido de Fe y Cu.

Por otro lado, las distintas matrices alimentarias en las cuales fueron incluidas las FEC afectaron de modo diferente al %DFe, %DZn y %DCa. El resultado más relevante fue el efecto negativo sobre la bioaccesibilidad mineral de aquellas preparaciones que involucraron el calentamiento de las FEC (T y PC). Por otro lado, se observó un efecto positivo en aquellas preparaciones que no implicaron un calentamiento de la FEC (AL y LB). Sin embargo, el AP de minerales resultó muy bajo, por lo que su contribución para cubrir los requerimientos de minerales de los pacientes también sería pobre.

Al desarrollar las FEE, se observó que los distintos componentes de las mismas afectaron de manera diferente las propiedades nutricionales, pero en todos los casos resultaron mejores que las halladas previamente para las FEC.

El contenido de Ca mostró una relación directamente proporcional con el %DCa, por lo cual el citrato de calcio podría constituir una adecuada fuente de fortificación para las FE. El contenido de proteínas de soja mostró una relación inversamente proporcional tanto con la bioaccesibilidad mineral, como con la %DP, probablemente debido al contenido de ácido fítico y del inhibidor de la actividad de tripsina en el APS. El contenido de Px produjo una disminución del %DFe y %DZn, cuando las FEE contenían APS y WPC como fuentes proteicas, pero no se observaron efectos cuando la fuente proteica fue C, probablemente debido a interacciones físico-químicas muy complejas que se establecen entre los componentes de las fórmulas. Además, al tratarse de estudios *in vitro*, no se pueden observar los efectos de la fibra a nivel colónico. Por otro, lado las FEE con WPC mostraron valores más elevados de %DFe y %DZn y las FEE con fuentes proteicas de origen animal (WPC y

C), mostraron valores más elevados de %DP, en comparación con las FEE con fuente proteica de origen vegetal (APS).

Por otra parte, la bioaccesibilidad mineral y %DP aumentaron en las FEE con proteínas hidrolizadas, a excepción de las FEE con WPC, donde la %DP no se modificó, probablemente porque ya era demasiado elevada (100%). También se observó una disminución de los valores de LD en las FEE oligoméricas, en comparación con las poliméricas.

Al evaluar las tres fuentes de fortificación de Fe, con las tres fuentes proteicas en las FEE, se observó que cuando se utilizó FeNaEDTA se produjo un aumento del %DFe, para las tres fuentes proteicas estudiadas, con respecto a las FEE que estaban fortificadas con sulfato ferroso y bisglicinato ferroso. También se observó un aumento del %DZn en las FE con APS y WPC y fortificadas con FeNaEDTA y no se observaron diferencias para el %DCa, con ninguna de las fuentes proteicas y de hierro estudiadas. Además, no se hallaron diferencias significativas en la bioaccesibilidad de minerales entre las FEE elaboradas con sulfato ferroso y bisglicinato ferroso para las tres fuentes proteicas.

La FEE seleccionada mostró ser apta para el consumo, desde el punto de vista microbiológico, ya que cumplió con las exigencias del CAA y por otro lado, demostró tener propiedades fisicoquímicas adecuadas, que permitirían disminuir la incidencia de complicaciones, tales como el taponamiento de las sondas.

Cuando se incluyó la FEE selecta en las distintas preparaciones culinarias, se encontró que las preparaciones culinarias que involucraron el calentamiento de la fórmula (PC, T y G), produjeron una disminución del %DFe y %DZn, de manera similar a lo hallado previamente en las FEC. En cuanto a las nuevas preparaciones evaluadas, el JN y JM aumentaron el %DFe y %DZn, la G produjo una disminución y el PP no mostró diferencias. El AP de minerales de una porción de las 8 preparaciones evaluadas resultó elevado y aceptable para contribuir a evitar el desarrollo de carencias en los pacientes.

Respecto a la VU de la FEE selecta, se seleccionó el MDA como indicador de pérdida de calidad, por ser el parámetro evaluado que fue más afectado en las condiciones de temperatura y tiempo de almacenamiento del estudio. La VU calculada a diferentes temperaturas sería relativamente corta, en comparación con las que presentan las FEC, lo que se debe principalmente al tipo de envase utilizado en el estudio. Éste fue seleccionado debido a sus características de impermeabilidad al O₂ y a la humedad y por ser un envase más

económico, que permitiría un mayor fraccionamiento y evitar de esta manera, que las FE se deterioren en las cocinas hospitalarias.

En conclusión, las FE son sistemas alimentarios muy complejos donde los cambios en la composición de los macro y micronutrientes, el uso de diferentes fuentes proteicas y de fortificación, la mezclas con otras matrices alimentarias, el empleo de procesos de cocción pueden modificar algunas de sus propiedades nutricionales. Todos estos efectos se deben tener muy presentes, ya que estos alimentos están destinados a una población de elevada vulnerabilidad nutricional, que necesitan alimentos de excelente calidad (higiénica, nutricional y funcional) para contribuir a mejorar su estado de salud y disminuir las comorbilidades asociadas a los procesos patológicos.

A través de este estudio fue posible desarrollar formulas enterales con materias primas nacionales (y por lo tanto de menor costo), nutricionalmente mejoradas, aptas desde el punto de vista microbiológico y con características físicas que permiten disminuir la incidencia de complicaciones.

Abstract

Malnutrition is one of the most common diseases. The increased incidence of infectious complications, delay in tissue repair processes and, in general, increased morbidity and mortality in this group of patients has been well demonstrated. As a result, hospital stays and costs of the therapy increases. By demonstrating the prevalence of malnutrition in hospital populations and the benefit of nutritional replacement in these patients, the development of a new field in medicine has been encouraged: the Clinical Nutrition Support, which aims are to provide the nutrients needed to maintain vital functions, either with total parenteral nutrition (TPN), enteral nutrition (EN) or both. It is indicated when is not possible or appropriate to use the appropriate feed in the conventional manner. Its aims are reducing morbidity and mortality associated with malnutrition, through the provision of adequate nutrients and timely manner. The EN is the nutrient through any level of the gastrointestinal tract, including the mouth. It has many advantages over the TPN because: EN physiologically stimulates the tropism of intestinal mucosa, strengthens the protective effect of the intestinal mucosa, has less risk of serious complications and infections, reduces the costs of the treatments and it is easier to handle. Enteral formulas (EF) are mixtures of proteins, fats and carbohydrates, which are obtained from food products and can be supplemented with vitamins and minerals. Commercial EF were developed to replace in some cases culinary preparations, because of the advantages over them: defined composition of all nutrients (which can be modified in the proportions of required quality), ease of preparation, administration and storage. However, these preparations have the disadvantage of high cost, which is a very important part of hospital budgets for feeding patients. Furthermore, the EF are complex systems because they must have in their constitution various ingredients. The components of the FE may interact with minerals and other nutrients, decreasing their absorption and reducing the nutritional quality. EF are sometimes used in prolonged treatments, which can take several months or even years. When they are administered orally as a supplement of the normal diet, they are often mixed with conventional foods or included in recipes in order to seek new flavours and textures and avoid monotony. However, there are no studies that analyze mineral bioaccessibility of EF when they are included in food matrices or undergo cooking processes.

The overall objective of the thesis was to develop nutraceutical products for different purposes, with high quality and low manufacturing cost which can be addressed by the provincial state and whose use is oriented primarily to public hospitals.

In a first stage, 20 commercial enteral formulas (CEF) were evaluated in relation with their composition, physicochemical and nutritional characteristics. The techniques proposed by the AOAC were used, the water activity, total and soluble solids, nutritional profile (which was compared with the recommendations of the World Health Organization, WHO), fatty acid profile and lipid oxidation (TBA reactive compounds) were determined. Protein composition and potentially useful protein were studied through the evaluation of total nitrogen, no protein nitrogen, protein solubility, protein digestibility (PD), available lysine (AL) and SDS-PAGE electrophoresis. Furthermore, the content of phytic acid, reducing sugars, ascorbic acid (AA), minerals content (Fe, Zn, Ca, Na, K, Cu, Mg, P) and mineral bioavailability (%DFe, %DZn, %DCa, %DCu, and %DMg) were determined.

Because of the incorporation of EF into food preparations is a very common hospital practice, the CEF were incorporated in various food preparations (rice pudding: RP, chocolate dessert: CD, Tea: T and banana smoothie: BS) to assess the effect of different food matrices and cooking processes, on the mineral bioaccessibility and potential mineral supply (PS) of Fe, Zn and Ca. These EF–sweet foods were divided into two categories: those which were cooked by heating (H), i.e. CD and T, and those which were not heated (NH), i.e. RP and BS.

Then, experimental enteral formulas (EEF) were developed. First, two experimental designs for evaluating the effects of the composition of different formulations on some nutritional properties (%DFe, %DZn, %DCa and %PD) were performed. All FEE developed were norm caloric (1 Kcal/mL) and polymeric. In the first design, the effect of the content of Ca (50 -100 mg / 100 mL) using calcium citrate, and soy protein (2.5, 3.75 and 5.0 g of protein / 100 mL) were assessed. Hypo protein EF (proteins contributed less than 15% of the total caloric value, TCV), norm protein (15-18% of the TCV) and high protein (over 18% of the TCV), respectively, were obtained. In the second design, the effect of the contents of polydextrose (Px) (0.8 - 2.5 g / 100 mL) and the ratio of soy protein: casein (0: 100 to 100: 0) were evaluated, working with norm protein formulas (4 g protein / 100 mL).

Then, other norm caloric and norm protein formulations were developed, evaluating three different protein sources (soy protein isolates: SPI, casein: C, and whey protein concentrate: WPC). First, the incorporation of fibre in three EEF on %DFe, %DZn, %DCa and %PD was evaluated. Then, the effect of the hydrolysis of the protein sources (oligomeric EEF) on %DFe, %DZn, %DCa, %PD and AL was evaluated. Finally, the effect of different sources of iron fortification (ferrous sulphate, ferrous Bis-glycinate and FeNaEDTA) on

%DFe, %DZn and %DCa was studied in norm caloric and norm protein EEF, with casein as a protein source and without fibre.

Based on the results, an EEF with the following characteristics was selected:

norm caloric, norm protein, polymeric, fibre-free, casein as a protein source, with ferrous sulphate as an iron source, and Ca citrate as a calcium source (100 mg/100 mL). Physicochemical properties (viscosity, soluble solids and protein solubility) were evaluated, and a microbiological analysis was carried out to assess whether this formulation fit the requirements of the Argentine Food Codex (AFC).

This selected EEF was incorporated in the same food matrices that were used for CEF and evaluated about their effect on mineral bioaccessibility and potential mineral supply of Fe, Zn and Ca. In addition, four new food preparations (orange juice: OJ, apple juice; AJ, gelatine: G and mashed potatoes: MP) were made, and the results were compared with those obtained for a similar FEC.

Finally, shelf life of the selected EEF was studied by evaluating physicochemical properties of the sample stored at four temperatures: 5, 15, 30 and 45°C, using thermostatic chamber, during 3 months. At appropriate time periods (0, 15, 30, 60 and 90 days), samples were removed and evaluated regarding colour, water activity, AA content, lipid oxidation, AL, %DFe, %DZn, %DCa and %PD.

The results obtained in the first stage showed that there were discrepancies between the CEF label values and the experimentally determined ones. Less than 15% of the CEF adapted to the WHO recommendations, despite being EF commonly used, over 70% of the CEF fit the recommendations of fatty acid profile, but only 35% of CEF fit the recommendations of n-6/n-3 ratio. Moreover, high levels of lipid oxidation was found, which could have negative effects on the health of patients. The values of the potentially usable protein were in 5.68 – 99.19% range, with a media: $62.30 \pm 29.99\%$. Taking into account the values of TP and %DP, only half of the CEF would be normoprotein formulas. AL values were low in general and 75% of CEF not reach the lysine values recommended by the AFC for food for regimen (58 mg/g protein). According with electrophoretic profile, protein sources were those declared, but some proteins seem to have some degree of hydrolysis and it was not possible identify the declared sources. Finally, the bioavailability of minerals was low in general and %DFe was negatively correlated with the content of Fe and Cu.

Furthermore, the different food matrices in which CEF were included differently affected the %DFe, %DZn and %DCa. The most significant result was the negative effect on mineral bioavailability caused by those preparations that involve heating of CEF (T and CD). On the other hand, a positive effect of those preparations that did not involve heating of the CEF (RP and BS) was observed. However, the mineral PS was very low, thus the contribution of CEF to cover the mineral requirements of patients also would be poor.

In developing the EEF, it was observed that the different components thereof differently affected the nutritional properties, but in all cases, they were better than those previously found for CEF.

Ca content showed a direct relationship with %DCa, thus calcium citrate could be a suitable source of fortification to the EF. Soy protein content showed an inverse relationship with both, mineral bioavailability and %PD, probably due to phytic acid and trypsin activity inhibitor occurring in SPI. When using Px, there was a decrease in %DFe and %DZn, for EEF containing SPI and WPC as protein sources, but no effect was observed when the protein source was C, probably due to complex physical and chemical interactions occurring between components of the formulas. Also, these were *in vitro* studies, which cannot show the effects of fibre at colonic level. On the other hand, the EEF with WPC showed the highest values of %DFe and %DZn and EEF with animal protein sources (WPC and C) showed higher values of %PD than EEF formulated with plant protein source (SPI).

Moreover, mineral bioaccessibility and %PD increased in EEF with hydrolysed proteins, except %PD of EEF made with hydrolysed WPC, due to the high value (100%). A decrease in the values of AL was also observed in the oligomeric EEF compared to the polymeric ones.

In evaluating of the three fortification iron sources, with the three protein sources in EEF, an increase of %DFe for the three protein sources was observed when using FeNaEDTA, with respect to EEF fortified with ferrous sulphate and ferrous bis-glycinate. %DZn increased in SPI and WPC-EF with FeNaEDTA and no difference was observed on %DCa, with none of the used protein and iron sources. Furthermore, no significant difference in mineral bioaccessibility was observed for EEF fortified with ferrous sulphate or ferrous bis-glycinate, for the three protein sources.

The selected EEF proved to be suitable for feeding from the microbiological point of view, fitting the requirements of the AFC. Also, it demonstrated to have suitable

physicochemical properties, which would help to decrease the incidence of complications, such as plugging probe.

When selected EEF was included in different culinary preparations, it was found that culinary preparations involving EF heating (CD, T and G), caused a decrease of %DFe and %DZn, similarly to that found previously with CEF. Regarding the new preparations, OJ and AJ increased %DFe and %DZn, G decreased and MP showed no differences on them. A portion of each one of the eight preparations evaluated had high and acceptable mineral PS, which will help to avoid the development of deficiencies in patients.

Regarding the self-life of the selected FEE, the MDA was selected as an indicator of quality loss because of it was the most affected parameter in the conditions of temperature and storage time selected for the study. The self-life calculated at different temperatures would be relatively short, as compared to those presented by FEC, which is mainly due to the type of package used in the study. It was selected because of its waterproof to O₂ and moisture and it is a cheaper package, which would allow further fractionation and thus, prevent the EF impairment in hospital kitchens

In conclusion, the EF are very complex food systems where the changes in the composition of macro and micronutrients, the use of different proteins and mineral sources, the mixing of them with other food matrices, the employment of cooking processes can modify some of their nutritional properties. All these effects must be very present, as these foods are intended for a population with high nutritional vulnerability, needing food of excellent hygienic, nutritional and functional quality. Taking into account these facts will help to improve the health and reduce the co-morbidities associated with disease processes.

Through this study it was possible to develop enteral formulas made with national raw materials (and thus of lower cost), nutritionally enhanced, suitable from a microbiological point of view and with physical characteristics that help decrease the incidence of complications.

I. Introducción

1. INTRODUCCIÓN:

La desnutrición en sus diversas formas es, sin duda, la más común de las enfermedades. El aumento en la incidencia de complicaciones infecciosas, el retardo en los procesos de reparación tisular y, en general, el aumento de la morbi-mortalidad de este grupo de pacientes ha sido bien demostrado. Como consecuencia, la estancia hospitalaria y los costos de la terapia se incrementan significativamente (Bowman y Rusell, 2003). Con la demostración de la prevalencia de malnutrición en poblaciones hospitalarias y del beneficio de la reposición nutricional en estos pacientes, se impulsó el desarrollo de un nuevo campo en la Medicina, el Soporte Nutricional Clínico (Mora, 2002). Éste se basa en el aporte de nutrientes necesarios para mantener la funciones vitales, ya bien sea con nutrición parenteral total (NPT), nutrición enteral, (NE) o ambas, y es indicado cuando no es posible o adecuado utilizar la alimentación apropiada de la manera convencional. Tiene por objetivo principal reducir la morbi-mortalidad asociada a la malnutrición, mediante el suministro de nutrientes adecuados y de manera oportuna (Pineda Pérez, 2003).

La NE es el aporte de nutrientes a través de cualquier nivel del tubo digestivo, incluyendo la vía oral, (Martínez González y col, 2001). Presenta numerosas ventajas con respecto a la NPT ya que: es fisiológica, estimula el trofismo de la mucosa intestinal, refuerza el efecto protector de la mucosa intestinal, tiene menor riesgo de complicaciones graves y de infecciones, es de más fácil manejo y reduce los costos del tratamiento (Martínez Costa y Pedrón Giner, 2010). En la actualidad, son cada vez más las evidencias de los beneficios de esta práctica (Lochs y col, 2006).

Los componentes empleados en la elaboración de una fórmula enteral (FE) deben prepararse hasta conseguir una fórmula líquida, homogénea, sin grumos y con una viscosidad adecuada para que pueda administrarse a través de una sonda, lo cual es difícil de conseguir con fórmulas artesanales. La composición de las fórmulas empleadas son mezclas de proteínas, grasas e hidratos de carbono, que se obtienen a partir de productos alimenticios y que luego se pueden complementar con vitaminas y minerales (Arenas Márquez y Anaya Prado, 2007).

Los grandes avances tecnológicos relacionados con la NE permiten hoy disponer de un gran abanico de FE en creciente desarrollo. Sin embargo, estas preparaciones presentan el inconveniente de su elevado costo, constituyendo éste una parte muy importante del presupuesto de los hospitales destinados a la alimentación de los pacientes.

El desarrollo de nuevas formulaciones, nutricionalmente mejoradas y de menor costo, resulta de interés por los beneficios que supone para los pacientes que lo requieren y para las instituciones que brindan el servicio. Por otro lado, es importante determinar si la forma de manipulación y preparación de las mismas puede afectar sus propiedades nutritivas, lo que se traduciría en un perjuicio para su receptor.

I.1. NUTRICIÓN ENTERAL

I.1.1. Evolución histórica

Comenzar a revisar la historia del desarrollo de la NE obliga a recordar la alimentación rectal, porque hace 3.500 años aproximadamente fueron los egipcios los que iniciaron esta técnica. La alimentación rectal mediante enemas con alimentos como forma de preservar la salud fue recogida en algunos papiros. En éstos, se describe cómo a través de una especie de jeringa constituida por una pipeta atada a una vejiga administraban, probablemente a presión, por vía rectal, una gran variedad de alimentos como leche, suero lácteo, cereales germinados, vino etc. Otras civilizaciones como la griega mantuvieron estas prácticas en algunas ocasiones con finalidad nutricional y en otras ocasiones con finalidad reguladora del tránsito intestinal como laxante (McCamish y col., 1997).

Sin embargo, aunque esta técnica de administración de “enemas nutricionales” fue al parecer extendida entre los egipcios y griegos, no hay constancia de su uso en siglos posteriores hasta 1878, cuando Brown Sécquard publicó una carta comunicando el uso de una mezcla alimentaria formada por 2/3 de libra de carne de buey y 2/5 de libra de páncreas de cerdo molido, como método transitorio de alimentación en pacientes con problemas de disfagia. Los tubos utilizados para esta administración tenían diámetros variables y eran de caucho con embudos pequeños y tubos de cristal (Álvarez Hernández y col., 2006).

También fueron utilizadas con carácter nutritivo otras sustancias como la sangre desfibrinada, incluso más recientemente, durante la Segunda Guerra Mundial, la vía rectal fue utilizada para administrar agua, sueros salinos y glucosados, aminoácidos en solución isotónica y algunos medicamentos (Vázquez, 1994). Pero probablemente, el caso más conocido por su repercusión histórica fue el del presidente de los Estados Unidos de América (EE.UU.) James Garfield, que tras un intento de asesinato en 1881, fue alimentado cada 4 horas por vía rectal, con enemas de peptonas de carne de buey, sangre desfibrinada y whisky, durante 79 días hasta su muerte (Álvarez Hernández y col., 2006).

A pesar del uso de la “alimentación rectal”, los investigadores y clínicos a lo largo de la historia han buscado mejorar un acceso digestivo más fisiológico, eficaz y seguro. Fue en 1617 cuando Fabricius y Aquapendente utilizaron tubos de plata que colocaban por vía nasofaríngea para alimentar a niños con tétanos (Kirby y col., 1995). Estos tubos rígidos fueron posteriormente sustituidos por tubos flexibles de piel elaborados por Von Helmont. Un siglo más tarde, John Hunter alimentó a un paciente con disfagia por parálisis de los músculos deglutorios utilizando un tubo de hueso de ballena cubierto de piel de anguila y conectado a una especie de vejiga, que actuaba como una bomba de infusión. Mediante este mecanismo fue capaz de administrar con éxito al paciente mermeladas, confituras, huevos crudos, leche y vino, así como la medicación que consideraba oportuna. Esta medida permitió reafirmar esta técnica de alimentación nasogástrica como segura y eficaz (Arenas Márquez y Anaya Prado, 2007).

Pero fue en 1910 cuando Einhorn realizó la nueva técnica de alimentación al criticar abiertamente el uso de los enemas alimentarios e introducir un gran avance en la alimentación enteral, al diseñar una sonda fina que en su extremo distal contenía una pequeña pieza metálica de 10-12 g, de manera que por gravedad permitía avanzar la sonda a lo largo del tubo digestivo traspasando el píloro. Esto marcó un hito, iniciándose así lo que sería la NE propiamente dicha (Álvarez Hernández y col., 2006).

Realmente el uso de sondas y el desarrollo de las bombas de infusión tuvieron su momento de mayor desarrollo en la primera mitad del siglo XIX en Inglaterra, pero estos avances metodológicos no fueron muy difundidos. Fue a comienzos del siglo XX en EE.UU., cuando diseños de sondas como los de Einhorn permitieron avanzar en el uso clínico de la NE. Las dos grandes dificultades en el desarrollo inicial de la NE estuvieron siempre relacionadas con los accesos digestivos y las fórmulas empleadas (Álvarez Hernández y col., 2006).

Merece la pena destacar el esfuerzo de diferentes cirujanos por diseñar técnicas que permitieran establecer accesos digestivos seguros, tales como gastrostomías, yeyunostomías etc., en la primera mitad del siglo XX (Stengel y Ravdin, 1939), o la utilización de sondas de doble luz que permitían infundir por una luz la FE y extraer el contenido gástrico por la otra. El análisis de los resultados de estas nuevas técnicas arrojó datos muy satisfactorios, habiendo reducido la mortalidad de los pacientes desnutridos cuando se comparaban con pacientes tratados con NPT en similares procesos (Bengmark y Ortiz de Urbina, 2004). Luego se describe el uso de sondas más flexibles de poliuretano, que emplean bombas de infusión, y se

diseñó una modificación de la sonda habitual colocando una pieza de mercurio en el extremo distal, facilitando con ello su colocación y su uso clínico (Fallis y Barron, 1952; Barron, 1959).

En la búsqueda de accesos digestivos más permanentes, seguros, con técnicas mínimamente invasivas, Ponsky realizó la primera Gastrostomía Endoscópica Percutánea, abriendo muchísimas posibilidades. Esta técnica fue depurada en los últimos años, potenciándose en paralelo su realización mediante control radiológico, evitando la endoscopia (Bengmark y Ortiz de Urbina, 2004).

Paralelamente al desarrollo del equipamiento, en la segunda mitad del siglo XX, los avances en el conocimiento de la fisiología relativa a los requerimientos energético-proteicos y el desarrollo de la “bioquímica alimentaria” con el conocimiento del papel de determinados nutrientes permitieron mejorar el diseño de nuevas fórmulas químicamente definidas, pudiendo demostrar su eficacia en los estudios con animales de experimentación inicialmente y posteriormente en voluntarios sanos y pacientes (Randall, 1970). Relacionado a esto, otro hito histórico fue el papel fundamental que tuvo el desarrollo de las primeras FE para alimentar a los tres primeros astronautas que pusieron un pie en la luna en 1969. Armstrong, Aldrin y Collins fueron alimentados durante este viaje espacial con una dieta elemental o químicamente definida (Álvarez Hernández y col., 2006). Sin embargo, y a pesar de todos estos avances, la eclosión de la NE ha tenido lugar en los últimos 20 años. Incluso, el uso del concepto alimento-medicamento, con las implicaciones administrativas y legales que tiene esta terminología es muy reciente (De Luis y col., 2006). Hoy en día, han sido ampliamente reconocidas las ventajas de la NE (Bengmark y Ortiz de Urbina, 2004) y se hace cada vez más hincapié en que ésta sea aplicada lo más rápido posible, aún en el perioperatorio, siendo esto debido en gran parte, a los trabajos publicados por Moore y col. (1991) y por Kudsk y col. (1992).

I.1.2. Definición

La NE es la administración a través de cualquier nivel del tubo digestivo (incluyendo la vía oral) de formulaciones de nutrientes especiales, llamadas FE, las cuales recibe el individuo, por lo general, a través de una sonda de alimentación (Martínez González y col., 2001). El objetivo principal es reducir la morbilidad y mortalidad asociada a la malnutrición, mediante el suministro de nutrientes adecuados y de manera oportuna (Mahan y col., 2012).

I.1.3. Indicaciones

La NE está indicada en aquellos pacientes que no pueden, no deben o no quieren ingerir una alimentación convencional por distintos motivos, pero deben presentar una indemnidad anatómica y funcional del aparato digestivo, suficiente para: recibir el alimento a través de la sonda, hacerlo progresar mediante peristalsis, digerirlo y absorberlo (Nisim y Allims, 2005). Verdaderamente, ésta es la condición *sine qua non* que limita el uso de la NE.

No es imprescindible tener el tubo digestivo totalmente funcional, solamente con mantener una mínima actividad funcional de intestino delgado con capacidad absorbente se podría intentar instaurar la NE como medida de soporte nutricional. Es muy importante conocer cuál es la situación de la enfermedad de base del paciente, ya que en la mayoría de los casos, ella misma o los tratamientos requeridos son los que limitan esa mínima funcionalidad digestiva imprescindible para el uso de la NE (Álvarez Hernández y col., 2006).

Algunos clínicos siguen creyendo que es imprescindible escuchar ruidos hidroaéreos intestinales para poder iniciar la NE. Sin embargo, hoy se sabe que esta condición no es requerida. Por ejemplo, el uso de NE en el íleo paralítico, que se caracteriza por la ausencia de ruidos, ha sido considerado en el pasado como una medida contraindicada. Es muy importante conocer las áreas de intestino que están afectadas. La presencia de estabilidad hemodinámica con un abdomen blando, no distendido son indicadores de una potencial seguridad en la utilización clínica de la NE (Rubio, 1997).

Otro hecho importante en la selección de pacientes es el período supuesto de ayuno al que está siendo sometido o se prevé sea sometido. Períodos superiores a 5-7 días para pacientes desnutridos y mayores de 7-9 días para los normonutridos, les sitúan como claros candidatos a la NE. En pacientes bien nutridos, en los cuales el tracto digestivo es funcional, pero la ingesta oral es limitada, es una práctica habitual mejorar la ingesta oral a través de seleccionar mejor los menús diarios o complementar la dieta con suplementos dietéticos. Lamentablemente, muchos de estos esfuerzos para mejorar la ingesta oral fracasan y el paciente puede sufrir un deterioro nutricional progresivo. Si tras 7-10 días, el sujeto consume menos del 50% de sus requerimientos diarios y ya se han intentado todas las medidas posibles para mejorar su ingesta oral, estaría indicada la NE (Mabaharn y col., 1991).

Entonces, las indicaciones de NE pueden clasificarse de la siguiente manera (Mahan y col., 2012; Cervera y col., 1999; Arenas Márquez y Anaya Prado, 2007):

- *Situaciones que impiden que la persona por sí misma tome la alimentación oral:* accidentes cerebro-vasculares (trombosis, hemorragia, embolia), lesiones degenerativas neurológicas (esclerosis múltiple, esclerosis lateral amiotrófica, etc.), tumores del sistema nervioso central, trauma del sistema nervioso central, infecciones neurológicas (meningitis, etc.), lesión de la espina dorsal con cuadriplejía, polineuritis, distrofia muscular, miastenia grave, lesiones en miembros superiores que impidan tomar los alimentos.
- *Situaciones que afectan a la boca o al tracto digestivo alto e impiden parcial o totalmente o contraindican el paso de nutrientes por esta vía a las demás porciones del sistema digestivo:* neoplasias (orofaríngeas, del esófago, del estómago, del duodeno, del páncreas), trauma de la cara, de la orofaríngea, del esófago, del estómago, del duodeno, del páncreas o de las vías biliares; en obstrucciones benignas del esófago o del duodeno; trastorno funcional en la deglución, en el esófago o en el estómago y casos de fistulas del tracto digestivo alto: esófago y duodeno.
- *Anorexias graves: de origen orgánico o psíquico:* anorexia neoplásica, anorexia nerviosa (en situaciones críticas), anorexias post-irradiación (por neoplasias) y en pacientes con depresión grave.
- *Pacientes con necesidades nutricionales elevadas que no pueden satisfacerse:* quemaduras graves, pacientes politraumatizados, principalmente con fracturas abiertas e infectadas y otros estados hipercatabólicos, como la sepsis.
- *Enfermedades digestivas de tipo quirúrgico:* postoperatorios de cirugía gástrica o esofágica, donde la alimentación se realiza a través de sonda de yeyunostomía; en obstrucción esofágica (por cáncer o por estenosis tras ingestión de cáusticos), la alimentación es mediante sonda de gastrostomía; fistulas entero-cutáneas y dehiscencias de sutura postquirúrgica, en resección intestinal; tras 15 a 30 días de nutrición parenteral y algunos preoperatorios.
- *Período supuesto de ayuno al que será sometido el paciente:* periodos superiores a 5-7 días para pacientes desnutridos y mayores de 7-9 días para los normonutridos.

1.1.4. Equipamiento

1.1.4.1. Sondas nasointerales:

Se han utilizado distintos tipos de materiales en la elaboración de las sondas nasointerales, intentando buscar siempre que sea atóxico, blando, flexible, que no irrite la parte del tracto digestivo con la que esté en contacto, y que no se deteriore o corra por los jugos gástrico o intestinal. Desde el cristal, hasta la silicona, se puede destacar el polivinilo, el caucho, el látex y el poliuretano. En la actualidad, los dos materiales que se consideran más adecuados son la silicona y el polivinilo, por cumplir con todas las condiciones requeridas (Martínez Costa y Pedrón Giner, 2010).

El diámetro y la longitud de las sondas son variables y su selección dependerán de las necesidades de cada paciente (punto de administración de la NE más adecuado, patología base del paciente, tipo de FE a utilizar etc.). El diámetro de las sondas es calibrado en unidades French (1 French = 0,33 mm). En la actualidad existen sondas de calibres entre 5 y 14 French (Figura I.1). Cuanto mayor es el calibre, más facilidad se tendrá para administrar la NE, pero también podrá suponer mayores incomodidades para el paciente. Las más utilizadas son de calibre 5 y 8 en pediatría, y 8 y 12 en adultos. Respecto a la longitud, en los niños se utilizan sondas de 38-56 cm y en los adultos de 70-100 cm para la administración a estómago y de 105-145 cm para la administración postpilórica (Arenas Márquez y Anaya Prado, 2007; Sánchez Sánchez y col., 2003).



Figura I.1: Sonda para nutrición nasointeral

El fiador es un elemento metálico colocado en la luz de la sonda, de gran ayuda en el momento de la colocación de la misma por la rigidez que le imprime. Tiene una punta roma para evitar perforar la propia sonda o dañar el tubo digestivo al poner la sonda y suele ser de acero inoxidable. Casi todas las sondas nasointerales llevan incorporado un fiador de estas características. Después de colocada la sonda, el fiador debe ser retirado para permitir el uso adecuado de la misma (Minard, 2001).

Los extremos de las sondas tienen también distintas características. Existen sondas con uno o dos orificios de entrada y diferentes conexiones. Los dobles orificios permiten la administración independiente y concomitante de nutrientes, agua y fármacos sin necesidad de desconectar la fórmula enteral. En el extremo distal, hay que considerar la forma, los orificios de salida y dispositivos que puedan contener. Así, existen sondas con uno o varios orificios. Las sondas con un gran orificio de salida o con varios laterales y escalonados son las que menos problemas de obstrucción presentan (Mesejom y col., 2005).

Algunas sondas incorporan en su extremo distal un lastre de tungsteno con la intención de facilitar el paso postpilórico. Sin embargo, actualmente la mayoría de las sondas presentan el extremo distal lubricado (con lubricante hidrosoluble o autolubricadas) y unas marcas de posicionamiento cada 20 ó 25 cm que permiten una colocación menos molesta para el paciente. Además, son radiopacas y más precisas (Stroud y col., 2003).

I.1.4.2. Sondas de ostomía:

Cuando no es posible el acceso nasointeral o se prevé la necesidad de soporte nutricional por un periodo superior a 4 semanas, se puede realizar una ostomía que permita dicho acceso (Bengmark y Ortiz de Urbina, 2004).

En las gastrostomías quirúrgicas, se recomiendan sondas de silicona, con tope externo y doble entrada con tapones incorporados. Habitualmente, tienen un diámetro entre 16 y 24 French. Actualmente, se descartan las clásicas sondas de látex o PVC (Foley, Nelaton o Petzer) porque se deterioran muy fácilmente por la acción de los jugos gástricos, obligando a un recambio frecuente (Álvarez Hernández y col., 2006).

Las sondas utilizadas en las gastrostomías radiológicas o endoscópicas son todas de silicona entre 15 y 22 French y presentan orificio de entrada, tapones incorporados, tope interno, tope externo y orificio de salida (Figura I.2.a). Algunas de estas sondas consideradas de reposición tienen modificado su extremo distal, incorporando un balón interno. Por último,

existe un grupo de sondas llamadas de bajo perfil tipo botón, que por su estructura distorsionan menos la imagen corporal del paciente (Figura I.2.b). Constan de un tapón y un pequeño soporte externo, visible en el exterior de la piel, que es realmente el único dispositivo que se le nota al paciente. La parte introducida en el interior del abdomen del paciente es el extremo distal. Además, tienen incorporado un elongador independiente para el momento de la administración de la NE (Gómez y col., 1997).

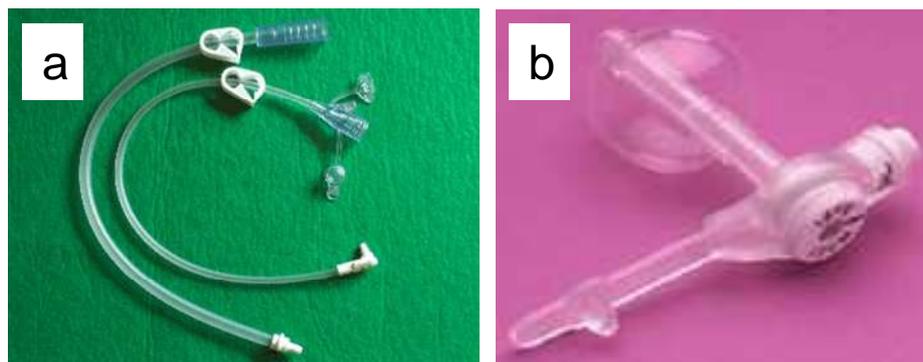


Figura I.2: Sonda para ostomía (a) y sonda de bajo perfil o tipo botón (b).

En las yeyunostomías percutáneas, se utilizan sondas similares a las anteriores que se introducen por la luz central de las sondas de gastrostomía (Riobó y col., 2001). Las yeyunostomías a catéter fino tienen la ventaja de ser consideradas técnicamente “mínimamente invasivas”. Hasta ahora, son de muy pequeño calibre (6-7 French) y su mayor inconveniente es el alto índice de obstrucciones (Guenter y col., 1997). Sin embargo, recientemente ha sido comercializada una sonda para yeyunostomía con un calibre mayor, que probablemente reducirá estos inconvenientes que limitan su utilización en la actualidad (Álvarez Hernández, 2006).

I.1.4.3. Contenedores, nutrilíneas y bombas

Los contenedores (Figura I.3.a), las nutrilíneas y en ocasiones las bombas son parte de los equipos necesarios para administrar la NE. Se entiende por contenedor el recipiente en el que se introduce la dieta, en general de material plástico y transparente. Existen fórmulas que se presentan desde fábrica con su contenedor. Todos los contenedores deben contar con un sistema que permita identificar fácilmente los volúmenes administrados. En los primeros años del desarrollo de la NE se propició el uso de los contenedores por la necesidad de emplear en

gran medida combinaciones modulares para el tratamiento de cada paciente específico. Hoy en día se recomienda la utilización directa de los envases que vienen de fábrica, ya que la oferta de volúmenes es muy amplia, por su comodidad, disminución de manipulación y ahorro de costos. En caso de utilizar los rellenables, nunca se mantendrá el mismo contenedor en períodos superiores a 36-48 horas (Riobó y col., 2001). Hace unos años, cada casa comercial presentaba sus nutrilineas específicas para los equipos y contenedores de sus FE comerciales. En la actualidad, se disponen de sistemas de infusión universales adaptables a los diferentes contenedores habilitados para NE e intercambiables entre diferentes casas comerciales. Habitualmente se recomienda el recambio de los sistemas cada 24-48 h, pero la realidad es que si se cuida la higiene y conservación del mismo, es posible prolongar su uso por un periodo de tiempo superior (entre 5 y 7 días) (Álvarez Hernández y col., 2006). Las nutrilineas universales (Figura I.3.b) constan de un dispositivo proximal polyvalente para adaptar a las botellas (cuello estrecho o ancho), pack, contenedores etc., cámara de goteo incorporada y llave reguladora. La línea que constituye el segmento intermedio es de PVC transparente. Estos sistemas permiten administrar de forma continua o intermitente la NE por gravedad. Modificaciones específicas de los mismos, que incorporan las adaptaciones técnicas necesarias, facilitan su utilización mediante bombas de infusión.

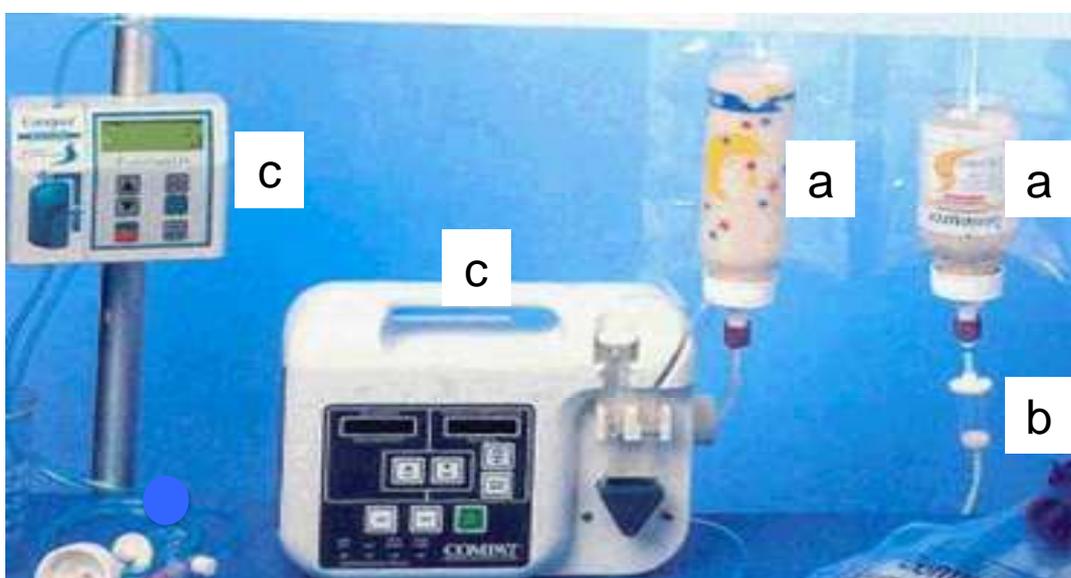


Figura I.3: Contenedores (a), nutrilineas (b) y bombas de infusión (c) utilizadas en nutrición enteral.

En algunas ocasiones, cuando se hace imprescindible el control estricto de infusión como en casos de administración a yeyuno o en pacientes intubados, sedados, o con riesgos

de broncoaspiración, en los que es imprescindible evitar el aumento de presión intragástrica, se hace necesario la ayuda de las bombas de infusión (Minard, 2001).

Las bombas (Figura I.3.c) no volumétricas son conocidas como controladoras de gotas. Su mecanismo de control se trata de una pinza situada en el interior del aparato, donde se acopla una parte del segmento intermedio de una nutrilínea convencional. La pinza ejerce en este punto una determinada presión en función de la información que le transmite un sensor colocado en la cámara de goteo y que está en relación con el número de gotas por minuto programado.

Las bombas volumétricas funcionan mediante una serie de impulsos, cada uno de los cuales moviliza un volumen conocido de líquido contenido en una zona especial de la nutrilínea. Según el flujo en mL/h que se programe, variará el número de impulsos por unidad de tiempo. En este grupo se encuentran las bombas de jeringa, las peristálticas, las de pistón o las de cámara.

En general, las bombas deben presentar unas condiciones mínimas: ser estrictamente seguras; tener una batería que le permita unas horas de autonomía (al menos 8 h); ser precisas (se admiten variaciones alrededor del 10% del volumen programado); debe contener alarmas visuales y acústicas graduales (de obstrucción, fin de perfusión, batería baja y fugas); memorias que permitan programar el volumen total y el perfundido a tiempo real; deben ser de fácil manejo, con símbolos e indicaciones en el lenguaje del usuario; tamaño pequeño y peso liviano; con sistema de mantenimiento eficaz y rápido; silenciosas y baratas (Vanek, 2002).

I.1.5. Vías de acceso para nutrición enteral

Durante los últimos años, las técnicas y los materiales relacionados con la administración de la NE se han desarrollado de tal forma que han permitido ampliar las indicaciones de ésta y reducir sus complicaciones (Mora, 2002). Esta innovación constante no sería posible sin los avances en el conocimiento de la fisiología digestiva. La investigación básica en este campo ha permitido profundizar en los mecanismos básicos de la motilidad digestiva, la secreción enzimática y hormonal, la absorción y la utilización metabólica de los nutrientes de la dieta. La estimulación y la inhibición de cada uno de estos procesos están íntimamente relacionadas con las características propias de la dieta, el modo de administración y la vía de acceso del tracto digestivo. La administración de la NE por una vía

distinta a la fisiológica implica una utilización menor de las funciones propias del tramo digestivo previo al lugar de acceso y, además, requiere que el nivel accedido se adapte a la llegada de la dieta para asegurar el aprovechamiento óptimo de los nutrientes (Morera y Banqué, 2001).

Las vías de acceso más utilizadas para la administración de NE pueden clasificarse en (Waitzberg y col., 2000) (Figura I.4):

- Vía oral
- Sondas nasoentéricas: colocadas a través de la nasofaringe (nasogástrica: SNG, nasoduodenal: SND, nasoyeyunal: SNY).
- Ostomías: accesos a través de la piel por vía quirúrgica (gastrostomía: GO, yeyunostomía: YO), endoscópica (gastrostomía endoscópica percutánea: GEP) o radiológica.

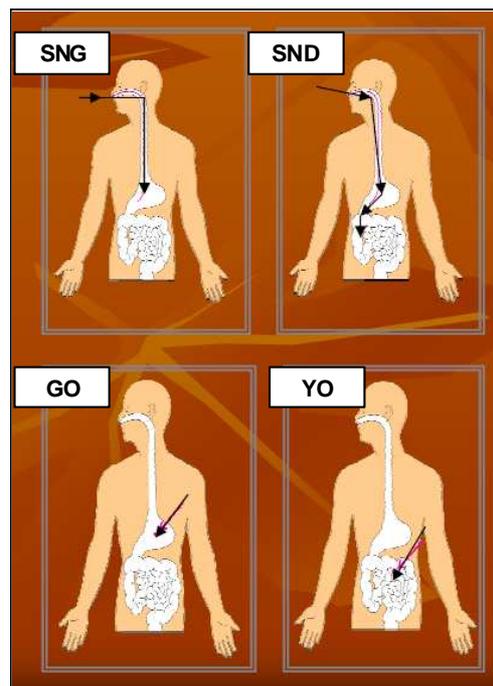


Figura I.4. Vías de acceso para nutrición enteral.

Siempre se debe priorizar el acceso oral o mediante sonda al estómago, ya que es más fisiológico. Sin embargo, hay que considerar la posibilidad de brocoaspiración en algunos pacientes, en los que el acceso postpilórico puede reducir este riesgo. Una ventaja destacable del acceso yeyunal es que permite iniciar la NE de forma precoz en un postoperatorio inmediato (Riobó y col., 2001).

La administración de la NE por vía oral exige tener un tracto digestivo funcionando y un nivel de conciencia adecuado, con una función deglutoria conservada. Por esto, todos los pacientes que presenten deterioro del nivel de conciencia o algún grado de disfagia serán candidatos a la utilización de otros accesos digestivos (gástrico, duodenal o yeyunal). Por último, los accesos postpilóricos y los yeyunales también exigen tener una mínima funcionalidad del intestino delgado, y se indican en los pacientes que tienen limitado su uso gástrico. En general, siempre se utilizará el acceso digestivo a estómago y sólo en caso de contraindicación de utilización de esta vía, se utilizará el acceso a intestino delgado (Álvarez Hernández y col., 2006).

En resumen, para escoger la vía de acceso más adecuada debe tenerse en cuenta el tiempo previsto de nutrición enteral, el estado del tubo digestivo, el tramo más indicado de acceso y el riesgo de broncoaspiración del contenido gástrico (Sauret, 1999). En la Figura I.5 se muestra un algoritmo para la selección de la vía de administración de NE en pacientes que no pueden utilizar la vía oral.

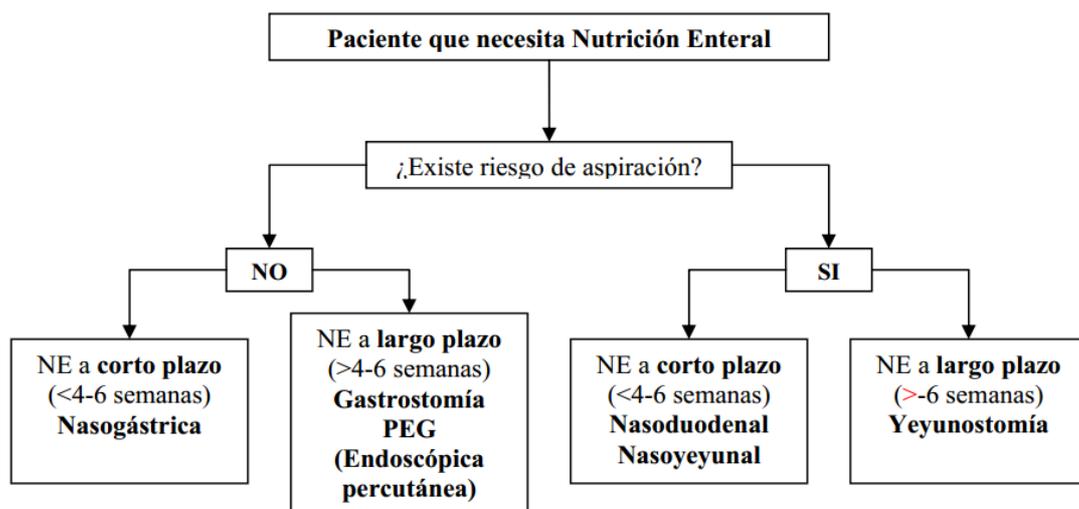


Figura I.5: Selección de la vía de administración de NE.

I.1.5.1. Vía oral:

El soporte nutricional se administra por la boca, dado que es la vía más fisiológica porque respeta la progresión normal de los nutrientes a través de todo el tracto gastrointestinal. Requiere colaboración por parte del paciente, que éste se encuentre en una situación estable y con reflejos de deglución conservados. Para ello, las FE a utilizar deben de

tener un sabor y olor agradable. Dichas fórmulas podrán emplearse como un aporte nutricional suplementario o total (Álvarez Hernández y col., 2006).

I.1.5.2. Sondas nasogástricas:

Dentro de este tipo de acceso para NE se encuentran las siguientes vías: nasogástricas, nasoduodenal y nasoyeyunal (Minard, 2001).

En la vía nasogástrica, el tubo ingresa por la nariz y su extremo se localiza en la cavidad gástrica. Esta vía de acceso usualmente es usada cuando se requerirá corto tiempo (menos de tres meses) (Mora, 2002), pero en algunos casos puede ser usada por algunos años (Sauret y col., 1999). Las SNG constituyen el método más económico, sencillo y común de acceso enteral a corto plazo y pueden ser colocadas en la cama del paciente. Siempre debe corroborarse la correcta colocación mediante radiografías antes de usarse, para evitar complicaciones (Sofferman y col., 1990). Las contraindicaciones absolutas de la nutrición por vía nasogástrica incluyen: obstrucción del tubo digestivo, intolerancia a la nutrición gástrica o reflujo gastroesofágico (Rodríguez y Planas, 2005). Las contraindicaciones relativas están referidas a aquellos pacientes con traumatismo facial o craneal, ya que la sonda puede pasar de manera inadvertida a través de la lámina cribiforme hasta el cráneo. En cuanto a las várices esofágicas, se debe tener especial cuidado al momento de la colocación, y la extracción de la sonda debe ser lo más pronto posible para evitar causar sangramiento y rotura de las várices (Spain y col., 1995). La morbilidad relacionada con las SNG para NE incluyen: traumatismo de la mucosa durante la inserción causando sangramiento, parálisis de las cuerdas vocales, irritación nasal con erosión de la piel de la nariz o el tabique, rinorrea, sinusitis y otitis media, lesión pulmonar por colocación incorrecta, obstrucción de la sonda, ulceraciones o perforación de laringe, faringe, esófago y estómago, reflujo gástrico con aspiración y neumonía, etc. (Arenas Márquez y Anaya Prado, 2007). Entre las ventajas de las SNG se encuentran: fácil inserción y cuidado a un costo relativamente bajo. Por otra parte, el estómago constituye un gran reservorio y puede tolerar alimentación intermitente, lo cual es más conveniente y representa una excelente alternativa sobre todo para pacientes ambulatorios. Las desventajas están relacionadas con la incomodidad de los pacientes, retiro inadvertido de la sonda y el riesgo de complicaciones. No obstante, este riesgo es bajo, constituyendo el acceso central temporal preferido en la mayoría de los pacientes (Mesejom y col., 2005).

En cuanto a la vía nasoduodenal y nasoyeyunal, la sonda pasa a través del estómago y permite administrar nutrición postpilórica (Sauret y col., 1999). Dicha sonda puede ser colocada manualmente durante una laparotomía o en la cama del paciente, ya sea por vía endoscópica o guiada por fluoroscopia. En un paciente sometido a laparotomía por otras razones, la sonda de nutrición puede colocarse vía nasal hasta el estómago y luego el cirujano puede manipular la sonda a través del píloro y llevarla hasta el duodeno o yeyuno (Spain y col., 1995). Se han descrito varias técnicas para facilitar la colocación transpilórica de las sondas, pero el método de paso espontáneo de las sondas desde el estómago hasta el intestino delgado rara vez se realiza con éxito. Las indicaciones para nutrir a través de sondas nasoentéricas están dadas por la incapacidad de los pacientes para ingerir cantidades adecuadas de alimentación oral y en los pacientes que no toleran la nutrición gástrica, o tienen alto riesgo de reflujo gastroesofágico y aspiración (Waitzberg y col., 2000). Entre las contraindicaciones están: la obstrucción del tubo digestivo, la intolerancia a la nutrición en el intestino delgado y los pacientes inestables hemodinámicamente. La NE requiere de una adecuada circulación en el intestino delgado, y las demandas para la circulación aumentan durante la nutrición (Martínez Costa y Pedrón Giner, 2010). Como ventaja, se presenta el hecho de que disminuye el riesgo de reflujo y broncoaspiración. Presenta algunas desventajas como la incomodidad del paciente, el retiro inadvertido de la sonda, la obstrucción frecuente de la sonda, la incapacidad para verificar el residuo o administrar bolos y los costos de inserción. Sin embargo, la colocación de sondas nasoentéricas es uno de los métodos de acceso enterales utilizados con mayor frecuencia (Arenas Márquez y Anaya Prado, 2007).

I.1.5.3. Ostomías:

Para la realización de las ostomías aferentes con la finalidad de nutrir o de descomprimir, se puede acceder al tubo digestivo en 3 zonas: la faringe (faringostomía), el estómago (gastrostomía) y el yeyuno (yeyunostomía). La sonda ingresa por una apertura del tracto gastrointestinal comunicada a la piel (ostomía), buscando intencionalmente un acceso a la luz del aparato digestivo (Pereira y García-Luna, 2004). De estos tres accesos comúnmente elegidos, el faríngeo es el menos común y las indicaciones específicas de cada uno de ellos a menudo se superponen (Vanek, 2003). La colocación de la sonda de alimentación puede ser por implantación radiológica, endoscópica o por cirugía a la pared abdominal (Duurán Prada, 2012).

Estas ostomías pueden ser primarias, cuando el objetivo es sólo administrar alimentos, o complementarias, durante el curso de una laparotomía. Dependiendo de la duración estimada de la nutrición, las enterostomías serán permanentes o temporales. Se considera permanente cuando se prevé su necesidad por más de 6 meses (Abdel-Lah Mohamed y col., 2006).

Las ostomías proximales están indicadas en trastornos neurológicos, disfagias orgánicas, enfermedades crónicas, rechazo a la nutrición oral, requerimientos nutricionales prolongados, nutrición postoperatoria y traumatismos maxilofaciales. Se recomienda una yeyunostomía cuando existe el problema de aspiración, motilidad gástrica inadecuada, reflujo gástrico severo, etc. (Yokohama y col., 2009).

La comodidad de los pacientes es una ventaja sobre las sondas nasales. No irrita el pasaje nasal, el esófago o la tráquea, ya que estas vías quedan libres. Requiere menos cuidado diario, y puesto que usa una sonda más grande, se puede administrar alimentación más viscosa, disminuyendo el riesgo de oclusión de la sonda. Otro punto importante a tener en cuenta es que la ostomía puede quedar oculta, por lo que no se estigmatiza al paciente desde el punto de vista psicológico (Duurán Prada, 2012).

En cuanto a las desventajas, se cuenta la posible irritación de la piel o infección alrededor del sitio de la ostomía (Pereira y García-Luna, 2004).

Si bien las técnicas quirúrgicas han sido ampliamente utilizadas, en la actualidad han sido desplazadas por las técnicas endoscópicas que presentan menor morbilidad y costos (Vanek, 2002). La técnica de la gastrostomía endoscópica percutánea (GEP) fue descrita por primera vez en 1980 por Gauderer y col., y desde ese momento se ha convertido en la técnica de acceso a largo plazo utilizada más a menudo. Se han descrito tres técnicas diferentes, pero de los estudios publicados, comparando las diferentes técnicas de GEP, se puede concluir que no hay ninguna que sea claramente superior (Kozarek y col., 1986; Choudhry y col., 1996; Delege y col., 1995).

Las principales contraindicaciones para colocar la GEP incluyen: incapacidad para pasar el endoscopio debido a obstrucción faríngea o esofágica, o falta de transluminación adecuada de la pared abdominal, causada por obesidad (Yokohama y col., 2009). La ascitis, presencia de catéter intraabdominal y cirugías abdominales previas también han sido consideradas como contraindicaciones (Duurán Prada, 2012).

Si se compara con la gastrostomía quirúrgica, las ventajas de la GEP incluyen: disminución de los costos, se evita el uso de anestesia general (aunque la gastrostomía quirúrgica puede realizarse con anestesia local), recuperación rápida y posibilidad de iniciar la alimentación inmediatamente después del procedimiento (Gottrand y Sullivan 2010).

Por último las técnicas radiológicas son una variante de las endoscópicas. En este caso la punción se hace por fluoroscopia, previa insuflación del estómago con aire. Es un procedimiento considerado seguro, eficaz, rápido de realizar (aproximadamente 15 – 20 minutos), sin precisar anestesia general y realizándose incluso de forma ambulatoria. Las principales indicaciones se centran en la imposibilidad de paso del endoscopio, con independencia de su origen y en la imposibilidad de transiluminación, siendo las demás indicaciones similares a la endoscopia (Engel y col., 2003).

I.1.6. Métodos de administración de la nutrición enteral:

La NE se puede administrar de forma intermitente (bolos), es decir alternando periodos de infusión con otros de reposo digestivo, de una manera parecida a los periodos de ingesta y ayuno que existen en la alimentación oral; o mediante una perfusión continua, sin interrupción, a lo largo de todo el día o durante un determinado número de horas. Por su condición de reservorio, sólo el estómago admite cualquiera de las dos modalidades. En cambio, debido a su capacidad de distensión muy limitada, el intestino delgado no tolera el aporte de volúmenes elevados en periodos cortos de tiempo, por lo que la administración de la NE en esa zona debe realizarse siempre de modo continuo (Arenas Márquez y Anaya Prado, 2007).

I.1.6.1. Administración en bolo:

Imita el patrón de alimentación normal basado en la edad y es el método deseable para nutrición ambulatoria. La FE se infunde mediante goteo, gravedad, jeringa o bomba de infusión. Permite libertad entre horas de alimentación y se requiere equipo mínimo. Los bolos deben ser infundidos en un período de 15 a 20 minutos o mayor tiempo (45 minutos -1 hora). Las tasas óptimas de infusión no deben ser mayores de 30 mL/minuto. Puede ser poco tolerado y en pacientes críticamente enfermos puede incrementar el riesgo de reflujo, distensión, emesis y diarrea (Nallely López, 2010).

Las ventajas de este método sobre la administración continua es que permite mayor movilidad del enfermo, es menos costosa y es similar a la alimentación normal. Una desventaja es que hay mayor riesgo de aspiración (Arenas Márquez y Anaya Prado, 2007).

I.1.6.2. Administración continúa:

Se emplea en la transición de NPT y la alimentación oral voluntaria fraccionada, en pacientes con alteraciones anatómicas y/o funcionales del tracto digestivo, como primera fase terapéutica en trastornos de digestión, absorción, metabolismo o excreción de los nutrientes. La alimentación se infunde a una velocidad constante, administrada generalmente mediante bomba de infusión, por tiempo prolongado con menos de 8 horas de descanso intestinal o bien, infundida en 24 horas. El gasto energético debido al efecto térmico de los alimentos es menor en alimentación continua que por medio de bolos. Puede ser benéfica cuando es utilizada en pacientes con malabsorción, ya que permite frenar el peristaltismo intestinal, normalizar el tránsito digestivo y consigue apertura continua del píloro, sin reserva detectable del quimo en el estómago, lo cual disminuye las secreciones salival, gástrica, biliar, pancreática y la secreción de hormonas gastrointestinales, dando como resultado disminución de la inflamación, mejoría de la digestión y absorción, favoreciendo una recuperación más rápida de la capacidad funcional de la mucosa y el trofismo de las vellosidades intestinales. Conlleva a menor malestar gastrointestinal y promueve una mejor absorción (Nallely López, 2010).

Se administra de 40 a 60 mL/hora como máximo, durante 18 a 21 horas. Luego se aumenta el ritmo, hasta 50 a 100 mL/hora durante 18 a 24 horas. Las FE isotónicas pueden iniciarse a una concentración completa, en tanto que las hipertónicas no deben iniciarse a más de la mitad de la concentración. El alimento debe estar a temperatura templada. Inmediatamente después de que el envase haya sido abierto, las FE se deben conservar muy frías para prevenir el crecimiento bacteriano (Mesejom y col., 2005).

I.1.7. Bases fisiológicas de la nutrición enteral

El tubo digestivo tiene como principales funciones transformar y transferir nutrientes desde la luz del intestino al medio interno. Por tanto, sus funciones más conocidas son la digestión y la absorción de nutrientes. Sin embargo, también tiene una función inmunitaria, que ha sido ampliamente estudiada, determinando que el tubo digestivo sea considerado como

un importante órgano inmunitario, que sirve de barrera para evitar la acción y la penetración de toxinas y microorganismos que se encuentran en la luz (Mora y Greene, 1990).

La función digestiva permite transformar los alimentos consumidos en moléculas simples que pueden atravesar el epitelio intestinal, permitiendo su utilización final en el metabolismo. Diferentes procesos fisiológicos actúan para posibilitar esta transformación y el posterior paso al medio interno. La función motora del tubo digestivo, la secreción de enzimas digestivas y la secreción de hormonas son los principales procesos fisiológicos necesarios para tal fin (Kudsk, 1994).

La absorción de nutrientes requiere una mucosa intestinal intacta, y una falla en cualquiera de estos procesos determina una malabsorción que puede terminar en una desnutrición calórico-proteica. Como se describió anteriormente, la posibilidad de utilizar el tubo digestivo para la administración de alimentos o nutrientes a través de la NE depende de la integridad estructural y funcional de dicho órgano.

Se ha postulado que la NE presenta numerosas ventajas con respecto a la NPT (Klein y col., 1999):

- Es más fisiológica, pues conserva la estructura normal y la función adecuada del intestino. También favorece el mantenimiento de una flora intestinal normal y una respuesta inmunitaria adecuada.
- Es más segura, ya que tiene menos complicaciones y las mismas son menos graves.
- Es menos costosa.

Sin embargo en la práctica clínica estas ventajas parecen ser menos claras. (Woodcock y col., 2001). A continuación se relatará una recopilación de los principales estudios al respecto, donde se investigan los beneficios de la NE y se realizan comparaciones de la NE y la NPT.

I.1.7.1. Ventajas del soporte nutricional enteral:

Conservación de la estructura y función normales del tubo digestivo:

Se ha propuesto que la presencia de nutrientes en el intestino (y por tanto la NE) promueve la integridad de la mucosa manteniendo su grosor, estimulando la proliferación de células epiteliales, evitando la atrofia de las vellosidades y favoreciendo la producción de

enzimas en el borde en cepillo y que ciertos nutrientes, como la glutamina y los ácidos grasos de cadena corta, son considerados como sustratos específicos para la mucosa intestinal (McFie, 2000).

En relación a la atrofia de las vellosidades intestinales inducida por la ausencia de nutrientes en la luz intestinal, diferentes estudios en animales han demostrado que la presencia de nutrientes en la luz intestinal constituye un importante estímulo para el crecimiento de las células de la mucosa, y por tanto, previene la atrofia de la misma, pero estos hallazgos aparecen atenuados en seres humanos (Miura y col., 1992). Alpers (2002) publicó un metanálisis sobre la atrofia intestinal como resultado del reposo digestivo en seres humanos, encontrando una disminución del grosor de la mucosa del 10%, comparada con una merma de hasta el 40% en ratas. En una revisión sobre NE en comparación con NPT, Jeejeebhoy (2001) encontró que varios autores no observaron atrofia intestinal en seres humanos que habían sido expuestos a NPT o ayuno. Guedon y col. (1986) evaluaron a través de endoscopia la función intestinal de siete pacientes después de 21 días de NPT, sin encontrar atrofia intestinal, pero comprobando una notoria disminución de la actividad de las enzimas del borde en cepillo de la mucosa. Pironi y col. (1994) encontraron importantes alteraciones morfológicas de las vellosidades intestinales después de 2 a 3 meses de NPT. Sedman y col. (1995) estudiaron a 28 pacientes que habían recibido NPT perioperatoria por un mínimo de 10 días, sin consumo oral ni enteral y no hallaron atrofia de las vellosidades.

Por lo descripto arriba, parecería que la atrofia de la estructura intestinal no se halla relacionada únicamente a la ausencia de nutrientes en la luz intestinal. Martínez Faedo y col. (2005) propusieron que la NE también promueve la integridad funcional de la mucosa, estimulando el flujo sanguíneo hacia el intestino y la producción y liberación de una variedad de agentes endógenos (gastrina, bombesina, colecistoquinina y sales biliares), y que la atrofia de la mucosa intestinal estaría relacionada con la disminución de estas hormonas. Un estudio realizado en 26 pacientes tras resección hepática masiva, parece confirmar esta hipótesis al observar que los parámetros endógenos antes descriptos se mantienen más elevados en pacientes con NE, que en los tratados con NPT, lo que se relacionó con una menor atrofia de vellosidades intestinales (Shirabe y col., 1996).

Por otro lado, en relación al adecuado funcionamiento del tubo digestivo, Burrin y col. (2003) demostraron en animales, que la NPT produce disminución de la digestión de la lactosa y de la absorción de las hexosas en comparación con la NE. En otro estudio en animales, Dudley y col. (1998) investigaron los efectos de nutrientes elementales

administrados a través de NPT y NE sobre el total de proteínas sintetizadas por la mucosa intestinal, encontrando que la síntesis proteica por gramo de mucosa fue mucho menor en los animales alimentados de manera parenteral.

Conservación de la permeabilidad normal del intestino:

El planteo de este beneficio de la NE frente a la NPT se ha basado en que la ausencia de nutrientes en la luz intestinal produce un aumento de la permeabilidad intestinal. Sin embargo, diferentes estudios han demostrado que la sola ausencia de nutrientes en el intestino por un tiempo prolongado no es una causa del incremento de la permeabilidad. Si a la falta de utilización del tubo digestivo se suma una lesión grave, la permeabilidad puede incrementarse. Incluso el grado de permeabilidad está en directa relación con la gravedad de la lesión (Jeejeebhoy, 2001). Así, Ziegler y col. (1988) demostraron una permeabilidad intestinal alterada en pacientes quemados e infectados que recibieron lactulosa, un disacárido no metabolizable y que no es absorbido normalmente a nivel intestinal. Incluso determinaron que el incremento de la permeabilidad era proporcional a una mayor gravedad de la infección. Por otro lado Elia y col. (1987) encontraron que ni la inanición, ni las dietas de muy bajas calorías producían una falla en la permeabilidad intestinal y que debía haber una lesión para que dicha falla se produzca. Welsh y col. (1998) hallaron un incremento significativo de la permeabilidad en pacientes desnutridos. Sin embargo, este aumento estaba relacionado con datos fenotípicos y moleculares de activación de células mononucleares, y con un aumento de la respuesta de fase aguda, por lo que no hubo una relación directa entre el incremento de la permeabilidad y el grado de desnutrición.

Prevención de la translocación bacteriana:

Existe la presunción de que un aumento de la permeabilidad intestinal determinará que moléculas grandes y bacterias puedan atravesar la barrera intestinal. Sin embargo, diferentes estudios en animales y humanos mostraron que estos hechos no siempre son comprobables. Illig y col. (1992) compararon en ratas sometidas a NE y NPT el grado de permeabilidad de la mucosa intestinal y el grado de translocación, observando un incremento de la permeabilidad pero no de la translocación. O'Boyle y col. (1998a y b) estudiaron la permeabilidad intestinal de 43 pacientes mediante la prueba de la lactulosa/ramnosa con el objetivo de determinar si los cambios en la función de la barrera intestinal (evaluados a través de la morfología y la

permeabilidad intestinal) producían translocación bacteriana, y no encontraron diferencias significativas en la incidencia de translocación bacteriana en pacientes con incremento de la permeabilidad intestinal, en comparación con aquellos que tenían permeabilidad normal.

Por otro lado, varios estudios han confirmado un aumento de la permeabilidad de la mucosa, medida por el cociente de excreción urinaria de lactulosa y manitol, inmediatamente después de una cirugía mayor abdominal (Jiang y col., 2003) y en grandes quemados (Peng y col., 2001), lo que se corrige más rápidamente con la administración de NE que con NPT. Sin embargo, no se ha podido relacionar claramente el aumento de la permeabilidad con la aparición de translocación bacteriana, por lo que su significado es incierto.

Impacto inmunológico:

Probablemente, uno de los mayores beneficios del aporte enteral de nutrientes es la preservación de la función inmunitaria del tracto intestinal. Un componente de dicha barrera inmunitaria se denomina tejido linfoide asociado al intestino (GALT, de su sigla en inglés) y es una barrera inmunitaria conformada por un sistema receptor y uno efector. El sistema receptor está representado por las placas de Peyer y las células linfoides mesentéricas. Ambos receptores interactúan con los nuevos antígenos, y esta interacción determina finalmente la migración de nuevos linfocitos desde el conducto torácico hasta el tubo digestivo, fortaleciendo la defensa inmunológica (Arenas Márquez y Anaya Prado, 2007).

Estas células linfoides son consideradas como sistema efector y, entre otras funciones, secretan IgA. Esta inmunoglobulina está presente en gran cantidad en el tubo digestivo. Así, del 70 al 80% de la IgA producida por el organismo es liberada a la luz intestinal. La IgA evita que las bacterias puedan adherirse a las células epiteliales del intestino. Cuando los linfocitos procesan antígenos, quedan programados para combatirlos cada vez que se expongan a ellos (Ottaway, 1991).

La presencia de nutrientes en la luz intestinal, y por tanto la NE, mantienen funcionando adecuadamente al GALT y la cantidad de IgA secretada permite la existencia de una defensa activa. En cambio, la NPT ha sido asociada con disminución del GALT, de linfocitos T y B, y de los niveles de IgA. King y col. (1997), demostraron que la NPT en animales produce rápido descenso de las células del GALT. Estos cambios ya pueden observarse con la falta de uso del tubo digestivo por más de 5 días con NPT o sin ella.

Se ha observado en estudios en animales que la disminución del GALT y la reducción de IgA incrementan la susceptibilidad a infecciones. La disminución de la secreción de IgA y de sales biliares produce cambios en las bacterias, determinando que entren en fase de adherencia, desarrollando tentáculos y favoreciendo su adhesión a la pared intestinal, con la consiguiente translocación (Kudsk, 1994).

Una hipótesis muy interesante ha surgido sobre una inmunidad común para la mucosa del tubo digestivo y la mucosa de las vías respiratorias. Kudsk (2002) relacionó la disminución de IgA en el tracto intestinal con el descenso de dicha inmunoglobulina en la mucosa de las vías respiratorias, con la consiguiente falla del sistema de defensa y el incremento de la incidencia de neumonía en pacientes que no reciben nutrientes por vía enteral.

También se debe considerar la existencia de una inmunidad natural y propia de la mucosa intestinal que se encuentra formada por macrófagos y linfocitos NK. La ausencia de nutrientes en la luz intestinal produce mayor agresión bacteriana a la mucosa, estimulando la inmunidad natural de la misma. Cuando están activos, estos macrófagos producen selectinas y el factor de activación plaquetaria que atraen y programan a nuevos neutrófilos cuando pasan a través de la microcirculación del intestino. Estos neutrófilos programados llegan a la circulación general y pueden localizarse en órganos distantes al intestino, en donde al cabo de una segunda lesión (isquemia, sepsis o shock), se activan generando una exagerada respuesta al estrés y una gran cantidad de oxidantes. Todo esto lleva a hiperinflamación y al síndrome de respuesta inflamatoria generalizada (Bengmark, 2003). Esta diferencia en la respuesta al estrés determina seguramente la principal ventaja de la NE sobre la NPT.

I.1.8. Contraindicaciones:

Las contraindicaciones para el inicio de NE son isquemia gastrointestinal, enterocolitis necrosante, íleo paralítico, megacolon tóxico, vómito o diarrea intratable, íleo paralítico, peritonitis difusa, sangrado de tubo digestivo grave y obstrucción intestinal (Nallely López, 2010).

I.1.9. Complicaciones

La vía enteral es un método eficiente y fisiológico para el aporte de nutrientes. Sin embargo, su uso no está libre de riesgos, y las complicaciones derivadas pueden ser graves, hacer fracasar el método y poner en riesgo la vida de los pacientes. Por lo tanto, es importante una evaluación previa al inicio del tratamiento y un seguimiento estrecho para prevenir la aparición de estos problemas.

Se pueden clasificar las complicaciones de la siguiente manera (Arenas Márquez y Anaya Prado, 2007):

- Complicaciones de las vías de administración: mala posición, migración, obstrucción de la sonda, lesión o perforación de vísceras, infecciones.
- Complicaciones gastrointestinales: diarrea, estreñimiento, cólicos y distensión, disfunción gástrica.
- Complicaciones pulmonares: aspiración respiratoria del contenido gástrico.
- Complicaciones metabólicas: trastornos hidroelectrolíticos, intolerancia a la glucosa.
- Complicaciones infecciosas: contaminación de las fórmulas para nutrición enteral.

I.1.9.1. Complicaciones de las vías de administración:

Mala posición de la sonda:

Puede deberse a una colocación inadecuada, sea por permanecer en el esófago o más allá del píloro, en el caso de las sondas nasogástricas, o quedar en el esófago o estómago para las sondas nasoentéricas.

La existencia de enfermedad previa del tubo digestivo, a veces desconocida, sobre todo a nivel esofágico, o la realización de maniobras bruscas por personal no adecuadamente capacitado pueden producir perforaciones de dicho órgano, que derivan en complicaciones pleurales como neumotórax o hemotórax y empiema, de grave pronóstico. El paso de la sonda a la vía aérea, aunque menos frecuente también es posible.

Como los métodos clínicos tienen una certeza de un poco más de 50%, se han propuesto métodos más sensibles para valorar la posición de la sonda. Como medida de seguridad, se considera importante el uso de sondas radiopacas o el control radiográfico con sustancia de contraste antes de iniciar la NE (Kaerm y Donna, 2001).

Migración:

Las siguientes son las causas más comunes de migración de las sondas: fijación inadecuada, excitación del paciente, cambios de posición, traslados, movimientos antiperistálticos, vómitos, regurgitación (Arenas Márquez y Anaya Prado, 2007).

Se produce en general en dirección cefálica y es más frecuente desde el duodeno o yeyuno hacia el estómago, en sondas nasoentéricas, y desde el estómago hacia el esófago o inclusive a la faringe, en sondas nasogástricas. La fijación correcta de la sonda en la mejilla y su revisión diaria, y el control clínico y radiológico de la sonda, si fuera necesario, son imprescindibles para la prevención (Álvarez Hernández y col., 2006).

Obstrucción de la sonda:

Puede deberse a varios factores, como uso de FE inadecuadas en relación con el calibre de la sonda, coagulación de la misma en la luz de la sonda, uso de comprimidos que no han sido correctamente disgregados, diluidos o ambas cosas, o al lavado insuficiente de la sonda (Gómez Candela y col., 2003).

Las sondas son cuerpos extraños y pueden producir un ataque a las mucosas, ocasionando inflamación y lesión por presión (úlceras), que pueden llegar a evolucionar a perforaciones o fistulas digestivas, afectando las distintas porciones del tubo digestivo por la que pasa (ej: traqueoesofágicas). Estas alteraciones determinan la aparición de infecciones (rinitis, faringitis, otitis). Los factores relacionados con la sonda que facilitan las lesiones son: calibre mayor, material más rígido y la permanencia prolongada (Hammarqvist, 2004).

Las ostomías tienen complicaciones relacionadas con la técnica, con la herida o intraperitoneales. Las técnicas de ostomías pueden generar hemorragias, que son comunes a todas ellas, así como infección de la herida, que puede afectar a los tejidos blandos vecinos. La curación y el control de la herida son fundamentales para evitarlo (Foutch, 1999).

La salida de las sondas gástricas o yeyunales puede provocar paso de la fórmula de alimentación y líquido intestinal al peritoneo, causando una peritonitis. Luego, al haber un trayecto, se producen fistulas digestivas, una de las posibles complicaciones al retirar la vía definitivamente (Gómez Candela y col., 2003).

Una complicación particular de las sondas de gastrostomía endoscópica es el denominado síndrome de la sonda enterrada, o sea, el “enterramiento” de la porción

endogástrica de la sonda en la pared gástrica y abdominal, con una adherencia importante a los planos desde la mucosa gástrica a la piel. La alteración se produce por excesiva presión hacia fuera de la sonda o error de fijación. En el yeyuno, la oclusión intestinal es poco frecuente. Las causas son obstrucción por sondas de calibre excesivo, adherencias peritoneales, o vólvulo de las asas intestinales (Foutch, 1999).

I.1.9.2. Complicaciones gastrointestinales:

Las complicaciones gastrointestinales son frecuentes y muchas veces condicionan la aplicación de la NE, dificultando alcanzar los objetivos nutricionales. En un estudio multicéntrico se encontró que el 42% de los pacientes presentó alguna complicación, siendo las gastrointestinales las más frecuentes (55%) (Gómez Candela y col., 2003). En otro estudio de pacientes quirúrgicos graves, con ventilación mecánica, sólo el 35% de todos los pacientes alcanzó más del 80% de las demandas calculadas, siendo la intolerancia gastrointestinal la causa más frecuente (51%) (Engel y col., 2003).

Diarrea:

Se debe tener en cuenta que el paciente con NE está sometido a un cambio de su régimen habitual de alimentación, por lo que no es extraño que la defecación se vea modificada. En la Tabla I.1 se muestran las principales causas de esta complicación (Arenas Márquez y Anaya Prado, 2007).

Con frecuencia, la respuesta frente a la aparición de diarrea es la suspensión de la NE, cuando en realidad se debe hacer una evaluación profunda y determinar si lo que el paciente tiene es realmente diarrea.

La fibra dietaria y otros carbohidratos no digeribles pueden ser útiles en el control de la diarrea por diferentes mecanismos. Cuando estos componentes alcanzan el colon son fermentados por bacterias anaerobias, generando ácidos grasos de cadena corta, los cuales son un combustible preferencial para el enterocito. Como resultado de la fermentación, hay aumento de la absorción de iones y mayor volumen fecal. Se consideran prebióticos a ciertos carbohidratos no digeribles (como fructooligosacáridos) que son selectivamente fermentados por las bacterias beneficiosas para el hospedador y cuya actividad aumenta con la presencia

de estos productos en la luz intestinal. Estas bifidobacterias contribuyen a disminuir el pH intestinal y la proliferación de bacterias potencialmente patógenas (Spapen y col., 2001)

Tabla I.1: Causas de diarrea en pacientes con nutrición enteral

Relacionadas con el paciente y su enfermedad
<ul style="list-style-type: none">○ Medicamentos (jarabes de alta osmolaridad, antibióticos, antagonistas a receptores H₂, laxantes, magnesio y fósforo).○ Insuficiencia pancreática○ Ayuno prolongado○ Incremento de la motilidad intestinal○ Enfermedad inflamatoria intestinal○ Bacterias, virus y hongos patógenos○ Intestino corto
Relacionadas con la ejecución del plan de NE
<ul style="list-style-type: none">○ Inadecuada selección del método de administración○ Fórmulas con bajo contenido de residuo○ Fórmulas con alto contenido de grasa○ Fórmulas hiperosmolares○ Contaminación microbiana de la fórmula

Frente a un paciente con NE y diarrea, se recomienda seguir los siguientes pasos (Escudero Álvarez y González Sánchez, 2006):

1. No suspender la NE, sino disminuir inicialmente el ritmo de administración o cambiar a aplicación continua si se está administrando por bolos.
2. No iniciar el uso de antidiarreico antes del diagnóstico de la causa.
3. Descartar pseudodiarrea e incontinencia de heces.
4. Revisar el medicamento que está recibiendo el paciente.
5. Tratar la causa si ésta se diagnostica.
6. Considerar el uso de probióticos y mezclas de fibras que contengan prebióticos.

7. Si la diarrea persiste o no permite alcanzar las demandas, considerar la iniciación de NPT complementaria o total.

Estreñimiento:

Las causas principales son:

- Aporte insuficiente de líquidos.
- Aporte insuficiente de fibra.
- Aporte excesivo de fibra con poco líquido.
- Inmovilización.
- Uso de algunos medicamentos (anticolinérgicos, opiáceos, etc).

El aporte insuficiente de líquidos conduce a deshidratación y favorece el estreñimiento, sobre todo cuando se utiliza una FE con fibra que se solidifica en el colon. Si se usa una FE hipertónica, es imprescindible agregar agua adicional (siempre que no haya contraindicaciones por la condición del paciente), lo cual permite además mantener el tubo limpio y permeable. Por otro lado, el aporte insuficiente de fibra conduce a la ausencia de residuos en el colon y a inadecuada propulsión de las heces. La inmovilización física y el uso de pseudoanalgesia continua con opiáceos, también contribuyen al estreñimiento (Mentec y col., 2001).

Por último, cuando el estreñimiento no mejora con las medidas mencionadas, se puede recurrir a la administración de vaselina líquida, que facilita la progresión del bolo fecal, o a sustancias que lo ablanden y a enemas evacuatorios.

Cólicos y distensión:

Los cólicos pueden aparecer al comienzo de la NE, cuando ésta se administra de manera rápida o si se usan fórmulas hipertónicas. Lo mismo sucede cuando hay insuficiencia pancreática y se administra una FE rica en grasa. Estas situaciones se corrigen fácilmente, adecuando el procedimiento de nutrición (Arenas Márquez y Anaya Prado, 2007).

La distensión abdominal es una circunstancia que puede llevar a la suspensión o enlentecimiento de la vía enteral, sobre todo cuando es causada por isquemia intestinal o por peritonitis persistente. Cuando se trata de un paciente grave, la ejecución de la NE es siempre más difícil, debido a que la circulación esplácica está muchas veces afectada y el aporte de nutrientes al tubo digestivo puede agravar la isquemia intestinal y provocar mayor deterioro clínico (Hammarqvist, 2004).

Disfunción gástrica:

Aquí se agrupan las alteraciones que se producen como consecuencia de la mala función gástrica determinada por la enfermedad y es la causa más importante de intolerancia digestiva. La función del estómago, de reservorio y paso, se altera como consecuencia de la afección del sistema nervioso, como traumatismos de cráneo e hipertensión endocraneal, y otras como íleo postoperatorio, peritonitis o abscesos peritoneales cercanos y oclusión intestinal. Otras causas a considerar son las alteraciones metabólicas (hiperglucemia, alteraciones iónicas) o fármacos, como los antiespasmódicos u opiáceos (Napolitano y Bochicchio, 2000).

También se puede deber a causas relacionadas con la NE, como el tipo de FE (hipertónica, exceso de lípidos), contaminación de la misma y la técnica de nutrición. Se considera que se tolera mejor la administración continua que en bolo, y si se administra con bomba que con gravedad. Otro punto es el inicio de la NE de manera progresiva, con volúmenes crecientes. Se han realizado varias propuestas de la frecuencia del aumento del volumen. Los investigadores consideran que lo importante es lograr un método de trabajo único para el tratamiento de los pacientes y mantener un control estricto de los residuos gástricos (Cabre y col., 2006), ya que la disfunción gástrica provoca un vaciamiento gástrico inadecuado, por lo que la mezcla permanece en el estómago e impide nutrir al paciente por esa vía y por otro lado, predispone a la regurgitación y aspiración del contenido gástrico a la vía aérea. El problema fundamental con el tratamiento de la regurgitación es el nivel seguro del volumen residual. En la medida en que el nivel sea menor, más difícil será alcanzar las necesidades nutricionales del paciente; en caso contrario habrá más riesgo de aspiración (Mentec y col., 2001).

I.1.9.3. Complicaciones pulmonares:

Entre las principales complicaciones respiratorias tenemos: la broncoaspiración tras regurgitación o vómito, la formación de fistulas en el yeyuno o esófago en pacientes con traqueostomía a los que se colocó una sonda nasogástrica de cloruro de polivinil, neumonía por aspiración, edema pulmonar y asfixia (Gramlich y col., 2004).

I.1.9.4. Complicaciones metabólicas:

Los pacientes que están en riesgo y que requieren monitorización de los estados hídrico y electrolítico para prevenir alteraciones son aquellos con desnutrición, cardiopatías, hepatopatías y nefropatías. Es importante vigilar datos de sobrecarga hídrica, deshidratación, hipo e hiperkalemia, hipo e hipernatremia, hipo e hiperfosfatemia, hipo e hiperglucemia, hipercapnia, azoemia (Nallely López, 2010). Se debe monitorear el síndrome de realimentación en pacientes que han permanecido por un período prolongado de tiempo en ayuno o con inadecuada ingesta nutrimental, marasmáticos o con pérdida significativa de peso (10% de peso) (Duggan y col., 2008). La rápida introducción de hidratos de carbono en la alimentación resulta en anormalidades metabólicas, hipofosfatemia, hipokalemia e hipomagnesemia. La hipofosfatemia es asociada con alteraciones hematológicas, neuromusculares, cardíacas y respiratorias en casos graves. También se presenta retención hídrica en el síndrome de realimentación debido al efecto natriurético de las concentraciones elevadas de insulina. La expansión súbita del líquido extracelular puede causar descompensación cardíaca en pacientes marasmáticos. Debe vigilarse el estado hídrico, sodio, potasio, magnesio y fósforo sérico hasta que se logre la estabilidad del paciente y se haya progresado en la alimentación (Cabre y col., 2006). La glucemia permanece estable durante la infusión continua, pero puede elevarse con sobrealimentación o como parte de la respuesta al estrés durante enfermedad crítica. En el caso de hipoglucemia, ésta puede ser prevenida con progresión lenta de la velocidad de infusión (Napolitano y Bochicchio, 2000). El síndrome de *dumping* ha sido reportado durante la NE en respuesta a la presencia de nutrientes en el intestino proximal. Está asociado con la velocidad de infusión rápida de fórmulas con elevada densidad energética y puede ser tratado con modificación de la FE, agregando almidón de maíz crudo, o modificando la velocidad de infusión. La hipercapnia puede ser secundaria al aporte de dietas con elevado aporte calórico en forma de carbohidratos. Si produce una sobrecarga ventilatoria, es recomendable el cambio a una dieta de insuficiencia pulmonar, con

menos porcentaje de calorías en forma de carbohidratos y más de grasa, o la valoración, mediante calorimetría indirecta, de la utilización de determinados sustratos (Kreymann y col., 2006).

I.1.9.5. Complicaciones infecciosas:

Contaminación de las fórmulas para nutrición enteral:

La contaminación microbiana de las fórmulas para NE constituye un problema serio capaz de provocar complicaciones graves al paciente. Esto se debe a que la población sometida a NE muchas veces tiene sus defensas inmunológicas afectadas, el mecanismo normal de destrucción bacteriana por acidez gástrica puede estar suprimido por el uso de bloqueadores de protones o esta barrera se saltea en caso de nutrición yeyunal, y por último, puede haber alteraciones en la barrera intestinal. Por otro lado, las FE son un excelente caldo de cultivo para el desarrollo bacteriano (Arenas Márquez y Anaya Prado, 2007).

Las principales complicaciones relacionadas con la contaminación microbiana de las FE son: complicaciones gastrointestinales (diarrea, vómito, distensión abdominal, cólicos), neumonía, sepsis, hospitalización prolongada y aumento de morbi-mortalidad (Cabre y col., 2006).

I.2. FÓRMULAS PARA NUTRICIÓN ENTERAL

I.2.1. Definición:

Las fórmulas para NE son sistemas complejos que deben contener todos los macro y micronutrientes necesarios para el mantenimiento y recuperación de los pacientes (Pérez de la Cruz y col., 2006). En la formulación de dichos alimentos se debe tener en cuenta que estas fórmulas están destinadas, en muchos casos, a pacientes críticos que presentan riesgo nutricional, ya sea por traumas, situaciones perioperatorias o por la misma patología de base, por lo cual se vuelven fundamentales los aspectos cuali y cuantitativos de los nutrientes que se van a incorporar (Kenneth y Kudsk, 2007). El aspecto cuantitativo hace referencia a que los nutrientes deben encontrarse en cantidad suficiente para cubrir los requerimientos energéticos del sujeto, con una distribución adecuada de los macronutrientes: 15 a 20 % del valor calórico total (VCT) corresponde a las proteínas, 25 a 30 % a las grasas y 55 a 60 % a los hidratos de carbono, siempre teniendo en cuenta que esto puede variar según el tipo de FE. Los aspectos

cualitativos se refieren a la biodisponibilidad de esos nutrientes, la calidad de esas proteínas y la ausencia de factores antinutricionales.

En los años 70, la Food and Drug Administration (FDA) acuñó el término *medical food*, definiéndolo como aquel producto que se utiliza para el tratamiento nutricional y dietético de los pacientes con enfermedades o situaciones clínicas que requieren un manejo nutricional específico. En años posteriores, estas definiciones fueron modificadas, hasta que en 1989 la Organización Mundial de la Salud (OMS) junto con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) propuso la siguiente definición: “Los productos para usos nutricionales específicos (*medical foods*) son una categoría de alimentos que han sido diseñados para situaciones clínicas determinadas y deben usarse siempre bajo supervisión médica. Se utilizan para alimentar exclusiva o parcialmente a los pacientes que tienen limitada su capacidad de comer, digerir, absorber o metabolizar los alimentos habituales, o que presentan unos requerimientos nutricionales especiales que no pueden cubrirse con la alimentación natural” (Álvarez, Hernández y col., 2006). Este término puede considerarse análogo al de “producto dietético para uso nutricional específico”, que menciona la disposición 7333/99 de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) de nuestro país.

En esta definición quedan incluidas las siguientes categorías de alimentos:

- Las FE nutricionalmente completas.
- Los suplementos de NE.
- Módulos para NE.
- Las fórmulas para errores innatos del metabolismo como la fenilcetonuria y la homocistenuria.
- Los productos para rehidratación oral.

Los grandes avances tecnológicos relacionados con la NE nos permiten hoy disponer de una gran oferta de FE en creciente desarrollo. En 1988 se elaboró el primer Vademécum de NE conteniendo 88 productos comercializados (Vázquez y col., 1988). El último Vademécum revisado es de 2004 y contiene 153 fórmulas (Vázquez y Santos, 2004).

Se definen con el nombre de FE nutricionalmente completa a los productos constituidos por una mezcla de macro y micronutrientes nutricionalmente equilibrada y

completa que puede ser administrada por vía oral o por vía enteral. Los suplementos son definidos como mezclas de macro y micronutrientes desequilibradas, que sirven para reforzar o modificar una dieta. Por último, la definición de módulo de NE hace referencia al producto que contiene nutrientes aislados que pueden mezclarse entre sí en la proporción deseada para constituir una fórmula completa o añadirse a una FE para modificar su composición. Existen módulos de hidratos de carbono, de grasas, de proteínas de vitaminas, minerales y electrolitos (Álvarez, Hernández y col., 2006).

I.2.2. Clasificación:

En los últimos años, el número de FE que han aparecido en el mercado ha crecido de una manera exponencial, y por ello ha sido necesario clasificarlas para poder agruparlas y racionalizar su utilización (Heimbürger y Weinsier, 1985, Del Olmo y col., 1997).

Existen numerosos criterios para clasificar las FE, entre los que se encuentran los detallados a continuación (Álvarez, Hernández y col., 2006; De Luis y col., 2006):

- Complejidad de las proteínas: según la complejidad de las proteínas, las FE pueden ser poliméricas, oligoméricas o elementales.
- Nivel proteico: las fórmulas pueden ser hipoproteicas, normoproteicas o hiperproteicas.
- Densidad calórica: existen fórmulas hipocalóricas, normocalóricas e hipercalóricas.
- Osmolalidad y osmolaridad: fórmulas isotónicas, moderadamente hipertónicas e hipertónicas.
- Contenido de fibra y lactosa: fórmulas con y sin lactosa, fórmulas con o sin fibra.
- Según la obtención: fórmulas comerciales, fórmulas artesanales.
- Fórmulas especiales: fórmulas para insuficiencia hepática, para insuficiencia renal, para insuficiencia respiratoria, para hiperglucemia y Diabetes Mellitus, para pacientes críticos o en situaciones de estrés, fórmulas con inmunomoduladores.

I.2.2.1. Complejidad de las proteínas:

Desde un punto de vista clínico, el criterio principal de selección de las FE es la complejidad de las proteínas. Cuando las proteínas se aportan como proteínas sin hidrolizar se

denominan fórmulas poliméricas y cuando la fórmula está constituida por péptidos pequeños (generalmente de 2-6 aminoácidos) o por aminoácidos libres (Aa) se denominan fórmulas oligoméricas o elementales, respectivamente. El uso de las FE oligoméricas y elementales se reserva para pacientes con una capacidad digestiva y absorción intestinal muy reducida, o cuando las poliméricas no son bien toleradas. Además de las proteínas, estas fórmulas también presentan diferencias en la composición de hidratos de carbono y grasas. En las oligoméricas, los hidratos de carbono son disacáridos u oligosacáridos y en las fórmulas poliméricas, son polímeros de dextrinomaltosa o almidón (Arenas Márquez y Anaya Prado, 2007).

I.2.2.2. Nivel proteico:

El criterio secundario utilizado en la clasificación de las FE es la cantidad de proteínas. Las dietas son normoproteicas cuando las proteínas aportan entre un 15 - 18% de energía de la dieta o valor calórico total (VCT), o mantienen una relación Kilocalorías (Kcal)/nitrógeno menor de 120. Son hiperproteicas si el porcentaje de proteínas incorporado a la fórmula es mayor, por lo que aportan más energía en relación al VCT, o si éstas mantienen una relación Kcal/nitrógeno mayor de 120. En las FE hipoproteicas, las proteínas aportan menos de un 15% de energía del VCT y están destinadas principalmente a pacientes con insuficiencia renal, prediálisis (De Luis y Bustamante, 2008).

En general las FE hiperproteicas están destinadas a pacientes en situación catabólica con requerimientos aumentados (postcirugía, agresión, trauma, grandes quemados, etc.), así como aquellos pacientes con desnutrición proteica. Para el resto de los pacientes, parece acertado utilizar FE normoproteicas. Es evidente que con este planteo y de una forma muy simplista, podríamos decir que la mayoría de los pacientes ingresados en hospitales de agudos suelen requerir FE hiperproteicas, mientras que en hospitales de crónicos, hospitales de día, centros geriátricos, etc., el uso de FE normoproteicas suele ser suficiente para cubrir las necesidades (Kreymanna y col., 2006).

I.2.2.3. Densidad calórica:

La densidad calórica se refiere al número de calorías por unidad de volumen. Así, las FE normocalóricas son aquellas que ofrecen entre 0,75 - 1,25 Kcal/ mL. En las FE hipocalóricas, esta proporción es menor y contienen 0,75 Kcal/mL. Las FE hiperproteicas

contienen 1,25 - 2 Kcal/mL y se utilizan en casos donde haya que restringir el aporte de líquidos, en caso de bajo peso o cuando las necesidades energéticas estén aumentadas (Álvarez Hernández y col., 2006).

I.2.2.4. Osmolalidad y osmolaridad:

El número de partículas osmóticamente activas por Kg de disolvente (osmolalidad) y el número de partículas por Kg de solución (osmolaridad) también son características a tener en cuenta. La importancia de la osmolalidad de una FE se ha reducido en la actualidad, pero determina parcialmente la velocidad de vaciamiento gástrico, la motilidad intestinal y la secreción de agua intestinal. Las FE mejor toleradas son las isotónicas (en torno a los 350 mOsm/Kg). En general, las FE poliméricas mantienen esa osmolalidad y las oligoméricas alcanzan cifras mayores. Las FE son moderadamente hipertónicas o hipertónicas cuando tienen una osmolalidad entre 200-550 mOsm/Kg y mayores de 550 mOsm/Kg, respectivamente (Kreymanna y col., 2006).

I.2.2.5. Contenido de fibra y lactosa:

Hace varios años se utilizaban pocas FE con fibra y además, usualmente contenían sólo un tipo de ellas. La tendencia actual es mezclar distintos tipos de fibra para obtener un saludable efecto prebiótico y los numerosos beneficios que implica su consumo, siempre que sea tolerado por el paciente (Green, 2001; Del Olmo y col., 2004; Nakao y col., 2002). Las implicancias particulares de la fibra serán detalladas más adelante, cuando se describan los ingredientes de las FE.

En cuanto a la incorporación de lactosa, se debe tener en cuenta que la deficiencia de lactasa es la más prevalente de las deficiencias de disacaridasas. Se presenta en forma secundaria en la desnutrición calórico-proteica, en ayuno, en síndrome de intestino corto y después de una cirugía gástrica, entre otros. Esto hace que la intolerancia a la lactosa sea muy frecuente en personas hospitalizadas, donde están presentes una o más de estas condiciones. Por esta razón, muchas de las FE son libres de lactosa y es un buen principio emplear estas FE en todos los pacientes hospitalizados que requieren NE (Mora, 2002).

I.2.2.6. Fórmulas comerciales y artesanales:

Actualmente existen numerosas FE comerciales disponibles según las necesidades de los pacientes. Sin embargo en muchos casos, su elevado costo lleva a limitar su uso cuando es estrictamente necesario. Otra alternativa son las fórmulas artesanales preparadas con alimentos convencionales que, salvo el costo, presentan varias desventajas con respecto a las anteriores. La dieta licuada es una dieta artesanal, polimérica, que emplea alimentos ordinarios disponibles en el mercado, tales como leche, galletas, pollo, aceite vegetal y fruta. Se prepara de forma casera. Varía en apariencia, composición de nutrientes, digestibilidad y tolerancia. La dieta artesanal puede ser modificada en nutrientes y proporciones, de acuerdo a las necesidades del paciente, y la densidad energética puede ser hasta de 1,5 Kcal/mL. Se pueden emplear diferentes alimentos para cambiar el sabor, en el caso de que se administre por vía oral, aunque no existe mucha variedad. Entre las desventajas, se encuentran el bajo aporte de fibra y la elevada viscosidad. Es importante asegurar la adecuada higiene al momento de la preparación y verificar la adecuación de nutrientes y agua. La dieta licuada es incompleta al no tener amplia variabilidad de alimentos, de tal manera que no cubre con todos los requerimientos de vitaminas y minerales, por lo que deben suplementarse (De Oliveira Calheiros y Cannlatti-Brazaca, 2011; Araújo y Menezes, 2006; Atzingen y Silva, 2007).

I.2.2.7. Fórmulas especiales

El concepto de “fórmulas especiales” contiene la idea de que la FE ha sido diseñada para conseguir intervenir positivamente en la evolución natural de la enfermedad base del paciente. En realidad, se trata de FE poliméricas u oligoméricas que alterando la calidad o la cantidad de algún macro o micronutrientes, o bien añadiendo nutrientes especiales, se apartan de la composición habitual del resto de las fórmulas usadas en la NE. Este es el grupo en el que las distintas casas comerciales han investigado más en los últimos años en aras de la “nutrición órgano específica” o de la “nutrición enfermedad-específica”. Hay FE para la insuficiencia renal, la hepatopatía, la diabetes y la hiperglucemia, las úlceras por presión, para el paciente oncológico y para el paciente crítico (Arenas Márquez y Anaya Prado, 2007).

I.2.2.7.1. Fórmulas para insuficiencia hepática:

El estudio de la fisiopatología del daño hepático ha permitido definir una FE comercial que considere las modificaciones que ocurren en el metabolismo proteico durante este

proceso. Estas dietas aportan entre un 12 - 14% del VCT de la dieta, en forma de proteínas, como mezcla de Aa con predominio de los Aa de cadena ramificada (AaCR) frente a los Aa aromáticos (AaA). Clásicamente, se ha recomendado la restricción proteica en este sentido. Sin embargo, una revisión bastante reciente de Als-Nielsen y col. (2004), que recoge todos los estudios prospectivos aleatorizados que comparan la administración de AaCR por cualquier vía (oral, enteral o parenteral) frente a cualquier otros tratamiento, concluye que con los estudios publicados hasta la fecha no existen datos convincentes sobre el supuesto efecto beneficioso de los AaCR en los pacientes con encefalopatía hepática. Por el momento, es necesario tener precaución a la hora de recomendar el uso sistemático de este tipo de Aa. Además, si el paciente tiene problemas de esteatorrea, se recomienda que estas dietas contengan más del 50% de los lípidos en forma de triglicéridos de cadena media (TCM), un escaso aporte de sodio y una densidad calórica de 1,3 Kcal/mL, para que los volúmenes aportados sean menores a los estándares. Los estudios publicados recomiendan la utilización de FE estándar en la mayoría de los pacientes con insuficiencia hepática y cirrosis, y la utilización de FE específicas solamente en aquellos pacientes con intolerancia, o en los que se haya desencadenado previamente una encefalopatía con dietas normales (Del Olmo y col., 2002).

I.2.2.7.2. Fórmulas para insuficiencia renal:

Las modificaciones nutricionales establecidas en el cuidado de los pacientes con insuficiencia renal pretenden, no sólo revertir la desnutrición que generalmente acompaña al paciente renal, sino que además reducir los efectos deletéreos nutricionales que tienen las técnicas de depuración extrarrenal y frenar la progresión de la insuficiencia renal. Como el manejo nutricional del paciente con insuficiencia renal prediálisis no es igual que aquel utilizado para pacientes en diálisis, se han diseñado dos tipos de fórmulas con características distintas en su composición (Mora, 2002).

Los productos para insuficiencia renal prediálisis se caracterizan por tener un bajo aporte proteico (6 - 11% del VCT), con una relación Kcal no proteicas/g de nitrógeno muy superior a 200. Para compensar la restricción proteica, la cantidad de hidratos de carbono (50% - 70% del VCT) y de grasa (> 40% VCT en la polimérica) están muy aumentadas. Ninguna tiene fibra en su composición. Los productos comerciales para pacientes en programas de diálisis son FE poliméricas, hipercalóricas (2 Kcal/mL), que aportan 14% del

VCT en forma de proteínas, con una relación Kcal no proteicas/nitrógeno de 154. Tienen un aporte muy limitado de sodio, potasio y fósforo, son líquidas y están saborizadas, lo que facilita su utilización por vía oral (Álvarez Hernández y col., 2006).

I.2.2.7.3. Fórmulas para insuficiencia respiratoria:

Clásicamente, el manejo del soporte nutricional en los pacientes con insuficiencia respiratoria se centraba en la proporción de los macronutrientes, recomendando un mayor aporte graso frente al hidrocarbonado para mejorar el cociente respiratorio. En la actualidad, existen FE poliméricas normoproteicas (16-16,5% del VCT) con una densidad calórica de 1,5 Kcal/mL y un 55% del VCT en forma de grasa. Sin embargo, los datos disponibles en la actualidad establecen que se debe recomendar el uso de FE estándar (normocalóricas, normoproteicas, polimérica) para la mayoría de los pacientes, ajustándose estrictamente a sus requerimientos energéticos y cuidando especialmente evitar la sobrecarga calórica (Del Olmo y Koning, 2005).

I.2.2.7.4. Fórmulas para hiperglucemia y Diabetes Mellitus

Las distintas sociedades científicas de solvencia en el mundo de la Diabetes Mellitas han modificado los estándares de cuidados en relación con la alimentación y la nutrición artificial de los pacientes diabéticos (León, 1997). En la actualidad, existen FE definidas para hiperglucemia de estrés y para Diabetes Mellitus.

Las FE definidas para hiperglucemia de estrés modifican la carga total calórica, aportando el 40%-50% del VCT en forma de grasa, una carga de hidratos de carbono entre 33% y 40% (según el aporte graso) y con fibra. Algunos estudios han mostrado que estas fórmulas producen disminución de los niveles de glucemia, reducción de las necesidades de insulina y el manejo más fácil de la hiperglucemia del paciente crítico, cuando se comparan con las fórmulas estándar (Sanz y col., 2005). El otro tipo de FE usado en la alimentación de los pacientes diabéticos tienen una proporción estándar de nutrientes y se diferencian del resto de las FE poliméricas en el tipo de hidratos de carbono aportados, ya que utilizan almidón de maíz y fructosa, en lugar de la maltodextrina (Sanz y col., 2005; Elia y col., 2005).

I.2.2.7.5. *Fórmulas para pacientes críticos o en situaciones de estrés:*

El conocimiento de la fisiología del estrés en situaciones de sepsis, cirugía mayor, grandes traumas, etc. ha permitido plantear la necesidad específica de determinados nutrientes como los AaCR, la glutamina, la arginina, los TCM, los ácidos grasos poliinsaturados n-3 y los nucleótidos. Si bien se han utilizado fórmulas que contenían estos nutrientes específicos combinados en distintas proporciones, no se han podido atribuir los beneficios del uso de estas dietas en un determinado paciente, a un determinado nutriente o a todos en su conjunto. En la actualidad, existen fórmulas hiperproteicas (20%-24% VCT), con una proporción variable de hidratos de carbono (46%-60%), y la grasa aportada es una mezcla de triglicéridos de cadena larga (TCL) y TCM. En algunas de estas fórmulas se ha añadido aceite de pescado y en otras, directamente ácido eicosapentaenoico y docosahexanoico. También, algunas contienen fibra 100% fermentable (derivado de la fibra guar) y otras, mezclas de fibras fermentable y no fermentable (Matarese, 1994; Álvarez y Requena, 2000).

Del Olmo y col. (2002) concluyen que sería prudente no recomendar la utilización de forma sistemática de estas FE específicas, aunque hay que tener en cuenta que parecen disminuir las complicaciones infecciosas y la estancia en unidades de cuidados intensivos de los pacientes críticos postquirúrgicos, si bien no afectan su mortalidad.

Es lógico pensar que, aunque el hipermetabolismo que se produce como respuesta al estrés parece similar, las necesidades de los pacientes críticos son muy diferentes dependiendo de la causa de la enfermedad. Así, los requerimientos del paciente séptico no son los mismos que del paciente politraumatizado o del recién intervenido quirúrgicamente, y de momento se están utilizando las mismas FE para todos. Parece necesario una investigación más extensa, con adecuada selección de pacientes, para identificar cuáles se pueden beneficiar de los llamados inmuno nutrientes y si es posible, identificar si el beneficio se debe a uno o al conjunto de ellos en una determinada proporción (Del Olmo y Koning, 2005; Mora, 2002).

I.2.2.7.6. *Otras formulaciones específicas:*

En los últimos años, el estudio de algunos nutrientes específicos como la arginina, la glutamina y algunos antioxidantes ha propiciado el diseño de FE comerciales que han sido lanzadas por la industria farmacéutica para el cuidado y tratamiento de las úlceras por presión, como es el caso de las fórmulas hiperproteicas que incorporan aportes extras de arginina, o bien las definidas para pacientes oncológicos, con el fin de controlar la caquexia asociada a la

enfermedad neoplásica, añadiendo a una fórmula polimérica hiperproteica con fibra, una determinada cantidad de ácido eicosapentanoico. Este tipo de fórmulas han sido utilizadas en pacientes con caquexia tumoral por cáncer de páncreas, con resultados de mejoría en la calidad de vida y ganancia de peso a corto plazo. Queda por demostrar sus efectos en relación con otras variables clínicas (Uscátegui, 2010; Collado Hernández y Pérez Núñez, 2013).

I.2.3. Tipos de sistemas:

Las FE se comercializan en latas, botellas (sistemas abiertos), en bolsas o contenedores rígidos (sistemas cerrados) y en polvo para reconstituir. Cada una de estas presentaciones trae sus ventajas y desventajas que se detallan en la Tabla I.2 (Durán Prada, 2013).

Tabla I.2: Tipos de sistemas en los que se comercializan las fórmulas para nutrición enteral

Tipo de Sistema	Características	Ventajas	Desventajas
Abierto	Se encuentra en el mercado en latas o botellas. La fórmula debe ser reenvasada en una bolsa o contenedor antes de ser administrada.	Se puede realizar más fácilmente la dosificación de la fórmula, evitando desperdicios cuando el paciente no la tolera o debe ser cambiada por otra.	Alta probabilidad de contaminación durante la manipulación.
Cerrado	Disponible en empaques estériles como bolsas o contenedores rígidos de los que no se debe reenvasar la fórmula para ser suministrada al paciente. Su contenido puede ir de 1 a 2 L. Se conectan inmediatamente en la bomba de infusión.	Debido a la baja manipulación, se reduce la probabilidad de contaminación. Menor tiempo invertido en la administración de la alimentación.	Cuando los pacientes presentan intolerancia a la fórmula o se encuentran inestables y la alimentación se debe suspender o cambiar, la cantidad de fórmula que se debe desechar es alta. Se puede llegar a conectar incorrectamente en la inserción intravenosa.
Polvo para reconstituir	En un sentido estricto se puede determinar como un sistema abierto. Se diferencian en que al reconstituir el polvo no se hace una esterilización final.	La densidad calórica se puede ajustar según las necesidades del paciente.	La reconstitución puede llegar a hacerse en áreas poco aptas y poco higiénicas que aumentan el riesgo de contaminación. El producto final puede estar hiper o hipoconcentrado, lo que representa un aporte inadecuado de nutrientes que afectarán a largo plazo el estado nutricional.

I.2.4. Nutrientes en nutrición enteral

I.2.4.1. Macronutrientes:

En la Tabla I.3 se muestran las fuentes de los macronutrientes utilizados en las FE poliméricas y oligoméricas (Malone, 2005).

Tabla I.3: Fuentes de macronutrientes en fórmulas enterales.

Macronutrientes	FE Polimérica	FE Oligomérica
Hidratos de Carbono	Sólidos de jarabe de maíz	Almidón de maíz hidrolizado
	Almidón de maíz	Maltodextrina
	Maltodextrina	Fructosa
	Sacarosa	Sacarosa
	Fructosa	
	Fibras solubles e insolubles	
Proteínas	Caseinato de Na, Ca y Mg	Hidrolizado de caseína
	Aislados de proteína de soja	Hidrolizado de soja
	Proteína de suero lácteo (WPC)	Hidrolizado de WPC
	Lactoalbúmina	Hidrolizado de lactoalbúmina
	Concentrado de proteínas lácteas	Aminoácidos cristalinos
Grasas	Aceite de canola	Ésteres de ácidos grasos
	Aceite de girasol o cártamo alto oleico	Aceite de pescado
		TCM
	Aceite de maíz	Aceite de girasol
	Aceite de pescado	Aceite de soja
	TCM	Lecitina de soja
	Aceite de palma	
	Aceite de soja	
	Lecitina de soja	

I.2.4.1.1. Hidratos de carbono:

Los carbohidratos son la fuente principal de energía en la mayoría de las FE, aportando entre el 40–90% del VCT, según el tipo de FE. Además, contribuyen a la osmolaridad, digestibilidad y sabor. El almidón tiene baja osmolaridad, pero no es muy utilizado porque al ser relativamente insoluble, genera problemas de taponamiento de las sondas. En la mayoría de las FE poliméricas, la maltodextrina es la principal fuente de carbohidratos, mientras que en las oligoméricas se utilizan principalmente almidón de maíz hidrolizado. Estos polímeros de la glucosa son más solubles que el almidón y su osmolaridad no es muy alta si se compara con la glucosa. Se ha demostrado que estos polímeros son absorbidos tan rápidamente como la glucosa, pero resultan en una osmolaridad mucho menor,

por lo que se pueden administrar más altas concentraciones de calorías con menos efectos colaterales (Mora, 2002).

Los productos para ingesta oral contienen carbohidratos simples como la sacarosa, que mejoran la palatabilidad. Debido a la creciente intolerancia de los adultos a la lactosa, cada vez menos FE son elaboradas con este disacárido (Durán Prada, 2013).

I.2.4.1.2. Proteínas:

Las proteínas presentes en las FE actúan como fuente de nitrógeno y Aa indispensables, necesarios para la síntesis de proteínas estructurales, anticuerpos, enzimas, entre otros. El contenido de proteínas de las FE se encuentra entre el 6 y el 25%. La fuente de nitrógeno se puede presentar como proteína intacta, hidrolizada o como Aa libres. La fuente proteica más ampliamente utilizada en las FE es la caseína (C). Otras fuentes proteicas utilizadas en NE son los aislados de proteínas de soja (APS) y el concentrado de proteínas de suero lácteo (WPC) (Arenas Márquez y Anaya Prado, 2007).

Proteínas de soja:

Las proteínas de soja son una muy buena alternativa para reemplazar las proteínas lácteas en FE, ya que son nutricionalmente adecuadas y rara vez provocan reacciones alérgicas (Li y col., 2013). Además, hay una tendencia mundial a reemplazar proteínas animales por proteínas vegetales de alta calidad.

En 1999, la FDA autorizó su utilización como alimento funcional, indicando que la ingesta diaria de 25 g de proteína de soja ayuda a reducir los niveles de colesterol en sangre y mejora la salud (Espín y col., 2010). Se ha reconocido que el consumo de proteínas vegetales, a menudo resulta en una disminución significativa de los niveles de LDL y de colesterol total. Un posible mecanismo es la capacidad de las proteínas de soja de modular los niveles de los receptores de LDL en el hígado (Jenkins y col., 2010). Estos efectos hipocolesterolemiantes observados en estudios con animales (Radcliffe y col., 1998) han sido confirmados por numerosos estudios en humanos (Sirtori y Lovati, 2001; Costa y Summa, 2000). En algunos trabajos, se ha atribuido parte del efecto hipocolesterolemiantes a las denominadas globulinas 11S y 7S, constituyentes de las proteínas de soja (Adams y col., 2004). No obstante, gran cantidad de estudios demuestran que las isoflavonas presentes en los preparados de proteínas

de soja (genisteína, daizeína y gliciteína) son las principales responsables de dicho efecto sobre el colesterol (Dewell y col., 2006).

Por otra parte, en los concentrados y APS se encuentran inhibidores de proteasas que pueden suponer hasta un 6% del total de las proteínas. Entre estos inhibidores, el más estudiado es el de Bowman- Birk, que es un inhibidor de serín-proteasas. En un estudio a doble ciego se ha descrito que el inhibidor de Bowman- Birk produce la regresión de la enfermedad en pacientes que padecen colitis ulcerosa (Lichtenstein y col., 2002). Además, existen patentes destinadas al tratamiento de enfermedades autoinmunes como la esclerosis múltiple o la artritis reumatoide con este inhibidor (Martínez Augustin y Martínez de Victoria Muñoz, 2006). Por otro lado, se ha demostrado que el inhibidor de Bowman-Birk es un potente anticancerígeno y como consecuencia, ya se han llevado a cabo varios estudios con el inhibidor purificado y con concentrados (Friedman y Brandon, 2001). Concretamente, se han completado estudios de fase I y fase II en los que se ha utilizado este inhibidor de proteasas en el tratamiento de pacientes con leucoplasia oral (Armstrong y col., 2003). Los estudios de fase I demostraron que el inhibidor no es tóxico, mientras que los de fase II han demostrado que es útil en el tratamiento de estos pacientes, observándose una reducción de las lesiones orales dependiente de la dosis. Por otra parte, un estudio aleatorio a doble ciego ha demostrado que este inhibidor de proteasas puede ser útil también en el tratamiento de pacientes con hiperplasia de próstata, mostrando los pacientes tratados disminuciones significativas en los niveles séricos del antígeno específico prostático (Malkowicz y col., 2001). Además de sus efectos anticancerígenos, el inhibidor de Bowman-Brik ha demostrado ser útil en la prevención de ciertos tipos de cánceres y en la protección frente a radiaciones durante la radioterapia utilizada en el tratamiento del cáncer (Dittmann y col., 2003).

Pese a todos los efectos beneficiosos de las proteínas de soja, hay que tener en cuenta que los concentrados y aislados de esta proteína podrían tener inhibidores de la absorción de minerales, tales como los fitatos e incluso las proteínas de soja en sí pueden ejercer un efecto inhibidor (Lynch y col., 1994).

Proteínas lácteas:

Las proteínas lácteas (C y WPC) también han demostrado numerosos beneficios para la salud y podrían afectar la biodisponibilidad de los minerales en menor medida que las proteínas de soja (Pérez-Llamas y col., 2001). Se ha postulado que poseen actividad

antioxidante e inmunomoduladora y la hipótesis más aceptada en cuanto a su mecanismo de acción se relaciona con su alto contenido en cisteína, que contribuye a la síntesis de glutathion, un potente antioxidante intracelular, incrementando su concentración. Además, el glutathion es necesario para la actividad y proliferación de las células del sistema inmune, concretamente de linfocitos y particularmente de las células T. Varios estudios clínicos han mostrado que la combinación de la administración de WPC con tratamientos convencionales podría ser útil en el tratamiento del SIDA, la hepatitis B y C. Además, se ha observado que la administración de este tipo de concentrados a pacientes con SIDA puede contrarrestar la deficiencia de glutathion, común en estos pacientes (Marshall, 2004).

En cuanto a las proteínas del suero, son consideradas las proteínas naturales de más alta calidad (Bulut Solak y Akin, 2012). Entre los péptidos derivados de las proteínas del lactosuero, cabría destacar el caseinmacropéptido o glicomacropéptido (GMP), un péptido muy glicosilado derivado de la digestión de la κ -caseína, que pasa al suero por acción de la quimosina, durante la elaboración del queso. Se ha demostrado que previene la adhesión de bacterias a las células intestinales y que presenta actividad antiinflamatoria en el modelo de inflamación intestinal inducida por TNBS en ratas (Daddaoua y col., 2005). También se lo ha relacionado con la secreción de la hormona colecistoquinina, reguladora de la secreción pancreática y del vaciado gástrico en humanos (Rutherford-Markwick y Moughan, 2005). Por otro lado, la β -lactoglobulina, que comprende aproximadamente la mitad de la proteína total del suero, es una proteína de unión a retinol y se cree que desempeñan un papel en la absorción y la disponibilidad de la vitamina A (Walzem y col., 2002). La α -lactoglobulina constituye el 25% de las proteínas del suero y recientemente se la ha asociado con la reducción del estrés y la inmunomodulación (Bulut Solak y Akin, 2012).

En cuanto a las caseínas, los caseinofosfopéptidos (CPP) previenen la precipitación del fosfato cálcico en la luz intestinal durante la digestión, compitiendo con el calcio por los iones fosfato y de esta forma incrementan potencialmente la biodisponibilidad de calcio, aunque se ha demostrado que las proteínas lácteas pueden disminuir la absorción de hierro y zinc (Hurrell y Egli, 2010). Además, se han aislado una serie de péptidos procedentes de las α - y β -caseínas que muestran actividad opiácea y se denominan exorfina. Estos péptidos actúan mediante unión a receptores, como moduladores exógenos de la motilidad intestinal, de la permeabilidad epitelial y de la liberación de hormonas intestinales. En concreto, las β -casomorfina son capaces de incrementar la absorción de agua y de electrolitos y de reducir la motilidad intestinal. Se cree que estas casomorfina podrían ejercer su efecto a nivel local sin

necesidad de ser absorbidas, por lo que actualmente existe gran interés en su uso para el tratamiento de la diarrea y de otros trastornos gastrointestinales. Las casomorfina también pueden afectar a la absorción de nutrientes y al metabolismo postprandial, estimulando la secreción de insulina y de somatostatina. Otros efectos que se les han atribuido incluyen depresión de la respiración, hipotensión, supresión de la secreción gástrica y efectos sobre la termorregulación y la sensación de hambre (Teschmacher y col., 1997).

I.2.4.1.3. Grasas:

Las grasas incluidas en las FE son fuente de energía que puede alcanzar hasta el 55% del VCT. En las FE poliméricas, las Kcal provenientes de la grasa pueden variar del 15 al 30%. Las grasas aportan ácidos grasos esenciales, TCL y TCM dependiendo del tipo de aceite empleado. Las fuentes más comunes de TCL adicionadas a las FE son el aceite de maíz y el de soja. Sin embargo, también se emplea el aceite de cártamo, canola y algunos aceites de pescado. Los aceites fuente de TCM son el aceite de palma y el de coco. Los ácidos grasos de cadena media—(AGCM) no requieren de alto contacto con las sales biliares para ser absorbidos, ni de la formación de quilomicrones, ya que entran directamente en la circulación portal. Pasan rápidamente de la sangre a las células y una vez en ellas, entran directamente a la mitocondria sin necesidad de ser transportados por la carnitina. Sin embargo, los aceites con TCM no proveen ácidos grasos esenciales, por lo que la mayoría de las fórmulas se elaboran con una mezcla de aceites con TCL y TCM. El exceso de TCM es metabolizado en el hígado a cetonas, por lo que se corre el riesgo de sufrir cetosis. Hoy en día, se adicionan lípidos estructurados que contienen glicerol esterificado con una mezcla de ácidos grasos de cadena larga (AGCL) y AGCM para obtener los beneficios de los dos tipos de ácidos grasos en una sola molécula. Los ácidos grasos n-3 (α -linolenico, ácido eicosapentaenoico y ácido docosahexaenoico) al ser metabolizados generan prostaglandinas de la serie 3 y leucotrienos de la serie 5 que presentan propiedades antiinflamatorias. El ácido linoleico (ácido graso n-6) es metabolizado a ácido araquidónico, precursor de prostaglandinas de la serie 2 y leucotrienos de la serie 4 que son proinflamatorios e inmunosupresores (Durán Prada, 2013).

I.2.4.2. Vitaminas y minerales:

Los requerimientos de vitaminas (hidrosolubles y liposolubles) y minerales se cubren generalmente al suministrar a los pacientes entre 1000 y 1500 mL de FE. Sin embargo, en

aquellos casos de requerimiento elevado o en los que no se alcanzan estos volúmenes, se debe suplementar con dichos nutrientes (Durán Prada, 2013).

Hay que tener en cuenta que las FE son sistemas complejos por tener en su constitución todos los nutrientes presentes en los alimentos y que dichos componentes pueden interactuar con los minerales, disminuyendo su absorción, y reduciendo las cualidades nutricionales de las fórmulas (Harvey, 2001).

Los minerales son nutrientes esenciales que intervienen en más de un centenar de reacciones enzimáticas, además de ejercer funciones en la síntesis de macronutrientes y en procesos fisiológicos en el organismo humano (Bueno, 2008).

La absorción de los minerales depende no sólo del contenido del mineral y su forma química en el alimento en particular, sino también de otros componentes del mismo, del resto de la ración, de factores fisiológicos del individuo, así como de interacciones entre elementos (Hurrell y Egli, 2010). En consecuencia, para estimar la eficacia del aporte de un elemento traza por la dieta no basta con determinar el contenido total, sino que es necesario conocer qué cantidad se absorbe y se utiliza, o sea, lo que se conoce como biodisponibilidad (O'Dell, 1984). Este tema será ampliado más adelante.

I.2.4.3. Fibra:

La fibra alimentaria se asocia a efectos beneficiosos demostrados no sólo para el funcionamiento del tracto gastrointestinal, sino para la prevención y el tratamiento de numerosas enfermedades, entre las que destacan el cáncer de colon, la diabetes y la hiperlipemia (Del Olmo y col., 2004). Se ha sugerido que en NE, la utilización de fórmulas con fibra tendría un beneficio similar. Basándose en esta suposición, cada día se utilizan más fórmulas con fibra y, paralelamente, aparecen más fórmulas en el mercado que siguen la tendencia actual de incorporar mezclas de distintas fibras, en lugar de un solo tipo. Estos cambios se han producido fundamentalmente por el avance en el conocimiento del rol de la fibra fermentable y no fermentable, y por el progreso tecnológico que permite utilizar distintos tipos de fibra sin alterar la estabilidad, ni la viscosidad de las FE (Gómez Candela y col., 2002).

La fibra dietética (FD) es una clase de hidratos de carbono que no puede ser digerida por enzimas digestivas endógenas del cuerpo humano (Englyst y col., 1995). Sin embargo, algunos tipos de FD se pueden fermentar en metano, hidrógeno, CO₂, y ácidos grasos de

cadena corta (AGCC) por la microflora intestinal. Los AGCC constituyen una fuente importante de energía para el epitelio de la mucosa colónica, son esenciales para mantener el metabolismo y la regeneración de los epitelios, proteger la estructura y la función, promover la absorción de agua y Na y regular la función del intestino (Cummings y Macfarlane, 1997; Spaeth y col., 1995). Estudios recientes también sugieren que los AGCC pueden proteger la barrera intestinal y prevenir la translocación bacteriana (Gómez Candela y col., 2002).

No todos los tipos de fibra ejercen todos los efectos fisiológicos con la misma intensidad. Las fibras solubles suelen tener más impacto sobre el vaciamiento gástrico, el tiempo de tránsito por el intestino delgado, la producción de AGCC en la parte proximal del colon, la masa microbiana y la estimulación de la proliferación del epitelio colónico. En cambio, la fibra más insoluble ejerce su efecto máximo sobre el volumen fecal, el mantenimiento de la capa muscular del colon, la prevención de la translocación bacteriana y la producción de AGCC en el colon distal (Green, 2001).

Por otro lado, se ha observado que la administración de una FE sin fibra reduce la frecuencia de deposiciones, peso de las heces y aumenta el tiempo de tránsito, en comparación con una alimentación libremente elegida por voluntarios sanos (Silk y col., 2001). Por lo tanto, la FD ha sido recomendada como un componente esencial de la NE en los últimos 20 años (Nakao y col., 2002; Wright, 2000). Se cree que la FD puede desempeñar un papel importante en el control de la diarrea asociada con la NE, mejorar la restauración de la función intestinal, reducir las infecciones y mejorar el pronóstico de los pacientes críticamente enfermos (Olah y col., 2002; Hebden y col., 2002; Parisi y col., 2002).

Para obtener los efectos beneficiosos deseados de la fibra, se propone aportar una gama de distintas fibras con diferente solubilidad y capacidad de fermentación en el colon y de esta manera sumar los beneficios de los distintos tipos de fibras (Green, 2001). Al no disponer de normas sobre el aporte de fibra en la NE, lo razonable es examinar los aportes y las recomendaciones alimentarias habituales para formular FE que incluyan mezclas de fibras.

Por otro lado, algunos investigadores describen los efectos adversos de una dieta con alto contenido de FD total en la digestibilidad de las proteínas (Wong y Cheung, 2003; Falcón y col., 2011) y en la bioaccesibilidad de algunos minerales (Hurrell y Egli, 2010), por lo que es muy importante evaluar el efecto de distintos tipos de FD sobre estas propiedades nutricionales.

La povidex (Px) es un polisacárido sintetizado por la polimerización aleatoria de glucosa en la presencia de cantidades menores de sorbitol y un catalizador ácido adecuado en condiciones de alta temperatura y vacío parcial (Witting de Penna y col., 2003). La Px no se digiere en el tracto gastrointestinal superior, pero es parcialmente fermentada por la microbiota intestinal y mejora la absorción intestinal de Ca (Escudero Álvarez y González Sánchez, 2006). Por otro lado, aunque Dos Santos y col. (2009) observaron que la ingestión de Px aumentó la absorción de Fe en ratones sometidos a gastrectomía parcial, existe poca información acerca del efecto de la Px en la bioaccesibilidad de Fe y Zn (Roberfroid, 2000; Bongersa y Van den Heuvela, 2003).

I.2.4.4. Aporte de agua:

Las FE no intentan cubrir el requerimiento total de agua de un individuo. Éstas generalmente contienen 70–85% de su volumen total en agua. Por lo tanto, se considera el porcentaje específico de agua que aporta una fórmula en el total de líquidos suministrados al paciente y se debe suministrar agua adicional, para mantener su adecuado estado de hidratación. En general, a mayor densidad calórica menor contenido de agua (Durán Prada, 2013).

I.2.5. Incorporación de fórmulas enterales en preparaciones alimenticias:

Debido a que las FE en ocasiones son utilizadas en tratamientos prolongados, que pueden durar varios meses e incluso años, se las suele mezclar con alimentos convencionales o incluir en preparaciones, de manera de buscar nuevos sabores, texturas y evitar la monotonía, cuando son administradas por la vía oral como suplemento de la alimentación normal. Esta estrategia permite que los pacientes se adhieran más fácilmente al tratamiento y permite una transición más rápida hacia la alimentación normal. Las FE pueden mezclarse con leche, jugos de frutas, infusiones, postres como la gelatina, arroz con leche, preparaciones saladas como purés, hamburguesas, pan de carne y muchas otras preparaciones culinarias. Si bien es una práctica muy común, no se halla documentada en la bibliografía y no hay estudios en los que se analicen la modificación de las propiedades nutricionales de las FE al interactuar con otros nutrientes, otras matrices alimentarias y al sufrir procesos de cocción.

1.3. VIDA ÚTIL DE UN ALIMENTO

1.3.1. Definición y generalidades:

La vida útil (VU) es un período en el cual, bajo circunstancias definidas, se produce una tolerable disminución de la calidad del producto. La calidad engloba muchos aspectos del alimento, como sus características físicas, químicas, microbiológicas, sensoriales, nutricionales y referentes a inocuidad. En el momento en que alguno de estos parámetros se considera como inaceptable, el producto ha llegado al fin de su vida útil (Singh, 1999).

Este período depende de muchas variables, entre las que se incluyen tanto el producto, como las condiciones ambientales y el envase. Dentro de las que ejercen mayor peso, se encuentran la temperatura, el pH, la actividad del agua (A_w), la humedad relativa, la radiación (luz), la concentración de gases, el potencial redox, la presión y la presencia de iones (Brody, 2003).

La VU se determina al someter a estrés al producto, siempre y cuando las condiciones de almacenamiento sean controladas (Charm, 2007). Para predecir la VU de un producto, es necesario en primer lugar identificar y/o seleccionar la variable cuyo cambio es identificado primero por el consumidor como una baja en la calidad del producto, o aquella característica físico-química que al alterarse haga que el alimento no pueda ser consumido, ya sea por producir un riesgo en la salud del consumidor o por disminuir el valor nutritivo del producto (Brody, 2003). Por ejemplo, en algunos casos esta variable puede ser la rancidez, cambios en el color, sabor o textura, o inclusive la proliferación de microorganismos. Por otra parte, existen cambios no percibidos por el consumidor, pero muy importantes desde el punto de vista nutricional, como el contenido de lisina disponible, la pérdida de vitaminas y la disminución de la bioaccesibilidad de minerales.

1.3.2. Cinética de reacción:

Es necesario analizar la cinética de la reacción asociada a la variable seleccionada, que depende en gran medida de las condiciones ambientales. Es importante recalcar que la VU no es función del tiempo en sí, sino de las condiciones de almacenamiento del producto y los límites de calidad establecidos tanto por el consumidor, como por las normas que rigen propiamente los alimentos (Labuza, 1982).

El conocimiento de los parámetros cinéticos permite estimar la VU. Numerosos investigadores han desarrollado procedimientos para tales evaluaciones (Singh, 1999; Fontana y col., 1993; Ruston y col., 1996; Kessler y Fink, 1986) que parten de los conceptos de cinética de reacción, donde una expresión general para un atributo de calidad (Q) a una temperatura constante, se puede escribir de la siguiente manera:

$$\frac{\pm dQ}{dt} = kQ^n \quad (1)$$

Donde, \pm se refiere al incremento o descenso del valor del atributo durante un tiempo t (días), k es la constante de reacción (días^{-1}) y n es el orden de reacción.

La constante de reacción k se puede calcular gráficamente usando las ecuaciones (2) y (3) para una reacción de orden cero o primer orden respectivamente:

$$Q - Q_0 = k.t \quad (2)$$

$$\ln(Q/Q_0) = k.t \quad (3)$$

Donde, Q_0 es el valor inicial del atributo de calidad.

Una consideración importante que se debe tener en cuenta en el análisis cinético es la siguiente. Cuando se obtiene experimentalmente el gráfico con las unidades de atributo de calidad remanente en función del tiempo de almacenamiento, tanto para una reacción de orden cero, como para una de primer orden, se observa una superposición entre ambos gráficos por encima de un 45 % de calidad remanente, demostrando de esta manera que, hasta ese grado de avance (100%-45%), cualquiera de los 2 modelos se puede usar para describir el cambio del atributo de calidad. Sin embargo, para una reducción mayor al 55 %, existe una diferencia considerable entre los niveles de cambio de calidad predichos por ambos modelos (Singh, 1999).

I.3.3. Efecto de la temperatura:

La temperatura es un factor de gran influencia sobre la constante de reacción y fue expresada por Arrhenius con la siguiente ecuación:

$$k = k_0 e^{(-E_a / RT)} \quad (4)$$

Donde, k_0 es la frecuencia o factor de colisión (independiente de la temperatura), E_a es la energía de activación (J/mol), R es la constante universal de los gases (8,314 J/mol K) y T es la temperatura absoluta (°K). La E_a se puede obtener graficando el $\ln k$ en función de $1/T$ (°K), donde la pendiente de la recta es igual a la energía de activación dividido por la constante universal de los gases (E_a/R) (Singh, 1999).

I.3.4. Estimación de la Vida Útil:

Una simple aproximación para determinar el efecto de la temperatura en la calidad de los alimentos fue descrita por Singh (1999). Para un determinado orden de reacción se tiene que:

$$k = \frac{\text{perdida de calidad al tiempo } t_s}{t_s} \quad (5)$$

Donde, t_s es el tiempo final de vida útil y el numerador es la pérdida de calidad al tiempo t_s . Para una reacción de primer orden es $\ln Q_0/Q_e$ y para una reacción de orden cero es $Q_0 - Q_e$. El término Q_e es el valor alcanzado del atributo de calidad al tiempo t_s , y tomando logaritmo a ambos lados de la ecuación (5) se obtiene:

$$\ln k = \ln (\text{calidad pérdida en el tiempo } t_s) - \ln t_s$$

La ecuación de Arrhenius (4) puede ser reformulada de la siguiente manera:

$$-\ln t_s = -\ln (\text{calidad perdida al tiempo } t_s) + \ln k_0 - E_a/RT \quad (6)$$

De acuerdo a la ecuación (6), un gráfico semilogarítmico de t_s en función de $1/T$ debe dar una línea recta y la E_a se obtiene de la pendiente: $+E_a/2,303 R$. Donde 2,303 es la conversión a logaritmo decimal.

Para pequeños rangos de temperatura, menores a ± 20 °C, t_s puede ser calculado directamente en función de T sin cometer errores significativos. Por lo tanto, la ecuación de la línea recta en el gráfico semilogarítmico puede ser escrita de la siguiente manera:

$$t_s = t_0 e^{-a\Delta T}$$

Donde, t_0 es la VU a la temperatura de referencia (T_0), ΔT es la diferencia de temperatura entre la temperatura a la cual se desea estimar la vida útil (t_s) y la temperatura de referencia, y a es la pendiente de la recta ya mencionada (Singh, 1999).

I.3.5. Vida útil de fórmulas enterales

Todos los componentes de las FE son susceptibles de sufrir reacciones de deterioro durante su almacenamiento, por lo que es fundamental conocer con certeza cuál es el período de aptitud de una fórmula, más aún teniendo en cuenta que están destinadas a pacientes con riesgo nutricional, que muchas veces reciben estas fórmulas como única fuente de alimentación.

A pesar de la importancia de mantener el contenido nutricional de las FE, existen datos limitados sobre las modificaciones de los componentes durante el almacenamiento.

Lowry y col. (1989) observaron una disminución en la calidad de las proteínas y biodisponibilidad de minerales por efecto de la temperatura, en fórmulas comerciales líquidas. Frías y Vidal-Valverde (2001) encontraron una disminución del contenido de vitaminas (tiamina, A y E) durante el almacenamiento de las FE líquidas. Uddin y col. (2002) describieron que la degradación del ácido ascórbico (AA) dependió de las condiciones de almacenamiento, resultando mayores pérdidas a medida que aumentaron la temperatura y la A_w , por lo que el AA suele ser utilizado como un indicador de la calidad nutricional durante el almacenamiento de alimentos.

Por otro lado, García Baños y col. (2005) describieron que una de las principales modificaciones inducidas por condiciones de calentamiento y almacenamiento fue la reacción de Maillard, que involucra aminoácidos e hidratos de carbono reductores y puede producir una pérdida de valor nutritivo. Hallaron que el progreso de dicha reacción fue diferente según la temperatura de almacenamiento de una FE en polvo.

Además, hay que tener en cuenta que las FE contienen aceites que poseen lípidos insaturados, que pueden sufrir reacciones de oxidación, lo que conduce a la pérdida de nutrientes y al desarrollo de productos secundarios (principalmente aldehídos y cetonas) que imparten sabores desagradables (Cesa, 2004).

Todos estos potenciales cambios producidos durante el almacenamiento pueden afectar la biodisponibilidad de minerales (Hurrell y Egli, 2010) y la digestibilidad de las proteínas (Rudloff y Lönnerdal, 1992), alterando el valor nutricional de las FE.

I.4. BIODISPONIBILIDAD DE MINERALES

I.4.1. Definición:

La biodisponibilidad se define como la fracción de un nutriente que se digiere, absorbe y metaboliza por vías normales, o como la proporción de un mineral o elemento traza presente en un alimento que es utilizado para una función fisiológica normal (Hurrell y Egli, 2010; Ekmekcioglu, 2000).

Los factores que influyen en la biodisponibilidad de los elementos traza pueden clasificarse en dos grandes grupos: los de tipo intrínsecos o fisiológicos y los extrínsecos o dietéticos (Southon y col., 1998). Aquellos intrínsecos son más complejos. Entre ellos se pueden mencionar a la especie animal, la edad, posibles características y anomalías genéticas, estado fisiológico (embarazo y lactancia) y nutricional, eventuales estados patológicos, la flora intestinal, los pH de los jugos gástrico e intestinal y especialmente, la capacidad de adaptación del individuo a variaciones en el aporte de nutrientes, que influyen en la absorción y el metabolismo de los minerales. Los factores dietéticos incluyen: el aporte total del elemento traza por el alimento o la dieta, la forma química del mismo, las propiedades físicas (solubilidad, capacidad de adsorción sobre componentes inertes de los alimentos), las propiedades químicas del elemento, la capacidad de reaccionar con otros componentes de la matriz alimentaria o con medicamentos, las propiedades bioquímicas, como la capacidad de competir con otros elementos por sitios activos del organismo (Hurrell y Egli, 2010). Por otro lado, la matriz alimentaria puede contener sustancias que actúen como promotoras o inhibidoras de la absorción.

El conocimiento de la biodisponibilidad de los minerales esenciales es indispensable para establecer las ingestas dietéticas recomendadas (IDR), evaluar la adecuación de la ingesta a las recomendaciones, seleccionar los compuestos más eficientes y establecer recomendaciones para la restauración, fortificación o enriquecimiento de alimentos o productos dietéticos (Nead y col., 2004).

Las FE constituyen matrices alimentarias complejas donde los minerales pueden interactuar entre sí o con otros componentes, afectando su absorción. En este sentido, se

debe tener en cuenta que en ocasiones las FE constituyen la única fuente de alimentación de los pacientes y que éstos de por sí se encuentran en una situación vulnerable. Por esto, es importante conocer cuál es la cantidad real de los elementos traza que se absorbe y utiliza, para evitar llegar a estados de carencia que puedan comprometer aún más su estado de salud.

I.4.2. Hierro:

I.4.2.1. Fuentes dietarias y absorción del hierro:

El hierro es el segundo metal más abundante (después del aluminio) y el cuarto elemento más abundante de la corteza terrestre. Es un nutriente esencial y al mismo tiempo un potente tóxico para las células. Por ello, requiere de un complejo sistema de regulación para alcanzar las demandas de las células y al mismo tiempo, prevenir su excesiva acumulación (Pietrangelo, 2002).

El hierro es uno de los metales más abundantes en el cuerpo humano, encontrándose niveles elevados en el hígado, cerebro, eritrocitos y macrófagos. Participa en numerosos procesos celulares, tales como la síntesis de ácido desoxiribonucleico (ADN), ácido ribonucleico (ARN) y proteínas, el transporte de electrones, la respiración, diferenciación y proliferación celular, y la regulación de la expresión de los genes. Además, participa en la formación de la mielina y en el desarrollo de las dendritas neuronales, siendo crítica la homeostasis del hierro en la función normal del cerebro, especialmente en el aprendizaje y la memoria (Andrews, 2005).

El hierro es un componente clave de muchas enzimas celulares, como oxidasas, catalasas, peroxidasas, citocromos, ribonucleótido reductasas, aconitasas y óxido nítrico sintetasa. Estas enzimas no sólo son críticas en muchos procesos celulares básicos, como la síntesis de ADN y ARN, transporte de electrones, y proliferación celular, sino que además están involucradas en el desarrollo de un amplio número de enfermedades, tales como desórdenes metabólicos del hierro, diversos tipos de cáncer, enfermedades neurodegenerativas, y envejecimiento (Boldt, 1999).

La importancia biológica del hierro está en su capacidad de aceptar o donar electrones, al existir tanto en el estado ferroso (Fe^{+2}) como férrico (Fe^{+3}). No obstante, los niveles de hierro deben mantenerse adecuadamente dentro de las células, porque el exceso de hierro es altamente tóxico (McCord, 1998).

El hierro está presente en los alimentos, tanto en forma inorgánica como orgánica. Se absorbe principalmente en el duodeno. Las pérdidas resultan esencialmente de la exfoliación de las células del epitelio (12 – 14 µg/día en el hombre adulto). La excreción de hierro en el organismo es limitada y no hay mecanismos que la regulen para controlar su homeostasis. Por lo tanto, el control del balance del hierro corporal total se realiza en el sitio de absorción (Hurrell y col., 2006). Durante la digestión, el hierro dietario se distribuye en dos pozos. El pozo cuantitativamente más importante es el del hierro no hemínico, que comprende el hierro presente en los vegetales (cereales, hortalizas, frutas, etc.), el hierro inorgánico soluble, presente en los productos lácteos y huevos y el hierro de tejidos animales que no está como hierro hemínico. El otro pozo, con diferente conducta absorbiva, es el correspondiente al hierro hemínico, que incluye la hemoglobina y la mioglobina de carnes rojas, de pescado y aves (Hurrell y Egli, 2010). Las excepciones a este modelo de pozos es el hierro dietario en forma de ferritina, hemosiderina, óxido férrico e hidróxidos y el hierro de contaminación (por ejemplo el derivado de la molienda o el proveniente de los recipientes utilizados en la preparación de alimentos). Estas formas de hierro pueden ser significativamente menos solubles que el pozo común de hierro no hemínico y sólo la parte soluble participaría del mismo (Benito y Miller, 1998).

La absorción de hierro no hemínico está determinada por factores individuales (el estado de reserva de hierro del individuo y sus requerimientos particulares) y por factores dietarios que involucran las características cuali y cuantitativas del hierro de los alimentos y la presencia de otros constituyentes de la dieta. La combinación de todos los factores presentes en el lumen intestinal ejercen una poderosa influencia en la capacidad corporal para extraer el hierro del pool de hierro no hemínico luminal (Lynch, 2005). Numerosos estudios demuestran que la absorción de hierro aumenta en situaciones de depleción y en aquellas etapas de la vida en las que los requerimientos nutricionales son máximos (infancia, embarazo, lactancia). Por otro lado, la absorción se ve disminuida en situaciones de aclorhidria, cuanto se acelera el tránsito intestinal y en situaciones donde se ve afectada la mucosa intestinal (Hurrell y Egli, 2010).

El hierro hemínico es altamente biodisponible (15 – 35% de absorción), debido a que el complejo hierro-porfirina es absorbido intacto y el hierro es liberado del anillo de porfirina intracelularmente, no quedando expuesto a la presencia de ligandos inhibidores presentes en la dieta (Teucher y col., 2004). En contraste, el hierro no hemínico entra en un pozo de intercambio a nivel gastrointestinal, quedando sujeto a la acción de ligandos exógenos,

promotores e inhibidores. Esto hace que su absorción sea muy dependiente de la composición de la dieta y de otros factores que operan en el lumen del estómago y del intestino delgado proximal (Baech y col., 2003). Por ello, su tasa de absorción puede ser muy baja, menor a 1 y hasta 20-30%, dependiendo de los ligandos presentes, del estado nutricional con respecto al hierro y de los requerimientos del individuo (Hurrell y Egli, 2010).

La diferente absorción del hierro no hemínico de varios alimentos depende en parte de las propiedades químicas del mismo. Dentro de los factores químicos, la valencia, la solubilidad y la capacidad para formar complejos influyen en la biodisponibilidad del hierro dietario (López y Martos, 2004).

El hierro de los alimentos existe en dos estados de oxidación, férrico y ferroso, que tienen distinta tendencia a hidrolizarse. A pH ácido ambas formas se encuentran como hidratos. Cuando el pH aumenta, se hidrolizan y forman polímeros de alto peso molecular insolubles (Fuqua y col., 2012). La mayor parte del hierro inorgánico de los alimentos está en forma férrica, el cual precipita a $\text{pH} > 3$ si no está quelado (Hurrell y Egli, 2010). En ausencia de ligandos adecuados, el Fe^{+2} es más biodisponible que el Fe^{+3} porque es más soluble a pH fisiológico y porque tiene menor afinidad por ligandos que pueden inhibir su absorción (Miret y col., 2003).

Cuando el hierro inorgánico se ingiere solo, su absorción es una función de su solubilidad y densidad de carga, que son afectados por las condiciones del tracto gastrointestinal. Cuando la misma fuente de hierro es ingerida con alimentos, su absorción depende, además de la reactividad de la fuente de hierro con el medio aportado por los alimentos, de la alteración de su estado químico por factores ambientales en el organismo y de la presencia de factores promotores e inhibidores de la absorción. Durante el proceso digestivo, el hierro no hemínico puede cambiar su valencia y formar complejos con ligandos dietarios. Estos últimos también son afectados por la preparación y procesamiento de los alimentos y por las condiciones en el tracto gastrointestinal. Estas alteraciones pueden afectar el estado químico, tanto del hierro intrínseco como del extrínseco. La solubilidad es un requisito primordial para la absorción del hierro. Las formas solubles que permanecen estables a través de las condiciones variables impuestas por el pasaje a través del tracto gastrointestinal serán las más disponibles y los agentes complejantes que pueden prevenir la precipitación del hierro en el ambiente del intestino, favorecen su absorción (Moretti y col., 2006). La estabilidad de los complejos con el hierro se incrementa con la concentración del ligando quelante. La fuerza de la unión, la solubilidad del complejo, su estabilidad y los

factores ambientales, tales como el pH y la presencia de otros ligandos competidores, determinarán que el hierro esté o no disponible para la absorción por las células de la mucosa (Thankachan y col., 2008).

I.4.2.2. Biodisponibilidad del hierro no hemínico:

En el ambiente digestivo del estómago, la mayor parte del hierro no hemínico es liberado de los complejos con componentes alimentarios, favorecido por las condiciones ácidas y entra en el pozo común de hierro no hemínico. Al entrar en el duodeno se produce la elevación del pH hasta la neutralidad, lo cual favorece la formación de nuevos complejos. En este punto es donde existe competencia entre los distintos ligandos para formar complejos con el hierro y tiene mayor impacto la presencia de inhibidores y promotores de la absorción (Tabla I.4.) (Harvey, 2001). Se puede definir como promotores a aquellos ligandos que forman quelatos solubles con el hierro, previenen su precipitación y permiten su liberación para la absorción por parte de la mucosa. Un promotor efectivo debe poseer una afinidad suficientemente alta por el hierro como para competir con otros ligandos de la dieta capaces de disminuir su absorción. Los inhibidores son aquellos ligandos que se unen al hierro en forma de complejos insolubles o de muy alta afinidad y que por tanto no lo liberan para la absorción (Hurrell y Egli, 2010).

Tabla I.4: Factores promotores e inhibidores de la absorción de hierro

Promotores	Inhibidores
Ácido ascórbico	Taninos y polifenoles
Tejidos animales (factor cárnico)	Fitatos
Aminoácidos	Proteínas vegetales, lácteas, de huevo
Ácidos orgánicos: ácido cítrico, láctico, etc.	Calcio

Fuente: Hurrell y Egli, 2010.

Dentro de los **inhibidores** de la absorción del hierro, los **fitatos** que se encuentran en leguminosas, cereales y hortalizas son los responsables de la baja biodisponibilidad de estos productos (Kloots y col., 2004). Por otra parte, **taninos y polifenoles** presentes en infusiones como té, café y mate, tienen un efecto inhibitor en la absorción cuando son ingeridos con la

comida. Sus mecanismos de acción consisten en ligar el hierro en complejos insolubles pobremente absorbidos (Uauy y col., 2002).

Con respecto al **calcio**, se puede plantear que altera la absorción del hierro. Las sales de calcio podrían interactuar con el hierro y otros componentes dietarios formando complejos polimineral-ligando insolubles, no disponibles para la absorción. Por otra parte, el mecanismo de inhibición podría implicar un mecanismo a nivel de las células de la mucosa intestinal. En general, el efecto inhibitorio sobre la absorción del hierro depende del tipo de alimentos, de su contenido natural de calcio y de la fuente de calcio adicionada (Perales y col., 2006).

Algunas **proteínas** tanto de origen animal (proteína láctea, albúmina bovina, proteína de huevo) como de origen vegetal (proteína de soja, trigo, etc.) ejercen un efecto inhibitorio. La industria alimentaria utiliza los APS en la manufactura de numerosos productos ya que se trata de una proteína de buena calidad, abundante, de bajo costo y con buena funcionalidad. Sin embargo, estas proteínas reducen marcadamente la biodisponibilidad del hierro, no sólo debido al efecto de la misma proteína, sino por su alto contenido de ácido fítico (Hurrell y Egli, 2010).

Dentro de los **promotores** de la absorción se destaca el **AA**. Su mecanismo de acción involucra la reducción del ión férrico a su forma ferrosa, mejor absorbida, la formación de quelatos estables con el hierro en el estómago y, por ende, el mantenimiento de su solubilidad cuando el alimento ingresa en el ambiente más alcalino del duodeno (Cook y Reddy, 2001). Este último efecto se puede explicar por el hecho de que el AA forma complejos solubles con el hierro de los alimentos a pHs más bajos que los ligandos inhibitorios, es decir que actuaría a nivel estomacal donde las condiciones de pH son desfavorables para la formación de complejos con otros ligandos. Todo esto contrarresta los efectos inhibitorios de otros compuestos como taninos y fitatos. Cuando el AA se adiciona a una comida de alta biodisponibilidad, su efecto es mucho menos marcado. Su acción promotora, que ha sido demostrada en numerosos trabajos (Hurrell y Egli, 2010), está relacionada a su concentración y es más evidente en presencia de inhibidores.

Otros ácidos orgánicos como cítrico, málico, tartárico y láctico aumentan la absorción de hierro y su presencia en diversos alimentos favorecería la biodisponibilidad de hierro (Cook y Reddy, 2001).

También se ha propuesto la utilización de Na_2EDTA , en una relación molar EDTA: Fe menor o igual a 1, para aumentar la absorción del hierro intrínseco o agregado, en dietas que contienen inhibidores de la absorción (Govindaraj y col., 2007).

El efecto promotor de las **proteínas musculares** (carnes rojas, pescado, cerdo, aves) en la absorción de hierro es bien conocido. Las proteínas de estos alimentos incrementan la absorción de hierro, fundamentalmente del no hemínico. Su mecanismo de acción no es claro y se lo denomina “factor cárnico”. Podría involucrar la liberación de cisteína con grupos tioles, estables en el tracto gastrointestinal, que actuarían como complejantes y reductores. También se ha postulado que otros productos peptídicos de digestión de las principales proteínas miofibrilares, o la interacción del hierro no hemínico con grupos carboxilo de los aminoácidos que unen el hierro inorgánico incrementando su solubilidad, podrían participar en el efecto promotor de las proteínas musculares (Harvey, 2001).

Por otro lado, el procesado de los alimentos puede contribuir a disminuir o aumentar la absorción del hierro. El calentamiento y almacenamiento de alimentos puede afectar el contenido de AA de ese alimento y consecuentemente afectar su biodisponibilidad. La molienda de granos puede contribuir a aumentar la biodisponibilidad de hierro, al eliminar parte de los fitatos contenidos en los tegumentos de los cereales. Otros procesos como el leudado del pan, el remojo, la germinación y la fermentación de cereales pueden ser utilizados para reducir la cantidad de inhibidores, debido a la activación de fitasas endógenas que degradan el inositol hexa y pentafofato a fósforo inorgánico e inositol con menor contenido de fosfatos, que no interfieren en la absorción. Este efecto también puede conseguirse por la adición de fitasas exógenas (Davila y col., 2003).

I.4.3. Zinc

I.4.3.1. Fuentes dietarias y absorción del zinc:

El zinc es un nutriente esencial que cumple funciones en el crecimiento, reproducción, reparación de tejidos e inmunidad celular. Además interviene en el metabolismo, como componente de metalo-enzimas cumpliendo funciones catalíticas, estructurales y regulatorias, en la estabilización de membranas y en variadas funciones iónicas celulares (Gao y col., 2010).

Aunque la deficiencia de zinc puede ser ocasionada en muchos casos por la inadecuada ingesta dietaria, probablemente la presencia de inhibidores de la absorción sea la

causa más común de su deficiencia. Otras causas serían la mala absorción o elevadas pérdidas por diarrea (Lönnerdal, 2000).

El contenido de zinc de los alimentos es muy variable y las fuentes con mayor contenido las constituyen las ostras, los arenques y la carne roja magra. Otras fuentes proteicas como la carne de cerdo, aves, pescado, leche y sus derivados, tienen menor contenido de zinc. Los alimentos de origen vegetal poseen aún menores cantidades (Hambidge, 2000).

El zinc se absorbe en el intestino delgado, sobre todo en el duodeno y el yeyuno, aunque también en el íleon. La modulación de la absorción del zinc dietario y la conservación intestinal del zinc endógeno secretado postprandialmente en el lumen intestinal, son los dos principales mecanismos que regulan la homeostasis corporal total del zinc y mantienen y restauran el balance del mismo. Ambos procesos pueden ser afectados por factores dietarios. La solubilidad en el lumen intestinal es un factor importante para determinar la captación por parte de los enterocitos (Lönnerdal, 2000).

El contenido de zinc de una comida también puede afectar su absorción. El porcentaje de absorción disminuye cuando aumenta la cantidad de zinc de una comida, probablemente debido a una saturación de los mecanismos de transporte (Hambidge, 2000).

I.4.3.2. Biodisponibilidad del zinc dietario

La mayor parte del zinc de los alimentos está unido a proteínas y a ácidos nucleicos, generalmente en forma de complejos estables, por lo que el proceso digestivo debe ser eficiente para hacerlo biodisponible. En general, se puede decir que el zinc ligado a *proteínas de tejidos animales* posee mejor biodisponibilidad que el de los vegetales. Las proteínas cárnicas contrarrestan el efecto inhibitorio de los fitatos en la absorción del zinc, lo que se atribuye a la liberación de Aa que mantienen el zinc en solución (Krebs, 2000).

Los *ligandos y componentes de bajo peso molecular* que complejan el zinc y lo mantienen soluble a pHs fisiológicos tendrán un efecto positivo sobre la absorción (King y col., 2000). Ejemplos de estos ligandos son Aa como histidina y cisteína, ácidos orgánicos derivados del metabolismo de carbohidratos y el citrato (Lönnerdal, 2000).

El inhibidor más importante del zinc es el ácido fítico. Los grupos fosfatos del inositol penta y hexafosfato pueden formar fuertes complejos de baja solubilidad con el zinc, mientras

que las formas tetra y trifosfato no influyen significativamente (Ma y col., 2007). En ausencia de calcio o magnesio, la reacción entre los fitatos y el zinc parece depender de la relación molar zinc: fitatos (Viadel y col., 2006).

El contenido de **calcio** de la dieta puede afectar la absorción de zinc, si la misma contiene fitatos. Esto se debe a que el calcio forma complejos con los fitatos y el zinc que son insolubles y consecuentemente no pueden ser absorbidos. Sin embargo, si la relación molar calcio: fitatos es elevada, la absorción de zinc se incrementa, como consecuencia de la competencia del calcio con el zinc por los fitatos (Lönnerdal, 2000).

El **hierro** puede afectar la absorción del zinc, lo que se debería a la competición de los dos iones químicamente similares por una vía absorbiva común (Viadel y col., 2006).

Otros componentes que ejercen un efecto inhibitorio son los **oxalatos y polifenoles**, presentes en infusiones de uso común como té, café y mate (Lönnerdal, 2000).

El procesamiento de los alimentos influye de modo similar que con el hierro. Los procesos que tiendan a disminuir el contenido de fitatos (molienda, leudado del pan, germinación, remojo, fermentación de granos) aumentarán la absorción del zinc.

I.4.4. Calcio

I.4.4.1. Fuentes dietarias y absorción del calcio:

El calcio es el mineral más abundante en el organismo. Más del 99% está localizado en los huesos. Otra porción muy pequeña interviene en funciones de regulación críticas, que incluyen la contracción muscular, la transmisión de impulsos nerviosos, la actividad de enzimas y el mantenimiento de membranas celulares. Su rol en la regulación metabólica es tan crítico que es necesario que su concentración en sangre se mantenga dentro de un rango muy estrecho. Si el calcio de la dieta es insuficiente para este propósito, los huesos actúan como reserva para mantener constante el nivel en sangre. Por lo tanto, la deficiencia de calcio a largo plazo puede resultar en una paulatina desmineralización esquelética y en osteoporosis (Bronner y Pansu, 1999).

Los productos lácteos son una fuente excelente de este mineral, tanto por su cantidad como por su biodisponibilidad. Otros alimentos tales como las legumbres, los vegetales de hoja, las sardinas, la caballa, las frutas secas y las algas marinas, aportan menores cantidades de calcio y de menor biodisponibilidad (Heaney y col., 2003).

I.4.4.2. Biodisponibilidad del calcio dietario

La regulación homeostática de la concentración de calcio en sangre se alcanza por complejas interacciones entre los procesos de absorción, excreción urinaria y reabsorción del hueso, lo cual es coordinado por varias hormonas y vitaminas. En este sentido, la **vitamina D** es esencial para la eficiente absorción del calcio, mientras que los bajos niveles de **estrógenos** (después de la menopausia), incrementan sus pérdidas. También depende de condiciones fisiológicas y etarias. Su absorción y utilización es mayor durante la adolescencia y el embarazo y tiende a declinar con la edad (Heaney, 2000).

El efecto de los factores dietarios sobre la absorción de calcio es escasamente comprendido (Kennefick y Cashman, 2000). En general, el calcio se absorbe mejor cuando se encuentra en forma soluble iónica. Todos los factores que aumentan la solubilización tienden a incrementar la absorción. Si bien se considera que la **acidez estomacal** tiene un efecto solubilizante y la disminución de la secreción gástrica disminuye la cantidad de calcio absorbido, esto no es una regla general, por lo que la formación de complejos entre el calcio y diversos compuestos presentes en los alimentos sería el determinante dietario más importante de la absorción de calcio (Guéguen y Pointillart, 2000).

Tanto los **fitatos** como los **oxalatos** son capaces de formar complejos insolubles con el calcio, disminuyendo su absorción, de manera similar que con el hierro y el zinc (Bronner y Pansu, 1999).

Los alimentos ricos en **fibra** también reducen la absorción cuando contienen elevados contenidos de fítico. Sin embargo, la fermentación de la fibra en el colon incrementa la acidez y la solubilidad del calcio, lo que puede contrarrestar los efectos adversos sobre la absorción que se dan en el intestino delgado (Kennefick y Cashman, 2000).

Otros componentes alimentarios afectan la biodisponibilidad del calcio modificando primariamente la excreción urinaria y no la absorción de calcio. Las **proteínas**, el **sodio** y el **cloruro** poseen un efecto hipercalcúrico, mientras que el fósforo posee un efecto hipocalciúrico (Bronner y Pansu, 1999).

Dentro de los promotores dietarios de la absorción de calcio se encuentran los **caseino-fosfopéptidos**, provenientes de la digestión de la caseína, y la **lactosa** de la leche. El mecanismo de acción de la lactosa no está del todo dilucidado. Se estima que sería a través de una interacción con las células absortivas, incrementando su permeabilidad, o mediado por un aumento del flujo de agua (Bronner y Pansu, 1999).

1.4.5. Cobre:

1.4.5.1. Fuentes dietarias y absorción del cobre:

El cobre es un micronutriente esencial para la vida humana. Cumple funciones de catalizador en reacciones enzimáticas del metabolismo tisular, transferencia electrónica y en la síntesis de la hemoglobina, por lo que interviene en la prevención de la anemia. También interviene en la formación de los huesos y en el mantenimiento de la vaina de mielina del sistema nervioso. Los alimentos ricos en cobre son hígado, riñón, mariscos y nueces. El cobre se absorbe en el tracto gastrointestinal y es transportado a los diferentes tejidos por medio de las proteínas lábiles del plasma. Se almacena en forma de compuestos en el hígado, riñón, corazón, cerebro y sangre. Se ha estimado que las necesidades diarias de cobre ascienden a 2,0 mg o menos, cantidad que fácilmente se puede obtener a través de la dieta diaria normal (Silva Trejos, 2012).

Aunque la deficiencia de cobre es poco frecuente, ha sido descrita principalmente en prematuros y niños recuperándose de una malnutrición (Cordano, 1998).

1.4.5.2. Biodisponibilidad del cobre dietario

La biodisponibilidad del cobre según estudios *in vivo* oscila entre 25-70% (Davis y Mertz, 1987) y parece estar menos afectada por inhibidores de la absorción mineral como fibra, ácido fítico y polifenoles.

El efecto de la **fibra** dietética sobre la biodisponibilidad del cobre es controvertido. La adición de salvado de trigo y avena en la dieta de hombres adultos disminuyó la absorción de cobre, siendo este efecto más acusado para la fibra de avena (Moak y col., 1987). Similarmente, Ward y Reichert (1986) señalaron que la adición de un 12% de fibra dietética procedente de diferentes fuentes, a la dieta de ratas produjo una menor absorción aparente de distintos minerales, entre ellos el cobre. La **pectina** es capaz de captar cobre y otros cationes divalentes a pH 4-6 debido a las interacciones electrostáticas entre los distintos cationes y los grupos carboxilo de los residuos de ácido D-galacturónico que integran la pectina. No obstante, un aumento del pH a 6-8 no afectó la biodisponibilidad mineral (Schlemmer, 1989). De igual modo, estudios en humanos con pectina (Behall y col., 1987) no han mostrado ningún efecto significativo en la absorción de cobre, ya que al parecer las pectinas son degradadas por las enzimas bacterianas presentes en el colon, liberando los minerales que han sido captados y permitiendo su reabsorción en el intestino. En los últimos años, determinadas

fracciones de la fibra soluble como los **fructooligosacáridos** han demostrado tener un efecto beneficioso sobre la absorción mineral. Lopez y col. (2000) observaron en ratas, una absorción de cobre del 16% en una dieta libre de fibra, mientras que la introducción de fibra en forma de fructooligosacáridos aumentó esta absorción hasta un 29%. Entre las hipótesis que se proponen para explicar este efecto, se indica que los fructooligosacáridos, al no poder ser hidrolizados por las enzimas presentes en el intestino delgado, llegan intactos al colon y son fermentados por la microflora intestinal con la consiguiente producción de gases, lactato y AGCC como acetato, propionato y butirato. La alta concentración de AGCC en el ciego produce un descenso del pH cecal, aumentando la solubilidad de los minerales presentes, o bien la formación de complejos de menor carga, facilitando la difusión pasiva del mineral a través de la membrana.

El efecto del **ácido fítico** en la biodisponibilidad del cobre no es suficientemente claro. Para algunos investigadores, el ácido fítico no tiene efecto sobre la absorción de cobre en el hombre (Turlund y col., 1985). Otros estudios realizados en ratas señalaron un aumento en la absorción de este elemento en presencia de ácido fítico (Lee y col., 1988). Se estima que el efecto del ácido fítico sobre la absorción de cobre es debido a su capacidad para captar zinc, contrarrestando la competencia entre ambos minerales en la absorción intestinal (Champagne y Hinojosa, 1987). Hunt y Vanderpool (2001) investigaron la absorción de cobre de una dieta lactoovovegetariana frente a una no vegetariana, en mujeres. Encontraron que aunque el porcentaje de cobre absorbido fue mayor en la dieta no vegetariana (42,1%) frente a la lactoovovegetariana (33,0%), como el contenido de cobre fue 50% mayor en esta última, la absorción aparente de cobre también lo fue (0,48 mg en lactoovovegetariana frente a 0,40 mg), no existiendo diferencias significativas en los niveles de cobre plasmático y ceruloplasmina en las mujeres que consumieron ambas dietas.

El efecto de los **polifenoles** en la reducción de la biodisponibilidad de hierro y zinc es conocido. Sin embargo, es posible que este efecto sea diferente en la absorción de cobre. De Vos y Schrijver (2003) han observado en ratas que la absorción de cobre aumentó con el consumo de té negro. Por otro lado, Vaquero y col. (1994) observaron en estudios *in vitro* e *in vivo*, un mayor porcentaje de cobre dializado y una mayor absorción de cobre en ratas, a partir de un desayuno consumido con té, frente al mismo consumido con agua. Es posible que algunos taninos y flavonoides solubles del té formen compuestos de bajo peso molecular capaces de competir con otros productos de la digestión del desayuno en la captación de cobre. Estos compuestos serían fácilmente absorbidos y retenidos por las ratas.

Particularmente, la retención de cobre en hígado fue incrementada por el consumo de té, lo que indica una alta biodisponibilidad de cobre.

I.4.6. Magnesio

I.4.6.1. Fuentes dietarias y absorción del magnesio:

El magnesio es el catión extracelular más abundante en el cuerpo humano y el segundo más abundante intracelular, después del potasio. Es esencial para la transferencia, almacenamiento y utilización de la energía, como regulador y catalizador de más de 300 sistemas enzimáticos. En el organismo, interviene en procesos enzimáticos, en la glucólisis, en el ciclo de Krebs y en la síntesis de proteínas. Además, afecta la fisiología cardíaca a través del acoplamiento de neurotransmisores y enzimas a los receptores, con la activación de proteínas y la modulación de diversos canales iónicos. También está relacionado con la disminución de la presión sanguínea a través de la dilatación de las arterias, la prevención de arritmias cardíacas y la inhibición de la formación de coágulos en la sangre (Silva Trejos y Valverde Montero, 2010).

Todos los alimentos sin procesar contienen magnesio en diferentes concentraciones. Los alimentos con mayor contenido de este mineral son las semillas enteras, como nueces, legumbres y granos enteros. Otra fuente de magnesio son los vegetales verdes en forma del complejo porfirin magnesio de la clorofila. El pescado, la carne y la leche son alimentos con bajo contenido de magnesio y las frutas prácticamente no lo tienen, con excepción de las bananas.

La ingesta promedio en hombres es de 300 mg y en mujeres, de 200 mg. La absorción de magnesio en el íleon se produce mediante dos procesos. El primero es un proceso activo y saturable, que constituye la ruta principal de transporte de magnesio y se realiza a través del canal de magnesio TRPM6,1,2,3 (*transient receptor potential melastatin*). Un segundo mecanismo, que es pasivo y no saturable, se realiza a través de la ruta paracelular (González y col., 2009).

La hipomagnesemia puede resultar del desequilibrio entre la absorción intestinal y la excreción renal. Puede producir una variedad de anormalidades metabólicas y consecuencias clínicas, siendo la principal consecuencia la arritmia cardiovascular por hipopotasemia secundaria, que sino se reconoce y trata, puede ser fatal (González y col., 2009).

I.4.6.2. Biodisponibilidad del magnesio dietario

Se ha encontrado que la biodisponibilidad del magnesio en humanos se encuentra entre 30-60% (Feillet-Coudray y Coudray, 2005). Existe limitada bibliografía acerca de los factores dietarios que inhiben y promueven la absorción del magnesio. Diferentes estudios muestran que la *fibra no fermentable*, en general acompañada de otras sustancias como fitatos y polifenoles, tendría un efecto depresor de la absorción de magnesio, aunque este efecto es más limitado que para otros minerales como hierro y zinc (Coudray y col., 2005). Por otra parte, los estudios en animales y humanos han demostrado consistentemente que los *hidratos de carbono fermentables* pueden mejorar la absorción de Mg (Younes y col., 2001; Tahiri y col., 2001).

I.4.7. Metodologías para evaluar la biodisponibilidad de minerales

Para estimar la cantidad de minerales que aportan los alimentos no basta con conocer el contenido total presente en ellos, sino que es necesario saber la fracción de éste que se absorbe y utiliza por el organismo, es decir, su biodisponibilidad (Barberá y Farré, 1992). Los métodos utilizados para la determinación de la biodisponibilidad se dividen en dos grandes grupos: métodos *in vivo* (con seres humanos o animales) e *in vitro* (solubilidad, dializabilidad y cultivos celulares).

I.4.7.1. Determinación en humanos:

En los seres humanos, el método del balance químico fue el primero en utilizarse, antes de que el uso de radioisótopos fuera introducido. Consiste en evaluar la diferencia entre la cantidad ingerida y excretada de un determinado mineral durante un cierto periodo de tiempo (Van Campen y Glahn, 1999). Este método se ha utilizado para el estudio de la biodisponibilidad de calcio, hierro (Rosado y col., 1992), zinc (Vijay y Kies, 1994) y cobre (Kies y Harms, 1989). Puede señalarse como ventaja la no exposición de los sujetos a radiaciones ionizantes y su fácil realización. Sin embargo, en la práctica, errores en la determinación de la cantidad ingerida o excretada pueden ocasionar errores significativos en la estimación de la absorción (Van Campen y Glahn, 1999). Uno de los principales inconvenientes de la técnica es diferenciar en la muestra de heces, el elemento no absorbido de origen dietético del procedente de la excreción endógena.

Los isótopos radioactivos han sido ampliamente utilizados para la determinación de la biodisponibilidad mineral. Presentan como principal ventaja que, al suministrar dos isótopos radioactivos de un mismo elemento, uno por vía oral y otro por vía parenteral, se puede determinar la excreción endógena. Además, la cantidad del elemento que es absorbida o retenida, generalmente no es afectada por contaminación. Sin embargo, aunque no se dispone de pruebas de que las radiaciones ionizantes a las dosis que se aplican en los ensayos provoquen efectos perjudiciales en el hombre, existe una comprensible cautela con respecto al uso de isótopos radioactivos en ciertos grupos de población, como niños y mujeres embarazadas (Barberá y Farré, 1992). Frente a los isótopos radioactivos, los isótopos estables no presentan ningún riesgo para la salud a consecuencia de las radiaciones ionizantes y además no sufren decaimiento, por lo que las muestras marcadas pueden ser almacenadas indefinidamente. Sin embargo, estos estudios no se hallan exentos de inconvenientes. En primer lugar, los isótopos estables son más caros y además las dosis necesarias para obtener un adecuado enriquecimiento con un isótopo estable pueden ser demasiado elevadas para ser considerado un marcador (Weaver, 1998).

I.4.7.2. Métodos que utilizan animales de laboratorio:

Aunque lo ideal sería la realización de estudios *in vivo* con humanos, el uso de modelos animales para predecir la biodisponibilidad es más práctico que los estudios en seres humanos con isótopos, ya que los ensayos clínicos son caros, laboriosos y difíciles de llevar a cabo con precisión. Además, proporcionan datos limitados en cada experimento y requieren amplias precauciones y material sofisticado, que sólo está al alcance de escasos laboratorios. Por tanto, junto a los estudios *in vivo* en humanos, los que utilizan animales de experimentación están sujetos a menores limitaciones. El principal problema de este tipo de ensayos radica en el hecho de que los resultados obtenidos no siempre son extrapolables, debido a las diferencias existentes entre el metabolismo de los animales y el hombre (Forbes y col., 1989).

I.4.7.3. Métodos *in vitro* para estimar la bioaccesibilidad

Una alternativa a los estudios *in vivo* con humanos o animales son los estudios *in vitro*. Frente a los ensayos *in vivo*, este tipo de métodos son más rápidos, sencillos y de menor costo económico. La estimación *in vitro* de la biodisponibilidad de elementos minerales implica una

digestión gastrointestinal simulada del alimento con pepsina-HCL a pH 2 y pancreatina-sales biliares a pH neutro y posterior medida de la fracción de elementos solubles o que dializa a través de una membrana semipermeable con un determinado tamaño de poro. Estos métodos se basan en la premisa que debe cumplir un mineral para ser absorbido, que es estar en forma soluble. Se clasifican en tres grupos:

I.4.7.3.1. *Solubilidad de minerales*

Los métodos basados en la solubilidad determinan la cantidad del elemento soluble presente en el sobrenadante obtenido por centrifugación o filtración del digerido gastrointestinal del alimento (Sauquillo y col., 2003).

I.4.7.3.2. *Dializabilidad de minerales*

Los métodos basados en la dializabilidad incorporan una membrana de diálisis durante el proceso de digestión gastrointestinal, para simular una difusión pasiva a través de la mucosa intestinal. Difieren de aquellos basados en la solubilidad en que incorporan la diálisis, que permite diferenciar entre compuestos solubles de alto y bajo peso molecular. La dializabilidad de minerales es ampliamente usada por su buena correlación con estudios *in vivo* (Hazell y Johnson, 1987; Roig y col., 1999; Wienk y col., 1999). A su vez, en los procedimientos de diálisis, el mineral dializado puede medirse en equilibrio (Miller y col., 1981) o en sistemas continuos (Shen y col., 1994).

Aunque ningún método *in vitro* puede reproducir las condiciones fisiológicas imperantes en los estudios *in vivo*, la técnica de dializabilidad demostró resultados similares a los obtenidos en estudios en humanos para hierro (Schricker y col., 1981). Si bien sólo ha sido validado para el hierro, se utiliza también para medir disponibilidad de otros minerales tales como zinc, calcio, magnesio y cobre. Con respecto a zinc y calcio, varios autores observaron que esta técnica ha mostrado una buena correlación con estudios *in vivo* (Berganza y col., 2003).

I.4.7.3.3. *Cultivos celulares:*

Aunque la estimación de la biodisponibilidad basada en la cantidad del mineral soluble o dializable puede ser útil en muchas ocasiones, no todo el mineral soluble o dializado es

absorbido. Los sistemas mencionados carecen de un componente vivo y éste es necesario para una determinación real de la disponibilidad mineral. En un esfuerzo para desarrollar métodos basados tanto en la solubilidad como en la dializabilidad, pero que incluyan el paso de absorción, se han desarrollado técnicas que utilizan cultivos celulares (métodos *ex vivo*). La línea más utilizada es la de células Caco-2 procedentes de adenocarcinoma del colon humano, que ha demostrado poseer características morfológicas y funcionales similares al enterocito maduro (Hurrell y Egli, 2010).

II. Objetivos

II. OBJETIVOS

II.1. Objetivo General

El objetivo general de la tesis fue desarrollar productos nutroterápicos con distintos fines, de alta calidad y bajo costo, cuya fabricación pueda ser encarada por organismos provinciales y cuya utilización esté dirigida en principio, a hospitales públicos.

II.2 Objetivos Específicos

Para alcanzar el objetivo general del presente trabajo de Tesis, se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- a. Evaluar fórmulas enterales comerciales a fin de conocer sus características funcionales y nutricionales.**
- b. Evaluar el efecto de la inclusión de las formulas enterales comerciales en distintas matrices alimentarias, con diferentes procesos de cocción.**
- c. Desarrollar formulaciones experimentales y evaluar el efecto de factores vinculados a la composición de las fórmulas sobre las propiedades nutricionales.**

-Evaluar las materias primas a utilizar en el desarrollo de fórmulas.

-Evaluar el efecto de factores vinculados a la composición de las fórmulas sobre la bioaccesibilidad de minerales y la digestibilidad proteica, utilizando diseños experimentales.

-Formular y desarrollar fórmulas enterales poliméricas normocalóricas con distintos niveles de calcio y de proteínas de soja, para obtener fórmulas hipoproteicas, normoproteicas e hiperproteicas.

-Formular y desarrollar fórmulas enterales poliméricas normocalóricas y normoproteicas con distintos niveles de povidexrosa y relación caseína: proteínas de soja.

-Formular y desarrollar fórmulas enterales poliméricas normocalóricas y normoproteicas con distintas fuentes proteicas (aislados proteicos de soja, caseína y WPC) y evaluar variaciones en la composición sobre las propiedades nutricionales.

-Evaluar la incorporación de fibra (povidexrosa).

-Evaluar el efecto de la hidrólisis de las fuentes proteicas para desarrollar fórmulas oligoméricas.

-Evaluar el efecto de distintas fuentes de Fe (sulfato ferroso, bisglicinato ferroso y EDTA férrico).

d. Evaluar la formulación experimental selecta desde el punto de vista fisicoquímico y microbiológico.

e. Evaluar el efecto de la inclusión de la formulación experimental selecta en distintas matrices alimentarias, con diferentes procesos de cocción.

-Incorporar la fórmula experimental en las mismas matrices alimentarias utilizadas para las fórmulas comerciales y comparar los resultados obtenidos.

-Proponer otras preparaciones culinarias que puedan mejorar las características nutricionales de las fórmulas.

f. Evaluar el tiempo de vida útil de la formulación enteral experimental selecta.

III. Materiales y Métodos

III. MATERIALES Y MÉTODOS

III.1. EVALUACIÓN DE FÓRMULAS ENTERALES COMERCIALES (FEC):

III.1.1. Materias primas:

Las muestras fueron adquiridas en comercios de la zona y las marcas corresponden en su totalidad a empresas internacionales, tanto europeas como norteamericanas.

Se analizaron un total de 20 FEC, normocalóricas y normoproteicas, 12 de las cuales eran en polvo para reconstituir (FEP, numeradas del 1 al 12) y las 8 restantes eran líquidas, listas para utilizar (FEL, numeradas del 13 al 20). Para los análisis de las muestras puras, se prepararon las FEP según las indicaciones del fabricante.

III.1.2. Composición centesimal:

Para el análisis de la composición centesimal (humedad, cenizas, proteínas, extracto etéreo y fibra dietaria total) se siguieron las técnicas de la AOAC (2002). Los hidratos de carbono fueron calculados por diferencia.

III.1.3. Actividad de agua (Aw):

La determinación de la Aw se realizó en las FEP utilizando un equipo AQUALAB, modelo CX-2 (Washington, EEUU.).

III.1.4. Sólidos totales y sólidos solubles:

Para la determinación de los sólidos totales, 15 mL de FEL se secaron en estufa a 105°C (Tecnodalvo, Argentina) hasta pesada constante. Para los sólidos solubles, 15 mL de FEL o FEP reconstituida se centrifugaron a 3000xg durante 30 min. y el sobrenadante se secó en estufa a 105°C hasta pesada constante. Los sólidos solubles se expresaron como porcentaje de los sólidos totales.

III.1.5. Distribución porcentual de los macronutrientes:

Al no incluir dentro del estudio ninguna FEC destinada a necesidades especiales, se adoptó el criterio de comparar el aporte calórico de cada macronutriente en el producto (E%, distribución energética porcentual) con las recomendaciones generales de energía de la OMS (2003). Estas establecen que en el contexto de una dieta normal, las proteínas deben aportar entre el 10-15% de las calorías totales, que las grasas deben encontrarse en el rango de 15-30% y que los carbohidratos deben fluctuar entre 55-75%. Este análisis resulta de relevancia para aquellos pacientes que reciben FE como única fuente de alimentación.

La E% de cada FE se calculó en base a la composición centesimal: Proteína (%P), Grasa (%GR) e Hidratos de Carbono digeribles (%HC), utilizando los factores de Atwater que corresponden a 4, 9 y 4 Kcal/g de nutriente, respectivamente. El factor considerado para la fibra dietaria fue 0 Kcal./g, de acuerdo con el valor asignado en el CAA.

III.1.6. Estudio de la composición lipídica:

III.1.6.1. Perfil de ácidos grasos:

Los lípidos se extrajeron con cloroformo-metanol siguiendo el método de Folch y col. (1957). Luego se llevó a cabo un proceso de derivatización para transformar los ácidos grasos en sus ésteres metílicos, siguiendo la técnica de Blatt (1957).

Los ácidos grasos se analizaron por cromatografía gaseosa de sus ésteres metílicos empleando la columna capilar AT-Wax de 60 m, operada a 210°C, siguiendo la técnica descrita por Van Pee y col. (1981). Las determinaciones cromatográficas se realizaron con un cromatógrafo Konik HRGC 300 (Konik Instruments S.A., Barcelona, España) equipado con un detector FID y los datos se procesaron mediante software Peak-2. Para la identificación de los ácidos grasos se utilizó una mezcla de estándares de ácidos grasos Sigma-Aldrich (St.Louis, MO, EE.UU.) y se compararon los tiempos de retención de los ácidos grasos de los patrones con los de las muestras.

III.1.6.2. Determinación de sustancias reactivas con el ácido tiobarbitúrico (TBARS):

Como medida de la oxidación de lípidos, se utilizó la técnica de Uchiyama y Mihara (1978) para la determinación de sustancias reactivas con el ácido tiobarbitúrico, y se expresó como contenido de malondialdehído (MDA).

Para ello, se realizó una dispersión de la muestra al 10% en buffer fosfato de sodio (0,01 M, pH 7). Luego de centrifugar a 3000xg durante 30 min., a 5 mL del sobrenadante, se agregaron 3 mL H₃PO₄ (1%) y 1 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA: 0,6%). Luego se colocaron las muestras en agua hirviendo por 45 minutos. A continuación se extrajo con 4 mL n-butanol y se midió en espectrofotómetro UV-visible Milton Roy Genesys 5 (Ivyland, EEUU.) a una longitud de onda de 535 nm. La curva de calibrado fue realizada con un patrón de TMP (1,1,3,3-tetrametoxipropane) Sigma-Aldrich (St.Louis, MO, EE.UU.).

III.1.7. Estudio de la composición proteica:

III.1.7.1. Estimación de la proteína potencialmente utilizable:

III.1.7.1.1. Determinación de Lisina disponible (LD):

Para el análisis de la LD se utilizó el método de Carpenter (1960) modificado por Booth (1971), que involucra la reacción de Sanger.

Para ello se pesó una cantidad de muestra que correspondiera a 1,4 mg de Nitrógeno, se agregaron 0,32 mL de NaHCO₃ 8 % P/V, se homogeneizó y se incorporó 0,492 mL de Flúor-2,4-dinitro-benceno (12 mL de etanol puro + 0,3 mL de FDNB, Sigma-Aldrich). Luego se agitó durante 2 h al abrigo de la luz a temperatura ambiente. Transcurrido ese tiempo se dejó destapado y en oscuridad durante 24 h para que se evapore el etanol. Luego se agregó de a poco 8 mL de HCl 8 N y se autoclavó durante 1 h a 1 atmósfera. A continuación se filtró el hidrolizado y se enrasó a 10 mL con agua destilada. Luego se colocó 2 mL de cada muestra en 2 tubos diferentes (tubo A y B), los cuales se procesaron como se describe a continuación. Los tubos A se extrajeron 3 veces con 5 mL éter sulfúrico (Cicarelli, Argentina), se descartó el éter residual, se evaporó lo que no se pudo retirar con pipeta en baño a 80 °C y se enrasó a 10 mL con HCl 1 N. Los tubos B se extrajeron 1 vez con 5 mL éter sulfúrico, se descartó el éter residual, se agregó NaOH 12 % P/V hasta neutralizar (pH=7), 2 mL de buffer carbonato (1 M, pH=8,5), 5 gotas de metilcloroformiato (Sigma-Aldrich), se agitó, se dejó reposar 8 min. y se agregaron 0,75 mL de HCl concentrado. La solución obtenida se extrajo 5 veces con 5 mL éter sulfúrico, se descartó el éter residual, se evaporó lo que no se pudo retirar con pipeta en baño a 80 °C y se enrasó a 10 mL con agua destilada. Las muestras se midieron en espectrofotómetro UV-visible Milton Roy Genesys 5 (Ivyland, EEUU) a una longitud de onda de 435 nm. Las lecturas A-B es la absorbancia neta atribuible a la DFN-Lis. La curva de calibrado fue realizada con un patrón de EDNP-Lis-CIH Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EEUU) en el rango de 5 – 40 mg/L.

III.1.7.1.2. Nitrógeno total (NT), Nitrógeno No Proteico (NNP), Nitrógeno de Proteína Verdadera (NPV) y Solubilidad Proteica (SP):

El NT se determinó por semi-micro Kjeldahl (AOAC, 2002), y con este valor se calculó el contenido de proteína bruta (PB), utilizando un factor de 6,25 para la conversión de Nitrógeno a proteína.

El NNP se determinó por semi-micro Kjeldahl en la fracción soluble, luego de precipitar las proteínas con igual volumen de ácido tricloroacético (TCA) al 20% y posterior centrifugación a 10.000xg durante 20 min., de acuerdo con Donovan y Lönnerdal (1989).

El NPV se calculó como la diferencia entre el NT y NNP y con este dato se calculó el contenido de proteína verdadera (PV).

Para evaluar la SP las dispersiones preparadas se centrifugaron y se determinó el contenido de proteína (Nitrógeno por método de Kjeldahl).

III.1.7.1.3. Digestibilidad proteica in vitro (%DP):

La %DP se determinó según el método de Rudloff y Lönnerdal (1992). Alícuotas de 10 mL de FEL, o FEP preparadas según las indicaciones del rótulo, se ajustaron a pH 2 con HCl 1 N, y se añadió pepsina a una concentración de 10 mg/muestra, de modo que la relación enzima/sustrato estuviera comprendida entre 1/15 y 1/20, según el contenido de proteínas de la FE. Las muestras se mantuvieron en oscuridad, en un baño de agua con agitación a 37°C durante 30 min. Luego se aumentó paulatinamente el pH a 7 (en 10 min.) con NaHCO₃ 0,5 M, se añadieron 2,5 mL de una solución de pancreatina (0,4 g/100 mL de NaHCO₃ 0,1 M) y se incubaron durante 1 hora a 37°C. Las enzimas empleadas fueron de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EEUU).

Las muestras digeridas se colocaron inmediatamente en agua hirviendo durante 4 min. para inactivar las enzimas. Sobre una alícuota de las muestras digeridas se realizó una precipitación con TCA al 20%. La DP se definió como el aumento de NNP luego de la digestión, en relación con el NPV, expresado como porcentaje, según la siguiente ecuación:

$$DP(\%) = 100 \times \Delta NNP / (NT - NNP)$$

Para expresar la proteína utilizable se tuvo en cuenta el contenido de PV hallado, el valor de DP, y el puntaje químico calculado sólo en función de LD, tomando como referencia el valor nivel requerido por el CAA para alimentos de régimen (58 mg Lys /g de proteína)

$$\text{Proteína utilizable} = (PV \times DP\% \times (LD/58)) / 100$$

III.1.7.2. Electroforesis en gel de poliacrilamida en condiciones desnaturizantes (SDS-PAGE):

La electroforesis en gel de poliacrilamida-SDS se realizó de acuerdo a Laemmli (1970), en un sistema discontinuo 4% (gel de apilamiento) y 12% (gel de separación). Se utilizó un equipo Mini-Protean II (Electrophoresis cell-Bio-Rad) con una fuente Modelo 200/2.0 (Bio-Rad). Las placas de gel se fijaron y tiñeron con una solución de 0,125% de Coomassie Blue R-250, 50% metanol y 10% ácido acético en agua. Los pesos moleculares de las proteínas de las diferentes bandas fueron estimadas mediante el uso de un kit de calibración de pesos moleculares proteicos Pharmacia. Las proteínas estándar usadas y sus pesos moleculares fueron los siguientes: Fosforilasa b (94 kDa), Albumina (67 kDa), Ovoalbumina (43 kDa), Anhidrasa carbónica (30 kDa), Inhibidor de tripsina (20,1 kDa) y α -Lactoalbúmina (14,4 kDa).

Las muestras fueron diluidas con el buffer de muestra (0,125 M tris-Cl pH 6,8, 4% SDS, 20% glicerol, 10% 2-mercaptoetanol y azul de bromofenol 0,5%), se calentaron en baño de agua a 100°C durante 90 seg. y se sembraron entre 5 y 20 μ l en cada vial, dependiendo de la concentración de proteínas de cada FE.

III.1.8. Ácido fítico (AF) y azúcares reductores (AR):

El AF fue determinado en aquellas FE que declararon contener APS (FEP1, FEP3, FEP9, FEP11, FEL16, FEL17) o fibra de soja (FEP3, FEP4, FEL13, FEL14, FEL15, FEL18). Para ello se utilizó la técnica 986.11 de la AOAC (1990), en la cual 3 mL de FEL o FEP reconstituida se extrajeron con 20 mL de HCl 2,4% (P/V) durante 3 horas con agitación a temperatura ambiente. Luego se filtró y 1 mL del extracto se neutralizó con 1 mL de una mezcla de 0,11 M Na₂EDTA/ 0,75 M NaOH. Se enrasó a 25 mL y se eluyó a través de una resina de intercambio iónico (AGI- x4 Anion, Exchange Resin, 100-200 mesh, Cl- form Cat. # 140-1341) para separar el P inorgánico (eluato con NaCl 0,1 M) del P del AF (eluato con NaCl 0,7 M). Este último eluato se mineralizó por vía seca y las cenizas se levantaron con 10 mL de HCl 10% (V/V). Posteriormente se midió el contenido de P utilizando la técnica del ácido fosfomolibdico, según el método 931.01 de la AOAC (1993). El contenido de AF se calculó considerando el peso molecular de la sal dipotásica del AF (PM: 736.2 g/mol) y teniendo en cuenta que cada molécula de AF contiene 6 átomos de P.

La determinación los AR se llevó a cabo según AOAC (2002).

III.1.9. Ácido ascórbico total (AA):

Para determinar el contenido de AA se siguió la técnica de Behrens y Madère (1987). Se realizó una extracción del AA de las muestras con ácido metafosfórico 0,85% (P/V). Se utilizó un equipo de HPLC Konik-KNK-500-A, acoplado a un detector de longitud de onda variable (UVIS 200 Konik Instruments, Barcelona, España). Las muestras se inyectaron en el sistema cromatográfico a través de un inyector manual equipado con un loop de 20 μ L. Las separaciones se lograron en una columna de fase reversa (Phenomenex Gemini 5 μ C18 110^a) unidos a un guarda-columna (Phenomenex Inc., CA, EEUU.) a temperatura ambiente (25°C). La fase móvil (buffer 0,03 M de acetato de sodio/ácido acético, metanol 5%, pH 5,8), fue inyectada en condiciones isocráticas, previa filtración a través de un filtro de membrana de nylon de 0,45 μ m y desgasificación bajo vacío.

La solución patrón de AA (4,0 g/L) se preparó en ácido metafosfórico (30 g/L) y ácido acético (80 g/L), según la AOAC (2002). Para hacer esta solución, 0,1 g de AA en polvo, secado en estufa durante 1 hora a 105°C, se disolvió en 25 mL de la solución de extracción, protegido de la luz y se almacenó a 4°C hasta su uso.

III.1.10. Determinación del contenido de minerales (Fe, Zn, Ca, Na, K, Cu, Mg, P):

Para determinar la concentración de minerales se pesó una cantidad apropiada de muestra y se llevó a mufla (modelo HT N° 2403, Dalvo Argentina) a 550°C durante 4 horas. Las cenizas fueron levantadas con 10 mL de HCl 10% (V/V). Los contenidos de Na y K se determinaron por fotometría de llama y los de Fe, Zn, Ca, Cu y Mg por espectrofotometría de absorción atómica. Para Ca y Mg la dilución se efectuó empleando una solución de cloruro de lantano para eliminar interferencias. La medición se realizó utilizando un equipo Perkin Elmer IL 551, Instrumentation Laboratory (Norwood, Massachusetts, EE.UU).

El contenido de P se determinó utilizando una técnica colorimétrica que utiliza el ácido fosfomolibdico (AOAC, 1993).

III.1.11. Evaluación de la bioaccesibilidad de minerales *in vitro* (%DFe, %DZn, %DCa, %DCu, %DMg):

El material de vidrio fue lavado durante 24 h en una solución de ácido nítrico 10 N, y luego lavado con agua destilada y desionizada antes de su uso.

Se utilizó la técnica de dializabilidad de Drago y col. (2005). Alícuotas de 25 mL de FEL o FEP reconstituida se llevaron a pH 2 con HCl 4 N. Luego se les agregó 0,8 mL de una

solución de pepsina (16 g/100mL en HCl 0,1 N) y se incubaron durante 2 horas a 37°C en baño termostático (Modelo Dubnoff, Dalvo, Argentina) en oscuridad y con agitación. Para incrementar gradualmente el pH, se agregó una bolsita de diálisis de 24 cm de longitud (cut-off 6-8 kDa, Spectrapore) que contenía 20 mL de una solución 0,19 M de buffer PIPES (piperazine-N,N'-bis[2-ethane-sulfonic acid] disodium salt). Luego de 50 minutos se agregaron 6,25 mL de una solución de bilis-pancreatina (2,5 g/100 mL de bilis y 0,4 g/100 mL de pancreatina en NaHCO₃ 0,1 N) y nuevamente se incubó durante 2 horas a 37°C en oscuridad y con agitación. Al finalizar la digestión, se retiraron las bolsitas y se pesó el dializado. La dializabilidad de minerales (%DMi) se calculó como la cantidad del mineral (Mi) dializado expresada como porcentaje del contenido de dicho mineral total en la muestra:

$$\% \text{ DMi} = (\text{mg Mi dializado} / \text{mg Mi muestra}) \times 100$$

III.2. INCLUSIÓN DE FÓRMULAS ENTERALES COMERCIALES EN DISTINTAS MATRICES ALIMENTARIAS, CON DIFERENTES PROCESOS DE COCCIÓN:

III.2.1. Preparaciones dulces:

Las 20 FEC fueron incluidas en postres consumidos habitualmente en nuestra región, tales como: arroz con leche (AL), postre de chocolate (PC), té (T) y licuado de banana (LB), utilizando las recetas que se describen a continuación.

Para preparar el AL, se cocinaron 40 g de arroz blanco 20 min. en agua hirviendo, se lo coló y dejó enfriar. Luego se incorporó 100 mL de FEL o de FEP reconstituida según indicaciones del rótulo, 40 g de azúcar blanca, 5 gotas de esencia de vainilla y 0,3 g de canela en polvo.

En el caso del PC, se mezclaron 250 mL de leche entera no fortificada con 50 g de polvo para preparar postre de chocolate y se llevó a fuego lento. Cuando alcanzó el hervor, se lo retiró del fuego y se incorporó lentamente 55 g de FEP. Luego se dejó enfriar en heladera durante 2 h. En el caso de las FEL, se partió de 250 mL de las mismas, se agregaron 32,5 g de leche en polvo no fortificada y 50 g de polvo para preparar postre de chocolate. Se lo cocinó a fuego lento hasta hervor, y se lo enfrió en heladera durante 2 h.

Para el T, se hirvieron 200 mL de agua y se incorporó 50 g de FEP. A continuación se introdujo un saquito de té negro de 3 g, 40 g de azúcar blanca, se mezcló y se dejó reposar por 30 min., luego de lo cual se retiró el saquito de té y se dejó enfriar a temperatura ambiente. En

el caso de las FEL se partió de 200 mL de fórmula hervida y se prosiguió de la misma forma descripta para las FEP.

Para el LB, se colocaron en una licuadora 200 mL de FEL o FEP reconstituida según las indicaciones del rótulo, 70 g de banana madura y 20 g de azúcar y se licuó el contenido durante 3 minutos.

A estas preparaciones dulces se las dividió en dos categorías: aquellas en las que las FE fueron calentadas (Cal), como fue el caso del PC y del T, y aquellas en las que las FE no fueron expuestas al calentamiento (S/Cal), o sea en AL y LB.

III.2.2. Contenido de minerales:

El contenido de Fe, Zn y Ca fue determinado por espectrofotometría de absorción atómica como se describe en el punto III.1.13.

III.2.3. Bioaccesibilidad y aporte potencial (AP) de Fe, Zn y Ca:

La bioaccesibilidad de Fe, Zn y Ca *in vitro* fue determinada según la técnica descripta en el punto III.1.14.

El AP de Fe (APFe), Zn (APZn) y Ca (APCa) se calculó considerando una ración de 200 g de postre (equivalente a una taza) y utilizando la siguiente fórmula:

$$AP (\mu\text{g}) = \text{concentración } M_i \times \text{g ración} \times \%DM_i / 100,$$

Donde M_i , es el contenido del mineral en la muestra y $\%DM_i$ es el porcentaje de dializabilidad de ese mineral.

III.3. DESARROLLO DE FORMULAS ENTERALES EXPERIMENTALES (FEE):

III.3.1. Ingredientes

Se confeccionaron las formulaciones teóricas teniendo en cuenta la energía aportada por ración y la densidad de nutrientes, según el tipo de FEE desarrollada. Los ingredientes utilizados fueron los siguientes:

- *Fuente de carbohidratos*: maltodextrina de maíz (El Bahiense S.A, Argentina).
- *Fuente de lípidos*: aceite de girasol de alto oleico y cártamo (Cocinero, Molinos Río de La Plata S.A., Argentina).
- *Emulsionante*: lecitina de soja (El Bahiense S.A, Argentina).

- *Fuentes proteicas*: se evaluaron tres fuentes proteicas. El aislado de proteínas de soja (APS) fue provisto por Supro 500E, The Solae Company (Brasil); la caseína (C) por SANCOR C.U.L. (Argentina) y el concentrado de proteínas del suero lácteo (WPC) por Milkaut S.A. (Argentina).
- *Fuentes de Fe*: se probaron tres fuentes de Fe, sulfato ferroso ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, Cicarelli, Argentina), Bisglicinato ferroso (Ferrochel ®, Albion Lab, Utah, USA) y EDTA férrico sódico (Cicarelli, Argentina).
- *Fuente de Zn*: sulfato de zinc ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, Cicarelli, Argentina).
- *Fuente de Ca*: citrato de calcio (Tate & Lyle S.A. Argentina).
- *Promotor de la absorción de Fe*: ácido ascórbico (AA) (Cicarelli, Argentina), en relación molar Fe:AA 1:4 (Drago y Valencia, 2004).
- *Fuente de fibra*: povidexrosa (Winway y Co, Gelfix S.A., Argentina).
- *Mix vitamínico* (A, D3, E, K1, B1, B2, B6, B12, niacina, ácido fólico, ácido pantoténico, biotina, colina, e inositol) provisto por Nutralia S.R.L., Argentina.

III.3.2. Evaluación de las materias primas:

Las fuentes proteicas (APS, C y WPC) y el citrato de Ca fueron evaluados en cuanto a:

III.3.2.1. Análisis de la composición centesimal: siguiendo las técnicas de la AOAC (2002).

III.3.2.2. Contenido de minerales: el contenido de Fe, Zn y Ca se determinó por espectrofotometría de absorción atómica como se describe en el punto III.1.13.

III.3.2.3. Determinación de fitatos y actividad de inhibidor de tripsina: sólo se llevó a cabo en el APS, empleando los métodos de la AOAC (2002).

III.3.3. Desarrollo de las FEE:

En la Figura III.1 se muestra un esquema de todas las FEE desarrolladas.

Todas las FEE fueron preparadas al 37% de sólidos totales. Los ingredientes fueron pesados en balanza de precisión (Adventure Ohaus, EEUU., +/- 0,0001g) y dispersados en agua destilada. En último lugar se agregó el aceite con la lecitina y se homogenizó durante 2 min., utilizando una procesadora manual (500 Watts, Liliana, Argentina). Aunque la misma proteína contribuye a la estabilización de la emulsión, se suelen utilizar emulsionantes (en este caso lecitina de soja), a fin de aumentar la estabilidad física a largo plazo del producto (McSweeney, 2008).

El mix vitamínico se incorporó en una concentración tal que permitiera cubrir los valores de referencia para adultos (FAO/WHO, 2002) con un consumo de 1300 mL de FE.

Las muestras fueron refrigeradas a 4°C hasta su análisis.

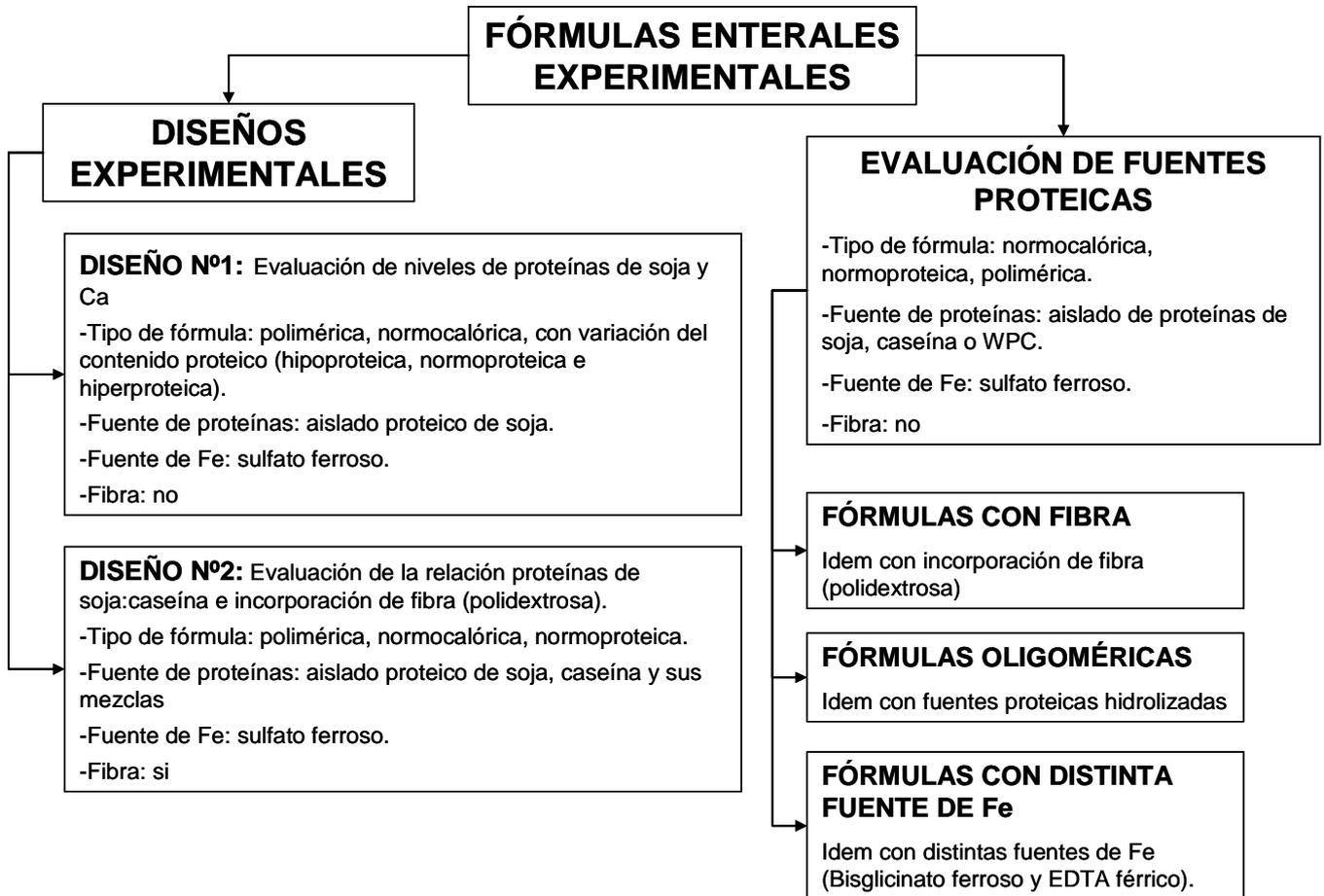


Figura III.1. Esquema de las Fórmulas Enterales Experimentales desarrolladas.

III.3.4. Evaluación del efecto de factores vinculados a la composición de las fórmulas sobre las propiedades nutricionales, utilizando diseños experimentales:

Para evaluar el efecto de algunos factores vinculados a la composición del alimento sobre las propiedades nutricionales, se utilizó la metodología de superficie de respuesta, a través de diseños factoriales del tipo 3^2 , con 3 puntos centrales, resultando un total de 11 experiencias en cada diseño. Todas las FE desarrolladas fueron normocalóricas (1 Kcal/mL). Los niveles de Fe, Zn y Ca fueron ajustados con sulfato ferroso, sulfato de zinc y citrato de calcio, respectivamente.

Los factores evaluados se describen a continuación.

III.3.4.1. Diseño experimental N° 1: Efecto del contenido de proteínas de soja (PS) y de calcio sobre la bioaccesibilidad de minerales y la digestibilidad proteica.

El APS fue agregado de tal manera de alcanzar los niveles de 2,5 - 3,75 y 5,0 g de proteína/100 mL. Los niveles de APS fueron seleccionados para obtener FEE hipoproteicas (10% del VCT), normoproteicas (15% del VCT) e hiperproteicas (20% del VCT aportado por proteínas).

Los niveles de Ca fueron ajustados a 50, 75 y 100 mg/100 mL de alimento preparado utilizando citrato de Ca.

Las experiencias fueron realizadas de manera aleatoria y se muestran en la Tabla III.1.

Tabla III.1: Diseño experimental N° 1. Efecto del contenido de proteínas de soja y de calcio sobre la bioaccesibilidad de minerales y la digestibilidad proteica.

Experiencia	Proteína (g /100 mL)	Calcio (g/100mL)
1	2,5	50
2	2,5	75
3	2,5	100
4	3,75	50
5	3,75	75
6	3,75	75
7	3,75	75
8	3,75	100
9	5,0	75
10	5,0	50
11	5,0	100

Las respuestas fueron controladas mediante la evaluación de una FEE preparada con 4 g/100 mL de PS y 100 mg/100 mL de Ca.

III.3.4.2. Diseño experimental N° 2: Efecto de la relación proteínas de soja:caseína y del contenido de polidextrosa sobre la bioaccesibilidad de minerales y la digestibilidad proteica:

Se evaluó la relación PS: C en el rango 0:100 a 100:0, trabajando con fórmulas normoproteicas (4 g proteína/100 mL).

El otro factor analizado fue el contenido de Px como fuente de fibra, cuyos niveles estuvieron comprendidos entre 0,8 y 2,5 g/100 mL de FE preparada.

Las experiencias fueron realizadas de manera aleatoria y se muestran en la Tabla III.2.

Tabla III.2: Diseño experimental N° 2. Efecto de la relación proteínas de soja:caseína y del contenido de polidextrosa en la bioaccesibilidad de minerales y la digestibilidad proteica.

Experiencia	Proteína de Soja (g proteínas/100 mL)	Caseína (g proteínas/100 mL)	Relación PS:C	Polidextrosa (g/100 mL)
1	0	4	0:100	0,8
2	0	4	0:100	1,65
3	0	4	0:100	2,5
4	2	2	50:50	0,8
5	2	2	50:50	1,65
6	2	2	50:50	1,65
7	2	2	50:50	1,65
8	2	2	50:50	2,5
9	4	0	100:0	0,8
10	4	0	100:0	1,65
11	4	0	100:0	2,5

Las respuestas fueron controladas mediante la evaluación de una FEE preparada con 3 g/100 mL de proteínas de soja, 1 g/100 mL de proteínas de caseína y 1 g/100 mL de Px.

III.3.4.3. Respuestas evaluadas:

En ambos diseños, las respuestas evaluadas fueron la bioaccesibilidad *in vitro* de Fe, Zn, Ca y la %DP, utilizando las técnicas descritas en los puntos III.1.14 y III.1.8.2., respectivamente.

La evaluación de la bioaccesibilidad se realizó 22 horas después de la elaboración de las FEE, ya que se ha demostrado que transcurrido este tiempo la distribución del Fe se estabiliza, alcanzando la distribución del Fe intrínseco y permanece constante (Pabón y Lönnnerdal, 1992).

III.3.5. Desarrollo de fórmulas enterales poliméricas normocalóricas y normoproteicas con distintas fuentes proteicas y evaluación de variaciones en la composición sobre las propiedades nutricionales:

Como se describe más arriba, las fuentes proteicas utilizadas fueron: APS, C y WPC. Todas las FE desarrolladas en este punto contuvieron 4 g de proteínas/100 mL (fórmulas normoproteicas) y un contenido de Ca de 100 mg/100 mL. La fuente de hierro utilizada fue en principio sulfato ferroso.

III.3.5.1. Evaluación de la incorporación de fibra:

A las FE con distintas fuentes proteica se le incorporó fibra (Px) en cantidades correspondientes a los niveles superior e inferior del Diseño Experimental N° 2 (0,8 y 2,5 g/100 mL). La fuente de Fe utilizada fue sulfato ferroso.

Las propiedades nutricionales evaluadas fueron bioaccesibilidad *in vitro* de Fe, Zn y Ca y DP, utilizando las metodologías descritas en los puntos III.1.14 y III.1.8.2., respectivamente.

III.3.5.2. Desarrollo de fórmulas oligoméricas:

III.3.5.2.1. Preparación de los hidrolizados:

Los hidrolizados fueron obtenidos empleando un reactor termostatzado de tipo batch de 800 mL de capacidad. El pH de la reacción se midió de manera continua, utilizando un medidor de pH (IQ Scientific Instruments, Loveland, Colorado, EE.UU.) y se ajustó mediante la adición de base (NaOH) o ácido (HCl) con una bureta.

La concentración de sustrato fue de 8 g/100 mL de proteína en todos los casos. Las condiciones de trabajo para la enzima fueron: 55°C, pH 7, relación enzima/sustrato (E/S) 5g/100 g. El nombre de la enzima no se menciona por razones de confidencialidad.

Una vez que se completó la hidrólisis, la enzima se inactivó mediante tratamiento térmico siguiendo las directrices del fabricante.

Para el seguimiento de la reacción de hidrólisis se determinó el grado de hidrólisis (GH) a través de la medición de aminos libres utilizando la técnica del o-ftaldialdehído, según Nielsen y col. (2001) y se calculó según la siguiente ecuación:

$$GH (\%) = [(h - h_0) / h_{tot}] \times 100$$

Donde, h: es el número de uniones peptídicas hidrolizadas; h_0 : es el contenido de aminos libres en la proteína de partida y h_{tot} : es el número total de uniones peptídicas hidrolizables en la proteína (APS: 7,8 mEq/g proteína; C: 8,2 mEq/g proteína; WPC: 8,8 mEq/g proteína).

III.3.5.2.2. Propiedades nutricionales evaluadas:

Las propiedades nutricionales evaluadas fueron bioaccesibilidad *in vitro* de Fe, Zn y Ca, DP y LD, utilizando las metodologías descritas en los puntos III.1.14, III.1.8.2 y III.1.9, respectivamente.

III.3.5.3. Estudio del efecto de distintas fuentes de Fe en la bioaccesibilidad de minerales:

Se evaluaron las siguientes fuentes de Fe: sulfato ferroso, Bisglicinato Ferroso y FeNaEDTA, a una concentración final de Fe de 10 mg/L.

Se evaluó la bioaccesibilidad *in vitro* de Fe, Zn y Ca, utilizando la metodología descrita en el punto III.1.14.

III.3.6. Evaluación la formulación experimental selecta, desde el punto de vista fisicoquímico y microbiológico.

La formulación definida en los estudios anteriores fue evaluada desde el punto de vista fisicoquímico y microbiológico como se detalla a continuación. Los resultados de la evaluación fisicoquímica fueron comparados con una fórmula comercial (FEP2) de similares características de composición.

III.3.6.1. Evaluación de la viscosidad: La viscosidad de las dispersiones fue determinada utilizando un viscosímetro rotacional de cilindros concéntricos (Haake Rotovisco RV3) a 24 °C. Se trabajó a una concentración de sólidos de 37 %, que corresponde a FE reconstituidas.

III.3.6.2. Evaluación de los sólidos solubles y solubilidad proteica: Las dispersiones preparadas fueron centrifugadas y se determinó el contenido de proteína (nitrógeno por método de Kjeldahl) y de sólidos solubles, como se describió anteriormente.

III.3.6.3. Evaluaciones microbiológicas: Se siguieron las Normas microbiológicas (Art 1340) del Código Alimentario Argentino para productos que han de consumirse después de añadir un líquido: Recuento de aerobios en placa a 37°C (Máx 5×10^4 UFC/g), Coliformes a 37°C (Número Más Probable, Máx 100/g): *E. coli* (ausencia en: 1g), *Salmonella* (ausencia en: 25g), *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva (ausencia en: 0,1g), Hongos y Levaduras (recuento en placa, Máx 103 UFC/g).

III.3.7. Evaluación del efecto de la inclusión de la fórmula enteral experimental selecta en distintas matrices alimentarias, con diferentes procesos de cocción:

En este caso también los resultados fueron comparados con una fórmula comercial (FEP2).

III.3.7.1. Incorporación de la fórmula experimental en las mismas matrices alimentarias utilizadas para las fórmulas comerciales:

La FEE selecta fue incorporada en las mismas matrices alimentarias que se utilizaron para las FEC, siguiendo los mismos procedimientos descriptos para las FEP, en el punto III.2.1.

Las FE y los postres fueron evaluados en cuanto a la bioaccesibilidad de Fe, Zn y Ca, y el aporte potencial de dichos minerales, utilizando la metodología ya descripta en los puntos III.1.14 y III.2.3, respectivamente.

III.3.7.2. Incorporación de la fórmula experimental en preparaciones culinarias que podrían mejorar sus propiedades nutricionales.

Se propusieron cuatro nuevas preparaciones culinarias que permitieran mantener o mejorar las propiedades nutricionales de las fórmulas y que sean de consumo habitual en el ámbito hospitalario. Las recetas se describen a continuación:

-Jugo de Naranja (JN): se pesaron 74 g de FEE o FEC y se disolvieron con 200 mL de JN. Se homogeneizó durante 1 min. con procesadora manual. El JN utilizado presentó una concentración de AA de 20,2 mg/100 mL.

-Jugo de manzana (JM): se pesaron 74 g de FEE o FEC y se disolvieron con 200 mL de JN. Se homogeneizó durante 1 min. con procesadora manual. El JN presentó una concentración de AA de 20,2 mg/100 mL.

-Gelatina (G): se pesaron 36 g de gelatina de cereza (13,2 mg AA/100 g) y 111 g de FEE o FEC en un recipiente adecuado. Luego se agregaron 150 mL de agua destilada hirviendo y se mezcló con cuchara para eliminar los grumos. A continuación se incorporaron 150 mL de agua destilada fría y se homogeneizó durante 1 min. con procesadora manual y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Posteriormente, se conservó a 4 °C durante 20 h hasta su análisis.

-Puré de papas (PP): se hirvieron 150 mL de agua destilada, se retiró del fuego y se incorporaron 50g de puré en escamas, se mezcló sin batir y se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. Luego se incorporó 150 mL de FEE o FEC (37% sólidos).

Se determinó la bioaccesibilidad de Fe, Zn y Ca, y el aporte potencial de dichos minerales, como se describe en el punto III.1.14., y III.2.3., respectivamente.

III.4. EVALUACIÓN DEL TIEMPO DE VIDA ÚTIL LA FÓRMULA ENTERAL EXPERIMENTAL SELECTA:

Se prepararon las muestras en polvo mediante la mezcla de los componentes y las muestras fueron manualmente colocadas en bolsas multilaminadas y térmicamente selladas. Dichas bolsas están formadas de multicapas de papel (glassine de 60g/m²), plástico (polietileno de baja densidad 50g/m²) y papel de aluminio (de 0,09mm de espesor).

Las muestras fueron evaluadas a cuatro temperaturas de almacenamiento: 5, 15, 30 y 45°C, usando cámaras termostalizadas, durante 3 meses, en lapsos adecuados de tiempo (0, 15, 30, 60 y 90 días).

Para estimar la cinética de deterioro durante el almacenamiento de las muestras (Singh, 1999) y la vida útil (VU), se evaluaron los siguientes parámetros:

- o **Color:** las muestras en polvo se colocaron en cubetas blancas de 1 cm de espesor, y se midieron utilizando un espectrofotómetro Minolta 508d (Minolta Co., LTD., Japón), en las siguientes condiciones: iluminante D65, ángulo del observador 10°, SCE (componente

especular excluido), evaluándose los parámetros correspondientes al sistema CIE: L^* , a^* , b^* . El parámetro L^* mide el grado de luminosidad ($L^*= 100$: blanco; $L^*= 0$: negro), el a^* , el grado de componente rojo o verde ($a^* > 0$: rojo; $a^* < 0$: verde) y el b^* el grado de componente amarillo o azul ($b^* > 0$: amarillo $b^* < 0$: azul). Además, se calculó el índice de amarillo (YI) como una medición del color relacionado a la intensidad del pardeamiento (Rufián-Henares y col., 2006), utilizando la siguiente ecuación: $YI = 142,86 b^*/L^*$

- **Actividad de agua (A_w)** se midió utilizando un equipo AQUALAB, modelo CX-2 (Washington, EEUU.).
- **Oxidación de lípidos:** se utilizó la técnica de TBARS, descrita en el punto III.1.7.
- **Ácido ascórbico:** se utilizó la metodología ya descrita en el punto III.1.12.
- **Lisina disponible:** se utilizó el método descrito en el punto III.1.9.
- **Bioaccesibilidad in vitro de Fe, Zn y Ca:** se utilizó la técnica descrita en el punto III.1.14.
- **Digestibilidad proteica in vitro:** se determinó según la técnica descrita en el punto III.1.8.2.

III.5. Análisis estadísticos:

Todas las determinaciones fueron realizadas por triplicado. Para el estudio estadístico de cada uno de los puntos tratados en el presente trabajo se realizó un Análisis de la Varianza (ANOVA) seguido por el test LSD (least significant difference) para comparar medias al 95% de confianza, utilizando el programa Statgraphics Plus 5.1. Para realizar los diseños experimentales y analizar los resultados se utilizó el programa Statgraphics Plus 5.1. Para llevar a cabo la optimización de las respuestas evaluadas en los dos diseños experimentales, se utilizó el programa Design Expert 7.0.0.

IV. Resultados y Discusión

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Capítulo IV.1. EVALUACIÓN DE FÓRMULAS ENTERALES COMERCIALES:

IV.1.1. Ingredientes:

Las fuentes de carbohidratos, proteínas, grasas y fibra declaradas en los respectivos rótulos de las FEC se muestran en la Tabla IV.1.

Se observó que la fuente de carbohidratos más utilizada fue la maltodextrina (M: 80%), seguida de jarabe de glucosa (JG: 35%); la fuente proteica más utilizada fue el caseinato de calcio (CC: 80%), seguida de caseinato de sodio (CS: 60%); la fuente de grasas más elegida fue el aceite de canola (ACa: 75%) y en segundo lugar se encontraron el aceite de cártamo de alto oleico y el aceite de maíz (ACAO y AM: 35%).

En cuanto a la fibra, el 50% de las FEC estaban suplementadas y la fuente más elegida fue fructooligosacáridos (FOS: 35%), seguida de fibra de soja (FS: 30%).

Además, la vida útil de las FEC declarada en los rótulos fue de 24 meses.

IV.1.2. Composición centesimal:

La composición centesimal de las FEC analizadas y el valor energético se muestran en la Tabla IV.2.

El contenido de proteínas encontradas en las FEC estuvo en el rango de 2,16 - 6,79 g/100 mL con un valor promedio de $4,44 \pm 1,11$ g/100 mL, siendo mayor en las FEL ($5,09 \pm 1,06$ g/100 mL) que en las FEP ($3,68 \pm 1,08$ g/100 mL).

El rango hallado para grasas fue entre 2,30 - 5,06 g/100 mL, con un valor promedio de $4,12 \pm 0,57$ g/100 mL y los valores también resultaron mayores para las FEL ($4,35 \pm 0,27$ g/100 mL) comparadas con las FEP ($3,98 \pm 0,67$ g/100 mL).

Para el caso de las cenizas, los valores oscilaron entre 0,49 - 1,06 g/100 mL, con un valor promedio de $0,81 \pm 0,14$ g/100 mL, no hallándose diferencias estadísticamente significativas entre FEL y FEP.

Tabla IV.1: Fuentes de carbohidratos, proteínas, grasas y fibra de Fórmulas Enterales Comerciales.

Muestra	Fuente de carbohidratos	Fuente de proteínas	Fuente de lípidos	Fuente de Fibra
FEP1	AMH, S	CC, APS	AGAO, AS, AC	FOS
FEP2	M, D	CC	APa, ACa, AM	Nsf
FEP3	M, F	APS	AGi, ACa	FS
FEP4	M, D	CC	APa, ACa, AC, AM	Nsf
FEP5	M	CSH	TCM, ACa, AGi, EMD	Nsf
FEP6	M, D	CC	APa, ACa, AC, AM	Nsf
FEP7	M	CSH	AM, TCM	Nsf
FEP8	M, D	CC	AGAO, AM	FS, FOS
FEP9	AMH, S, JG, M	CC, APS, CS	AS	Nsf
FEP10	AMH, S, JG	CC, WPC, CS	AS	FT
FEP11	CC, AMH, S	APS, WPC	AGAO, AS, ACa	FOS, I
FEP12	M, S, D	CC	APa, ACa, AC, AM	Nsf
FEL13	M, F	CC, CS	ACAO, ACa	FS
FEL14	M, JG	CC, CS	ACAO, ACa, TCM	FS
FEL15	M, JG	CC, CS	ACAO, ACa, MCT	FOS, FA, FS, GA, Cel
FEL16	M, JG	CS, CC, APS	ACAO, ACa, MCT	Nsf
FEL17	M, JG, F	CS, CC, APS	CAO, AM, ACAO	Nsf
FEL18	M, F	CS, CC	ACAO, ACa	FS, FOS, GS
FEL19	JG, S	CC, CS, APS	ACAO, ACa	FOS, Cel
FEL20	M, D	CS	ACa, MCT, AM	Nsf

FEP: formula enteral en polvo. **FEL:** fórmula enteral líquida, **AMH:** Almidón de maíz hidrolizado, **S:** Sacarosa, **M:** Maltodextrina, **D:** Dextrosa, **F:** Fructosa, **JG:** Jarabe de glucosa. **CC:** Caseinato de calcio, **CS:** Caseinato de sodio, **CSH:** Caseinato de sodio hidrolizado, **APS:** Aislado de proteínas de soja, **WPC:** Concentrado de proteínas de suero lácteo. **AGi:** Aceite de girasol, **AGAO:** Aceite de girasol alto oleico, **AC:** Aceite de coco, **APa:** Aceite de palma, **AS:** Aceite de soja, **ACa:** Aceite de canola, **AM:** Aceite de maíz, **TCM:** Triglicéridos de cadena media, **EMD:** Ésteres de mono y diglicéridos, **ACAO:** Aceite de cártamo alto oleico. **FOS:** Fructooligosacáridos, **FS:** Fibra de soja, **I:** Inulina, **GA:** Goma arábica, **Cel:** Celulosa, **FA:** Fibra de avena, **FT:** Fibra de trigo, **Nsf:** no suplementado con fibra.

Tabla IV.2: Composición centesimal y valor energético de Fórmulas Enterales Comerciales.

Muestra	Ceniza (g/L)	Proteína (g/L)	Lípidos Totales (g/L)	Fibra dietaria (g/L)	Carbohidratos (g/L)	Valor Energético (Kcal/mL)
FEP1	8,34 ± 0,06 ^{f,g}	39,75 ± 0,42 ^h	46,40 ± 0,89 ^k	10,00	106,27	1,00
FEP2	8,61 ± 0,20 ^g	37,12 ± 0,07 ^g	37,83 ± 0,86 ^c	0,00	89,91	0,85
FEP3	7,37 ± 0,12 ^c	39,30 ± 0,07 ^h	40,19 ± 0,70 ^{d,e}	15,00	86,72	0,87
FEP4	7,48 ± 0,10 ^{c,d}	33,71 ± 0,14 ^d	44,26 ± 0,64 ⁱ	15,00	71,32	0,82
FEP5	9,50 ± 0,04 ^h	47,11 ± 0,03 ^{j,k}	33,56 ± 0,12 ^b	0,00	123,00	0,98
FEP6	8,18 ± 0,05 ^{e,f,g}	36,45 ± 0,30 ^{f,g}	39,72 ± 1,75 ^{e,f,g}	0,00	117,26	0,98
FEP7	4,59 ± 0,03 ^a	21,59 ± 0,01 ^a	23,03 ± 0,03 ^a	0,00	79,80	0,61
FEP8	10,74 ± 0,02 ⁱ	47,41 ± 0,32 ^k	39,92 ± 0,84 ^{d,e}	7,60	101,63	0,96
FEP9	6,68 ± 0,12 ^b	32,66 ± 0,01 ^c	41,70 ± 0,07 ^{g,h,i}	3,04	125,48	1,01
FEP10	6,62 ± 0,17 ^b	31,07 ± 0,17 ^b	39,42 ± 1,11 ^d	13,56	122,13	0,97
FEP11	9,42 ± 0,09 ^h	39,79 ± 1,43 ^h	50,57 ± 0,63 ^m	10,00	156,51	1,24
FEP12	7,90 ± 0,06 ^{d,e}	35,74 ± 1,33 ^{e,f}	40,53 ± 1,16 ^{d,e,f}	0,00	125,72	1,01
FEL13	7,41 ± 0,38 ^c	35,26 ± 0,08 ^e	40,95 ± 2,30 ^{d,e}	14,00	91,01	0,86
FEL14	8,28 ± 0,09 ^{e,f,g}	46,26 ± 0,17 ^j	43,97 ± 0,23 ^j	14,00	106,18	1,01
FEL15	10,90 ± 0,36 ⁱ	54,56 ± 0,08 ^m	40,48 ± 0,29 ^{d,e,f}	12,00	124,94	1,08
FEL16	8,51 ± 0,33 ^g	41,44 ± 0,17 ⁱ	42,05 ± 0,15 ⁱ	0,00	120,24	1,03
FEL17	7,52 ± 0,23 ^{c,d}	51,27 ± 0,08 ^l	48,15 ± 0,43 ^l	0,00	181,06	1,36
FEL18	7,62 ± 0,47 ^{c,d}	46,73 ± 0,17 ^{j,k}	46,62 ± 0,34 ^k	7,82	91,51	0,97
FEL19	7,96 ± 0,32 ^{d,e,f}	63,63 ± 0,08 ⁿ	41,78 ± 0,30 ^{h,i}	15,60	119,86	1,11
FEL20	7,35 ± 0,17 ^c	67,86 ± 0,25 ^o	44,14 ± 0,15 ^j	0,00	152,05	1,28

Media ± DE. Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$). **FEP**: fórmula enteral en polvo. **FEL**: fórmula enteral líquida.

Teniendo en cuenta que el valor de un nutriente en el alimento debe estar comprendido en $\pm 20\%$ del valor declarado en el rótulo (CAA, Capítulo V), se halló que el 80% de las FEC contenía alrededor del $\pm 10\%$ del valor declarado en el rótulo para proteínas y que el 100% variaba alrededor del $\pm 20\%$ del valor declarado para dicho nutriente. Para los casos de carbohidratos y grasas, sólo el 50% de las FEC variaron alrededor del $\pm 20\%$ de los valores declarados.

Según la clasificación de Heimburger y Weinster (1985) se establecieron rangos para clasificar las FE de acuerdo con su densidad calórica de la siguiente manera: hipocalórica: menos de 0,75 Kcal/mL, normocalórica: entre 0,75 - 1,25 Kcal/mL e hipercalórica: más de 1,25 Kcal/mL. De esta manera, se pudo observar que el 85% de las FEC resultaron normocalóricas, tal y como lo describían los rótulos, mientras que una fórmula resultó hipocalórica (FEP7) y dos hipercalóricas (FEL17 y FEL20).

Teniendo en cuenta la clasificación de Heimburger y Weinster (1985) para el contenido de proteínas, el 70% de las fórmulas resultaron normoproteicas (entre 15-18% de la energía proveniente de las proteínas), como lo declaraban en el rótulo, mientras que las restantes fueron hiperproteicas (FEP5, FEP8, FEL15, FEL18, FEL19, FEL20).

La A_w de las FEC osciló entre 0,109 - 0,242 y 0,963 - 0,986, con valores promedio de $0,18 \pm 0,04$ y $0,97 \pm 0,01$ para las FEP y FEL, respectivamente. Los valores hallados de A_w de las FEP son considerados adecuados para favorecer la estabilidad del alimento, ya que valores por encima de 0,5 determinan la aparición de reacciones químicas, enzimáticas y de crecimiento microbiano que conllevan al deterioro del producto (Badui Degal, 2006). Las FEP presentaron un rango de humedad entre 2,17 - 4,39%, con un promedio de 3,4%.

IV.1.3. Sólidos totales y sólidos solubles:

En la Figura IV.1 se muestra el porcentaje de sólidos totales y solubles de las FEC.

Los sólidos totales fueron hallados en un rango de 13 - 27% y 19 - 29%, para las FEP reconstituidas y FEL, respectivamente, y los sólidos solubles en el rango de 50 - 61% y el 63 - 85%, para la FEP y FEL, respectivamente.

Esto indica que en general, al ser reconstituidas de acuerdo a lo sugerido en el rótulo, las FEP presentaron menor contenido de sólidos totales y solubles que las FEL.

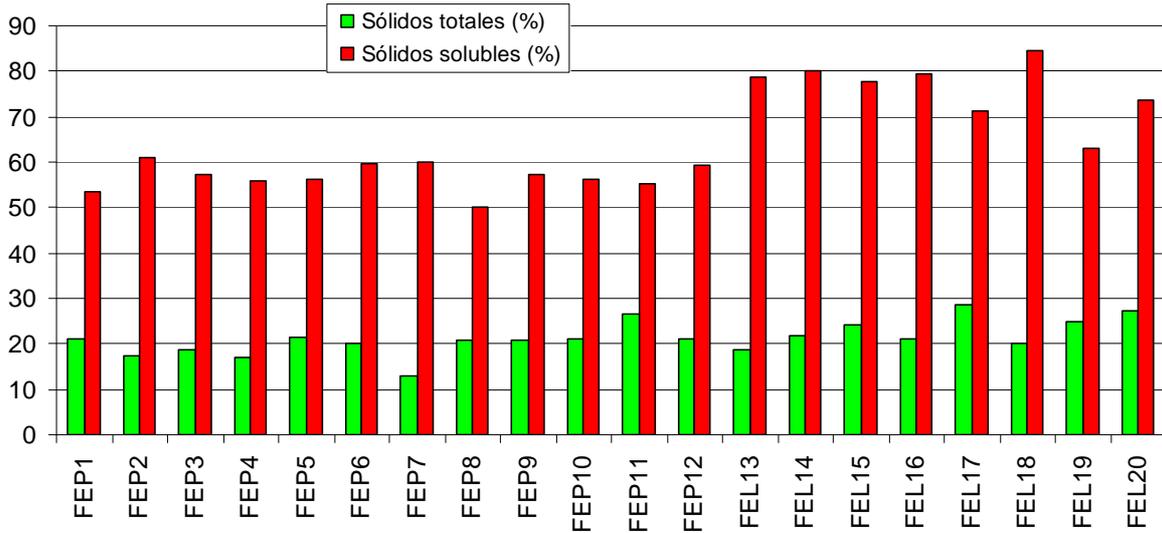


Figura IV.1. Sólidos totales y sólidos solubles de Fórmulas Enterales Comerciales

IV.1.4. Distribución porcentual de los macronutrientes:

En la Figura IV.2 se muestra la E% en función de los macronutrientes de las FEC.

Al no incluir dentro del estudio ninguna FEC destinada a necesidades especiales, se adoptó el criterio de comparar el aporte calórico de cada macronutriente en el producto con las recomendaciones generales de energía de la OMS (2003). Estas establecen que las proteínas deben aportar entre el 10-15% de las calorías totales, que las grasas deben encontrarse en el rango de 15-30% y que los carbohidratos deben fluctuar entre 55-75%.

Los resultados obtenidos (Figura IV.2) permitieron observar que en todas las FEC analizadas, la energía aportada por las grasas superaban el 30% de las Kcal totales, recomendado por la OMS (2003). Para los carbohidratos, en ninguna FEC se alcanzó el 55% con respecto a las Kcal totales y en el caso de las proteínas, sólo el 15% de las FEC analizadas se encontró dentro del rango recomendado por la OMS (2003).

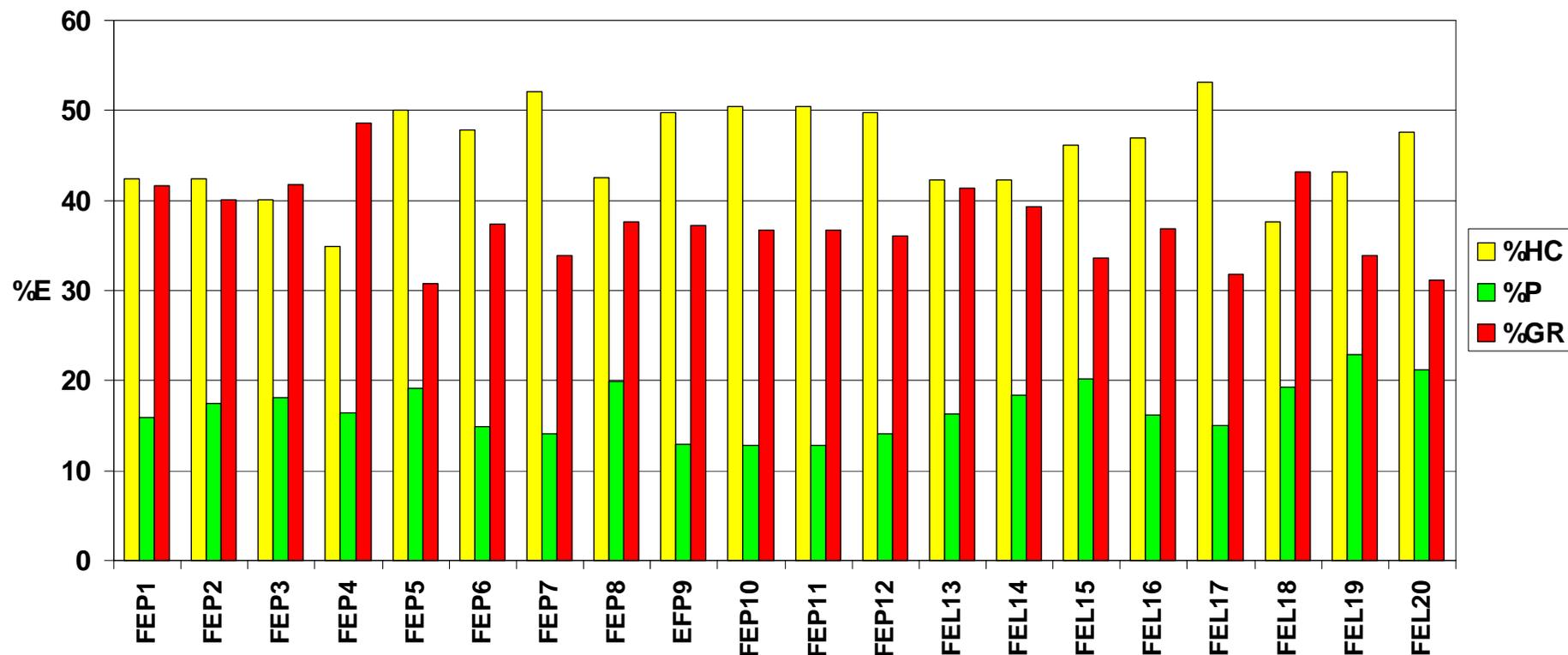


Figura IV.2: Distribución energética porcentual (E%) en función de los macronutrientes: hidratos de carbono (%HC), proteínas (%P) y grasa (%GR), de Fórmulas Enterales Comerciales

IV.1.5. Estudio de la composición lipídica:

IV.1.5.1. Perfil de ácidos grasos:

El contenido de los diferentes ácidos grasos, expresados como porcentaje de la grasa total, se muestra en la Tabla IV.3. Se puede apreciar una gran variabilidad para las distintas FEC analizadas.

El perfil de ácidos grasos se analizó teniendo en cuenta las recomendaciones de la OMS (2003), las cuales exponen que los ácidos grasos saturados (AGS) deben representar menos del 10% de las Kcal totales y los ácidos grasos poliinsaturados (AGP) entre 6-10% de las Kcal totales. Además, se evaluó la relación n-6/n-3, que según el grupo de expertos del National Cholesterol Education Program (NCEP-ATP III, 2002), debe encontrarse en 6:1.

En 5 muestras (FEP2, FEP6, FEP9, FEL10, FEL12) los AGS superaron el 10% del total de las Kcal y en tres muestras (FEP9, FEL10, FEL12), los AGS representaron del 40 al 68% de la grasa total. El 70% de las FEC cumplieron con la recomendación de que los AGP representaran 6-10% de las Kcal totales. Sólo el 35% de las FEC cumplieron con las recomendaciones de NCEP ATP III (2002).

Como se puede observar en la Tabla IV.3, en el 85% de las FEC analizadas, los ácidos grasos mayoritarios fueron los ácidos grasos monoinsaturados (AGM).

En las FEP 9, 10 y 12 predominaron los AGS. Las fórmulas 9 y 10 declaran en sus rótulos contener AS. Ya que AS se caracteriza por aportar AGP (Briceño y Navas, 2004), es probable que estas FEC contengan el agregado de una grasa no declarada. Asimismo, el rótulo de la FEP12 declara contener una mezcla de APa + ACa + AC + AM, por lo que deberían predominar los AGM por sobre los AGS.

Tabla IV.3: Contenido de ácidos grasos de Fórmulas Enterales Comerciales, expresados como porcentaje de la grasa total, y contenido de malondialdehído (MDA).

Muestra	C12:0	C14:0	C16:0	C18:0	C20:0	Total AGS	C18:1	C20:1	Total AGM	C18:2	C18:3	C20:4	Total AGP	MDA (µg/L)
FEP1	6,52	3,03	6,58	3,30	-	19,44	57,54	-	57,54	21,51	1,52	-	23,03	735,13 ± 55,80 ^{d, e}
FEP2	5,99	3,59	17,24	3,79	1,28	31,88	44,33	1,03	45,36	19,46	3,30	-	22,76	1693,47 ± 67,60 ^h
FEP3	3,02	1,64	9,46	2,80	0,87	17,80	64,51	0,97	65,47	13,99	2,16	0,59	16,82	1512,26 ± 87,83 ^{g, h}
FEP4	0,33	0,45	6,40	4,49	0,76	12,43	49,95	1,45	51,40	30,82	5,35	-	36,16	1480,02 ± 119,71 ^g
FEP5	6,34	3,10	15,77	3,67	0,89	29,78	46,85	1,00	47,85	18,71	3,66	-	22,37	4579,98 ± 8,83 ⁱ
FEP6	8,12	3,79	16,84	3,65	0,73	33,13	44,49	1,08	45,57	19,07	2,22	-	21,29	6091,46 ± 262,09 ^j
FEP7	-	0,32	6,76	4,45	0,79	12,32	29,40	0,72	30,11	57,31	0,26	-	57,57	1462,25 ± 130,23 ^g
FEP8	-	0,23	3,87	2,42	0,61	7,14	80,36	0,67	81,03	11,34	0,49	-	11,83	1518,83 ± 57,65 ^{g, h}
FEP9	37,87	13,29	12,01	4,56	-	67,74	23,09	-	23,09	8,33	0,84	-	9,17	1646,37 ± 177,18 ^{g, h}
FEP10	28,48	13,57	12,24	5,26	-	59,55	28,84	-	28,84	10,77	0,83	-	11,61	687,13 ± 6,26 ^{c, d}
FEP11	-	-	4,95	2,82	-	7,76	67,67	-	67,67	22,11	2,46	-	24,56	359,79 ± 4,63 ^{a, b}
FEP12	12,89	4,57	18,48	4,13	-	40,07	39,33	-	39,33	17,32	3,28	-	20,60	1009,15 ± 8,39 ^f
FEL13	-	-	3,97	1,19	0,70	5,86	77,00	0,64	77,64	15,45	1,04	-	16,50	447,72 ± 34,48 ^b
FEL14	-	-	3,98	1,57	0,77	6,31	73,33	0,93	74,26	16,69	2,74	-	19,43	766,22 ± 10,78 ^{d, e}
FEL15	-	-	3,65	0,42	0,78	4,85	75,83	0,99	76,82	15,74	2,59	-	18,33	543,73 ± 40,95 ^{b, c}
FEL16	-	0,20	4,17	1,86	1,06	7,29	70,67	1,27	71,94	17,03	3,74	-	20,77	880,51 ± 86,20 ^{e, f}
FEL17	-	-	4,80	1,89	0,98	7,67	59,35	1,62	60,97	27,11	4,25	-	31,36	217,61 ± 10,78 ^a
FEL18	-	0,13	4,24	2,10	0,13	6,60	76,71	0,79	77,49	14,82	1,09	-	15,91	409,62 ± 23,71 ^b
FEL19	-	-	3,70	1,46	0,35	5,50	75,85	0,53	76,38	15,60	2,51	-	18,11	427,91 ± 6,47 ^b
FEL20	0,27	0,33	5,22	2,30	1,10	9,23	53,19	1,59	54,78	29,92	5,56	0,51	36,02	918,61 ± 53,88 ^{e, f}

Media ± DE. **FEP:** formula enteral en polvo. **FEL:** fórmula enteral líquida, **ácido láurico** (C12:0), **ácido mirístico** (C14:0), **ácido palmítico** (C16:0), **ácido esteárico** (C18:0), **ácido araquídico** (C20:0), **ácido oleico** (C18:1), **ácido gadoleico** (C20:1), **ácido linoleico** (C18:2), **ácido α -linolénico** (C18:3), **ácido araquidónico** (C20:4), **AGS:** ácidos grasos saturados, **AGM:** ácidos grasos monoinsaturados, **AGP:** ácidos grasos poliinsaturados. Letras distintas indican diferencias significativas entre las muestras ($p < 0,05$)

IV.1.5.2. Oxidación de lípidos:

Al evaluar el contenido de la especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), se encontró que los valores de MDA (Tabla IV.3) se hallaron comprendidos en un rango de 217,6 – 6091,5 µg/L, con un valor promedio de $1369,4 \pm 1457,1$ µg/L y con una mediana de 899,6 µg/L. Los valores resultaron mayores en las FEP (1897,9 µg/L) que en las FEL (576,5 µg/L). Los valores hallados fueron en algunos casos, superiores a los hallados en la bibliografía (200 – 1200 µg/L) para fórmulas infantiles (Cesa, 2004). No se pudo establecer una relación entre la concentración de MDA y la fuente de lípidos utilizada, posiblemente debido a que en la mayoría de los casos se utilizan mezclas y que las FE son sistemas complejos.

En los alimentos, los ácidos grasos insaturados son el sustrato de la reacción de peroxidación lipídica, y su concentración es uno de los factores que favorecen el desarrollo de este proceso (Almansa y col., 2013).

La peroxidación de lípidos es un proceso químico complejo que implica la pérdida de nutrientes esenciales y la capacidad antioxidante y un aumento en especies reactivas. Puede resultar en un gran número de productos que pueden ser perjudiciales para la salud de los seres humanos. Draper y col. (1986) mostraron que la administración de MDA en una gama de 0,1 a 10 mg/g/día a ratones produjo cambios en el hígado y neoplasias, dependiendo de la dosis. Estudios más recientes demostraron su reactividad hacia el ADN y otras macromoléculas (Dooley y col., 2003).

IV.1.6. Estudio de la composición proteica:

IV.1.6.1. Lisina Disponible:

En la Tabla IV.4 se muestran los valores de LD de las FEC. Los valores de LD estuvieron comprendidos en el rango de 4,6 – 102,5 mg/g proteína, con un promedio de $45,4 \pm 24,0$ mg/g proteína (mediana: 49,7 mg/g proteína). Los resultados fueron similares a los hallados por Araújo y Menezes (2005) para FE. Sin embargo, en el 75% de las FEC no se alcanzaron los valores de lisina recomendados por el CAA para alimentos de régimen (58 mg Lys /g proteína).

La lisina es un aminoácido esencial que es considerado como un indicador del valor biológico de la proteína. El contenido de lisina total, sin embargo, no siempre se correlaciona

bien con el valor nutricional a causa de que los grupos α y ϵ -NH₂ libres pueden reaccionar con otros compuestos, tales como los azúcares reductores en los productos procesados térmicamente, o aldehídos a partir de la auto-oxidación de lípidos durante el procesamiento o almacenamiento. Por esta razón, es importante determinar el contenido de LD o biológicamente activa (Araújo y Menezes, 2005). Como con todos los métodos químicos directos, el método para determinar la LD utilizado en este trabajo tiene la ventaja de permitir cuantificar las alteraciones que afectan al grupo ϵ -NH₂ de la lisina. En consecuencia, además de la reacción de Maillard, otras reacciones que alteren a la proteína y que hagan a la lisina no disponible, estarían siendo medidas.

Se encontró una relación directamente proporcional entre el contenido proteico y el nivel de LD (mg/g proteína) en las FEC evaluadas (R^2 : 0,8125). El menor contenido de LD en las FEC con menor contenido de proteínas puede estar relacionado con la proporción de hidratos de carbono: proteína de las fórmulas. Varios investigadores han informado que una mayor proporción de hidratos de carbono con respecto a las proteínas puede favorecer la reacción de Maillard (Jokinen y col., 1976; Culver y Swaisgood, 1989; O'Brien y Morrissey, 1989). Sin embargo, en el presente trabajo, no hubo una relación entre el contenido de LD y %HC, como así tampoco entre LD y el contenido de azúcares reductores (Tabla IV.5) por lo que la disminución de la LD (reacción de Maillard) estaría relacionada con el particular proceso realizado por los diferentes laboratorios durante su fabricación.

Las FEL presentaron valores mayores de LD (55,9 mg/g proteína), que las FEP (38,3 mg/g proteína). Esto es indicativo de que el tratamiento térmico empleado durante el secado a spray favorece la reacción de Maillard con la consiguiente disminución de la LD. Además, es llamativo que las fórmulas que contienen los menores niveles de LD fueron elaborados por el mismo laboratorio comercial (FEP 5-8 y FEP 12).

Además, las FEL fueron esterilizadas por tratamientos UHT. Finot (1983), Hurrell (1984), y Mauron (1990) informaron niveles 10% menores de LD en leches esterilizadas por esterilización comercial que en aquellas tratadas por UHT. En consecuencia, según lo propuesto por Erbersdobler y Hupe (1991), sería aconsejable sustituir los tratamientos térmicos severos destinados a conseguir la esterilización de los alimentos mediante tratamientos térmicos más suaves, como el procesamiento UHT.

Tabla IV.4. Contenido de nitrógeno no proteico (NNP), relación porcentual entre nitrógeno total y NNP (%NNP/NT), nivel proteico declarado en el rótulo, proteína bruta (PB), proteína verdadera (PV), digestibilidad proteica (%DP), porcentaje de solubilidad proteica (%SP) y lisina disponible (LD) en Fórmulas Enterales Comerciales.

Muestra	NNP (g/L)	%(NNP/NT)	Proteína Rótulo (g/100mL)	PB (g/100mL)	PV (g/100mL)	%DP	Proteína Utilizable (%)	%SP	LD (mg/g de proteína)
FEP1	0,058 ± 0,004	0,91	3,69	3,97 ± 0,04	3,94 ± 0,04	99,32 ± 0,73	94,02	98,83 ± 0,55	55,41 ± 1,83
FEP2	0,096 ± 0,004	1,62	4,00	3,71 ± 0,07	3,65 ± 0,00	99,45 ± 0,49	86,61	99,51 ± 0,97	51,34 ± 2,22
FEP3	1,237 ± 0,008	19,68	4,30	3,93 ± 0,00	3,16 ± 0,01	99,96 ± 1,90	80,29	99,54 ± 0,19	78,40 ± 4,75
FEP4	0,091 ± 0,004	1,68	4,00	3,37 ± 0,01	3,31 ± 0,01	100,00 ± 0,14	99,19	100,00 ± 0,24	98,08 ± 6,27
FEP5	0,826 ± 0,032	10,96	4,60	4,71 ± 0,00	4,19 ± 0,01	83,36 ± 2,26	13,40	96,44 ± 1,90	10,47 ± 0,70
FEP6	0,116 ± 0,004	1,99	4,00	3,64 ± 0,03	3,57 ± 0,03	72,85 ± 5,56	5,68	99,15 ± 0,18	4,61 ± 0,06
FEP7	0,461 ± 0,004	13,34	4,20	2,16 ± 0,00	1,87 ± 0,00	81,89 ± 3,35	23,90	66,31 ± 2,34	19,54 ± 0,37
FEP8	0,116 ± 0,004	1,53	4,64	4,74 ± 0,03	4,67 ± 0,03	86,41 ± 3,08	10,04	46,35 ± 0,14	6,85 ± 0,01
FEP9	0,100 ± 0,004	1,91	3,48	3,26 ± 0,00	3,20 ± 0,00	77,04 ± 4,59	56,17	64,40 ± 1,66	43,11 ± 2,52
FEP10	0,133 ± 0,009	2,67	3,45	3,17 ± 0,01	3,02 ± 0,01	94,08 ± 4,63	46,99	99,76 ± 0,21	29,76 ± 0,74
FEP11	0,281 ± 0,004	4,41	3,74	3,98 ± 0,10	3,80 ± 0,40	97,01 ± 6,78	56,68	66,45 ± 1,65	35,46 ± 1,57
FEP12	0,100 ± 0,004	1,74	4,00	3,57 ± 0,13	3,51 ± 0,14	98,55 ± 2,91	44,31	95,43 ± 0,37	26,54 ± 0,68
FEL13	0,121 ± 0,004	2,15	4,20	3,52 ± 0,00	3,49 ± 0,01	76,81 ± 0,61	66,19	99,36 ± 0,22	51,08 ± 2,93
FEL14	0,119 ± 0,008	1,60	4,40	4,62 ± 0,01	4,55 ± 0,01	92,33 ± 0,10	80,80	100,00 ± 0,17	51,58 ± 2,77
FEL15	0,203 ± 0,008	2,33	5,55	5,45 ± 0,00	5,33 ± 0,00	92,54 ± 0,22	81,53	99,09 ± 0,17	52,32 ± 0,38
FEL16	0,209 ± 0,008	3,15	4,43	4,14 ± 0,01	4,01 ± 0,01	98,62 ± 0,62	95,51	99,53 ± 0,17	68,33 ± 1,10
FEL17	0,201 ± 0,004	2,45	5,48	5,12 ± 0,00	5,01 ± 0,0	96,62 ± 0,12	94,25	100,00 ± 0,55	63,62 ± 3,55
FEL18	0,110 ± 0,004	1,47	4,65	4,67 ± 0,01	4,60 ± 0,01	86,44 ± 0,28	85,17	98,95 ± 0,43	65,59 ± 2,04
FEL19	0,121 ± 0,004	1,19	5,50	6,36 ± 0,00	6,28 ± 0,05	72,45 ± 0,09	64,46	100,00 ± 0,83	52,23 ± 2,02
FEL20	0,237 ± 0,016	2,19	5,50	6,78 ± 0,02	6,64 ± 0,05	83,60 ± 0,44	60,89	100,00 ± 0,67	43,19 ± 0,18

Media ± DE. **FEP**: fórmula enteral en polvo. **FEL**: fórmula enteral líquida.

Por otro lado, se hallaron diferencias significativas entre los contenidos de LD de las FEC que presentaban diferente fuente proteica (Figura IV.3). Las FEC que declaraban contener CH como fuente proteica, presentaron valores menores de LD (15,00 mg/g proteína), que aquellas FEC que contenían C + WPC (29,76 mg/g proteína), C (45,12 mg/g proteína), C + APS (53,25 mg/g proteína) y APS (78,39 mg/g proteína). Esto se debe a que las proteínas hidrolizadas presentan mayor cantidad de aminos libres que las proteínas intactas, que pueden reaccionar con otros componentes de la fórmula, disminuyendo su valor nutricional. Estos mismos resultados fueron hallados por Castillo y col. (2002) en FEC, donde observaron una disminución del 50% de los valores de LD en las fórmulas con proteínas hidrolizadas, en comparación con las que contenían proteínas intactas.

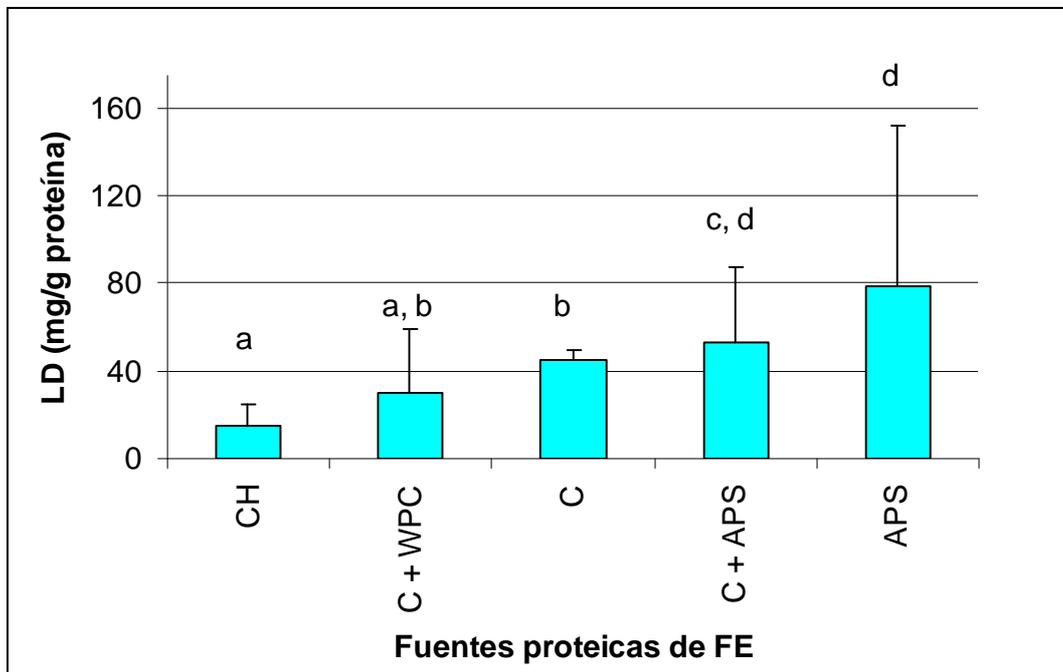


Figura IV.3. Contenido de lisina disponible (LD) en función de las distintas fuentes proteicas utilizadas en las Fórmulas Enterales Comerciales.

IV.1.6.2. Proteína potencialmente utilizable:

En la Tabla IV.4 se muestra el contenido de NNP, la relación porcentual entre el NNP y el NT, el nivel proteico declarado en el rótulo, la PB, PV, %DP, proteína utilizable y %SP de las FEC.

Se encontró una proporción variable de NNP, con valores comprendidos entre 0,06 – 1,24 g/L, con un promedio de $0,25 \pm 0,29$ g/L (mediana: 0,12 mg/L). Las FEC que

presentaron mayor contenido de NNP fueron: FEP3, FEP 5 y FEP 7, las restantes presentaron menos de 0,28 g/L de NNP. La relación %NNP/NT estuvo comprendida en un rango de 0,91 – 19,68 %, con un valor promedio de $3,95 \pm 4,90$ % (mediana: 2,07 %). Valores similares fueron hallados por Binaghi y col. (2002) en fórmulas infantiles y por Castillo y col. (2002) en FEC, utilizando la misma metodología.

El contenido de PB estuvo comprendido en un rango de 2,16 – 6,79 g/100 mL, con un valor promedio de $4,24 \pm 1,10$ g/100 mL (mediana: 3,98 g/100 mL) y el de PV, en un rango de 1,87 – 6,64 g/100 mL, con un valor promedio de $4,09 \pm 1,12$ g/100 mL (mediana: 3,87 g/100 mL). En el 75% de las FEC el valor de proteína declarado en el rótulo estuvo más cercano al de PB que al de PV, por lo cual podríamos estimar que los cálculos para determinar el valor proteico se han llevado a cado utilizando el NT, sin tener en cuenta el contenido de NNP.

Se debe tener en cuenta que uno de los aspectos fundamentales para mejorar o mantener el estado nutricional de un paciente que recibe soporte nutricional está relacionado con un aporte adecuado de proteínas, tanto en cantidad como en calidad.

Hasta ahora, no se le ha dado gran importancia al contenido de NNP de las FE, que puede diferir en gran medida según el tipo de fórmula y el método de elaboración (Raiha, 1989). El contenido de proteína total (PB) se calcula teniendo en cuenta el contenido de NT sin descontar el NNP, por lo que las FEC tendrían un contenido de PV (que es la realmente utilizada por el sujeto) diferente al esperado. Existen discrepancias en la bibliografía sobre el grado de utilización del NNP por parte del organismo. Algunos investigadores incluyen en el cálculo del N disponible una parte de la urea y consideran que el resto del NNP estaría constituido en su totalidad por péptidos y aminoácidos (Fomon y col, 1995). Otros recomiendan excluir totalmente el NNP del cálculo de la PV hasta que se conozca mejor su destino metabólico (Lönnerdal y Hernell, 1998). Para el caso de las FE no existe una recomendación puntual para el cálculo de proteínas, en tanto que en fórmulas infantiles a base de proteínas lácteas, el Comité de Expertos reunidos por el Life Sciences Research Office (LSRO, 1998) recomienda referir el contenido mínimo de proteínas de las fórmulas infantiles en términos de PV calculados como α -amino-N x 6.25, y resalta que la inclusión de las fuentes de NNP en el cálculo de dicho mínimo podría resultar en una cantidad insuficiente para sostener un crecimiento normal. Teniendo en cuenta que en pacientes críticos las FE constituyen el único alimento, y por tanto la única fuente de proteína, podría resultar recomendable utilizar el mismo criterio que para las fórmulas infantiles.

Por otro lado, la %DP estuvo comprendida en un rango de 72,45 – 100,08 %, con un valor promedio de $89,51 \pm 9,67$ % (mediana: 92,43 %). Estos valores son similares a los encontrados por Araújo y Menezes (2005) en fórmulas para alimentación oral o enteral y se corresponden con los esperados para fórmulas elaboradas con fuentes proteicas, tales C, WPC y APS (Martínez Augustin y Martínez de Victoria Muñoz, 2006).

En la Figura IV.4 se muestra el gráfico de medias correspondiente al ANOVA simple de la %DP en función de las fuentes proteicas declaradas en los rótulos de las FEC. Se puede observar una diferencia significativa entre la %DP de las FEC que contienen APS ($99,29 \pm 0,75\%$) y C + APS + WPC ($97,00 \pm 6,78\%$) en comparación con las muestras que contienen CH ($82,62 \pm 2,68\%$). No se observaron diferencias entre las demás fuentes proteicas: C + WPC ($94,08 \pm 4,62\%$), C + APS ($88,70 \pm 12,21$) y C ($89,42 \pm 9,75$). Si bien las fórmulas oligoméricas (CH) tendría menor digestibilidad que otras fórmulas con otras fuentes proteicas, se debe tener en cuenta que en matrices alimentarias tan complejas como las FE, la %DP no sólo dependerá de la fuente proteica utilizada, sino también de las interacciones que se establezcan entre los nutrientes y la matriz, durante el proceso de elaboración, y de los tratamientos térmicos realizados. Cabe resaltar que las FEP con proteínas hidrolizadas fueron las que mostraron los menores valores de LD y %DP, por lo que se podría pensar que durante el proceso de elaboración se están llevando a cabo tratamientos agresivos que producen una disminución de dicha calidad proteica.

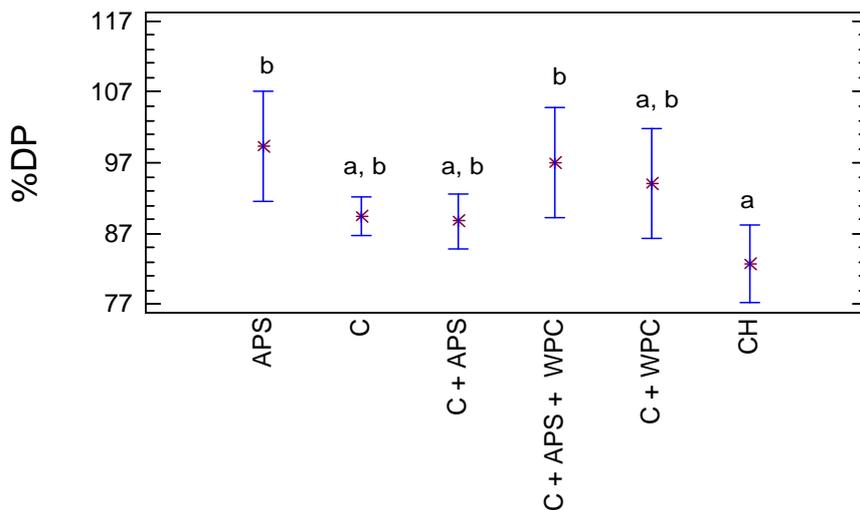


Figura IV.4. Digestibilidad proteica (%DP) de Fórmulas Enterales Comerciales en función de la fuente proteica declarada en los rótulos.

Letras distintas indican diferencias significativas entre las muestras ($p < 0,05$).

Por otra parte, como fue mencionado, este estudio fue realizado teniendo en cuenta las fuentes proteicas declaradas por los fabricantes. Considerando los resultados obtenidos en el estudio electroforético (punto IV.1.6.3), las fuentes proteicas realmente utilizadas podrían no coincidir con las declaradas y esto invalidaría la discusión realizada para la influencia de la fuente proteica en la LD y el %DP.

Usando los valores de PV, %DP y LD, se calculó la proteína utilizable y se expresó como porcentaje de la proteína total (PB) (Tabla IV.4.). Es probable que con las fuentes proteicas usadas en las FEC y de acuerdo a las proporciones de cada una, los azufrados sean los Aa limitantes y determinen el puntaje químico de la proteína mezcla (Badui Dergal, 2006). Sin embargo, si la lisina se encuentra en muy bajo contenido o no está disponible, podría constituirse en el primer limitante para la utilización de las proteínas. Por este motivo, como se explicó en materiales y métodos, se consideró el puntaje químico calculado con el valor de LD y el nivel requerido por el CAA para alimentos de régimen (58 mg Lys/g de proteína). De esta manera, los valores de proteína utilizable se encontraron comprendidos en un rango de 5,68 – 99,19%, con un valor promedio de $62,30 \pm 29,99\%$ (mediana: 65,33%).

Con los valores obtenidos de PV y %DP se recalculó el porcentaje del VCT que estarían aportando las proteínas. Según esto, sólo el 50% de las FEC analizadas serían normoproteicas como lo declaran sus rótulos. Estas últimas observaciones podrían considerarse especulativas, ya que el método de %DP *in vitro* representa una aproximación a los procesos fisiológicos, y no toma en cuenta diversas condiciones *in vivo*, tales como las características del fluido intestinal, la motilidad y las peptidasas mucosales implicadas en la digestión, entre otros factores (Lindberg y col., 1998). Sin embargo, constituyen un llamado de atención en relación a la real utilización de las proteínas por parte de los pacientes. Por ello, la evaluación de la %DP y de la LD serían herramientas útiles para asegurar que los niveles de ingesta proteica no se vean afectados por los tratamientos térmicos a los que se han sometido estas fórmulas. Además, sería útil incluir en el rótulo el %NNP o el contenido de PV que aportan las FEC.

Por último, la %SP se encontró en un rango de 46,5 – 100%, con un valor promedio de $91,7 \pm 16,3\%$ (mediana: 99,25%). Los valores resultaron mayores en las FEL (100,0 %) que en las FEP (86,3%).

IV.1.6.3. Electroforesis SPS-PAGE:

Esta determinación fue llevada a cabo para verificar que las FEC contuvieran las fuentes proteicas que declaraban en sus respectivos rótulos.

En las Figuras IV.5. a, b, c y d se muestran las electroforesis realizadas a las distintas FEC, con los respectivos patrones de dichas fuentes proteicas.

Las bandas observadas para los patrones de C, WPC y APS coinciden con lo hallado por otros autores en proteínas lácteas (Calderón y col., 1996) y en proteínas de soja (Arrese y col., 1991).

En la Figura IV.5.a, se muestra la Electroforesis SDS-PAGE realizada a las FEP 2, 4, 5, 6, 7 y 8. Las FEP 2, 4, 6 y 8 declaraban contener CC como fuente de proteínas y las FEP 5 y 7, CSH, lo que coincide con los resultados hallados.

En la Figura IV.5.b, se muestran los resultados de las FEL 12, 13, 14, 15, 18 y 20. Todas declaraban en sus rótulos contener caseinatos como fuente proteica, lo que coincide con los resultados hallados, a excepción de la FEL18, en donde parecería que dicha fuente proteica tiene algún grado de hidrólisis, ya que todas las muestras fueron sembradas a la misma concentración de proteínas.

En la Figura IV.5.c, se observa la electroforesis SDS-PAGE de las FEP 1 y 9 y de las FEL 16, 17 y 19. Todas declaraban contener mezclas de APS y caseinatos como fuentes proteicas. Todas las FEC evaluadas parecen contener caseína, pero en las FEL 16, 17 y 19 pareciera que existe algún grado de hidrólisis de dicha fuente proteica. Además, sólo se observaron las bandas correspondientes a las proteínas de soja en la FEP9. Dichas bandas no fueron observadas en el resto de las muestras por más que se aumentó la cantidad de proteína sembrada (no se muestran las electroforesis).

Por último en la Figura IV.5.d, se muestran los resultados de las FEP3, 10 y 11. La FEP 3 declaraba contener APS como fuente proteica, la FEP10 declaraba contener una mezcla de APS + WPC y la FEP11, una mezcla de APS + C + WPC. En todas las FEC (3, 10 y 11) se observan las bandas correspondientes a la C, pero aparentemente están hidrolizadas y con cierto grado de agregación, por lo cual es difícil ver si tienen o no las bandas correspondientes a las otras fuentes proteicas declaradas.

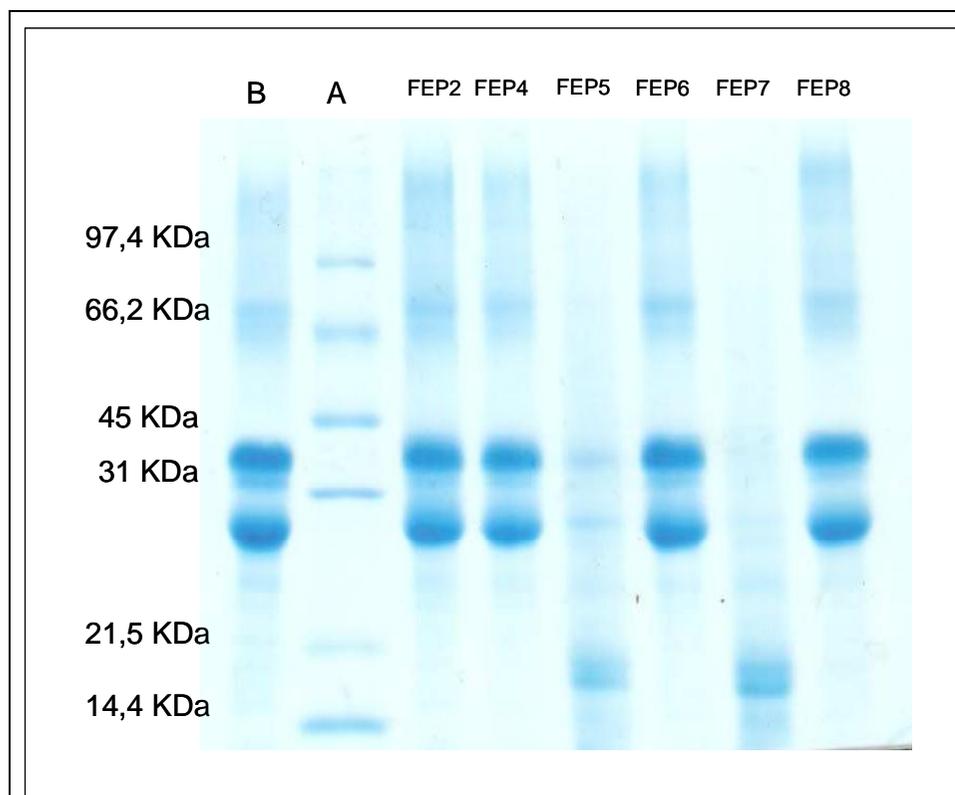


Figura IV.5.a. Electroforesis SDS-PAGE de Fórmulas Enterales Comerciales: FEP 2, 4, 5, 6, 7 y 8. A: Patrón de pesos moleculares; B: Patrón de C.

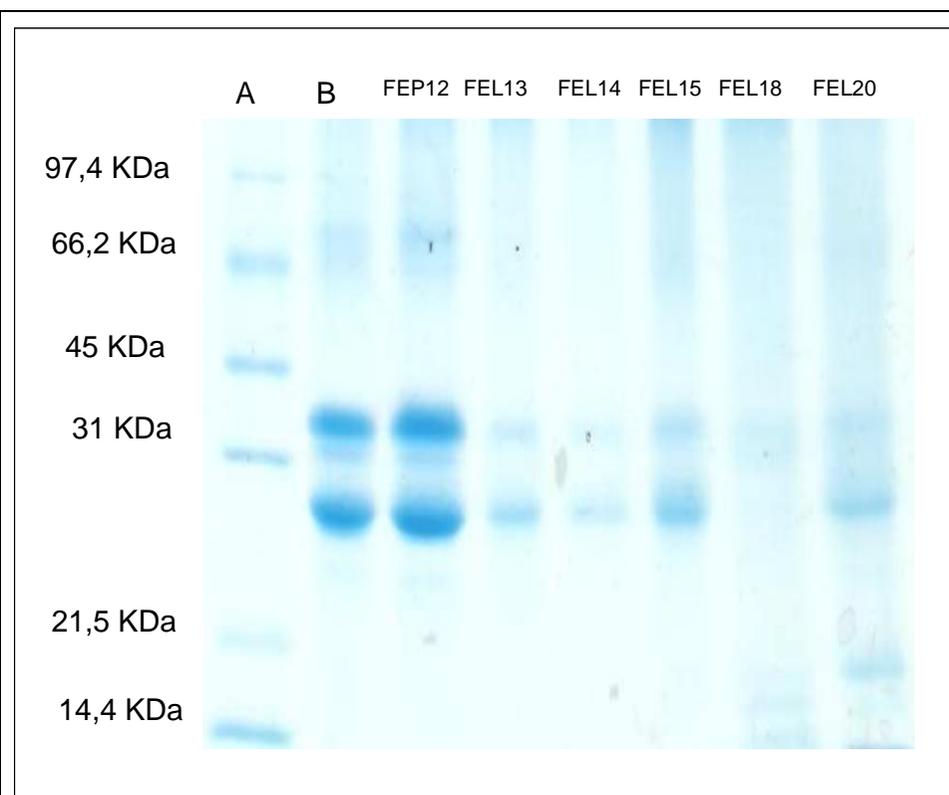


Figura IV.5.b. Electroforesis SDS-PAGE de Fórmulas Enterales Comerciales: FEL 12, 13, 14, 15, 18 y 20. A: Patrón de pesos moleculares; B: Patrón de C.

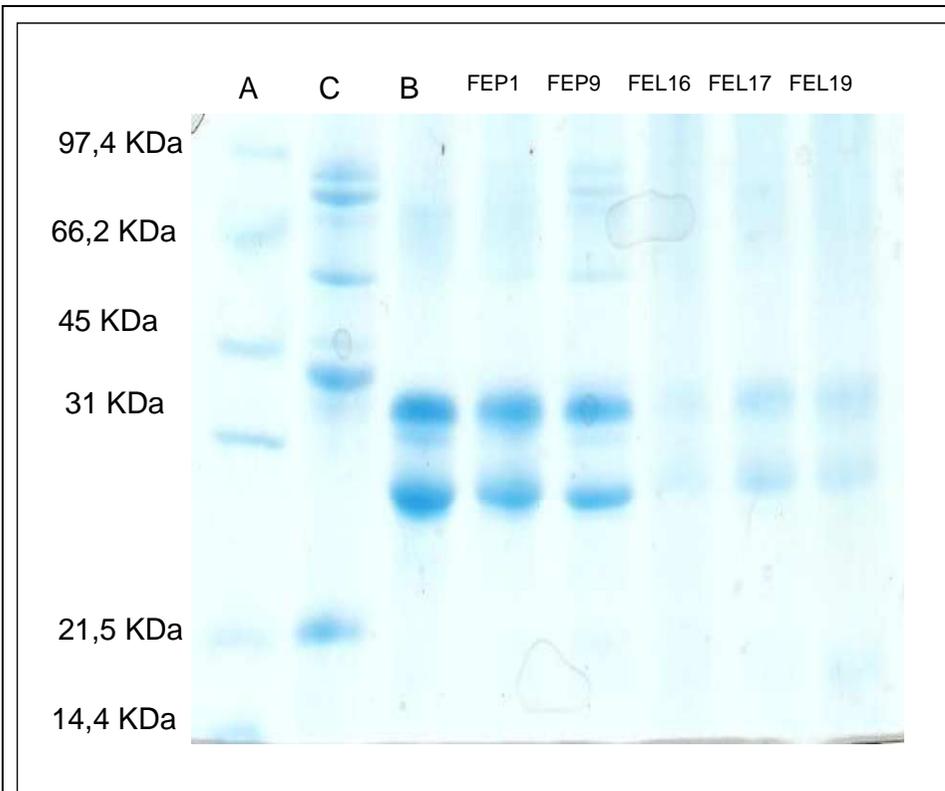


Figura IV.5.c. Electroforesis SDS-PAGE de Fórmulas Enterales Comerciales: FEP 1 y 9 y FEL 16, 17 y 19. A: Patrón de pesos moleculares; B: Patrón de C; C: Patrón de APS.

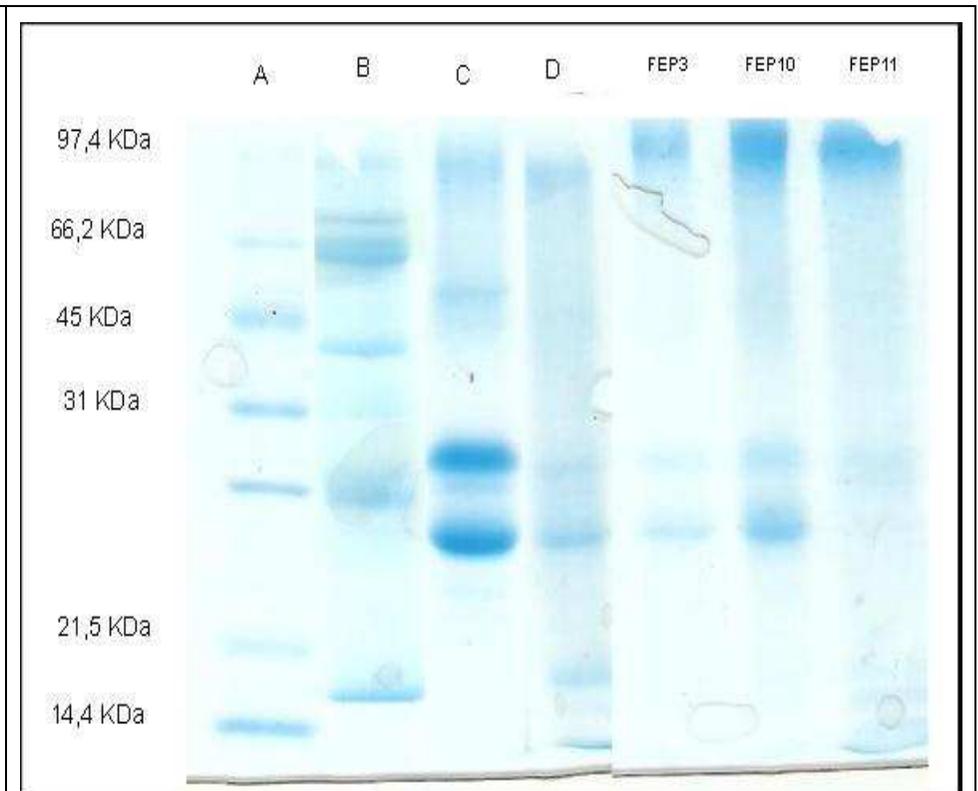


Figura IV.5.d. Electroforesis SDS-PAGE de Fórmulas Enterales Comerciales: FEP 3, 10 y 11. A: Patrón de pesos moleculares; B: Patrón de C; C: Patrón de APS; D: Patrón de WPC.

En términos generales se ha observado a través del perfil electroforético la presencia de las fuentes proteicas declaradas en los rótulos de las FEC, pero en algunos casos parece que dichas fuentes proteicas tuvieran algún grado de hidrólisis. Para confirmar estos resultados sería conveniente analizar estas muestras por una técnica más sensible, tal como una FPLC utilizando columnas de exclusión molecular.

IV.1.7. Contenido de ácido fítico (AF), azúcares reductores (AR) y ácido ascórbico (AA):

En la Tabla IV.5 se muestran los contenidos de AF, AR y AA de las FEC analizadas. El AF es considerado como un inhibidor de la bioaccesibilidad mineral y el AA como un promotor (Hurrell y Egli, 2010).

El AF sólo fue evaluado en aquellas muestras que declaraban contener APS (FEP1, FEP3, FEP9, FEP11, FEL16, FEL17) y/o fibra de soja (FEP3, FEP4, FEL13, FEL14, FEL15, FEL18). Los valores se encontraron en un rango de 60,7 – 692,9 mg/L, con un promedio de $446,0 \pm 220,2$ mg/L (mediana: 489,9 mg/L).

Por otro lado, los AR se hallaron en un rango de 1,8 – 4,7 mg/L, con un promedio de $3,0 \pm 0,6$ mg/L (mediana: 3,0 mg/L).

Los valores de AA estuvieron comprendidos en el rango de 2,53 – 319,8 mg/L con un valor promedio de $141,1 \pm 89,8$ mg/L (mediana: 110,3 mg/L).

En el 35% de las FEC analizadas se observó una sobredosificación de AA (FEP 1, 2 y 11, FEL 13, 14, 19 y 20) y esto puede ser una estrategia para mantener los niveles de AA durante la VU del producto, ya que éste se degrada durante el almacenamiento. Por otro lado, en el 60% de las FEC analizadas, el contenido de AA varió más allá del $\pm 20\%$ de los valores declarados en los rótulos.

Por otra parte, las FEL presentaron mayor contenido de AA que las FEP (202,14 mg/L y 100,46 mg/L, respectivamente) y no se observaron diferencias estadísticamente significativas con respecto a los contenidos de AF y AR.

Tabla IV.5: Contenido de ácido fólico (AF), azúcares reductores (AR) y ácido ascórbico (AA) de Fórmulas Enterales Comerciales.

Muestra	AA Rótulo (mg/L)	AA (mg/L)	AF (mg/L)	AR (mg/L)
FEP1	160,0	204,6 ± 11,6 ^g	146,0 ± 5,2 ^{a,b}	2,99 ± 0,00 ^{e,f}
FEP2	103,0	118,5 ± 0,8 ^{c,d,e}	-	2,72 ± 0,05 ^d
FEP3	150,0	144,9 ± 8,0 ^{e,f}	681,9 ± 52,9 ^f	2,69 ± 0,05 ^d
FEP4	100,0	99,2 ± 5,4 ^{b,c,d}	524,2 ± 275,9 ^g	2,47 ± 0,04 ^c
FEP5	100,0	93,0 ± 0,2 ^{b,c,d}	-	2,70 ± 0,04 ^d
FEP6	100,0	89,0 ± 2,9 ^{b,c}	-	3,00 ± 0,11 ^f
FEP7	67,0	63,4 ± 1,1 ^b	-	1,77 ± 0,01 ^a
FEP8	253,0	128,6 ± 0,4 ^{d,e}	-	4,66 ± 0,15 ^l
FEP9	44,0	20,4 ± 2,0 ^a	293,8 ± 1,8 ^{b,c}	3,54 ± 0,03 ^k
FEP10	43,7	2,5 ± 0,1 ^a	-	3,18 ± 0,05 ^{g,h,i}
FEP11	126,0	175,2 ± 7,7 ^{f,g}	60,7 ± 3,3 ^a	3,09 ± 0,05 ^{f,g,h,i}
FEP12	103,0	66,1 ± 1,4 ^b	-	1,97 ± 0,01 ^b
FEL13	220,0	319,8 ± 26,5 ^h	529,9 ± 26,4 ^{d,e,f}	3,06 ± 0,21 ^{f,g}
FEL14	230,0	283,7 ± 70,1 ^h	616,6 ± 3,1 ^{e,f}	3,23 ± 0,12 ^{h,i,j}
FEL15	300,0	178,5 ± 16,8 ^{f,g}	394,3 ± 7,8 ^{c,d}	2,84 ± 0,04 ^{d,e}
FEL16	230,0	206,9 ± 0,6 ^g	137,1 ± 7,6 ^{a,b}	3,39 ± 0,05 ^{j,k}
FEL17	127,0	79,7 ± 4,1 ^b	651,8 ± 46,7 ^{e,f}	3,27 ± 0,01 ^{ij}
FEL18	91,1	66,9 ± 1,4 ^b	483,0 ± 29,2 ^{d,e}	3,08 ± 0,00 ^{f,g,h}
FEL19	106,0	176,6 ± 2,9 ^{f,g}	-	2,50 ± 0,00 ^c
FEL20	265,0	304,9 ± 8,9 ^h	-	3,45 ± 0,01 ^k

Media ± DE. Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas (p<0,05). **FEP:** formula enteral en polvo. **FEL:** fórmula enteral líquida.

IV.1.8. Contenido de minerales (Fe, Zn, Ca, Cu, Mg, Na, K y P):

En la Tabla IV.6.a se muestran los contenidos de Fe, Zn, Ca, y la relación molar AA:Fe, y en la Tabla IV.6.b los contenidos de Cu, Mg, Na, K y P, de las FEC analizadas.

El valor medio ± el desvío estándar, la mediana y el rango de concentraciones de minerales fueron: Fe: 12,7 ± 4,3 mg/L, 13,3 mg/L (3,9 – 19,7 mg/L); Zn: 12,1 ± 5,9 mg/L, 10,3 mg/L (5,6 – 25,0 mg/L); Ca: 741,8 ± 237,5 mg/L, 772,8 mg/L (227,0 – 1184,1 mg/L);

Cu: $1,6 \pm 2,5$ mg/L, $1,5$ mg/L ($0,4 - 2,4$ mg/L); Mg: $356,5 \pm 129,6$ mg/L, $313,3$ mg/L ($86,5-629,7$ mg/L); Na: $1138,5 \pm 290,0$ mg/L, $1119,1$ mg/L ($518,9-1899,5$ mg/L); K: $1607,5 \pm 387,3$ mg/L, $1640,8$ mg/L ($855,3-2036,3$ mg/L); P: $624,8 \pm 141,5$ mg/L, $607,6$ mg/L ($346,9-905,8$ mg/L).

Las FEL tuvieron mayor contenido de Fe, Zn, Cu, Mg y AA, que las FEP. En el caso del P, se observó lo inverso y para Ca, Na y K no se hallaron diferencias estadísticamente significativas. La relación molar AA:Fe se encontró en el rango de 5,7 a 25,6, lo cual es adecuado para favorecer la bioaccesibilidad del Fe (Stekel y col., 1986).

Tabla IV.6.a: Contenidos minerales de Fórmulas Enterales Comerciales: de Fe, Zn, Ca y relación molar ácido ascórbico:Fe (AA:Fe).

Muestra	Fe (mg/L)	Zn (mg/L)	Ca (mg/L)	AA:Fe
FEP1	$11,4 \pm 0,6^{c,d}$	$14,5 \pm 0,4^g$	$753,8 \pm 16,8^f$	6,510
FEP2	$14,4 \pm 0,3^{h,i}$	$8,2 \pm 0,5^d$	$830,2 \pm 28,9^h$	19,087
FEP3	$12,0 \pm 0,2^{d,e}$	$6,3 \pm 0,1^{a,b}$	$678,9 \pm 10,6^e$	5,702
FEP4	$11,3 \pm 0,6^{c,d}$	$5,6 \pm 0,2^a$	$75,6 \pm 8,5^f$	8,244
FEP5	$10,9 \pm 0,4^c$	$6,8 \pm 0,1^{b,c}$	$810,3 \pm 1,2^{g,h}$	24,652
FEP6	$12,5 \pm 0,1^{e,f}$	$9,9 \pm 0,2^e$	$781,1 \pm 32,2^{f,g}$	15,034
FEP7	$6,6 \pm 0,1^b$	$7,3 \pm 0,3^c$	$543,8 \pm 7,1^{c,d}$	6,593
FEP8	$18,2 \pm 1,0^k$	$16,0 \pm 0,1^h$	$1068,0 \pm 27,1^j$	6,514
FEP9	$3,9 \pm 0,2^a$	$6,9 \pm 0,3^{b,c}$	$321,4 \pm 4,0^a$	5,725
FEP10	$5,4 \pm 0,3^b$	$6,9 \pm 0,2^{b,c}$	$483,6 \pm 12,7^b$	6,356
FEP11	$5,8 \pm 0,0^{a,b}$	$10,0 \pm 0,2^{e,f}$	$1077,9 \pm 17,5^j$	7,274
FEP12	$13,4 \pm 0,2^g$	$6,3 \pm 0,3^{a,b}$	$799,9 \pm 0,9^{g,h}$	25,563
FEL13	$13,7 \pm 0,4^{g,h}$	$20,7 \pm 0,2^j$	$885,2 \pm 23,0^i$	7,785
FEL14	$14,2 \pm 0,8^{g,h}$	$15,5 \pm 0,5^h$	$764,6 \pm 4,8^{f,g}$	10,560
FEL15	$18,5 \pm 0,2^k$	$22,0 \pm 0,9^k$	$930,5 \pm 54,7^i$	12,738
FEL16	$15,3 \pm 0,7^{i,j}$	$17,4 \pm 0,0^i$	$795,7 \pm 25,2^{f,g,h}$	9,647
FEL17	$15,6 \pm 0,3^j$	$10,5 \pm 0,4^{e,f}$	$277,0 \pm 11,8^a$	6,434
FEL18	$13,3 \pm 0,4^{f,g}$	$10,7 \pm 0,1^f$	$519,6 \pm 14,9^{b,c}$	11,428
FEL19	$19,7 \pm 0,9^l$	$25,0 \pm 0,7^l$	$1184,1 \pm 51,8^k$	12,055
FEL20	$13,3 \pm 0,3^{f,g}$	$15,7 \pm 0,6^h$	$575,6 \pm 26,5^d$	23,225

Media \pm DE. Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

FEP: formula enteral en polvo. **FEL:** fórmula enteral líquida.

Tabla IV.6.b: Contenidos minerales de Fórmulas Enterales Comerciales: Cu, Mg, Na, K.

Muestra	Cu (mg/L)	Mg (mg/L)	Na (mg/L)	K (mg/L)	P (mg/L)
FEP1	1,5 ± 0,0 ^{e,f}	362,5 ± 20,1 ^g	1137,4 ± 13,5 ^{f,g,h}	2306,4 ± 83,6 ^j	601,1 ± 27,3 ^{e,f,g}
FEP2	1,6 ± 0,0 ^h	318,1 ± 3,6 ^f	1276,9 ± 32,9 ^{i,j}	1826,7 ± 40,6 ^h	817,6 ± 42,8 ^k
FEP3	1,4 ± 0,1 ^e	284,1 ± 11,4 ^{c,d,e}	1114,6 ± 32,1 ^{g,h}	1570,9 ± 74,6 ^{e,f}	835,0 ± 8,0 ^k
FEP4	1,5 ± 0,1 ^{e,f}	286,1 ± 7,4 ^{c,d,e}	1032,1 ± 6,1 ^d	1548,8 ± 79,2 ^e	905,8 ± 32,8 ^l
FEP5	1,5 ± 0,0 ^{e,f,g}	273,4 ± 7,7 ^{b,c,d}	1899,5 ± 17,7 ^m	1612,0 ± 47,3 ^{e,f}	668,5 ± 3,1 ⁱ
FEP6	1,5 ± 0,0 ^{e,f,g}	271,1 ± 1,8 ^{b,c}	1316,0 ± 36,3 ^{i,k}	1674,2 ± 26,3 ^{f,g}	633,8 ± 16,3 ^{g,h}
FEP7	0,4 ± 0,0 ^a	86,5 ± 0,5 ^a	678,8 ± 25,3 ^b	855,3 ± 8,5 ^a	346,9 ± 4,3 ^a
FEP8	2,4 ± 0,1 ^l	629,7 ± 37,7 ^k	1332,6 ± 32,1 ^k	1797,9 ± 32,3 ^h	769,0 ± 2,9 ^j
FEP9	0,7 ± 0,0 ^b	280,1 ± 4,1 ^{b,c,d}	804,3 ± 21,3 ^c	1265,5 ± 45,6 ^c	608,6 ± 32,8 ^{f,g,h}
FEP10	1,0 ± 0,0 ^c	300,0 ± 6,1 ^{d,e,f}	518,9 ± 7,3 ^a	1408,3 ± 72,9 ^d	603,5 ± 1,3 ^{e,f}
FEP11	0,9 ± 0,0 ^c	258,6 ± 3,6 ^b	1244,9 ± 20,5 ⁱ	2259,0 ± 28,8 ^j	783,0 ± 3,0 ^j
FEP12	1,3 ± 0,0 ^d	294,7 ± 4,3 ^{c,d,e}	1231,3 ± 47,4 ⁱ	1538,1 ± 65,6 ^e	638,8 ± 10,9 ^h
FEL13	1,6 ± 0,0 ^{f,g,h}	363,9 ± 0,3 ^g	1027,4 ± 17,8 ^d	1387,6 ± 48,4 ^d	480,8 ± 1,2 ^b
FEL14	1,6 ± 0,0 ^{f,g,h}	413,2 ± 5,1 ^h	1067,6 ± 24,3 ^{d,e}	1669,7 ± 24,9 ^{f,g}	582,2 ± 28,0 ^e
FEL15	2,1 ± 0,1 ^{ij}	582,5 ± 2,8 ^j	1542,7 ± 28,9 ^l	2062,9 ± 68,4 ⁱ	483,3 ± 4,7 ^b
FEL16	1,6 ± 0,0 ^{g,h}	473,7 ± 19,2 ⁱ	1168,4 ± 27,3 ^h	1821,4 ± 41,6 ^h	511,3 ± 16,3 ^{c,d}
FEL17	2,1 ± 0,1 ^j	579,5 ± 5,4 ^j	1100,7 ± 14,5 ^{e,f,g}	1746,6 ± 29,7 ^{g,h}	499,8 ± 18,6 ^{b,c}
FEL18	2,3 ± 0,1 ^k	308,5 ± 5,2 ^{e,f}	1071,6 ± 21,1 ^{d,e}	1788,2 ± 25,8 ^h	536,0 ± 11,7 ^d
FEL19	2,3 ± 0,1 ^{k,l}	348,8 ± 19,3 ^g	1089,3 ± 26,4 ^{e,f}	873,2 ± 15,6 ^a	583,8 ± 39,6 ^d
FEL20	2,0 ± 0,1 ⁱ	414,6 ± 22,3 ^h	1084,8 ± 34,8 ^e	1138,5 ± 60,7 ^b	602,8 ± 10,5 ^{e,f}

Media ± DE. Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas (p<0,05).

FEP: formula enteral en polvo. **FEL:** fórmula enteral líquida.

En la Figura IV.6 se muestra el porcentaje de FEC que contienen, para cada mineral, una variación del 10%, entre 10 - 20% y más del 20% del valor declarado en las etiquetas. Ninguna de las FEC analizadas cumple con los contenidos declarados de todos los minerales, dentro de un ± 20% de variación. El mayor porcentaje de cumplimiento se observó para Fe, Cu y K.

Esta gran variación en el contenido de minerales con respecto a lo declarado en los rótulos podría deberse a que las materias primar utilizadas también están proporcionando cantidades variables de minerales y esto no ha sido tenido en cuenta en la formulación.

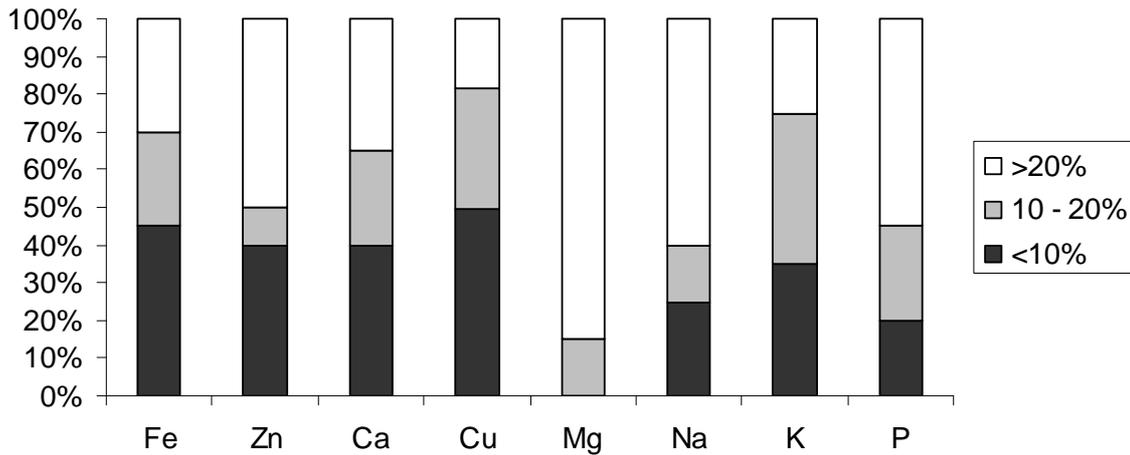


Figura IV.6. Control de contenido mineral de Fórmulas Enterales Comerciales.

En cuanto a las fuentes de fortificación utilizadas en las FEC, todas contenían FeSO_4 como fuente de Fe, a excepción de EFP3 que contenía $\text{Fe}_4(\text{P}_2\text{O}_7)_3$. La fuente de Zn en todas las FE fue ZnSO_4 . La fuente de Ca más utilizado fue $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (EFP1, EFP 3, 4 EFP, EFP 7, EFL14, EFL15, EFL16, EFL17, EFL18, EFL20), seguida de CaCO_3 (EFP2, EFP6, EFP8, EFP11, EFP12 y EFL19) y finalmente CaHPO_4 (EFP5, EFP9, EFP10 y EFL13). La fuente de Cu más utilizada fue CuSO_4 ; sólo EFP5 y EFP3 utilizan gluconato de cobre. La fuente de Mg más utilizado fue MgCl_2 (EFP1, EFP11, EFL13, EFL14, EFL15, EFL16, EFL17, EFL18, EFL19, EFL20), seguido de MgO (EFP2, EFP4, EFP6, EFP9, EFP10, EFP12) y MgCO_3 (EFP3, EFP5, EFP7, EFP8).

IV.1.9. Bioaccesibilidad de minerales *in vitro* (%DFe, %DZn, %DCa, %DCu, %DMg):

La bioaccesibilidad de *in vitro* de Fe, Zn, Ca, Cu y Mg de FEC se muestra en la Tabla IV.7.

La bioaccesibilidad de minerales fue variable y en general resultó baja.

Los valores de %DFe (0,36-5,48%) resultaron más bajos que los encontrados previamente por Pérez Llamas y col. (2001) a partir de las fórmulas infantiles ($9,0 \pm 0,7\%$) y por Drago y col. (2004) a partir de fórmulas experimentales a base de proteínas lácteas (15,76-24,78%), pero resultaron similares a los reportados por Bueno (2012) ($5,7 \pm 0,40\%$) en formulaciones experimentales y utilizando la misma metodología.

Tabla IV.7: Bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn), Ca (%DCa), Cu (%DCu) y Mg (%DMg) de Fórmulas Enterales Comerciales.

Muestras	%DFe	%DZn	%DCa	%DCu	%DMg
FEP1	4,67 ± 0,22 ^k	6,68 ± 0,23 ^{k,l}	5,22 ± 0,29 ^{c,d}	5,48 ± 0,29 ^{b,c}	31,38 ± 1,53 ^g
FEP2	2,06 ± 0,08 ^f	6,22 ± 0,27 ^{j,k}	4,21 ± 0,23 ^{a,b}	6,63 ± 0,34 ^d	46,41 ± 0,77 ^k
FEP3	1,70 ± 0,08 ^e	3,50 ± 0,21 ^f	5,13 ± 0,19 ^c	11,93 ± 0,62 ^h	58,41 ± 3,25 ^l
FEP4	2,41 ± 0,09 ^g	12,00 ± 0,77 ^o	4,81 ± 0,04 ^{b,c}	7,91 ± 0,20 ^e	60,51 ± 2,33 ^l
FEP5	1,65 ± 0,11 ^e	5,93 ± 0,29 ^{i,j}	14,45 ± 0,60 ^{k,l}	11,13 ± 0,65 ^g	35,96 ± 0,46 ⁱ
FEP6	1,07 ± 0,06 ^b	2,18 ± 0,11 ^{c,d}	11,30 ± 0,04 ⁱ	13,61 ± 0,13 ⁱ	29,55 ± 0,62 ^{f,g}
FEP7	2,89 ± 0,09 ^h	10,31 ± 0,60 ⁿ	15,12 ± 0,44 ^l	19,15 ± 0,80 ^k	44,16 ± 2,12 ^{j,k}
FEP8	0,36 ± 0,02 ^a	0,22 ± 0,01 ^a	5,76 ± 0,29 ^{d,e}	5,98 ± 0,16 ^{c,d}	25,49 ± 1,24 ^{d,e}
FEP9	5,48 ± 0,28 ^l	4,38 ± 0,21 ^g	8,67 ± 0,33 ^g	15,29 ± 0,47 ^j	28,43 ± 1,57 ^f
FEP10	3,84 ± 0,26 ^j	2,51 ± 0,12 ^d	4,77 ± 0,23 ^{b,c}	9,35 ± 0,31 ^f	22,90 ± 1,14 ^{c,d}
FEP11	4,58 ± 0,07 ^k	1,67 ± 0,09 ^c	13,17 ± 0,46 ^j	8,24 ± 0,40 ^e	30,64 ± 1,34 ^{f,g}
FEP12	3,28 ± 0,18 ⁱ	7,29 ± 0,29 ^m	16,50 ± 0,59 ^m	14,32 ± 0,11 ⁱ	36,19 ± 0,45 ⁱ
FEL13	1,42 ± 0,09 ^{c,d,e}	0,52 ± 0,02 ^a	11,89 ± 0,59 ⁱ	7,61 ± 0,30 ^e	41,96 ± 1,71 ^j
FEL14	2,28 ± 0,16 ^{f,g}	7,10 ± 0,31 ^{l,m}	10,49 ± 0,25 ^h	5,29 ± 0,23 ^{b,c}	34,11 ± 1,02 ^{h,i}
FEL15	1,22 ± 0,05 ^{b,c}	5,13 ± 0,02 ^h	3,82 ± 0,17 ^a	5,71 ± 0,20 ^{b,c}	34,05 ± 0,85 ^{h,i}
FEL16	1,28 ± 0,07 ^{b,c,d}	3,02 ± 0,17 ^e	9,36 ± 0,28 ^g	5,06 ± 0,26 ^b	31,84 ± 1,05 ^{g,h}
FEL17	1,58 ± 0,10 ^{d,e}	5,01 ± 0,02 ^h	18,09 ± 0,43 ⁿ	7,87 ± 0,33 ^e	21,36 ± 1,05 ^c
FEL18	2,44 ± 0,09 ^g	6,19 ± 0,32 ^j	14,07 ± 0,39 ^k	7,68 ± 0,24 ^e	26,01 ± 0,72 ^e
FEL19	1,19 ± 0,04 ^{b,c}	1,07 ± 0,03 ^b	6,17 ± 0,19 ^e	2,88 ± 0,17 ^a	15,48 ± 0,41 ^a
FEL20	2,18 ± 0,12 ^{f,g}	5,75 ± 0,30 ⁱ	7,22 ± 0,27 ^f	9,94 ± 0,55 ^f	18,73 ± 0,26 ^b

Media ± DE. Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas (p<0,05). **FEP:** formula enteral en polvo. **FEL:** fórmula enteral líquida.

Los valores de %DZn (0,2-12,0%) fueron similares a los reportados por Pérez Llamas y col. (2001) (2,3 – 9,7%) en fórmulas infantiles experimentales, pero inferiores a los encontrados por Drago y col. (2004) (17,33 a 29,96%).

Los valores de %DCa (3,8-18,1%) fueron similares a los reportados por Pérez Llamas y col. (2001) (11,0-17,2%) y por Bueno (2012) (10,07 ± 0,4), pero inferiores a los encontrados por Drago y col. (2004) (26,03 a 32,93%) en fórmulas infantiles de base láctea.

Los estudios en seres humanos indican que la absorción de Zn, Fe y Ca de una comida depende de su contenido de fitatos (Turlund y col., 1984) y que las relaciones molares de fitatos/minerales pueden utilizarse para predecir su efecto inhibitorio sobre la biodisponibilidad de minerales. Una relación molar fitatos/Ca $> 0,24$ perjudicará la biodisponibilidad de Ca (Umeta y col., 2005) y la relación molar fitatos/Fe > 1 se considera como indicativo de la baja biodisponibilidad de Fe (Hurrell, 2004). La absorción de Zn se reduce cuando la relación molar fitatos/Zn es de 15 (Hemalatha y col., 2007). Cuando las dietas presentan altos contenidos de fitatos y Ca, es más adecuado utilizar la relación fitatos x Ca/Zn para predecir la biodisponibilidad, que la relación fitatos/Zn (Ma, 2005).

Los fitatos son fuertes quelantes de metales y están presentes en muchas legumbres, verduras y cereales. También, se encuentran en aislados y concentrados de proteínas vegetales. El efecto negativo de los fitatos en la absorción de Fe y Zn ha sido ampliamente demostrado (Hurrell y Egli, 2010). En este estudio, las relaciones molares encontradas, para las FEC que contenían AF, fueron los siguientes: fitatos/Fe: 2,7 - 22,6 ($11,4 \pm 6,13$), fitatos/Ca: 0,01-0,51 ($0,17 \pm 0,14$) y fitatos x Ca/Zn: 55,0 - 645,1 ($246,8 \pm 213,7$). Aunque no siempre se superaron las relaciones molares que disminuirían la bioaccesibilidad, en general, podrían explicar la baja bioaccesibilidad de estos minerales en las FEC que contienen fitatos. Sin embargo, no se encontró una menor bioaccesibilidad mineral en las fórmulas que contenían AF, en comparación con las que no contenían. Esto se debe a que la bioaccesibilidad depende de múltiples y complejas interacciones que se suman para generar dichos resultados

En cuanto a las interacciones entre minerales, el %DFe correlacionó inversamente con el contenido de Fe (R^2 : 0,63). Esto también se observa *in vivo* debido a la saturación de los mecanismos de transporte (Hurrell, 1997). El %DFe también correlacionó inversamente con el contenido de Cu (R^2 : 0,62). El efecto del Cu sobre la biodisponibilidad del Fe es paradójico. Inicialmente, el Cu fue reconocido como un factor antianémico debido a que la suplementación de este metal mejoraba las anemias ferroprivas independientemente de la suplementación con Fe. Actualmente se sabe que la Hefes y la ceruloplasmina son enzimas dependientes de Cu que están implicadas en la absorción intestinal y la movilización del Fe entre los distintos tejidos (Sharp, 2004). De esta forma, las deficiencias del Cu afectarían la biodisponibilidad de Fe. Por otra parte, estudios realizados *ex vivo* en células Caco-2 sugieren que el Cu disminuye la biodisponibilidad del Fe no-hem, debido a que ambos metales utilizan el transportador de membrana apical DMT1 para su absorción (Arredondo y Nunez, 2005). Si

bien estos comentarios corresponden a estudios realizados *in vivo* o *ex vivo*, la correlación inversa entre el %DFe y el contenido de Cu hallado *in vitro* es sugestivo de alguna interacción de tipo fisicoquímica entre ambos minerales, que también podría tener lugar en el lumen intestinal, afectando la bioaccesibilidad del Fe.

El AA puede contrarrestar los efectos de algunos inhibidores de la absorción del Fe, por lo que se agrega a los productos fortificados con Fe (Hurrell y Egli, 2010). Sin embargo, no se pudo encontrar una correlación entre la bioaccesibilidad de Fe y la relación molar AA:Fe. El conjunto de los numerosos factores que afectan la bioaccesibilidad no permitió observar en estas matrices una relación directa dosis/respuesta del efecto promotor del AA.

Existe poca información acerca de la bioaccesibilidad de Mg y Cu. Se ha descrito en la bibliografía que la absorción de Mg se puede encontrar en el intervalo de 30-60% (Feillet-Coudray, 2005). Además, el consumo de fitatos disminuyó su bioaccesibilidad al 13% en un estudio en humanos (Bohn y col., 2004). En nuestro estudio, el %DMg se encontró en un rango muy amplio (15,5-60,5%), y no se halló correlación con el contenido de AF. En cuanto al %DCu, los valores encontrados en este estudio (2,9 a 19,2%) fueron más altos que los encontrados por Vitali y col. (2008) en galletas integrales (0,05-0,17%), y tampoco se encontró ninguna correlación con el contenido de AF.

Por otro lado, no hubo relación entre la bioaccesibilidad de los distintos minerales en las FEC analizadas y la fuente mineral o proteica.

Las FEP presentaron mayor bioaccesibilidad de Fe, Cu y Mg que las FEL, y no se observaron diferencias estadísticamente significativas en los casos de Zn y Ca. Esto puede estar relacionado con los diferentes procesos que se llevan a cabo durante la elaboración de las formulaciones. Durante el procesamiento de los alimentos pueden ocurrir interacciones entre los minerales y otros nutrientes, que los tornen indisponibles para la digestión y disminuyan su bioaccesibilidad (Watzke, 1998).

IV.1.10. Conclusiones parciales:

- Se encontraron discrepancias entre los valores declarados en los rótulos de las FEC y los valores determinados experimentalmente. Para los casos de carbohidratos y grasas, sólo el 50% de las FEC variaron alrededor del $\pm 20\%$ de los valores declarados. Por otro lado, el 85% de las FEC resultaron normocalóricas y el 70% normoproteicas, tal y como se describían en los rótulos.

- Analizando el perfil nutricional, menos del 15% de las FEC se adaptaron a las recomendaciones de la OMS (2003), pese a ser fórmulas de uso general.
- Más del 70% de las FEC cumplieron con las recomendaciones de la OMS (2003), en cuanto al perfil de ácidos grasos, pero sólo el 35% de las FEC cumplieron con las recomendaciones de NCEP ATP III (2002), en cuanto a la relación n-6/n-3. Por otro lado, se hallaron valores elevados de MDA, como indicador de la oxidación de lípidos, lo que podría producir efectos negativos sobre la salud de los pacientes.
- En el 75% de las FEC, el valor de proteína declarado en el rótulo estuvo más cercano al de PB que al de PV, por lo cual podríamos considerar que el contenido proteico se determinó utilizando el NT, sin tener en cuenta el contenido de NNP.
- Los valores de LD fueron bajos en general y el 75% de las FEC no alcanzaron los valores de lisina recomendados por el CAA para alimentos de régimen (58 mg/g proteína).
- Cuando se calculó el valor de proteína potencialmente utilizable, a través de los valores de PV, %DP y el puntaje químico (utilizando el valor de LD), se halló que sólo el 45% de las FEC presentó un porcentaje de proteína utilizable superior al 80%. Además, sólo el 50% de las FEC serían normoproteicas, como se declaraba en los rótulos, teniendo en cuenta los valores de PV y %DP. Si bien esto podría considerarse especulativo, por haber empleado una metodología *in vitro* para determinar %DP, los resultados obtenidos constituyen un llamado de atención para los fabricantes de FE, ya que se podrían estar llevando a cabo tratamientos durante la elaboración que afectarían la calidad proteica del producto.
- Mediante la electroforesis SDS-PAGE se pudo observar que las proteínas que contienen las FEC serían las declaradas en los rótulos. Sin embargo, en algunos casos dichas proteínas tendrían algún grado de hidrólisis y en otros casos, podrían no encontrarse las proteínas declaradas. Se requieren estudios con métodos más sensibles para confirmar estos resultados.
- En el 60% de las FEC analizadas, el contenido de AA varió más allá del $\pm 20\%$ de los valores declarados en los rótulos y en un 35% se observó una sobredosificación, lo cual puede ser una estrategia para mantener los niveles de AA durante la VU del producto, ya que éste se degrada progresivamente. La relación AA:Fe se encontró en un nivel deseable para favorecer la bioaccesibilidad de dicho mineral.
- Ninguna de las FEC analizadas cumplió con los contenidos declarados de todos los minerales, dentro de un $\pm 20\%$ de variación. El mayor porcentaje de cumplimiento se observó para Fe, Cu y K. Esta gran variación en el contenido de minerales con respecto a lo declarado

en los rótulos podría deberse a que las materias primas utilizadas proporcionarían cantidades variables de minerales y esto no ha sido tenido en cuenta en la formulación.

○ La bioaccesibilidad de minerales de las FEC fue variable y en general resultó baja, lo cual es producto de las múltiples interacciones que tienen lugar en esta matriz alimentaria compleja. Globalmente, sólo se pudo establecer una correlación negativa entre el %DFe y el contenido de Fe y Cu.

Capítulo IV.2. EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE FÓRMULAS ENTERALES COMERCIALES EN DISTINTAS MATRICES ALIMENTARIAS, CON DIFERENTES PROCESOS DE COCCIÓN.

IV.2.1. Bioaccesibilidad de minerales (%DFe, %DZn y %DCa) de FEC incluidas en preparaciones dulces:

En la Tabla IV.8 se muestra el porcentaje de bioaccesibilidad de minerales de las FEC y de las mismas incluidas en las preparaciones dulces.

Si bien no hay referencias en la bibliografía, es una práctica común de la NE hospitalaria y domiciliaria el incluir las FE en preparaciones culinarias, más comúnmente en preparaciones dulces, para ser utilizadas en desayunos, meriendas y colaciones. Esto se lleva a cabo cuando el soporte nutricional por vía oral se prolonga en el tiempo. Permite evitar la monotonía y favorece la adhesión del paciente, lo que lo estimula a consumir la suplementación. También es la mejor manera de no alejar tanto al sujeto de su alimentación habitual, respetando sus gustos y costumbres alimentarias.

Es sabido que los procesos térmicos, como la pasteurización y la esterilización afectan la bioaccesibilidad de los minerales (Rudloff y Lonnerdal, 1992). Sin embargo, se desconoce cuál es el impacto de los procesos de cocción utilizados diariamente en la cocina y cómo puede afectar una matriz alimentaria compleja a la bioaccesibilidad de minerales de FEC.

Esto reviste un gran interés ya que, como se describió anteriormente, la NE está destinada a pacientes con algún grado de riesgo nutricional y/o en proceso de recuperación. Estos pacientes deben recibir todos los macro y micronutrientes de manera adecuada, suficiente y oportuna, para mejorar su estado de salud.

Las preparaciones que se seleccionaron para este trabajo son ampliamente consumidas en nuestra región: arroz con leche, té, postre de chocolate y licuado de banana, y por otro lado, son las más utilizadas en los hospitales de la zona.

La bioaccesibilidad mineral de las FEC evaluadas en el presente trabajo de tesis (Tabla IV.7) resultó baja en general, por ello sería importante que las preparaciones culinarias no la afectaran aún más.

Tabla IV.8. Bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn) y Ca (%DCa) de Fórmulas Enterales Comerciales incluidas en preparaciones dulces.

Muestra	%DFe	%DZn	%DCa	Muestra	%DFe	%DZn	%DCa
FEP1	4.67 ± 0.22 ^c	6.68 ± 0.23 ^d	5.22 ± 0.29 ^a	FEP11	4.58 ± 2.66 ^c	1.67 ± 2.93 ^b	13.17 ± 7.46 ^d
FEP1+T	2.48 ± 0.13 ^b	4.65 ± 0.17 ^c	8.21 ± 0.20 ^b	FEP11+T	1.24 ± 0.03 ^b	0.18 ± 0.00 ^a	9.22 ± 0.28 ^c
FEP1+PC	2.67 ± 0.01 ^b	1.20 ± 0.01 ^a	10.00 ± 0.55 ^c	FEP11+PC	0.55 ± 0.03 ^a	2.70 ± 0.11 ^c	6.48 ± 0.24 ^a
FEP1+AL	0.93 ± 0.05 ^a	1.55 ± 0.01 ^b	5.83 ± 0.23 ^a	FEP11+AL	5.94 ± 0.03 ^d	1.61 ± 0.07 ^b	7.78 ± 0.37 ^b
FEP1+LB	4.58 ± 0.11 ^c	4.68 ± 0.23 ^c	20.37 ± 0.90 ^d	FEP11+LB	6.74 ± 0.36 ^c	7.83 ± 0.44 ^d	18.10 ± 0.73 ^e
FEP2	2.06 ± 0.31 ^b	6.22 ± 0.27 ^c	4.21 ± 0.23 ^a	FEP12	3.28 ± 0.18 ^{b,c}	7.29 ± 0.29 ^c	16.50 ± 0.59 ^c
FEP2+T	1.18 ± 0.02 ^a	1.56 ± 0.08 ^a	8.68 ± 0.35 ^c	FEP12+T	0.63 ± 0.04 ^a	0.15 ± 0.01 ^a	8.39 ± 0.33 ^b
FEP2+PC	1.98 ± 0.01 ^b	1.36 ± 0.07 ^a	4.44 ± 0.17 ^a	FEP12+PC	0.46 ± 0.02 ^a	1.58 ± 0.03 ^b	4.67 ± 0.11 ^a
FEP2+AL	0.75 ± 0.04 ^a	2.29 ± 0.08 ^b	7.12 ± 0.02 ^b	FEP12+AL	3.06 ± 0.16 ^b	0.90 ± 0.04 ^{a,b}	7.69 ± 0.34 ^b
FEP2+LB	3.41 ± 0.01 ^c	10.84 ± 0.01 ^d	10.02 ± 0.29 ^d	FEP12+LB	3.52 ± 0.17 ^c	16.13 ± 0.59 ^d	17.03 ± 0.84 ^c
FEP3	1.70 ± 0.08 ^b	3.50 ± 0.21 ^d	5.13 ± 0.19 ^b	FEL13	1.42 ± 0.09 ^b	0.52 ± 0.02 ^a	11.89 ± 0.59 ^b
FEP3+T	1.80 ± 0.02 ^b	2.10 ± 0.10 ^c	9.87 ± 0.19 ^d	FEL13+T	0.86 ± 0.01 ^a	5.15 ± 0.30 ^c	12.39 ± 0.05 ^b
FEP3+PC	0.75 ± 0.01 ^a	0.67 ± 0.01 ^a	3.73 ± 0.17 ^a	FEL13+PC	1.44 ± 0.07 ^b	1.43 ± 0.07 ^c	5.92 ± 0.20 ^a
FEP3+AL	2.50 ± 0.02 ^c	2.09 ± 0.11 ^c	7.48 ± 0.29 ^c	FEL13+AL	8.93 ± 0.27 ^d	2.19 ± 0.11 ^d	27.06 ± 0.72 ^d
FEP3+LB	3.10 ± 0.03 ^d	1.36 ± 0.03 ^b	12.08 ± 0.66 ^c	FEL13+LB	5.40 ± 0.26 ^c	0.95 ± 0.03 ^b	14.62 ± 0.46 ^c
FEP4	2.41 ± 0.09 ^d	12.00 ± 0.77 ^d	4.81 ± 0.04 ^b	FEL14	2.28 ± 0.16 ^b	7.10 ± 0.31 ^d	10.49 ± 0.25 ^b
FEP4+T	0.63 ± 0.02 ^a	0.83 ± 0.03 ^a	7.93 ± 0.41 ^c	FEL14+T	2.28 ± 0.06 ^b	2.69 ± 0.09 ^b	9.23 ± 0.13 ^b
FEP4+PC	0.66 ± 0.04 ^a	0.52 ± 0.02 ^a	2.57 ± 0.11 ^a	FEL14+PC	0.97 ± 0.05 ^a	1.08 ± 0.03 ^a	4.44 ± 0.08 ^a
FEP4+AL	1.16 ± 0.00 ^b	2.31 ± 0.11 ^b	5.32 ± 0.04 ^b	FEL14+AL	8.90 ± 0.39 ^d	3.87 ± 0.15 ^c	23.82 ± 0.97 ^d
FEP4+LB	2.19 ± 0.01 ^c	7.94 ± 0.40 ^c	8.59 ± 0.20 ^d	FEL14+LB	3.82 ± 0.05 ^c	2.64 ± 0.05 ^b	18.40 ± 0.89 ^c
FEP5	1.65 ± 0.11 ^b	5.93 ± 0.29 ^d	14.45 ± 0.60 ^d	FEL15	1.22 ± 0.05 ^a	5.13 ± 0.02 ^c	3.82 ± 0.17 ^a
FEP5+T	1.44 ± 0.01 ^{a,b}	1.95 ± 0.05 ^b	12.42 ± 0.30 ^c	FEL15+T	1.41 ± 0.07 ^a	1.79 ± 0.08 ^b	8.78 ± 0.15 ^c
FEP5+PC	1.27 ± 0.03 ^a	0.80 ± 0.02 ^a	5.59 ± 0.19 ^a	FEL15+PC	1.37 ± 0.06 ^a	1.93 ± 0.05 ^c	6.03 ± 0.21 ^b
FEP5+AL	4.82 ± 0.21 ^d	2.36 ± 0.10 ^c	10.83 ± 0.45 ^b	FEL15+AL	6.04 ± 0.19 ^c	2.91 ± 0.10 ^d	28.44 ± 0.92 ^c
FEP5+LB	3.89 ± 0.19 ^c	14.35 ± 0.23 ^c	15.01 ± 0.88 ^d	FEL15+LB	2.92 ± 0.10 ^b	0.39 ± 0.00 ^a	16.28 ± 0.32 ^d
FEP6	1.07 ± 0.06 ^a	2.18 ± 0.11 ^b	11.30 ± 0.04 ^d	FEL16	1.28 ± 0.07 ^a	3.02 ± 0.17 ^b	9.36 ± 0.28 ^b
FEP6+T	1.31 ± 0.02 ^a	1.34 ± 0.07 ^b	6.88 ± 0.27 ^c	FEL16+T	3.25 ± 0.15 ^b	3.19 ± 0.12 ^b	9.81 ± 0.19 ^b
FEP6+PC	1.18 ± 0.07 ^a	0.47 ± 0.02 ^a	6.18 ± 0.16 ^b	FEL16+PC	1.06 ± 0.05 ^a	0.83 ± 0.01 ^a	4.29 ± 0.06 ^a
FEP6+AL	5.34 ± 0.31 ^b	1.64 ± 0.08 ^{a,b}	5.44 ± 0.19 ^a	FEL16+AL	4.53 ± 0.14 ^c	5.98 ± 0.26 ^c	29.85 ± 0.76 ^d
FEP6+LB	5.77 ± 0.19 ^c	14.85 ± 0.68 ^c	11.00 ± 0.59 ^d	FEL16+LB	4.44 ± 0.21 ^c	0.81 ± 0.00 ^a	15.48 ± 0.68 ^c
FEP7	2.89 ± 0.09 ^c	10.31 ± 0.60 ^d	15.12 ± 0.44 ^c	FEL17	1.58 ± 0.10 ^a	5.01 ± 0.02 ^d	18.09 ± 0.43 ^d
FEP7+T	1.88 ± 0.11 ^b	7.29 ± 0.26 ^c	15.84 ± 0.15 ^c	FEL17+T	1.35 ± 0.03 ^a	4.13 ± 0.16 ^c	11.15 ± 0.49 ^b
FEP7+PC	1.43 ± 0.03 ^a	0.77 ± 0.03 ^a	5.60 ± 0.32 ^a	FEL17+PC	1.54 ± 0.02 ^a	1.61 ± 0.02 ^a	6.28 ± 0.28 ^a
FEP7+AL	6.04 ± 0.09 ^c	1.71 ± 0.05 ^b	9.60 ± 0.33 ^b	FEL17+AL	10.24 ± 0.26 ^c	7.29 ± 0.33 ^c	19.46 ± 0.87 ^c
FEP7+LB	4.60 ± 0.14 ^d	10.37 ± 0.26 ^d	16.86 ± 0.44 ^d	FEL17+LB	4.03 ± 0.23 ^b	3.39 ± 0.12 ^b	15.60 ± 0.77 ^c
FEP8	0.36 ± 0.02 ^a	0.22 ± 0.01 ^b	5.76 ± 0.29 ^c	FEL18	2.44 ± 0.09 ^c	6.19 ± 0.32 ^c	14.07 ± 0.39 ^d
FEP8+T	0.24 ± 0.01 ^a	0.15 ± 0.01 ^a	3.38 ± 0.18 ^b	FEL18+T	1.96 ± 0.02 ^b	6.88 ± 0.32 ^d	11.36 ± 0.21 ^c
FEP8+PC	0.89 ± 0.02 ^b	0.35 ± 0.02 ^c	2.58 ± 0.12 ^a	FEL18+PC	1.09 ± 0.03 ^a	1.08 ± 0.05 ^a	4.97 ± 0.09 ^a
FEP8+AL	1.54 ± 0.05 ^c	0.64 ± 0.03 ^d	6.24 ± 0.31 ^c	FEL18+AL	10.27 ± 0.44 ^d	6.09 ± 0.37 ^c	20.15 ± 0.93 ^c
FEP8+LB	6.77 ± 0.09 ^d	1.35 ± 0.07 ^c	7.69 ± 0.32 ^d	FEL18+LB	5.24 ± 0.21 ^c	5.17 ± 0.16 ^b	9.51 ± 0.42 ^b
FEP9	5.48 ± 0.28 ^b	4.38 ± 0.21 ^d	8.67 ± 0.33 ^d	FEL19	1.19 ± 2.50 ^a	1.07 ± 2.83 ^a	6.17 ± 7.20 ^a
FEP9+T	1.06 ± 0.04 ^a	3.52 ± 0.18 ^c	7.80 ± 0.03 ^c	FEL19+T	1.10 ± 0.042 ^a	1.53 ± 0.06 ^b	6.25 ± 0.29 ^a
FEP9+PC	0.97 ± 0.03 ^a	2.47 ± 0.04 ^b	4.64 ± 0.28 ^b	FEL19+PC	1.50 ± 0.04 ^b	1.57 ± 0.06 ^b	6.20 ± 0.30 ^a
FEP9+AL	6.82 ± 0.10 ^c	1.49 ± 0.06 ^a	3.21 ± 0.14 ^a	FEL19+AL	5.35 ± 0.13 ^c	7.94 ± 0.35 ^d	26.43 ± 0.28 ^c
FEP9+LB	6.33 ± 0.36 ^c	4.43 ± 0.20 ^d	11.73 ± 0.46 ^c	FEL19+LB	9.58 ± 0.22 ^d	5.62 ± 0.21 ^c	13.83 ± 0.66 ^b
FEP10	3.84 ± 0.26 ^d	2.51 ± 0.12 ^b	4.77 ± 0.23 ^b	FEL20	2.18 ± 0.12 ^c	5.75 ± 0.30 ^b	7.22 ± 0.27 ^b
FEP10+T	1.25 ± 0.07 ^b	3.23 ± 0.18 ^c	10.06 ± 0.02 ^c	FEL20+T	1.83 ± 0.02 ^b	9.26 ± 0.22 ^d	8.71 ± 0.19 ^c
FEP10+PC	0.65 ± 0.01 ^a	3.14 ± 0.12 ^c	3.71 ± 0.18 ^a	FEL20+PC	1.09 ± 0.02 ^a	1.77 ± 0.02 ^a	4.25 ± 0.23 ^a
FEP10+AL	3.32 ± 0.10 ^c	0.89 ± 0.05 ^a	4.09 ± 0.08 ^a	FEL20+AL	8.54 ± 0.27 ^c	8.36 ± 0.39 ^c	19.69 ± 0.65 ^d
FEP10+LB	4.44 ± 0.13 ^c	11.54 ± 0.54 ^d	10.58 ± 0.35 ^d	FEL20+LB	7.80 ± 0.14 ^d	1.51 ± 0.06 ^a	33.20 ± 0.59 ^e

Media ± DE. Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$). **FEP**: fórmula enteral en polvo, **FEL**: fórmula enteral líquida. **T**: té, **PC**: postre de chocolate, **AL**: arroz con leche, **LB**: licuado de banana.

IV.2.2. Efecto de la matriz alimentaria en la bioaccesibilidad de minerales de FEC:

Para evaluar el efecto de la matriz alimentaria en la bioaccesibilidad de minerales de las FEC, se realizó un ANOVA simple teniendo en cuenta el tipo de preparación. En la Tabla IV.9 se puede observar que las distintas matrices alimentarias en las que fueron incluidas las FEC afectaron de modo diferente la bioaccesibilidad de minerales.

La bioaccesibilidad de los tres minerales analizados disminuyó al incorporar las FEC en el PC, con respecto a las FEC sin incluir en preparaciones. En los casos de %DFe y %DZn se observó este mismo efecto al incorporar las FEC en el T, y no se observó diferencia estadísticamente significativa en el caso del %DCa.

Por otro lado, para los tres minerales analizados la bioaccesibilidad aumentó al incluirlas en el LB. También se observó un incremento en el %DFe y el %DCa al incorporarlas en el AL, mientras que el %DZn disminuyó, con respecto a las FEC sin incluir en preparaciones.

Tabla IV.9: Efecto de la matriz alimentaria sobre la bioaccesibilidad de minerales de Fórmulas Enterales Comerciales incluidas en preparaciones dulces.

Matriz alimentaria	%DFe	%DZn	%DCa
FE	2,38 ± 1,36 ^b	4,80 ± 3,10 ^c	9,50 ± 4,60 ^b
FE + T	1,49 ± 0,71 ^a	3,10 ± 2,49 ^b	9,11 ± 2,53 ^b
FE + PC	1,19 ± 0,46 ^a	1,36 ± 0,73 ^a	5,16 ± 1,66 ^a
FE + AL	5,05 ± 3,04 ^c	3,29 ± 2,43 ^b	14,41 ± 9,36 ^c
FE+ LB	4,98 ± 1,81 ^c	6,14 ± 4,91 ^d	14,88 ± 5,54 ^c

Media ± DE. Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas (p<0,05). **FE:** fórmula enteral; **T:** té; **PC:** postre de chocolate; **AL:** arroz con leche; **LB:** licuado de banana.

Tanto las FEC como las matrices alimentarias contienen factores promotores de la absorción intestinal de minerales, como la vitamina C, y factores inhibidores, principalmente ácido fítico, taninos, polifenoles y Ca, y proteínas lácteas para el caso del Fe (Hurrell y Egli, 2010). Los derivados hexa y penta fosfatos del ácido fítico, forman complejos insolubles a un pH cercano a la neutralidad, disminuyendo de esta manera la bioaccesibilidad del Fe (Fairweather-Tait, 1992). Por otro lado, cabe destacar que la acción del AA involucra la reducción del ion férrico a su forma ferrosa, mejor absorbida, la formación de quelatos solubles y estables con el Fe en el estómago y por ende el mantenimiento de su solubilidad cuando el alimento ingresa en el ambiente más alcalino del duodeno (Lee y Clydesdale,

1981). Este último efecto se puede explicar por el hecho de que el AA forma complejos solubles con el Fe de los alimentos a pHs más bajos que los ligandos inhibitorios, es decir que actuaría a nivel estomacal donde las condiciones de pH son desfavorables para la formación de complejos con otros ligandos (Hurrell y Egli, 2010). Todo esto contrarrestaría los efectos inhibitorios de los fitatos y polifenoles.

El PC fue la matriz que más afectó la bioaccesibilidad de minerales, seguido del T. El efecto depresor del chocolate, la leche y del té, en la bioaccesibilidad de minerales, fue descrito por Binaghi y col. (2007) al analizar el efecto de estas matrices alimentarias sobre alimentos infantiles complementarios.

En el caso del PC, el efecto inhibitorio podría deberse a que tanto los polifenoles del chocolate como las proteínas lácteas y el Ca de la leche son inhibidores de la absorción de Fe (Jackson, 1992; Hurrell, 1997). La presencia de grupos fosfoserina en las subunidades de caseína, puede explicar la unión del Fe a péptidos de caseína insolubles y por lo tanto, la disminución del %DFe y su bioaccesibilidad. Las sales de Ca alteran la absorción de Fe cuando están presentes en las mismas comidas. El efecto inhibitorio del Ca se produce como consecuencia de interacciones fisicoquímicas en el tracto gastrointestinal, que también influyen en la bioaccesibilidad del Fe (Medina Gallardo, 1984) y además, existe un efecto inhibitorio a nivel de mucosa que sólo se vería en estudios *in vivo* (Hurrell y Egli, 2010). Además, los polifenoles del cacao también actúan como inhibidores, formando complejos insolubles que impiden la absorción. En el caso del T, el efecto depresor sería causado por los taninos que son ligandos inhibidores de la absorción del Fe no hemínico y del Zn presentes en las FEC. Estudios en ratas demostraron que los polifenoles forman complejos insolubles con el Fe y el Zn que precipitan y por lo tanto no pueden ser absorbidos. Estos complejos también pueden ser de un alto peso molecular, lo que impediría tanto su diálisis como su absorción *in vivo* (Brown y col., 1990). En el caso del %Ca el efecto inhibitorio podría deberse a los polifenoles.

En el LB se incrementó la bioaccesibilidad de los tres minerales analizados y en el AL se incrementó la bioaccesibilidad de Fe y Ca. Tanto la banana como el arroz blanco pulido contienen bajos valores de ácido fítico (Cúneo y col., 2000; Lott y col., 2000). En principio, tanto la banana como el arroz blanco no deberían tener mayor efecto en la disponibilidad de Zn y Ca. Por otro lado, el ácido ascórbico de esta fruta podría contribuir a la mayor disponibilidad de Fe. De acuerdo a Wall (2006) la banana tendría un contenido de ácido ascórbico de alrededor de 9,7 mg/100 g de fruto fresco.

IV.2.3. Efecto del calentamiento sobre la bioaccesibilidad de minerales de FEC:

En la Tabla IV.10 se muestra el efecto del calentamiento sobre la bioaccesibilidad de Fe, Zn y Ca de FEC. Se puede observar que en los tres minerales analizados se redujo el porcentaje de bioaccesibilidad cuando las FEC fueron sometidas a calentamiento durante la preparación de los postres (T y PC) y que la bioaccesibilidad de Fe y de Ca se incrementó al incluir las FEC en preparaciones donde no se calentó durante la elaboración de los mismos (AL y LB).

Por un lado, durante el proceso de calentamiento de las FEC se producen pérdidas de AA, que es un promotor de la absorción de Fe (Hurrell y Egli, 2010) y por otro, pueden ocurrir interacciones de los minerales con otros nutrientes que afecten su bioaccesibilidad. Rudloff y Lönnerdal (1992) demostraron que la severidad de los tratamientos térmicos usados durante el procesamiento de las fórmulas infantiles influye en las interacciones lípido-proteína y proteína-proteína, lo que lleva a una redistribución de los minerales en la matriz alimentaria que afecta su bioaccesibilidad. Además, observaron que la esterilización tiene un efecto más fuerte en estas interacciones que el secado por spray y el tratamiento con ultra alta temperatura (UHT).

Tabla IV.10: Efecto del calentamiento sobre la bioaccesibilidad de minerales de Fórmulas Enterales Comerciales incluidas en preparaciones dulces.

Muestra	%DFe	%DZn	%DCa
FE	2,38 ± 1,36 ^b	4,80 ± 3,10 ^b	9,50 ± 4,60 ^b
Cal	1,33 ± 0,61 ^a	2,27 ± 2,05 ^a	7,01 ± 2,87 ^a
S/Cal	5,02 ± 2,43 ^c	4,68 ± 4,68 ^b	14,66 ± 7,48 ^c

Media ± DE. Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas (p<0,05). **FE:** fórmula enteral; **Cal:** preparaciones culinarias que incluyen calentamiento de las fórmulas enterales; **S/Cal:** preparaciones culinarias que no incluyen calentamiento de las fórmulas enterales.

IV.2.4. Aporte potencial de minerales de FEC y de preparaciones dulces:

En la Tabla IV.11.a se muestran los valores de AP obtenidos en cada una de las FEC y las preparaciones dulces y en la Tabla IV.11.b se muestran el valor medio y el rango del AP y se indica el porcentaje que se cubriría de los requerimientos diarios al consumir la ración estimada (200 g).

Tabla IV.11.a: Aporte potencial de Fe, Zn y Ca (μg) de Fórmulas Enterales Comerciales y de preparaciones dulces.

Muestra	APFe	APZn	APCa	Muestra	APFe	APZn	APCa
FEP1	106,35	193,38	7870,32	FEP11	53,53	33,35	28401,82
FEP1+T	91,95	87,64	13801,01	FEP11+T	14,92	4,08	16843,45
FEP1+PC	75,94	29,22	21181,34	FEP11+PC	19,92	54,45	21654,27
FEP1+AL	10,14	14,46	2896,41	FEP11+AL	78,02	30,65	15441,35
FEP1+LB	88,10	70,19	15456,54	FEP11+LB	65,65	105,24	25190,18
FEP2	59,42	101,46	6982,00	FEP12	88,27	91,54	26403,68
FEP2+T	32,38	29,95	14608,35	FEP12+T	15,30	3,57	14016,69
FEP2+PC	68,13	20,20	12170,99	FEP12+PC	21,97	35,54	15917,81
FEP2+AL	12,01	18,42	5260,62	FEP12+AL	72,45	16,44	10666,00
FEP2+LB	62,23	77,74	8914,19	FEP12+LB	71,38	210,77	18663,45
FEP3	40,76	44,37	6962,64	FEL13	39,10	21,54	21051,11
FEP3+T	50,62	34,06	15548,30	FEL13+T	11,84	130,49	10433,85
FEP3+PC	23,65	9,25	9302,21	FEL13+PC	52,47	25,60	14015,81
FEP3+AL	44,52	22,06	5684,07	FEL13+AL	62,08	27,28	7726,68
FEP3+LB	54,21	16,33	10423,83	FEL13+LB	88,70	20,46	13135,95
FEP4	54,57	135,38	7276,04	FEL14	64,90	220,10	16040,21
FEP4+T	17,92	17,54	14452,72	FEL14+T	36,82	71,60	12674,72
FEP4+PC	26,43	10,07	6162,22	FEL14+PC	43,93	22,26	10950,98
FEP4+AL	20,92	28,67	4439,51	FEL14+AL	69,26	54,70	9273,48
FEP4+LB	42,63	89,97	8880,48	FEL14+LB	59,85	64,44	29935,83
FEP5	35,75	80,41	23414,54	FEL15	45,23	225,54	7104,52
FEP5+T	27,01	33,66	16170,05	FEL15+T	26,62	51,31	12960,33
FEP5+PC	48,12	14,40	13058,77	FEL15+PC	51,15	29,43	13548,56
FEP5+AL	97,30	39,58	9620,85	FEL15+AL	51,39	35,52	15785,75
FEP5+LB	77,16	204,67	15505,96	FEL15+LB	66,73	11,45	25334,54
FEP6	26,78	43,08	17651,17	FEL16	39,29	105,13	14895,02
FEP6+T	26,93	27,51	10445,09	FEL16+T	55,10	73,29	13297,56
FEP6+PC	49,20	9,85	14882,11	FEL16+PC	50,58	24,35	12249,47
FEP6+AL	144,61	37,74	7582,43	FEL16+AL	28,52	76,12	12217,85
FEP6+LB	109,26	151,32	11710,50	FEL16+LB	83,98	27,53	18239,31
FEP7	38,03	150,49	16446,22	FEL17	49,16	105,72	10024,39
FEP7+T	20,41	69,59	16966,87	FEL17+T	22,28	68,56	5817,46
FEP7+PC	49,53	12,14	12100,02	FEL17+PC	55,56	28,37	14814,24
FEP7+AL	120,31	21,43	10394,04	FEL17+AL	56,42	34,89	6370,13
FEP7+LB	60,50	93,61	13996,46	FEL17+LB	82,94	64,03	6360,48
FEP8	13,05	6,92	12307,17	FEL18	64,73	132,99	14620,59
FEP8+T	7,14	4,94	7116,34	FEL18+T	27,07	94,60	8522,40
FEP8+PC	39,07	9,88	6841,11	FEL18+PC	50,54	21,81	12392,49
FEP8+AL	49,69	15,59	10483,11	FEL18+AL	37,27	38,95	4362,06
FEP8+LB	187,19	29,66	11671,08	FEL18+LB	117,89	108,62	16525,35
FEP9	43,01	60,79	5575,49	FEL19	46,87	53,73	14608,08
FEP9+T	12,42	46,82	4948,31	FEL19+T	21,69	61,29	10867,63
FEP9+PC	29,06	44,02	10390,49	FEL19+PC	52,97	25,43	13968,80
FEP9+AL	79,32	17,08	3039,86	FEL19+AL	41,94	40,18	14978,20
FEP9+LB	65,72	52,62	5719,67	FEL19+LB	215,40	88,64	27485,88
FEP10	41,53	34,54	4609,09	FEL20	57,89	180,61	8308,43
FEP10+T	18,08	41,99	8151,19	FEL20+T	28,52	297,47	10893,66
FEP10+PC	25,63	51,40	10888,69	FEL20+PC	50,03	27,69	12015,53
FEP10+AL	58,58	13,22	3597,90	FEL20+AL	47,02	125,80	6170,54
FEP10+LB	59,22	116,09	6640,31	FEL20+LB	123,22	36,63	20855,46

APFe: aporte potencial de Fe, APZn: aporte potencial de Zn, APCa: aporte potencial de Ca, FEP: fórmula enteral en polvo, FEL: fórmula enteral líquida. T: té, PC: postre de chocolate, AL: arroz con leche, LB: licuado de banana.

Tabla IV.11b: Valor medio y rango de aporte potencial de Fe, Zn y Ca (μg) de Fórmulas Enterales Comerciales y de preparaciones dulces, y porcentajes que se cubren de los requerimientos diarios al consumir una porción (200 g).

	AP mineral valor medio (μg)	Rango	% Cubierto del requerimiento
APFe			
FE	50,41 \pm 20,50	13,05 – 106,35	2,8
FE+T	28,25 \pm 19,25	7,14 – 91,95	1,6
FE + PC	44,19 \pm 15,40	19,92 – 75,94	2,5
FE + AL	59,09 \pm 33,92	10,14 – 144,61	3,3
FE + LB	89,10 \pm 43,98	42,63 – 215,40	4,9
APZn			
FE	101,05 \pm 66,63	6,92 – 225,54	4,5
FE+T	62,50 \pm 64,37	5,57 – 297,47	3,9
FE + PC	25,27 \pm 13,26	9,25 – 54,45	4,3
FE + AL	35,44 \pm 26,23	13,22 – 125,80	2,8
FE + LB	82,00 \pm 56,93	11,45 – 210,77	5,2
APCa			
FE	13572,63 \pm 7106,42	4609 – 28401	4,6
FE+T	11926,80 \pm 3607,57	4948,31 – 16966,87	2,8
FE + PC	12925,30 \pm 3815,25	6162,22 – 21654,27	1,1
FE + AL	8299,54 \pm 4097,47	2896,41 – 15785,75	2,6
FE + LB	15532,27 \pm 7245,34	5719,67 – 29935,83	3,7

APFe: aporte potencial de Fe, **APZn:** aporte potencial de Zn, **APCa:** aporte potencial de Ca, **FEP:** fórmula enteral en polvo, **FEL:** fórmula enteral líquida. **T:** té, **PC:** postre de chocolate, **AL:** arroz con leche, **LB:** licuado de banana.

Se debe tener en cuenta que la IDR de un nutriente está siempre por encima de sus necesidades reales, ya que la recomendación nutricional se calcula teniendo en cuenta factores ambientales, la variabilidad individual y la biodisponibilidad de nutrientes en la dieta (Ziegler y Filer, 1990) y que la expresión del AP de un nutriente tiene en cuenta la disponibilidad y por lo tanto su suministro a partir de un alimento en particular.

El AP de minerales fue muy variable entre las distintas FEC y preparaciones dulces y resultó bajo. Teniendo en cuenta que se estima que es necesario que se absorban diariamente 1,8 mg de Fe para cubrir las necesidades del 80-90 % de las mujeres adultas y de adolescentes

de ambos sexos (Monsen y col., 1978), se puede considerar que la ración considerada (200 g) de las FEC y preparaciones dulces estarían cubriendo menos del 5% de este requerimiento diario. Por otro lado, teniendo en cuenta que las pérdidas inevitables de Ca en el adulto se encuentran alrededor de 300 mg/día (Martín de Portela, 1993), se cubrirían alrededor del 5% de esas pérdidas. Por último, los requerimientos de Zn son de 2,2 mg/día (Martín de Portela 1993), por lo cual se estarían cubriendo menos del 5% de este requerimiento diario.

En la Tabla IV.12 se muestra el efecto de la matriz alimentaria y del calentamiento sobre el AP de Fe, Zn y Ca de FEC y de FEC incluidas en preparaciones dulces.

Las distintas matrices alimentarias tuvieron un efecto variable, que tienen que ver tanto con las distintas concentraciones de minerales de cada una, como con la variación en la bioaccesibilidad de cada mineral. Se puede observar que el APFe aumentó cuando las FEC fueron incluidas en el LB y disminuyó cuando fueron incluidas en el T; el APZn disminuyó en todos los casos, excepto al incluirlas en el LB y el APCa disminuyó cuando las FEC fueron incluidas en el AL.

Con respecto al efecto del calentamiento, sólo se observó una diferencia estadísticamente significativa en el APFe, el cuál disminuyó cuando las FEC fueron incluidas en preparaciones que implican calentamiento.

Tabla IV.12: Efecto de la matriz alimentaria (a) y del calentamiento (b) sobre el aporte potencial de minerales de Fórmulas Enterales Comerciales.

	APFe (µg)	APZn (µg)	APCa (µg)
(a) Matriz alimentaria			
FE	50,41 ± 20,50 ^b	101,05 ± 66,63 ^d	13527,63 ± 7106,42 ^{b,c}
FE + T	28,25 ± 19,25 ^a	62,50 ± 64,37 ^{b,c}	11926,80 ± 3607,57 ^b
FE + PC	44,19 ± 15,40 ^{a,b}	25,27 ± 13,26 ^a	12925,30 ± 3815,25 ^{b,c}
FE + AL	59,09 ± 33,92 ^b	35,44 ± 26,23 ^{a,b}	8299,54 ± 4097,57 ^a
FE+ LB	89,10 ± 43,98 ^c	82,00 ± 56,93 ^{c,d}	15532,47 ± 7245,34 ^c
(b) Calentamiento			
Cal	36,22 ± 19,01 ^a	43,88 ± 49,59 ^a	12426,00 ± 3699,66 ^a
S/Cal	74,09 ± 41,64 ^b	59,72 ± 49,70 ^a	11915,90 ± 6876,95 ^a

Media ± DE. Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas (p<0,05), **APFe:** aporte potencial de Fe, **APZn:** aporte potencial de Zn, **APCa:** aporte potencial de Ca, **FE:** Fórmula enteral, **T:** té; **PC:** postre de chocolate; **AL:** arroz con leche; **LB:** licuado de banana, **Cal:** preparaciones culinarias que incluyen calentamiento de las fórmulas enterales, **S/Cal:** preparaciones culinarias que no incluyen calentamiento de las fórmulas enterales

IV.2.5. Conclusiones parciales:

- Las distintas matrices alimentarias en las cuales fueron incluidas las FEC afectaron de modo diferente la bioaccesibilidad de Fe, Zn y Ca ya que contienen promotores (AA) e inhibidores (AF, taninos, polifenoles, proteínas lácteas, Ca) de la absorción que ejercen su efecto por interacción fisicoquímica.
- El efecto más claro sobre la bioaccesibilidad de minerales estuvo dado por el calentamiento de las FEC durante la elaboración de las preparaciones dulces (T y PC), actuando como depresor, posiblemente debido a la degradación del AA y a la generación de interacciones entre los diferentes constituyentes del alimento. Por otro lado, las preparaciones que no involucraron un calentamiento de la FEC (AL y LB) generaron un incremento en la bioaccesibilidad de minerales.
- Al analizar el AP de estos minerales en una porción de 200 g se pudo ver que las FEC y las preparaciones en las que se incluyen las FEC no hacen un buen aporte de los minerales analizados, según las recomendaciones.

A continuación, se muestra un resumen de los resultados más relevantes, de manera de simplificar su comprensión:

- Efecto de las matrices alimentarias sobre la bioaccesibilidad de minerales:

- PC: disminución de %DFe, %DZn y %DCa, probablemente debido al efecto inhibitor de polifenoles y Ca (en el caso del Fe).
- T: disminución de %DFe y %DZn, probablemente debido a efecto depresor de los taninos.
- LB: aumento de %DFe y %DZn, probablemente debido al efecto promotor del AA (en el caso del Fe).
- AL: aumento de %DFe y %DCa y disminución de %DZn.

-Efecto del calentamiento sobre la bioaccesibilidad de minerales:

- Cal (PC y T): disminución de %DFe, %DZn y %DCa, probablemente debido a la interacción de los minerales con otros nutrientes y a las pérdidas de AA (para el caso del Fe).
- S/Cal (AL y LB): aumento de %DFe y %DCa.

-Aporte potencial de minerales: resultó baja en todos los casos.

- Porcentaje que se cubre de las recomendaciones de minerales con el consumo de una porción (200 g) de postres con FEC: Fe: 1,6 – 4,9%; Zn: 1,1 – 4,6%; Ca: 2,8 – 5,2%.
- Efecto de la matriz alimentaria: PC: disminución del APZn; T: disminución del APFe y APZn; LB: aumento del APFe y APCa; AL: disminución del APZn y APCa.
- Según procesamiento: Cal (PC y T): disminución del APFe.

Capítulo IV.3. DESARROLLO DE FORMULAS ENTERALES EXPERIMENTALES

IV.3.1. Evaluación de las materias primas utilizadas en el desarrollo de las FEE:

En la Tabla IV.13 se muestra la composición de las fuentes proteicas y de la fuente de calcio, utilizadas en las FEE.

Tabla IV.13: Composición de materias primas utilizadas en Formulas Enterales Experimentales.

Componente	APS	C	WPC	Citrato de Ca
Fe (mg/Kg)	193,5 ± 13,4	43,8 ± 2,1	8,31 ± 0,17	53,6 ± 3,4
Zn (mg/Kg)	52,7 ± 0,31	353,1 ± 11,6	8,99 ± 0,56	27,6 ± 1,7
Ca (mg/Kg)	379,1 ± 8,0	3227,2 ± 81,4	10413,61 ± 88,13	191708,7 ± 19823,3
Proteína (g/Kg)	854,3 ± 3,2	838,1 ± 2,4	308,6 ± 0,7	-
AF (mg/Kg)	857,9 ± 54,3	-	-	-
AIT (UTI/mg)	7,00 ± 1,1	-	-	-

Media ± DE; **APS:** aislado de proteínas de soja, **C:** caseína, **WPC:** concentrado de proteínas del suero lácteo, **AF:** ácido fítico, **AIT:** actividad de inhibidor de tripsina

IV.3.2. Diseño experimental N°1: Efecto del contenido de proteínas de soja y de calcio sobre la bioaccesibilidad de minerales y la digestibilidad proteica.

La composición final de las FEE fue la siguiente: proteínas: 2,5, 3,75, y 5,0 g/100 mL (FEE hipoproteicas, normoproteicas e hiperproteicas, respectivamente), carbohidratos: 16,2, 15,0 y 13,7 g/100 mL (se ajustó para obtener FEE normocalóricas: 1 Kcal/mL), lípidos: 2,7 g/100 mL, Fe: 10,48 ± 0,34 mg/L, Zn: 8,17 ± 0,29 mg/L, Ca: 496,58 – 1017,59 mg/L y AA: 150,8 mg/100 mL.

Las experiencias resultantes de la aplicación del primer diseño experimental de superficie de respuesta 3², con triplicado de punto central y los valores de bioaccesibilidad de Fe, Zn y Ca (%DFe, %DZn, %DCa) y digestibilidad proteica (%DP) para las diferentes combinaciones de concentración de proteínas de soja y Ca se muestran en la Tabla IV.14.

Las respuestas se modelaron con la siguiente función polinómica de segundo grado:

$$\%DMi = b_0 - [b_1 \text{ PS (g proteína/100mL)}] + [b_2 \text{ Ca (mg/L)}] + [b_3 \text{ PS (g proteína/100mL)}^2] + [b_4 \text{ PS (g proteína/100mL)} \times \text{Ca (mg/L)}] - [b_5 \text{ Ca (mg/L)}^2]$$

El Análisis de Varianza (ANOVA) para las respuestas se muestra en la Tabla IV.15. Los altos valores de los coeficientes de determinación (r^2) y la falta de ajuste no significativa sugieren que los modelos ajustaron adecuadamente a los datos de las distintas respuestas en un nivel de confianza del 95%. Se observa que la concentración de PS afectó significativamente a los porcentajes de %DFe, %DZn, %DCa y %DP en su término lineal, y que la concentración de Ca afectó sólo al %DCa en su término lineal. Los términos cuadráticos y de interacción no resultaron significativos para ninguna de las dos variables independientes estudiadas.

Los coeficientes de regresión para la ecuación, que se ha utilizado para ajustar los datos se muestran en la Tabla IV.16.

Tabla IV.14: Bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn) y Ca (%DCa) y digestibilidad proteica (%DP) de las formulaciones del Diseño Experimental N°1.

PS (g proteína /100mL)	Ca (mg/L)	%DFe	%DZn	%DCa	%DP
2,5	500	13,95 ± 0,48	4,47 ± 0,28	25,19 ± 0,83	88,97 ± 7,08
2,5	750	16,76 ± 0,35	4,05 ± 0,06	24,21 ± 1,04	85,25 ± 0,77
2,5	1000	14,96 ± 0,11	4,77 ± 0,23	19,12 ± 1,63	91,26 ± 3,46
3,75	500	18,48 ± 3,38	6,16 ± 0,01	25,57 ± 1,01	99,91 ± 1,74
3,75	750	16,76 ± 0,18	4,79 ± 0,13	21,78 ± 1,50	98,82 ± 3,10
3,75	750	14,88 ± 0,50	3,80 ± 0,28	21,94 ± 1,03	73,98 ± 1,44
3,75	750	21,53 ± 0,41	6,79 ± 0,20	25,80 ± 1,71	94,69 ± 0,40
3,75	1000	13,47 ± 0,71	4,09 ± 0,08	22,79 ± 0,33	88,36 ± 0,18
5	750	11,60 ± 0,58	3,56 ± 0,17	22,91 ± 0,55	78,52 ± 0,50
5	500	9,46 ± 0,24	2,05 ± 0,03	19,35 ± 1,28	74,89 ± 2,91
5	1000	14,00 ± 0,58	4,90 ± 0,18	23,26 ± 0,57	82,78 ± 1,85

Media ± DE. PS: proteínas de soja.

Tabla IV.15: Análisis de Varianza para el efecto global de las dos variables sobre la bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn) y Ca (%DCa) y la digestibilidad proteica (%DP) de las formulaciones del diseño experimental N°1.

Fuente de variación	Grados de libertad	Valor de p			
		%DFe	%DZn	%DCa	%DP
A: PS	1	0,0405	0,0194	0,0463	0,0106
B: Ca	1	0,2921	0,1387	0,0231	0,7869
AA	1	0,4288	0,6275	0,5638	0,5794
AB	1	0,4051	0,7320	0,9027	0,7449
BB	1	0,4552	0,3306	0,0535	0,3121
Falta de ajuste	1	0,4087	0,2418	0,2589	0,3943
r²*		0,607509	0,658522	0,755347	0,861996

* Ajustado con los grados de libertad, **PS:** proteínas de soja.

Tabla IV.16: Coeficientes de regresión de la ecuación polinómica de segundo orden para la bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn) y Ca (%DCa) y la digestibilidad proteica (%DP) de las formulaciones del diseño experimental N°1.

Coefficiente*	%DFe	%DZn	%DCa	%DP
b₀	31,3546	6,29534	7,30451	126,782
b₁	-10,2348**	-2,16016**	-2,43446**	-2,07267**
b₂	0,0174589	9,98282 x 10 ⁻³	0,0534801**	-0,0519397
b₃	0,698679	0,109686	0,199337	-0,737465
b₄	2,95727 x 10 ⁻³	3,02487 x 10 ⁻⁴	1,60027 x 10 ⁻⁴	1,59978 x 10 ⁻³
b₅	-1,6308 x 10 ⁻⁵	6,15693 x 10 ⁻⁶	-3,01684 x 10 ⁻⁵	3,76868 x 10 ⁻⁵

* b₀ representa la intersección y b₁, b₂, b₃, b₄, y b₅ son los coeficientes para el término lineal de la concentración de proteína de soja, el término lineal de la concentración de Ca, el término cuadrático de la concentración de proteína de soja, la interacción de la concentración de proteína de soja y Ca, y el término cuadrático de la concentración de Ca, respectivamente. ** (p < 0,05).

IV.3.2.1. Prueba del valor predictivo de la ecuación utilizada en el diseño experimental N°1:

La idoneidad de la ecuación del modelo para predecir valores de bioaccesibilidad de minerales y la DP% fue probada usando una FEE preparado con 4 g de PS/100mL y 100 mg/100 mL de Ca. Como se muestra en la Tabla IV.17, los valores experimentales obtenidos

se encontraron de acuerdo con los predichos, obtenidos usando la ecuación polinómica de segundo orden y los coeficientes de regresión correspondientes.

Tabla IV.17: Predicción y valores experimentales de bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn) y Ca (%DCa) y digestibilidad proteica (%DP), utilizando una fórmula experimental de prueba, para el diseño experimental N°1.

Respuestas	Valores predichos*	Valores experimentales**
%DFe	14,57	14,60 ± 0,17
%DZn	4,44	4,37 ± 0,23
%DCa	23,43	23,49 ± 1,38
%DP	86,03	85,93 ± 1,86

*Valores obtenidos utilizando la ecuación polinómica de segundo orden y sus correspondientes coeficientes de regresión. **Media ± DE (n = 4).

IV.3.2.2. Efecto de la composición de FEE sobre la bioaccesibilidad del Fe:

La Figura IV.7 muestra la gráfica tridimensional de la superficie de respuesta para %DFe estimada para este modelo. Puede observarse que el %DFe disminuyó con el incremento de la concentración de PS, en todos los niveles de Ca estudiados.

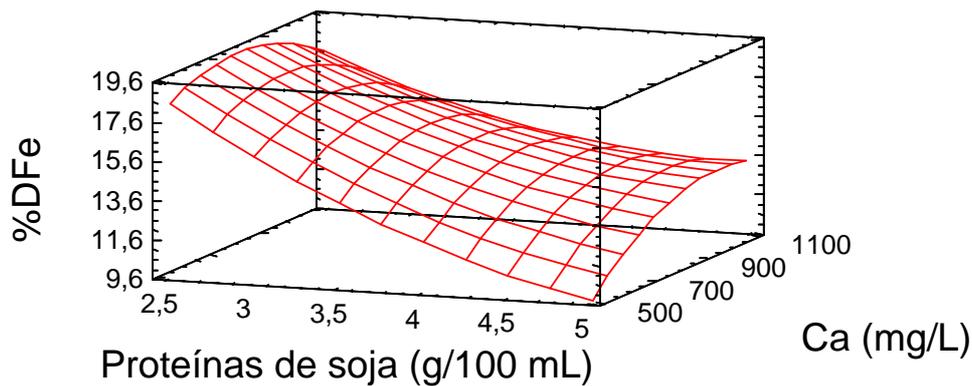


Figura IV.7: Superficie de respuesta para la bioaccesibilidad de Fe (%DFe). Diseño experimental N°1.

IV.3.2.2.1. Influencia del contenido de proteínas de soja:

Los valores de %DFe (9,45-21,52%) de las FEE (Tabla IV.14) fueron más bajos que los encontrados previamente por Drago y col. (2004) en fórmulas para lactantes a base de proteínas lácteas (15,76-24,78%) utilizando la misma metodología, pero resultaron superiores a los hallados previamente en FEC (0,36-5,48%) (Tabla IV.7).

Se encontró que el valor más bajo de %DFe de la FEE correspondió al mayor contenido de PS (Figura IV.7). Esto puede ser debido al efecto inhibitorio del AF presente en el APS (Tabla IV.13) sobre la bioaccesibilidad de Fe (Sanz-Penella y col., 2012). Lönnerdal (1985) también describió un efecto similar de las PS sobre la biodisponibilidad de minerales en fórmulas infantiles.

Existen procesos que permiten disminuir el contenido de AF de los APS, siendo uno de ellos el tratamiento enzimático con fitasas que puede reducir prácticamente a cero el valor de AF (Frontela y col., 2008). Gaitán y col., (2006) demostraron que la degradación completa del AF en un APS usando fitasas permitió aumentar significativamente la absorción de Fe en adultos, cuando este APS sin fitatos fue consumido como única fuente de proteína en una comida de prueba líquida.

Las relaciones molares fitatos/Fe variaron desde 4,48 hasta 8,96 y se halló una relación inversamente proporcional ($R^2: 0,7155$) de esta relación con el %DFe (Figura IV.8). Sin embargo, si bien estas relaciones molares se corresponden con niveles de inhibición de la absorción de Fe, se debe mencionar que los tres niveles de fitatos corresponden a los tres niveles de agregado de APS, por lo que es difícil diferenciar si el efecto inhibitorio se debe a las PS o al AF.

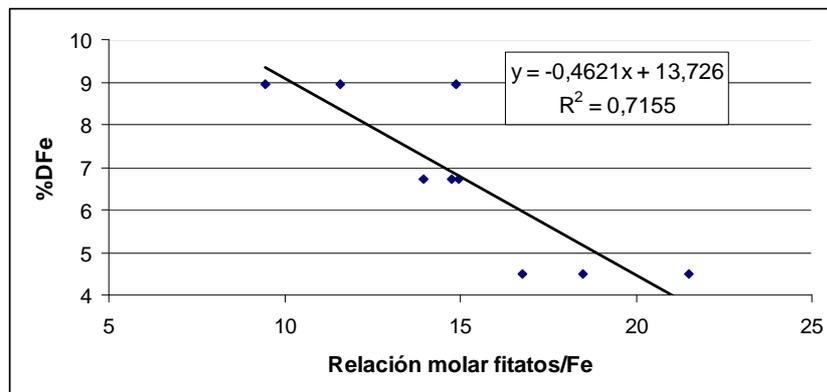


Figura IV.8: Relación entre la bioaccesibilidad de Fe (%DFe) y la relación molar fitatos/Fe en Fórmulas Enterales Experimentales.

Sin embargo, la adecuada relación molar AA:Fe (4:1) podría promover el %DFe (Teucher y col., 2004), explicando los valores aceptables de bioaccesibilidad obtenidos.

IV.3.2.2.2. *Influencia del contenido de Ca:*

En este estudio, el contenido de Ca no afectó la %DFe (Tabla IV.14).

Los resultados obtenidos a través de numerosas experiencias en humanos, que estudian la influencia del Ca en la absorción del Fe, resultan inconsistentes y sugieren que las interacciones Ca-Fe son muy complejas y escasamente comprendidas (Fairweather-Tait, 1995).

El efecto depresor del Ca en la absorción del Fe se ha demostrado claramente en estudios de una sola comida y en estudios de intervención a corto plazo (Hallberg y col., 1993). Se sugiere que la interacción tiene lugar dentro de las células de la mucosa intestinal ya que ambos, Fe hemínico y no hemínico se ven afectados (Kalkwarf y Harrast, 1998). Sin embargo, estudios de suplementación con Ca a largo plazo no han demostrado ningún efecto negativo en el estado del Fe (Minihane y Fairweather-Tait, 1998). Estos resultados pueden deberse a que el nivel más alto de Ca utilizado no es capaz de reducir la biodisponibilidad del Fe. Hallberg y col. (1992a) observaron en estudios en humanos, que la probabilidad de obtener efectos estadísticamente significativos de la inhibición de la absorción de Fe por adición de Ca es mucho menor si la comida no contiene originalmente Ca o lo posee en bajas cantidades, que si contiene cantidades iniciales de Ca del orden de 300-600 mg. En otro estudio, Hallberg y col. (1992b) observaron que la mínima cantidad de Ca necesaria para lograr la inhibición de la absorción del Fe se obtiene con los primeros 150-200 mg de Ca, y que el aumento del consumo de Ca por encima de estos valores produce un aumento poco importante de dicha inhibición.

Por otro lado, se debe tener en cuenta la fuente de fortificación utilizada. Algunos estudios *in vivo* ponen de manifiesto que la fuente de Ca afecta la interacción con el Fe. Monsen y Cook (1976) mostraron que el fosfato dietario puede reducir la absorción de Fe, especialmente cuando el contenido de Ca es alto, probablemente por la formación de complejos insolubles del Fe con el fosfato de Ca. El Ca no acompañado por fosfatos o el fosfato de potasio dibásico no afectaron la absorción de Fe de comidas de prueba en humanos cuando fueron administrados separadamente, pero sí cuando fueron dados simultáneamente. Dawson-Hughes y col. (1986) observaron que el carbonato de Ca y la hidroxiapatita disminuyeron la retención de Fe en mujeres post-menopáusicas.

En un estudio utilizando la técnica doble radioisotópica, Cook y col. (1991) encontraron que 600 mg de Ca aportados a través de distintos suplementos (carbonato, citrato y fosfato de Ca) e ingeridos con la comida de prueba, redujeron la absorción tanto de Fe intrínseco como de Fe de fortificación, agregado como sulfato ferroso. Sin embargo, la disminución causada por el citrato de Ca no fue estadísticamente significativa.

Además, el citrato ha sido involucrado en la mejor biodisponibilidad de Fe de la leche humana frente al de la leche de vaca. De los componentes de bajo peso molecular, el citrato liga elementos traza en ambos tipos de leche, pero la proporción ligada es mayor en la leche humana. Esto se debe a la mayor concentración de caseína de la leche de vaca que une los minerales con alta afinidad (Pabón y Lonnerdal, 1992).

En las FEE desarrolladas, el anión acompañante del Ca fue el citrato. Es posible que la fuente utilizada no forme complejos polimineral-ligando insolubles con el Fe de fortificación, lo que se traduce en la ausencia de efectos del contenido de Ca sobre la %DFe, a los niveles evaluados.

IV.3.2.3. Efecto de la composición de FEE sobre la bioaccesibilidad del Zn:

La Figura IV.9 muestra la gráfica tridimensional de la superficie de respuesta para el %DZn estimada para este modelo. Puede observarse que el %DZn disminuyó con el incremento de la concentración de PS, en todos los niveles de Ca estudiados.

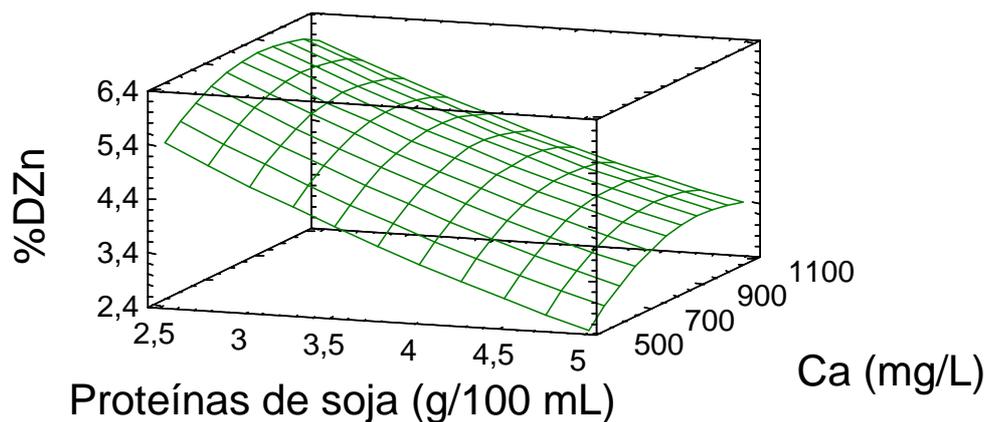


Figura IV.9: Superficie de respuesta para la bioaccesibilidad de Zn (%DZn). Diseño experimental N°1.

IV.3.2.3.1. Influencia del contenido de proteínas de soja:

Los valores de %DZn ($4,49 \pm 1,27\%$) de las FEE fueron similares a los reportados por Pérez-Llamas y col. (2001) para fórmulas infantiles con APS como fuente de proteína y determinados utilizando la misma metodología. A su vez, los valores hallados son similares a los encontrados previamente en las FEC analizadas ($4,83 \pm 3,11$).

Usando el diseño experimental seleccionado, se observó que el %DZn fue afectado negativamente por el contenido de proteínas de soja (Figura IV.9). Las FE con el mayor contenido de APS mostraron los valores más bajos (Tabla IV.14). Pérez-Llamas y col. (2001) observaron que el %DZn fue menor en las fórmulas infantiles que contenían APS en comparación con otras fuentes de proteínas. Como en el caso del Fe, esto podría ser debido al contenido de AF del APS. Lönnerdal y col (1984) observaron que la adición de fitatos a una fórmula láctea en un nivel similar al presente en una fórmula de soja, disminuyó la absorción de Zn al mismo nivel encontrado para la fórmula con proteínas de soja. Como se mencionó anteriormente una relación molar fitatos/Zn superior a 10 - 15 es indicativo de la reducción de la absorción de Zn (Ma y col., 2005). En las FEE, estas proporciones variaron desde 6,73 hasta 13,42. Sin embargo se sabe que aún a bajos niveles, el AF puede producir inhibición de la absorción del Zn.

También, el %DZn se relacionó directamente con la %DP ($R^2: 0,6159$), lo que indica que ambos, los fitatos y la digestibilidad de la proteína podrían estar relacionados con la baja bioaccesibilidad del Zn (Figura IV.10).

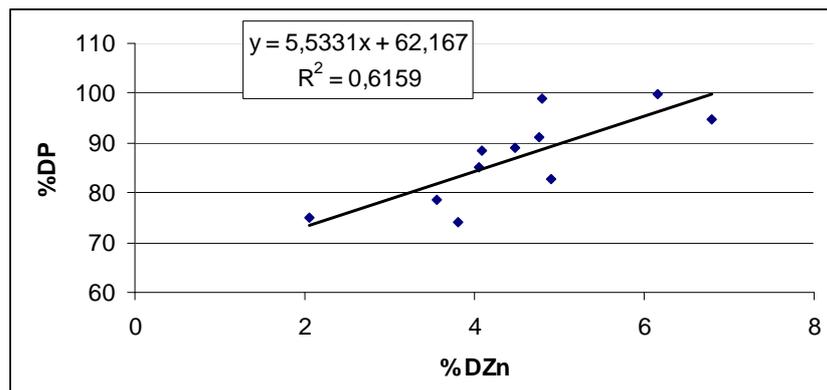


Figura IV.10: Relación entre la bioaccesibilidad del Zn (%DZn) y la digestibilidad proteica (%DP) en Fórmulas Enterales Experimentales.

Por otra parte, el %DZn correlacionó con la cantidad de Zn de fortificación ($R^2:0,6965$) agregado como $ZnSO_4$ para alcanzar la concentración final de Zn en las FEE

(Figura IV.11). Debido a que el aporte de Zn endógeno del APS fue considerado durante la formulación, se agregaron diferentes niveles del fortificante. Esto indicaría que el Zn del APS (endógeno) tiene menor bioaccesibilidad que el $ZnSO_4$ (exógeno), aunque se debe mencionar que las FEE con mayor agregado de fortificante correspondieron a las que tenían menor contenido de APS.

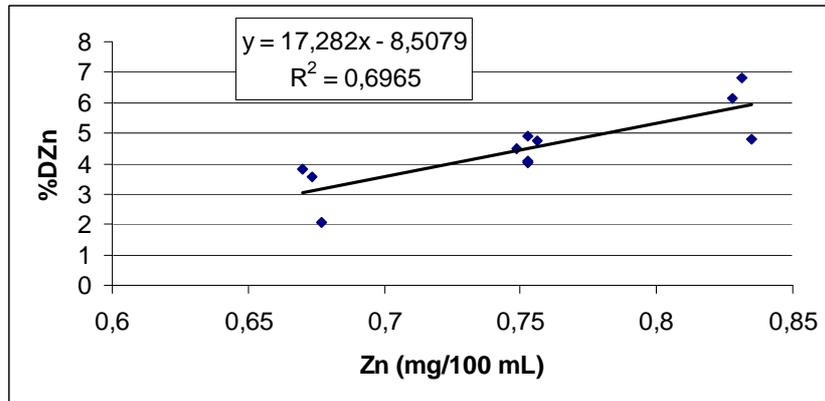


Figura IV.11: Relación entre el contenido de Zn de fortificación ($ZnSO_4$) y la bioaccesibilidad de Zn (%DZn) en Fórmulas Enterales Experimentales.

Además, se puede observar una relación directamente proporcional entre el %DFe y el %DZn ($R^2:0,8157$), lo que lleva a suponer que ambas respuestas se verían afectadas por factores similares (Figura IV.12).

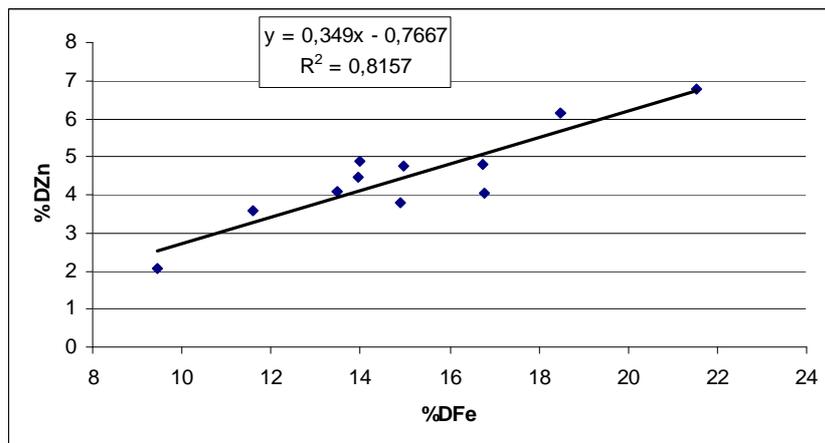


Figura IV.12: Relación entre la bioaccesibilidad del Zn (%DZn) y la bioaccesibilidad del Fe (%DFe) en Fórmulas Enterales Experimentales.

IV.3.2.3.2. Influencia del contenido de Ca:

El contenido de Ca no influyó significativamente sobre el %DZn. Si bien existe poca evidencia sobre una posible interacción Ca-Zn, Wood y Zheng (1997) han observado que las dietas con alto contenido de Ca producen trastornos en el equilibrio del Zn en humanos, pero esto podría estar relacionado con el aumento de las pérdidas de Zn fecales endógenas, ya que la absorción verdadera de Zn no fue afectada. Por otro lado, Dawson-Hughes y col. (1986) observaron que el carbonato de Ca y la hidroxiapatita no tuvieron un efecto sobre la absorción de Zn en mujeres post-menopáusicas.

En el presente estudio, el efecto promotor del anión acompañante del Ca (citrato) no fue significativo. Los ligandos de bajo peso molecular (como el citrato) que se unen al Zn juegan un rol importante en su absorción. Su acción prevendría la quelación de este mineral por otros componentes en el tracto gastrointestinal, capaces de disminuir su disponibilidad para la absorción (Hurrell y Egli, 2010).

IV.3.2.4. Efecto de la composición de FEE sobre la bioaccesibilidad de Ca:

La Figura IV.13 muestra la gráfica tridimensional de la superficie de respuesta para el %DCa estimada para este modelo. Puede verse que el %DCa disminuyó con el incremento de la concentración de PS, y se incrementó con el contenido de Ca, observándose los valores más altos entre los niveles de Ca de 800 y 1000 mg/L a bajas concentraciones de PS. La curvatura de la superficie, se debe a que si bien el término cuadrático correspondiente a la variable concentración de Ca no fue significativo al 95% de confianza, lo fue al 90% ($p: 0,0535$).

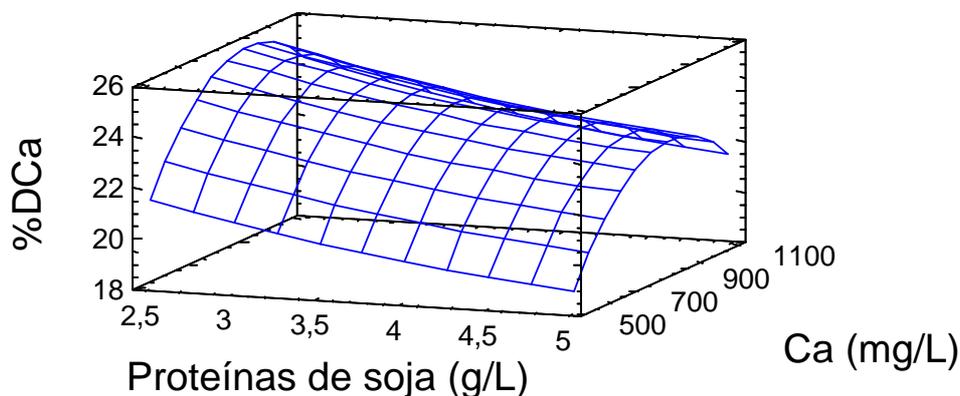


Figura IV.13: Superficie de respuesta para la bioaccesibilidad de Ca (%DCa). Diseño experimental N°1.

IV.3.2.4.1. Influencia del contenido proteínas de soja:

El %DCa fue afectado negativamente por el contenido de proteínas de soja. Sin embargo, los valores de %DCa para las FEE (19,12-25,79%) fueron superiores a los reportados por Pérez-Llamas y col. (2001) para fórmulas para lactantes con APS como fuente de proteína y determinados con la misma metodología, probablemente debido a la fuente de Ca soluble utilizada en el presente estudio. Estos valores de %DCa también resultaron superiores a los hallados previamente para FEC (3,8-18,1%).

Como se mencionó anteriormente, una relación molar fitatos/Ca $> 0,24$ perjudicaría la biodisponibilidad de Ca (Ma y col., 2005). Los valores observados en las FEE se encontraron en el rango de 0,045 a 0,135 y se halló una relación inversamente proporcional entre esta relación molar y la %DCa ($R^2:0,7828$) en el rango evaluado (Figura IV.14).

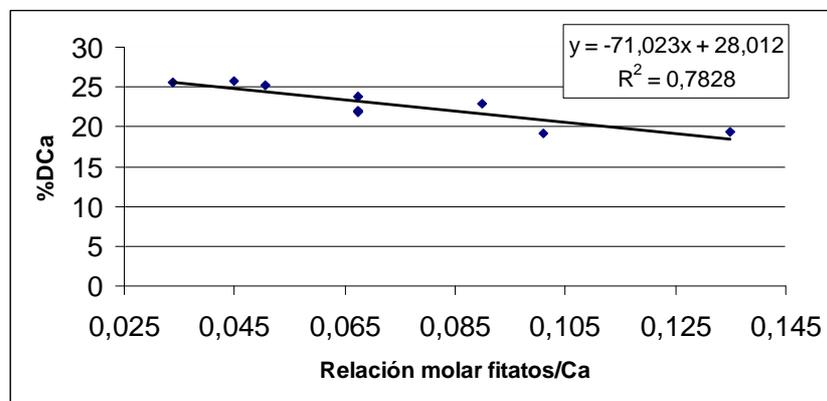


Figura IV.14: Relación entre la bioaccesibilidad de Ca (%DCa) y la relación molar fitatos/Ca en Fórmulas Enterales Experimentales.

IV.3.2.4.2. Influencia del contenido de Ca:

El %DCa aumentó con la concentración de Ca. La fuente soluble de Ca y los niveles utilizados en las FEE podrían determinar una mayor cantidad de Ca libre capaz de dializar cuando su contenido aumenta. Estas observaciones están de acuerdo con los hallazgos previos reportados por Roig y col. (1999), que encontraron que el contenido de Ca es el factor que más influye en la %DCa de las fórmulas infantiles.

IV.3.2.5. Efecto de la composición de FEE sobre la digestibilidad proteica:

La Figura IV.15 muestra la gráfica tridimensional de la superficie de respuesta para %DP estimada para este modelo. Puede observarse que el %DP disminuyó con el incremento de la concentración de proteínas de soja, en todos los niveles de Ca estudiados.

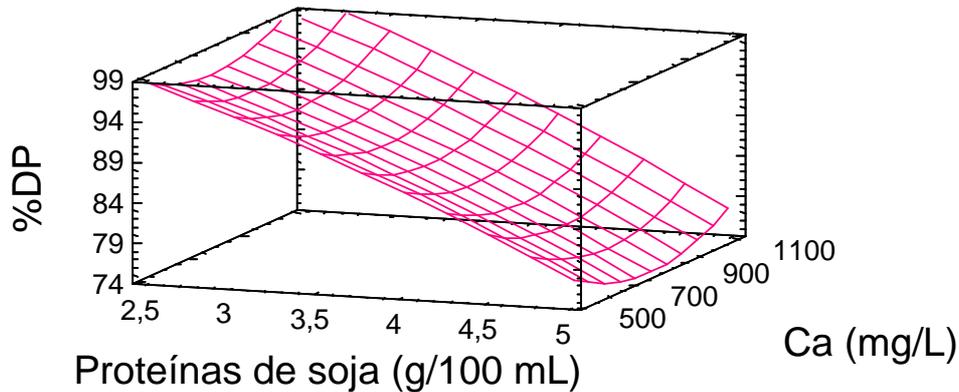


Figura IV.15: Superficie de respuesta para la digestibilidad proteica (%DP). Diseño experimental N°1.

IV.3.2.5.1. Influencia del contenido proteínas de soja:

Los valores de %DP de las FEE (73,98 - 99,90%) fueron más altos que los reportados por De Oliveira Calheiros y Cannlatti-Brazaca (2011) para FEE a base de proteínas de soja.

Como se mencionó, la %DP fue afectada negativamente por el contenido de PS (Figura IV.15) y los valores más bajos correspondieron a las FEE con más alto contenido de APS. Esto podría estar relacionado con los inhibidores de tripsina presentes en el APS, que aumentan con el nivel de APS agregado, correspondiendo los niveles de PS 2,5 – 3,75 y 5,0 a valores de inhibidor de tripsina de 21630, 32480 y 48650 UTI/100 mL, respectivamente

Además, el AF presente en el APS también podría disminuir la digestibilidad proteica (Martínez Domínguez y col., 2002), por lo que en esta experiencia no se podría diferenciar entre el efecto inhibitorio del inhibidor de tripsina y el AF.

IV.3.2.5.2. Influencia del contenido de Ca:

El contenido de Ca no afectó la %DP. Resultados similares fueron observados por Drago y col. (2004) en fórmulas infantiles a base de proteínas de lácteas.

IV.3.2.6. Evaluación de los niveles óptimos de Ca y de proteínas de soja:

En la Figura IV.16 se muestran las gráficas de optimización de las respuestas analizadas (%DFe, %DZn, %DCa y %DP). Los valores óptimos de los factores serían de 2,5 g/100 mL y 1000 mg/L para PS y Ca, respectivamente. Con estos niveles se lograrían las siguientes respuestas: %DFe: 19,6; %DZn: 6,4; %DCa: 26,0 y %DP: 97,7.

IV.3.3. Diseño experimental N°2: Efecto de la relación proteínas de soja:caseína y del contenido de povidexrosa sobre la bioaccesibilidad de minerales y la digestibilidad proteica.

La composición final de las FEE fue la siguiente: proteínas: 4,0 g/100 mL (FE normoproteicas), carbohidratos: 14,75 g/100 mL, lípidos: 2,70 g/100 mL, Fe: 10,12 ± 0,69 mg/L, Zn: 8,51 ± 0,39 mg/L, Ca: 996,57 ± 37,14 mg/L y AA: 151,30 mg/100 mL

Las experiencias resultantes de la aplicación del segundo diseño experimental de superficie de respuesta 3², con triplicado de punto central y los valores de bioaccesibilidad de Fe, Zn y Ca y %DP para las diferentes combinaciones de proteínas de soja:caseína y contenido de Px se muestran en la Tabla IV.18.

Las respuestas se modelaron con la siguiente función polinómica de segundo grado:

$$\%DMi = b_0 + [b_1 \text{ APS (g proteína/100 mL)}] + [b_2 \text{ Px (g/100 mL)}] + [b_3 \text{ APS (g proteína/100 mL)}^2] + [b_4 \text{ APS (g proteína/100 mL)} \times \text{Px (g/100 mL)}] - [b_5 \text{ Px (g/100 mL)}^2]$$

El ANOVA para las respuestas se muestra en la Tabla IV.19 Los altos valores de los coeficientes de determinación (r²) y la falta de ajuste no significativa sugieren que los modelos ajustaron adecuadamente a los datos de las distintas respuestas en un nivel de confianza del 95%. Se observa que la concentración de PS afectó significativamente a los porcentajes de %DFe, %DZn y %DP en su término lineal y a %DFe en su término cuadrático y que la concentración de Px no afectó a ninguna de las respuestas estudiadas.

Los coeficientes de regresión para la ecuación, que se ha utilizado para ajustar los datos, se muestran en la Tabla IV.20.

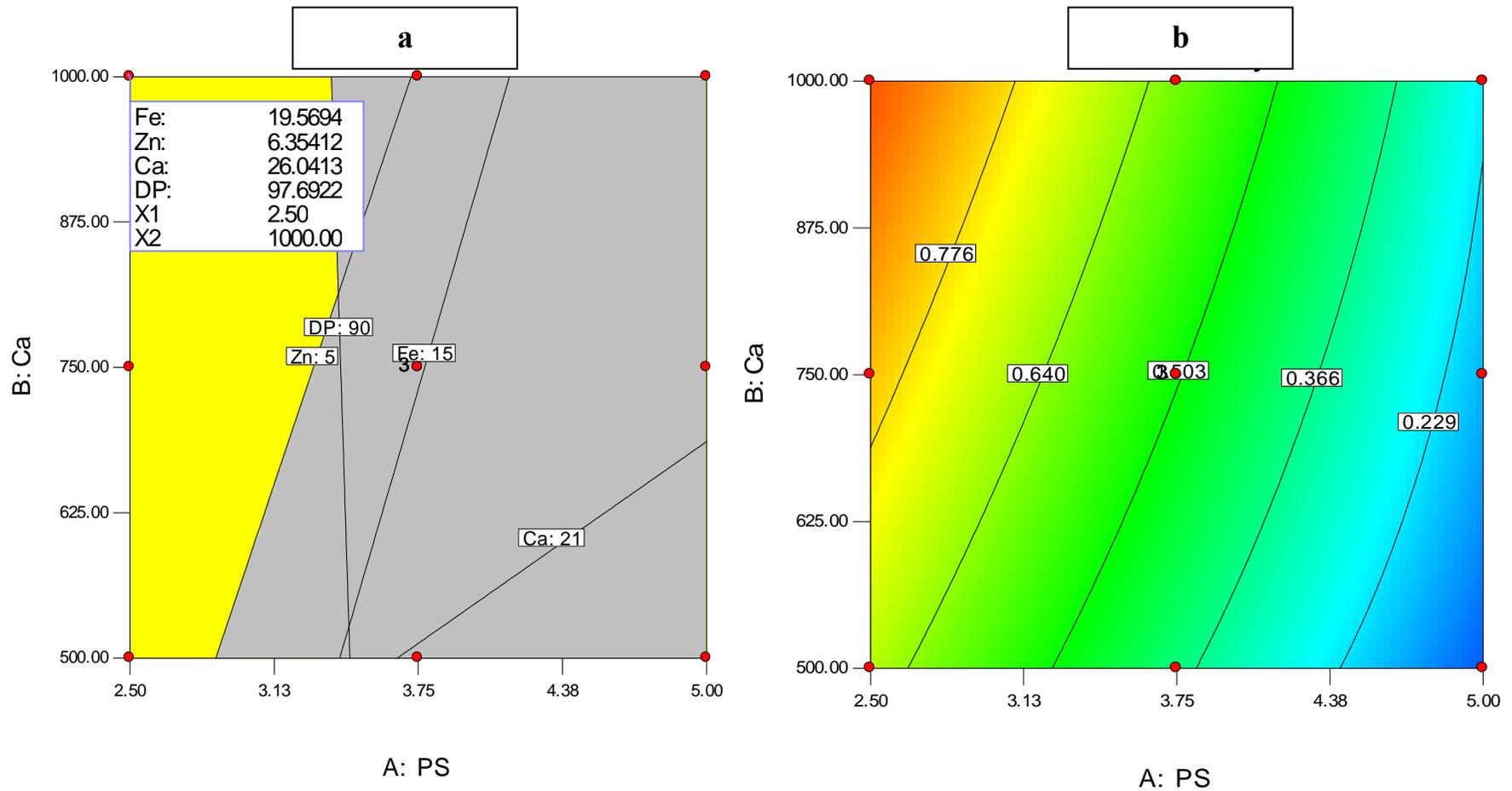


Figura IV.16: Gráficas de superposición (a) y de deseabilidad (b) para la optimización de las respuestas analizadas en el Diseño Experimental N° 1.

Rangos acotados para construir las gráficas: %DFe: 15 – 22; %DZn: 5 – 10; %DCa: 21 – 30 y %DP: 90-100.

Tabla IV.18: Bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn) y Ca (%DCa) y digestibilidad proteica (%DP) de las formulaciones del Diseño Experimental N°2.

Relación PS:C / g PS/100 mL	Px (g/100mL)	%DFe	%DZn	%DCa	%DP
0:100/ 0	8,0	14,50 ± 0,56	8,19 ± 0,26	22,33 ± 0,54	100,05 ± 1,053
0:100/0	16,5	14,62 ± 0,46	8,06 ± 0,08	22,57 ± 1,08	100,19 ± 0,582
0:100/0	25,0	14,40 ± 0,38	8,13 ± 0,36	22,76 ± 0,34	100,28 ± 2,368
50:50/2	8,0	12,11 ± 0,11	5,38 ± 0,26	22,76 ± 0,55	94,06 ± 1,018
50:50/2	16,5	12,13 ± 0,27	5,91 ± 0,19	22,74 ± 0,08	93,05 ± 2,132
50:50/2	16,5	11,97 ± 0,16	5,48 ± 0,17	22,67 ± 0,10	93,24 ± 2,025
50:50/2	16,5	12,17 ± 0,41	6,11 ± 0,29	22,89 ± 0,66	92,77 ± 2,126
50:50/2	25,0	12,19 ± 0,29	5,52 ± 0,26	22,99 ± 0,75	92,34 ± 0,296
100:0/4	8,0	10,86 ± 0,18	3,65 ± 0,09	22,72 ± 1,03	86,06 ± 1,354
100:0/4	16,5	10,60 ± 0,03	3,17 ± 0,12	22,57 ± 1,08	85,97 ± 4,232
100:0/4	25,0	10,56 ± 0,07	3,51 ± 0,14	22,68 ± 0,76	86,54 ± 1,048

Media ± DE, **PS:** proteínas de soja; **C:** caseína; **Px:** polidextrosa.

Tabla IV.19: Análisis de Varianza para el efecto global de las dos variables sobre la bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn) y Ca (%DCa) y la digestibilidad proteica (%DP) de las formulaciones del diseño experimental N°2.

Fuente de variación	Grados de libertad	Valor de p			
		%DFe	%DZn	%DCa	%DP
A (PS:C)	1	0,0005	0,0031	0,3771	0,0002
B (Px)	1	0,3424	0,9463	0,1513	0,2333
AA	1	0,0192	0,6197	0,0853	0,7882
AB	1	0,4444	0,9125	0,1717	0,6498
BB	1	0,8669	0,8366	0,3799	0,3811
Falta de ajuste	1	0,3900	0,5373	0,8428	0,1036
r^{2*}		0,9929	0,9691	0,7633	0,9892

* Ajustado con los grados de libertad, **PS:** proteínas de soja, **C:** caseína, **Px:** polidextrosa.

Tabla IV.20: Coeficientes de regresión de la ecuación polinómica de segundo orden para la bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn) y Ca (%DCa) y la digestibilidad proteica (%DP) de las formulaciones del diseño experimental N°2.

Coeficiente*	%DFe	%DZn	%DCa	%DP
b₀	14.5523	7.96034	22.3695	101.135
b₁	-1.38244**	-1.26905**	0.36593	-3.60202**
b₂	-0.061616	0.228119	-0.100786	-1.02761
b₃	0.118158**	0.0294079	-0.0565032	0.0113816
b₄	-0.0291118	-0.0117647	-0.0691176	0.0367674
b₅	0.0174832	-0.0655618	0.10927	0.229102

* b₀ representa la intersección y b₁, b₂, b₃, b₄, y b₅ son los coeficientes para el término lineal de la relación proteína de soja: caseína, el término lineal de la concentración de Px, el término cuadrático de la relación proteína de soja: caseína, la interacción de la relación proteína de soja:caseína- contenido de Px, y el término cuadrático de la concentración de Px, respectivamente. ** (p <0,05).

IV.3.3.1. Prueba del valor predictivo de la ecuación utilizada en el diseño experimental N°2:

Para evaluar la idoneidad de la ecuación del modelo para predecir valores de bioaccesibilidad de minerales se realizó una FEE preparada con 3 g proteína de soja/100mL, 1 g de proteínas de caseína/100 mL (relación PS: C 75:25) y 1 g/100 mL de Px. Como se muestra en la Tabla IV.21, los valores experimentales obtenidos se encontraron de acuerdo con los predichos, obtenidos usando la ecuación polinómica de segundo orden y los coeficientes de regresión correspondientes.

Tabla IV.21: Predicción y valores experimentales de bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn) y Ca (%DCa) y digestibilidad proteica (%DP), utilizando una fórmula experimental de prueba, para el diseño experimental N°2.

Respuestas	Valores predichos*	Valores experimentales**
%DFe	11,30	11,38 ± 0,13
%DZn	4,68	4,66 ± 0,03
%DCa	22,54	22,55 ± 0,70
%DP	89,08	89,17 ± 1,17

*Valores obtenidos utilizando la ecuación polinómica de segundo orden y sus correspondientes coeficientes de regresión. **Media ± DE (n = 4).

IV.3.3.2. Efecto de la relación proteínas de soja: caseína en la bioaccesibilidad de minerales y en la digestibilidad proteica:

Los valores de %DFe (10,56-14,62%) de las FEE (Tabla IV.18) fueron más bajos que los encontrados previamente por Drago y col. (2004) en fórmulas infantiles experimentales a base de proteínas lácteas (15,76-24,78%), pero superiores a los encontrados por Pérez Llamas y col. (2001) en fórmulas infantiles que contenían APS como fuente proteica ($4,6 \pm 0,8\%$) y determinados con la misma metodología.

La Figura IV.17 muestra la gráfica tridimensional de la superficie de respuesta para %DFe estimada para este modelo. Puede observarse que el %DFe disminuyó con el incremento de la concentración de PS, en todos los niveles de Px estudiados

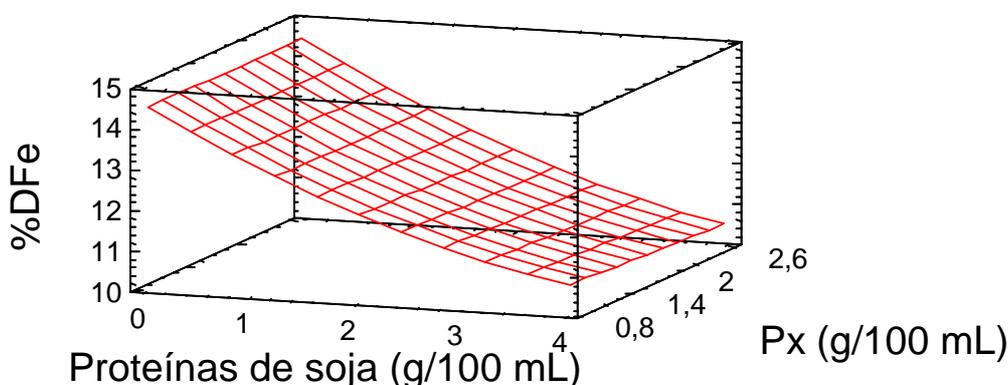


Figura IV.17: Superficie de respuesta para la bioaccesibilidad de Fe (%DFe). Diseño Experimental N°2.

La Figura IV.18 muestra la gráfica tridimensional de la superficie de respuesta para %DZn estimada para este modelo. Puede observarse que el %DZn disminuyó con el incremento de la concentración de proteínas de soja, en todos los niveles de Px estudiados y que no hubo efecto de la concentración de Px.

Los valores de %DZn (3,17 - 8,19%) fueron similares a los encontrados por Pérez Llamas y col. (2001), en fórmulas infantiles tanto a base de proteínas de soja, como lácteas (3,5-8,3%).

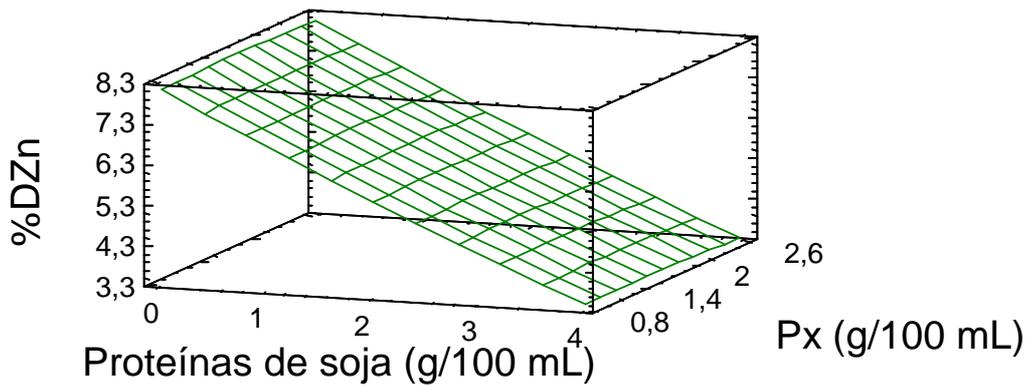


Figura IV.18: Superficie de respuesta para la bioaccesibilidad de Zn (%DZn). Diseño experimental N°2.

Los valores más bajos de %DFe y %DZn fueron encontrados en las FEE con el mayor contenido de PS, y por ende, el menor contenido de C (Tabla IV.18). Esto puede ser debido al efecto inhibitor del ácido fítico (Tabla IV.13) en la bioaccesibilidad de Fe y Zn, como se explicó anteriormente.

La Figura IV.19 muestra la gráfica tridimensional de la superficie de respuesta para %DCa estimada para este modelo. Si bien ningún término del polinomio fue significativo al 95% de confianza, el término cuadrático de la relación PS:C ($p: -0.0565032$) y la interacción de la relación PS:C - contenido de Px ($p: -0.0691176$) fueron significativos al 90% de confianza, lo que explica las curvaturas de la gráfica.

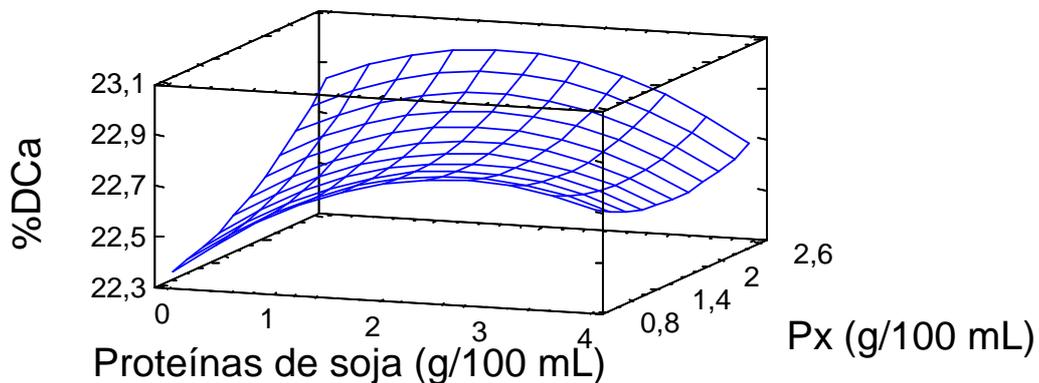


Figura IV.19: Superficie de respuesta para la bioaccesibilidad de Ca (%DCa). Diseño experimental N°2.

Los valores de %DCa ($22,33 \pm 22,99$ %) no fueron afectados por la relación PS:C. Además, fueron superiores a los encontrados por Pérez Llamas y col. (2001), en fórmulas infantiles tanto a base de proteínas de soja (12,6-17,2 %), como de proteínas lácteas (11,0 - 13,0 %).

La Figura IV.20 muestra la gráfica tridimensional de la superficie de respuesta para %DP estimada para este modelo. En lo que respecta a la %DP (85,97 a 100,05%) los valores fueron más altos que los reportados por De Oliverira Calheiros y Canniatti-Brazaca (2011) para formulaciones experimentales de soja. La %DP fue afectada negativamente por el contenido de PS, de modo similar a lo encontrado para el Diseño experimental N°1.

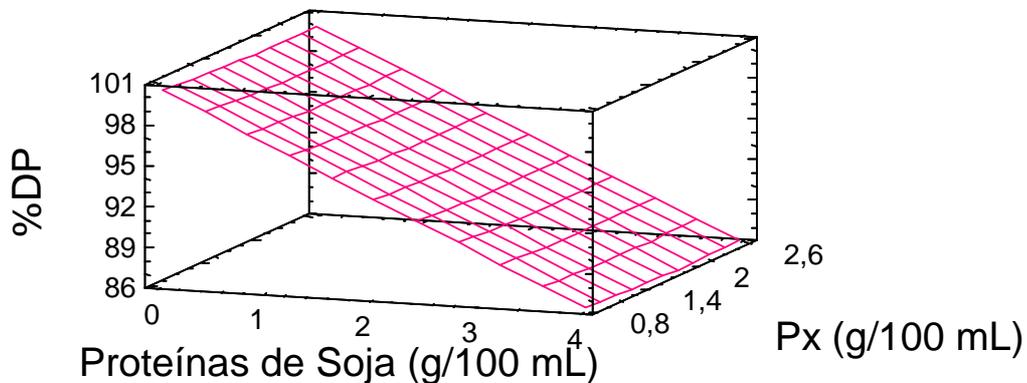


Figura IV.20: Superficie de respuesta para la digestibilidad proteica (%DP). Diseño experimental N°2.

IV.3.3.3. Efecto del contenido de Px sobre la bioaccesibilidad de minerales y la digestibilidad proteica:

Según los resultados del presente diseño experimental, la bioaccesibilidad de minerales y la %DP no se vieron afectados por el agregado de Px en los niveles evaluados (Tabla IV.18).

Los efectos de los prebióticos en la absorción de Ca, entre ellos la Px, han sido estudiados por distintos investigadores (Cashman, 2003). La producción de AGCC y la disminución del pH del colon por la fermentación han sido propuestas como hipótesis para explicar el aumento de la absorción de Ca (Bronner, 2009). Estos efectos no pueden ser observados en el presente trabajo por haber empleado una metodología *in vitro* que no incluye la etapa de fermentación que tendría lugar en el colon.

IV.3.3.4. Evaluación de los niveles óptimos de Px y relación PS:C.

En la Figura IV.21 se muestra las gráficas de optimización de las respuestas analizadas: %DFe, %DZn, %DCa y %DP. Los valores óptimos serían de 0:100 y 2,5 g/100 mL para la relación PS:C y Px, respectivamente. Con estos niveles se lograrían las siguientes respuestas: %DFe: 14,5; %DZn: 8,1; %DCa: 22,8 y %DP: 100,0.

IV.3.4. Desarrollo de fórmulas enterales normocalóricas y normoproteicas con distintas fuentes proteicas:

Las fuentes proteicas utilizadas en el desarrollo de las FEE fueron: APS, C y WPC. Dichas fuentes de proteínas son comúnmente utilizadas en las FEC. Las dos primeras fuentes de proteínas fueron previamente estudiadas mediante diseños experimentales, brindando buenos resultados. Se decidió incorporar el WPC en las formulaciones para evaluar todas las fuentes de proteínas que suelen utilizarse en las FEC y poder compararlas.

Todas las FEE desarrolladas en este punto contuvieron 4 g de proteínas/100 mL (fórmulas normoproteicas) y un contenido de Ca de 100 mg/100 mL. Se decidió trabajar con fórmulas normoproteicas ya que son las más ampliamente utilizadas en la práctica clínica, por su gran versatilidad y posibilidad de uso en distintos procesos patológicos. El valor de Ca surge de los resultados obtenidos en el diseño N° 1, ya que se demostró que el citrato de Ca no produjo una disminución de la bioaccesibilidad de Fe y Zn, ni de la digestibilidad proteica, en los niveles evaluados. La fuente de Fe utilizada en principio fue Sulfato Ferroso, que es la más utilizada en las FEC, pero también se evaluaron otras fuentes de fortificación de Fe, que se comentarán más adelante. Además, se evaluó el agregado de Px en dos niveles ya que su uso sólo fue empleado en FEE con PS y C, en el diseño N° 2.

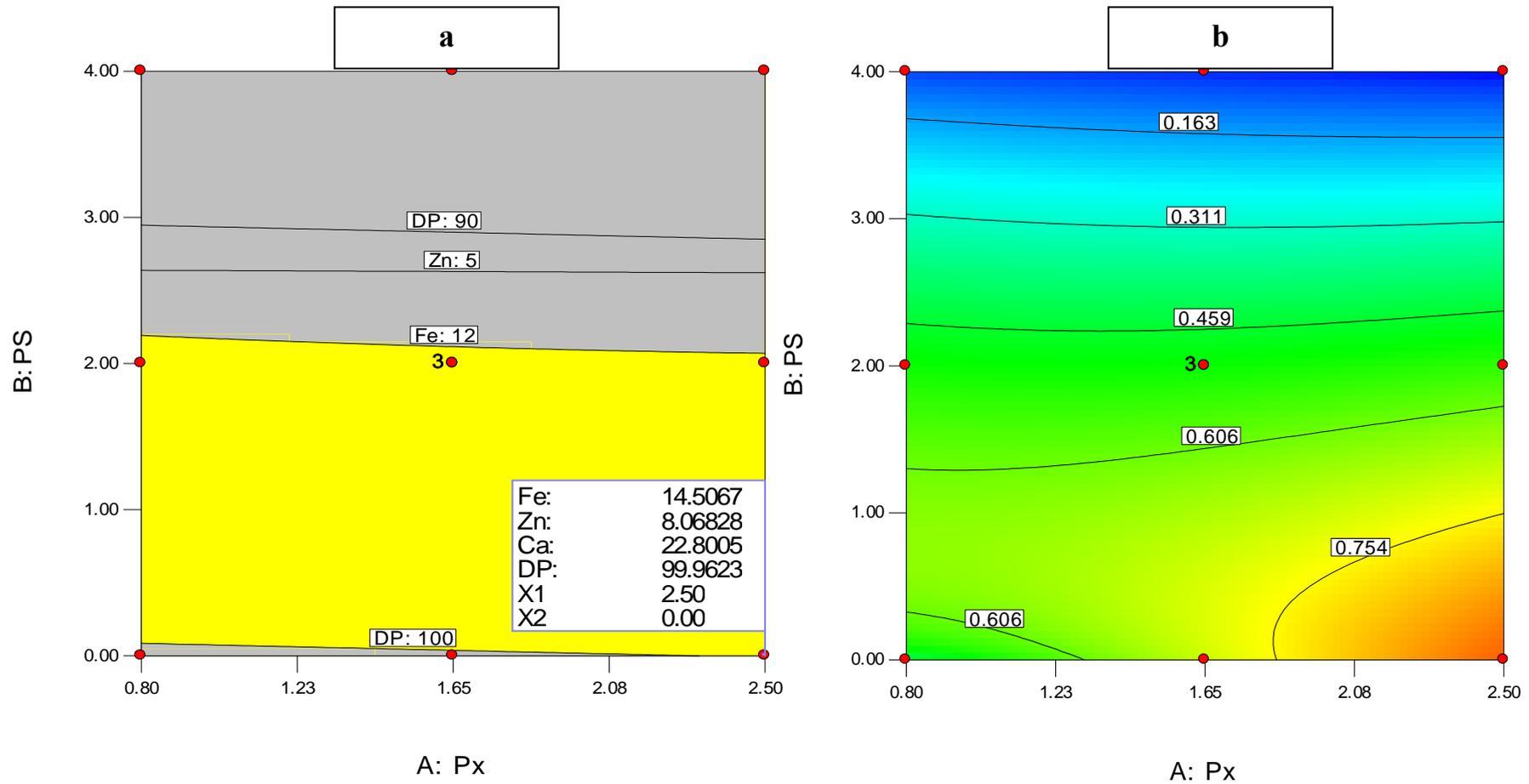


Figura IV.21: Gráficas de superposición (a) y de deseabilidad (b) para la optimización de las respuestas analizadas en el Diseño Experimental N° 2.

Rangos acotados para construir las gráficas: %DFe: 12 – 15; %DZn: 5 – 10; %DCa: 21 – 30 y %DP: 90-100.

IV.3.4.1. Evaluación del efecto del contenido de Px sobre la bioaccesibilidad mineral y digestibilidad proteica:

A las FEE con distinta fuente proteica se les incorporó fibra (Px) en cantidades correspondientes a los niveles superior e inferior del Diseño Experimental N° 2 (0,8 y 2,5 g/100 mL). Este experimento se llevó a cabo porque mediante dicho diseño experimental se observó que la Px no influyó en la bioaccesibilidad de minerales, cuando la fuente proteica utilizada era C, pero sí tuvo un efecto depresor en %DFe cuando la fuente proteica fue APS, al comparar con los resultados obtenidos en el Diseño Experimental N° 1. Por este motivo, se decidió verificar este efecto sobre una tercera fuente proteica: el WPC.

De esta manera, se elaboraron las siguientes FEE:

1. FE-APS: FE con aislado de proteínas de soja como fuente proteica.
2. FE-APS + Px 0,8: FE con aislado de proteínas de soja como fuente proteica y Px como fuente de fibra en un nivel de 0,8 g/100 mL.
3. FE-APS + Px 2,5: FE con aislado de proteínas de soja como fuente proteica y Px como fuente de fibra en un nivel de 2,5 g/100 mL.
4. FE-C: FE con caseína como fuente proteica.
5. FE-C + Px 0,8: FE con caseína como fuente proteica y Px como fuente de fibra en un nivel de 0,8 g/100 mL.
6. FE-C + Px 2,5: FE con caseína como fuente proteica y Px como fuente de fibra en un nivel de 2,5 g/100 mL.
7. FE-WPC: FE con proteínas de suero lácteo como fuente proteica.
8. FE-WPC + Px 0,8: FE con proteínas de suero lácteo como fuente proteica y Px como fuente de fibra en un nivel de 0,8 g/100 mL.
9. FE-WPC + Px 2,5: FE con proteínas de suero lácteo como fuente proteica y Px como fuente de fibra en un nivel de 2,5 g/100 mL.

La composición promedio de estas FEE fue la siguiente: proteínas: 4,0 g/100 mL (FE normoproteicas), carbohidratos: 14,75 g/100 mL, lípidos: 2,70 g/100 mL, Fe: $10,27 \pm 0,20$ mg/L, Zn: $8,33 \pm 0,64$ mg/L, Ca: $1000,71 \pm 29,11$ mg/L y AA: 150,29 mg/100 mL.

En la Tabla IV.22 se muestran los resultados de bioaccesibilidad de minerales y digestibilidad proteica de las FEE con distinta fuente proteica, con y sin agregado de Px.

Tabla IV.22: Bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn), Ca (%DCa) y digestibilidad proteica (%DP) en Fórmulas Enterales Experimentales con distinta fuente proteica, con y sin agregado de polidextrosa.

Muestras	%DFe	%DZn	%DCa	%DP
FE-APS	14,50 ± 0,27 ^b	4,36 ± 0,18 ^b	23,71 ± 1,12 ^a	85,62 ± 1,56 ^a
FE-APS + Px 0,8	10,86 ± 0,18 ^a	3,65 ± 0,09 ^a	22,72 ± 1,03 ^a	86,06 ± 1,35 ^a
FE-APS + Px 2,5	10,56 ± 0,07 ^a	3,51 ± 0,14 ^a	22,67 ± 0,67 ^a	86,54 ± 1,04 ^a
FE-C	14,57 ± 0,31 ^b	8,09 ± 0,17 ^c	22,69 ± 1,09 ^a	100,0 ± 1,38 ^c
FE-C + Px 0,8	14,50 ± 0,56 ^b	8,19 ± 0,26 ^c	22,33 ± 0,53 ^a	100,00 ± 1,05 ^c
FE-C + Px 2,5	14,39 ± 0,38 ^b	8,12 ± 0,36 ^c	22,76 ± 0,34 ^a	100,0 ± 0,36 ^c
FE-WPC	17,01 ± 0,35 ^d	10,31 ± 0,30 ^c	23,08 ± 0,88 ^a	92,31 ± 0,23 ^b
FE-WPC + Px 0,8	15,21 ± 0,14 ^c	8,98 ± 0,26 ^d	23,26 ± 1,05 ^a	92,07 ± 1,02 ^b
FE-WPC + Px 2,5	15,42 ± 0,31 ^c	8,72 ± 0,38 ^d	23,02 ± 0,43 ^a	92,90 ± 0,77 ^b

Media ± DE. Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas (p<0,05).

FE-APS: FE con aislado de proteínas de soja como fuente proteica; **FE-APS + Px 0,8:** FE con aislado de proteínas de soja como fuente proteica y Px como fuente de fibra en un nivel de 0,8 g/100 mL; **FE-APS + Px 2,5:** FE con aislado de proteínas de soja como fuente proteica y Px como fuente de fibra en un nivel de 2,5 g/100 mL, **FE-C:** FE con caseína como fuente proteica, **FE-C + Px 0,8:** FE con caseína como fuente proteica y Px como fuente de fibra en un nivel de 0,8 g/100 mL, **FE-C + Px 2,5:** FE con caseína como fuente proteica y Px como fuente de fibra en un nivel de 2,5 g/100 mL, **FE-WPC:** FE con proteínas de suero lácteo como fuente proteica, **FE-WPC + Px 0,8:** FE con proteínas de suero lácteo como fuente proteica y Px como fuente de fibra en un nivel de 0,8 g/100 mL, **FE-WPC + Px 2,5:** FE con proteínas de suero lácteo como fuente proteica y Px como fuente de fibra en un nivel de 2,5 g/100 mL.

Los datos de la tabla anterior fueron analizados mediante un ANOVA Multifactorial (Tabla IV.23) teniendo en cuenta los efectos de la fuente proteica y de la incorporación de Px. Se observó que ambos factores y la interacción entre ellos fueron significativos (p: 0.0001) para el %DFe y %DZn. Para la %DP sólo fue significativo la fuente proteica (p: 0.0001), mientras que ni los factores ni la interacción fueron significativas para el caso del %DCa.

Tabla IV.23: ANOVA Multifactorial de los efectos de la fuente proteica y de la incorporación de la Px en la bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn), Ca (%DCa) y digestibilidad proteica (%DP) en Fórmulas Enterales Experimentales

Factor	%DFe	%DZn	%DCa	%DP
Fuente proteica				
APS	12,34 ^a	3,90 ^a	22,62 ^a	85,96 ^a
C	14,51 ^b	8,12 ^b	23,11 ^a	100,41 ^c
WPC	16,16 ^c	9,58 ^c	23,13 ^a	92,52 ^b
Polidextrosa (Px)				
Con Px	13,51 ^a	6,83 ^a	22,79 ^a	92,20 ^a
Sin Px	15,17 ^b	7,55 ^b	23,11 ^a	92,19 ^a

Media. Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$). **APS:** aislado de proteínas de soja, **C:** caseína, **WPC:** proteínas del suero lácteo.

Los resultados muestran (Tabla IV.22) que cuando se utilizó WPC como fuente proteica se obtuvieron valores más altos de %DFe y %DZn, sin observarse diferencias en el %DCa. Resultados similares fueron hallados por Perez Llamas y col. (2001) cuando compararon la bioaccesibilidad de Fe, Zn y Ca de fórmulas infantiles elaboradas con proteínas de soja, en comparación con las fabricadas con una mezcla de proteínas de suero-caseína. Por otro lado, Drago y col. (2004) observaron que las fórmulas infantiles que contenían mayor proporción de WPC frente a C presentaron mayor %DFe. Además, otros investigadores han detectado una menor absorción de Fe y Zn en fórmulas infantiles a base de PS, asociándose este efecto al contenido de fitatos de estas proteínas (Lönnerdal y col., 1984; Gost Garde y Villa-Elizaga, 1994). En cambio, otros investigadores no han podido demostrar ninguna correlación entre el contenido de fitatos en las fórmulas infantiles de soja y el porcentaje de diálisis de estos minerales (Jovani y col., 2000). Lönnerdal (1985) describió que las fórmulas elaboradas con PS mostraban una menor biodisponibilidad de Fe, Zn, Mn y Se que las fórmulas elaboradas con leche de vaca o que la leche humana. Davidsson y col. (1994) mostraron como la biodisponibilidad de Fe en una fórmula de soja podía ser incrementada por la eliminación del ácido fítico o el incremento del ácido ascórbico, y Lönnerdal y col. (1984) describieron como la adición de fitatos a una fórmula preparada con leche de vaca en una concentración similar a la encontrada en una fórmula de soja reducía la absorción de Zn a un nivel similar al encontrado en la fórmula de soja. No obstante, Jovani y col. (2000) no encontraron ninguna correlación entre el contenido de ácido fítico y el valor de dializabilidad

de Fe, Zn, Ca o Cu en fórmulas infantiles. Estos últimos autores justificaron la falta de correlación observada al hecho de que las fórmulas analizadas poseían una alta relación AA:Fe (5,3-13,1) y un bajo nivel de ácido fítico (0,001-0,005%).

Por otra parte, se observó (Tabla IV.22) que la incorporación de Px, en cualquiera de los dos niveles estudiados (0,8 y 2,5 g/100 mL), produjo una disminución de %DFe y %DZn, cuando las fuentes proteicas eran APS y WPC, no ocurriendo lo mismo cuando se empleó C, lo que confirma los resultados obtenidos en los Diseños Experimentales N° 1 y 2. Además, este efecto inhibitorio se consiguió con un nivel de Px de 0,8 g/100 mL, no observándose un efecto más inhibitorio utilizando un mayor nivel de Px (2,5 g/100 mL). Estos resultados sugieren que se estarían generando interacciones fisicoquímicas muy complejas entre la Px y las distintas fuentes proteicas, sin dejar de mencionar que se han empleado estudios *in vitro*, donde no se pueden apreciar los efectos de la fibra soluble a nivel de fermentación colónica, que han sido descritos en estudios *in vivo* (Cashman, 2003; Bronner, 2009; Roberfroid, 2002).

Cabe destacar que las FEE elaboradas con distintas fuentes proteicas con y sin agregado de Px, en todos los casos mostraron mayor bioaccesibilidad de minerales que las FEC analizadas previamente en este estudio, las cuales habían mostrado los siguientes valores promedios: %DFe $2,38 \pm 1,36$; %DZn: $4,83 \pm 3,10$; %DCa: $9,51 \pm 4,57$.

Por otro lado, se encontró que las FEE con proteínas de origen animal (WPC y C), presentaron una mejor digestibilidad proteica que las que contenían proteína vegetal (APS). La digestibilidad de las proteínas se considera como un indicador de su calidad. Valores similares fueron hallados por Pereyra González y col. (2003), cuando evaluaron fórmulas infantiles que contenían APS (%DP: 85,5 – 88,9), C (%DP: 90,5 – 97,9) y mezclas de proteínas lácteas (%DP: 88,5 – 97,1) como fuentes proteicas, y utilizando la misma metodología. Estos valores también fueron similares a los hallados previamente en este estudio para FEC (%DP: 72,4 – 100,0), donde en general se utilizaron mezclas de las distintas fuentes proteicas.

Se sabe que los alimentos de origen animal presentan mayor digestibilidad que los de origen vegetal. Esto se ha atribuido, entre otros factores, a la ausencia de fibra insoluble en los alimentos de origen animal, lo que hace que la velocidad de tránsito intestinal sea menor y en consecuencia, se obtenga una mayor absorción de nutrientes (Hernández y col., 1984). Además, las proteínas animales serían más fácilmente digeridas por las enzimas gastrointestinales que las vegetales. Otros factores que disminuyen la digestibilidad proteica de los alimentos de origen vegetal son algunos componentes, tales como los inhibidores de

proteasas, el AF y los taninos. Por otro lado, también se encontró que la incorporación de Px no afectó la %DP de las tres fuentes proteicas estudiadas. Esto también ha sido observado por Hernández y col. (1997) quienes encontraron que si bien la digestibilidad proteica sería inversamente proporcional al contenido de fibra insoluble, no hallaron tal relación en el caso de la fibra soluble.

IV.3.4.2. Efecto de la hidrólisis de las fuentes proteicas sobre la bioaccesibilidad de minerales, la digestibilidad proteica y el contenido de lisina disponible: Desarrollo de fórmulas oligoméricas:

Las FEE con proteínas hidrolizadas, comúnmente denominadas fórmulas oligoméricas, están destinadas a pacientes que presentan algún tipo de alteración en la absorción de estos nutrientes, presentando mejor tolerancia que las fórmulas poliméricas (De Luis y col., 2006). En general, se presentan como formulaciones en polvo, aunque en la actualidad han aparecido algunas fórmulas líquidas. Su sabor es neutro y poco agradable (por lo que no se suministran por vía oral), su osmolaridad es superior al de las fórmulas poliméricas (por encima de los 330 mOsm/l) y en ocasiones generan intolerancia por disminución del vaciamiento gástrico y estimulación de la secreción gastrina-ácido clorhídrico, así como diarrea por efecto catártico (Stroud y col., 2003).

En el presente estudio se desarrollaron fórmulas oligoméricas a base de las tres fuentes proteicas en estudio: APS, C y WPC. Los grados de hidrólisis resultantes fueron: 24,63%, 17,75% y 19,20%, para las FEE oligoméricas que contenían APS, C y WPC como fuente proteica, respectivamente. A modo de control se midió el grado de hidrólisis de las FEC que declaraban contener caseinato de sodio hidrolizado como fuente proteica (FEP5 y FEP7), obteniéndose resultados similares ($20,02 \pm 2,24\%$).

De esta manera, se obtuvieron las siguientes FEE:

1. FE-APS: FE con aislado de proteínas de soja como fuente proteica.
2. FE-APSH: FE con aislado de proteínas de soja hidrolizado como fuente proteica.
3. FE-C: FE con caseína como fuente proteica.
4. FE-CH: FE con caseína hidrolizada como fuente proteica.
5. FE-WPC: FE con proteínas de suero lácteo como fuente proteica.
6. FE-WPCH: FE con proteínas de suero lácteo hidrolizado como fuente proteica

IV. Resultados y Discusión

La composición promedio de estas FEE fue la siguiente: proteínas: 4,0 g/100 mL (FE normoproteicas), carbohidratos: 14,75 g/100 mL, lípidos: 2,70 g/100 mL, Fe: $9,97 \pm 0,30$ mg/L, Zn: $8,04 \pm 0,41$ mg/L, Ca: $1001,19 \pm 14,89$ mg/L y AA: $154,73 \pm 0,22$ mg/100 mL.

En la Tabla IV.24 se muestran los valores de bioaccesibilidad de minerales, %DP y LD de las FEE oligoméricas con distinta fuente proteica.

Tabla IV.24: Bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn), Ca (%DCa), digestibilidad proteica (%DP) y lisina disponible (LD) en Fórmulas Enterales Experimentales oligoméricas con distinta fuente proteica.

Muestras	%DFe	%DZn	%DCa	%DP	LD (mg/g proteína)
FE-APS	$14,50 \pm 0,27^a$	$4,36 \pm 0,18^a$	$23,71 \pm 1,12^a$	$85,62 \pm 1,56^a$	$62,57 \pm 0,39^c$
FE-APSH	$17,35 \pm 0,64^b$	$8,71 \pm 0,12^c$	$33,91 \pm 0,84^c$	$96,55 \pm 1,07^{b,c}$	$40,44 \pm 1,10^a$
FE-C	$14,57 \pm 0,31^a$	$8,09 \pm 0,17^b$	$22,69 \pm 1,09^a$	$100,28 \pm 1,38^c$	$80,39 \pm 1,13^d$
FE-CH	$17,39 \pm 0,79^b$	$12,20 \pm 0,51^e$	$27,30 \pm 0,31^b$	$100,38 \pm 0,34^c$	$60,40 \pm 1,36^{b,c}$
FE-WPC	$17,01 \pm 0,35^b$	$10,31 \pm 0,30^d$	$23,08 \pm 0,88^a$	$92,31 \pm 0,23^b$	$84,42 \pm 0,62^e$
FE-WPCH	$20,13 \pm 0,59^c$	$14,56 \pm 0,96^f$	$36,72 \pm 0,78^d$	$100,07 \pm 0,10^c$	$58,45 \pm 0,69^b$

Media \pm DE. Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

FE-APS: FE con aislado de proteínas de soja, **FE-APSH:** FE con aislado de proteínas de soja hidrolizado, **FE-C:** FE con caseína, **FE-CH:** FE con caseína hidrolizada, **FE-WPC:** FE con proteínas de suero lácteo, **FE-WPCH:** FE con proteínas de suero lácteo hidrolizado.

Los datos de la tabla anterior fueron analizados mediante un ANOVA Multifactorial (Tabla IV.25) teniendo en cuenta los efectos de la fuente proteica y de la hidrólisis. Se observó que ambos factores fueron significativos ($p: 0.0001$) para el %DFe, %DZn, %DCa, %DP y LD. La interacción entre los factores fue significativa para %DCa, %DP y LD ($p: 0.0001, 0.0078$ y 0.0139 , respectivamente), pero no hubo interacción para el %DFe y %DZn ($p: 0.8114, 0.8361$, respectivamente).

Tabla IV.25: ANOVA Multifactorial de los efectos de la fuente proteica y de la hidrólisis en la bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn), Ca (%DCa), digestibilidad proteica (%DP) y lisina disponible (LD) en Fórmulas Enterales Experimentales

Factor	%DFe	%DZn	%DCa	%DP	LD (mg/g de proteína)
Fuente proteica					
APS	15,92 ^a	6,53 ^a	28,86 ^b	91,08 ^a	51,51 ^a
C	15,98 ^a	10,14 ^b	24,99 ^a	100,00 ^c	70,39 ^b
WPC	18,57 ^c	12,44 ^c	29,90 ^c	96,51 ^b	71,45 ^b
Hidrólisis (H)					
Con H	18,29 ^b	11,82 ^b	32,64 ^b	99,21 ^b	53,10 ^a
Sin H	15,35 ^a	7,59 ^a	23,16 ^a	92,74 ^a	75,81 ^b

Media. Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$). **APS:** aislado de proteínas de soja, **C:** caseína, **WPC:** proteínas del suero lácteo.

Los valores promedio de %DFe, %DZn y %DCa fueron más elevados en las FEE que contenían proteínas hidrolizadas (Tabla IV.24). Cabe mencionar que no se hallaron datos en la bibliografía donde se compararan directamente estos parámetros en FE.

En la Tabla IV.23 también se observa que en las FEE que contenían APS y WPC hidrolizados, se produjo un aumento de la %DP en relación a sus correspondientes fórmulas que contenían las proteínas sin hidrolizar. Probablemente este efecto no se haya observado en las FEE que contenían C porque su %DP ya era demasiado alta en su forma intacta.

Es probable que la mayor bioaccesibilidad de minerales de las fórmulas oligoméricas se deba al aumento de la %DP. En relación a esto, uno de los argumentos que se utilizan para explicar las diferencias entre la biodisponibilidad de minerales de la leche humana y de la leche de vaca, es que existen diferencias de digestibilidad entre sus componentes proteicos. Las proteínas de suero humanas son mejor digeridas, y los minerales ligados a estas proteínas son liberados más fácilmente (Shen y col., 1995). Por otra parte, durante la digestión gastrointestinal los minerales pueden formar complejos solubles con péptidos de alto peso molecular que resultan demasiado grandes para ser absorbidos (Miller y Berner, 1989) o para dializar en ensayos *in vitro*. Es más probable que sólo los complejos mineral-péptidos solubles de bajo peso molecular puedan alcanzar el borde en cepillo o dializar.

Todos los valores de LD (Tabla IV.24) hallados en este estudio (tanto en FEE poliméricas como oligoméricas) resultaron superiores a los hallados por Pereyra González y

col. (2003), cuando evaluaron fórmulas infantiles que contenían APS (LD: 33,2 – 52,2 mg/g de proteína), C (41,30 – 70,0 mg/g de proteína) y mezclas de proteínas lácteas (LD: 53,8 – 80,4 mg/g de proteína) como fuentes proteicas. También fueron superiores a los encontrados por Castillo y col. (2002) cuando evaluaron FEC que contenían APS (36,6 mg/g de proteína) y C (56 – 64 mg/g de proteína). Además, resultaron superiores a lo hallado previamente en este estudio cuando se evaluaron las FEC, que en promedio contenían $45,4 \pm 24,0$ mg LD/g proteína.

Por otro lado, los resultados de LD en las FEE poliméricas (sin hidrolizar) son similares a los reportados por otros autores que realizaron las determinaciones directamente en las fuentes proteicas correspondientes (no en fórmulas ni en otros alimentos que las contuvieran), como por ejemplo APS: 63,4 – 64,1 mg/g de proteína (Steinke y col., 1980; Friedman y Brandon, 2001), C: 79,8 – 85,0 mg/g de proteína (Steinke y col., 1980; Smith y Friedman, 1984; Friedman y Brandon, 2001) y WPC: 80–97,5 mg/g de proteína (Desrosiers y col., 1989; Lindemann-Schneider y Fennema, 1989; Erbersdobler y Hupe, 1991). Esto probablemente se debe a que en el presente trabajo no se realizó ningún tratamiento térmico durante la elaboración de las FEE poliméricas, sino que sólo se mezclaron los ingredientes y se homogeneizaron. Por otro lado, se puede observar que tras el proceso de hidrólisis de las fuentes proteicas se produjo una disminución entre un 25 al 35% de los valores de LD. La disminución de los valores de LD en FEE hidrolizadas fue observada previamente al analizar las FEC y se debería a que las proteínas hidrolizadas presentan una mayor cantidad de aminoácidos libres que las proteínas intactas que pueden reaccionar con otros componentes de la fórmula, disminuyendo su valor nutricional.

Por otra parte, es probable que durante el proceso de hidrólisis proteica se produzca la reacción de Maillard debido a los tratamientos térmicos que involucran el mismo proceso y la inactivación enzimática. Efectos similares fueron hallados por Castillo y col. (2002) en FEC, donde observaron una disminución del 50% de los valores de LD en las fórmulas enterales con proteínas hidrolizadas, en comparación con las que contenían proteínas intactas.

IV.3.4.3. Efecto de la fuente de hierro sobre la bioaccesibilidad de minerales:

Dado que la bioaccesibilidad de minerales está en gran parte determinada por las características de las fuentes de fortificación, y teniendo en cuenta que el Fe es el mineral que se ve más afectado en cuando a su bioaccesibilidad por cambios en la composición de los nutrientes, se probaron fuentes de Fe diferentes del sulfato ferroso: Bisglicinato Ferroso y FeNaEDTA, incorporadas en la misma proporción, para obtener una concentración final de Fe de 10 mg/L, con una relación AA:Fe de 4:1, como en las FEE desarrolladas anteriormente.

Las distintas fuentes de Fe usadas como fortificantes presentan ventajas y desventajas para su aplicación (Binaghi y col., 2011). El sulfato ferroso es un compuesto soluble en agua que presenta una buena biodisponibilidad, pero su desventaja es que reacciona fácilmente con otras sustancias de la matriz alimentaria. Esto puede causar cambios sensoriales (sabor, color y olor) y además promover la oxidación de los lípidos (rancidez). El sulfato ferroso también puede modificar las propiedades físicas del alimento fortificado, cuando se procesa al momento de consumir, y precipitar como complejos de hierro insolubles cuando se usa en preparaciones líquidas. Se usa principalmente en la harina de pan que se almacena por menos de tres meses y es ampliamente utilizado en fórmulas infantiles y para NE. El costo de este compuesto de hierro es relativamente bajo, tomando en cuenta su biodisponibilidad (OPS, 2002). Sin embargo, por su alta reactividad se buscan otras fuentes de Fe alternativas.

Se obtuvieron las siguientes FEE:

1. FE-APS + SF: FE con aislado de proteínas de soja como fuente proteica y sulfato ferroso como fuente de Fe.
2. FE-APS + Bis: FE con aislado de proteínas de soja como fuente proteica y bisglicinato ferroso como fuente de Fe.
3. FE-APS + EF: FE con aislado de proteínas de soja como fuente proteica y FeNaEDTA como fuente de Fe.
4. FE-C + SF: FE con caseína como fuente proteica y sulfato ferroso como fuente de Fe.
5. FE-C + Bis: FE con caseína como fuente proteica y bisglicinato ferroso como fuente de Fe.
6. FE-C + EF: FE con caseína como fuente proteica y FeNaEDTA como fuente de Fe.
7. FE-WPC + SF: FE con proteínas de suero lácteo como fuente proteica y sulfato ferroso como fuente de Fe.
8. FE-WPC + Bis: FE con proteínas de suero lácteo como fuente proteica y bisglicinato ferroso como fuente de Fe.

9. FE-WPC + EF: FE con proteínas de suero lácteo como fuente proteica y FeNaEDTA como fuente de Fe.

La composición promedio de estas FEE fue la siguiente: proteínas: 4,0 g/100 mL (FE normoproteicas), carbohidratos: 14,75 g/100 mL, lípidos: 2,70 g/100 mL, Fe: $9,84 \pm 0,92$ mg/L, Zn: $7,94 \pm 0,91$ mg/L, Ca: $1004,20 \pm 10,11$ mg/L y AA: $151,94 \pm 0,21$ mg/100 mL.

En la Tabla IV.26 se muestran los valores de %DFe, %DZn y %DCa de las FEE con distinta fuente de Fe y distinta fuente proteica.

Tabla IV.26: Bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn) y Ca (%DCa) de Fórmulas Enterales Experimentales con distinta fuente de hierro y distinta fuente proteica.

Muestras	%DFe	%DZn	%DCa
FE-APS + SF	$14,50 \pm 0,27^a$	$4,36 \pm 0,18^a$	$23,71 \pm 1,12^{a,b}$
FE-APS + Bis	$14,38 \pm 0,17^a$	$4,27 \pm 0,54^a$	$25,90 \pm 1,21^{b,c}$
FE-APS + EF	$16,96 \pm 0,37^b$	$5,59 \pm 0,47^b$	$25,27 \pm 1,82^{b,c}$
FE-C+ SF	$14,57 \pm 0,31^a$	$8,09 \pm 0,17^c$	$22,69 \pm 1,09^a$
FE-C + Bis	$14,40 \pm 0,25^a$	$8,04 \pm 0,29^c$	$22,20 \pm 1,14^a$
FE-C + EF	$17,05 \pm 0,26^b$	$8,13 \pm 0,33^c$	$22,59 \pm 0,47^a$
FE-WPC + SF	$17,01 \pm 0,35^b$	$10,31 \pm 0,30^d$	$23,08 \pm 0,88^a$
FE-WPC + Bis	$17,77 \pm 0,58^b$	$10,46 \pm 0,28^d$	$23,15 \pm 0,69^a$
FE-WPC + EF	$21,17 \pm 0,72^c$	$11,77 \pm 0,56^c$	$23,77 \pm 1,04^{a,b}$

Media \pm DE. Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

FE-APS + SF: FE con aislado de proteínas de soja y sulfato ferroso; **FE-APS + Bis:** FE con aislado de proteínas de soja y bisglicinato ferroso; **FE-APS + EF:** FE con aislado de proteínas de soja y FeNaEDTA; **FE-C + SF:** FE con caseína y sulfato ferroso; **FE-C + Bis:** FE con caseína y bisglicinato ferroso; **FE-C + EF:** FE con caseína y FeNaEDTA; **FE-WPC + SF:** FE con proteínas de suero lácteo y sulfato ferroso; **FE-WPC + Bis:** FE con proteínas de suero lácteo y bisglicinato ferroso; **FE-WPC + EF:** FE con proteínas de suero lácteo y FeNaEDTA.

Los datos de la tabla anterior fueron analizados mediante un ANOVA Multifactorial (Tabla IV.27) teniendo en cuenta los efectos de la fuente proteica y de la fuente de Fe. Se observó que ambos factores y la interacción entre ellos fueron significativos ($p: 0.0001$) para todas las respuestas analizadas.

Tabla IV.27: ANOVA Multifactorial de los efectos de la fuente proteica y de fuente de Fe en la bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn), Ca (%DCa) en Fórmulas Enterales Experimentales.

Factor	%DFe	%DZn	%DCa
Fuente proteica			
APS	15,28 ^a	5,11 ^a	24,96 ^b
C	15,34 ^a	8,10 ^b	22,49 ^a
WPC	18,65 ^b	10,85 ^c	24,99 ^b
Fuente de Fe			
Sulfato Ferroso	15,35 ^a	7,58 ^a	23,16 ^a
Bisglicinato	15,52 ^a	8,02 ^b	23,75 ^b
FeNaEDTA	18,40 ^b	8,43 ^c	25,54 ^c

Media. Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$). **APS:** aislado de proteínas de soja, **C:** caseína, **WPC:** proteínas del suero lácteo.

En este estudio no se observó una diferencia significativa entre la bioaccesibilidad de Fe, Zn y Ca de FEE fortificadas con SF y Bis (Tabla IV.26). Drago y Valencia (2002) tampoco observaron diferencias en la bioaccesibilidad de Fe, Zn y Ca en leche descremada y productos lácteos fermentados fortificados con Bis o SF. Sin embargo, otros investigadores observaron una mayor absorción de Fe en alimentos a base de cereales fortificados con Bis frente a SF (Bovell-Benjamin y col., 2000; Fox y col., 1998; Olivares y col., 1997).

El Bis, también llamado hierro aminoquelado, se utiliza como fortificante. También existe el trisglicinato férrico (hierro quelado "sin sabor") como fuente de Fe aminoquelado. El bisglicinato ferroso está constituido por dos moléculas de glicina unidas a un catión ferroso. El grupo carboxilo de la glicina se une al hierro por un enlace iónico, mientras que el grupo amino se une al metal por medio de un enlace covalente. Esta conformación protegería al hierro de los inhibidores de la dieta y de las interacciones con otros minerales a nivel intestinal (Haro y col., 2008). Se ha determinado que la absorción de hierro a partir de bisglicinato ferroso es 1 a 3 veces mayor que la absorción de sulfato ferroso en alimentos a base de cereales (Bovell-Benjamin y col., 2000; Fox y col., 1998; Olivares y col., 1997), pero inferior a la absorción de NaFeEDTA en estudios comparativos (Layrisse y col., 2000). El bisglicinato ferroso puede causar reacciones no deseadas que producen cambios en el color y la oxidación de grasas (rancidez) en las harinas de cereal almacenadas, lo cual limita su uso en estos alimentos. Sin embargo, parece ser útil para fortificar la leche. El precio actual del

bisglicinato ferroso es 15 a 25 veces mayor que el del sulfato ferroso para una cantidad equivalente de hierro. El trisglicinato férrico causa menos reacciones en los alimentos, pero su biodisponibilidad es mucho menor que la del bisglicinato ferroso (Bovell-Benjamin y col., 2000).

Por otro lado, las FEE que contenían FeNaEDTA presentaron un aumento del 17, 17 y 24% en el %DFe para las fórmulas con APS, C y WPC, respectivamente en relación a la misma FEE fortificada con SF. Además, se observó un aumento del %DZn en las fórmulas que contenían APS (28,21% de aumento) y WPC (14,16% de aumento), pero no se observaron diferencias en las FEE a base de C. Por otro lado, no se observaron diferencias estadísticamente significativas para el %DCa en ninguno de los casos.

La mayor bioaccesibilidad del Fe del NaFeEDTA se puede atribuir a que el Fe en este quelato está más fuertemente ligado, que en el bisglicinato ferroso o en el sulfato ferroso, y también posee una constante de afinidad por el Fe mayor que los inhibidores presentes. Un efecto similar fue hallado por Drago y Valencia (2008) al evaluar la bioaccesibilidad de Fe, Zn y Ca en leche y productos lácteos fermentados, donde observaron que el FeNaEDTA mejoró la bioaccesibilidad de Fe y Zn, con respecto al sulfato ferroso, sin producir un cambio en la bioaccesibilidad de Ca. Resultados similares fueron hallados por Binaghi y col. (2011) al evaluar la bioaccesibilidad de Fe y Zn en una dieta infantil de consumo habitual conteniendo pan fortificado con diferentes fuentes de hierro: sulfato ferroso, bisglicinato ferroso y NaFeEDTA. Además, un efecto similar fue hallado por Cagnasso y col. (2010a) al evaluar la bioaccesibilidad de Fe y Zn en cereales para desayunos comerciales fortificados con hierro elemental, sulfato ferroso o NaFeEDTA. Wortley y col. (2005) cuantificaron la producción de ferritina por parte de un modelo de digestión *in vitro* con células CaCo-2, comparando 14 formas de Fe agregadas a una matriz de cereales para desayuno a base de trigo y observaron que la producción de ferritina fue aproximadamente 2,5 veces mayor en los cultivos enfrentados a los cereales fortificados con FeNaEDTA que a los enfrentados con sulfato ferroso.

El NaFeEDTA (etilendiaminotetraacetato ferrosódico) es un compuesto de hierro quelado que tiene la principal ventaja de que el hierro en esta forma está protegido de los inhibidores de la absorción. En otros estudios realizados con FeNaEDTA, se ha reportado que este fortificante es generalmente entre 2 a 4 veces mejor absorbido que el sulfato ferroso, en una variedad de alimentos a base de cereales y legumbres, no promueve la oxidación lipídica y es estable durante el procesamiento y almacenamiento de los alimentos (Hurrell y col., 2000; Bothwell y Macphail, 2004). Esto resulta muy interesante teniendo en cuenta que las

FE están destinadas a pacientes que en muchos casos reciben estas fórmulas como única fuente de alimentación y deben satisfacer todas sus necesidades nutricionales a través de las mismas. A nivel internacional, diversas organizaciones promueven el uso de FeNaEDTA como fortificante o del Na₂EDTA como promotor de la absorción de hierro, en países en desarrollo (Cagnasso y col., 2007). De hecho, en Guatemala se desarrolló con éxito un programa de enriquecimiento del azúcar con FeNaEDTA en una concentración de 13 mg/Kg., aumentando los niveles de hierro de todos los grupos de población que consumieron el producto enriquecido (Haro y col., 2008). El NaFeEDTA no está ampliamente disponible en el mercado, debido a que la demanda es baja; de allí su alto precio. El precio actual del NaFeEDTA es ocho veces mayor que el del sulfato ferroso por una cantidad equivalente de hierro, pero sólo ligeramente más costoso cuando se toma en cuenta la biodisponibilidad en el costo.

Si bien el NaFeEDTA es un fortificante considerado GRAS, en Argentina su uso no está autorizado. Dado que el EDTA presenta una Ingesta Diaria Admisible (IDA) baja (2,5 mg/Kg/día) en Argentina se permite su uso como quelante de metales y se permite el agregado de Na₂EDTA o Na₂CaEDTA en helados, bebidas sin alcohol gasificadas, bebidas sin alcohol no gasificadas y polvo para preparar bebida sin alcohol con un límite de 35 mg/Kg y de Na₂CaEDTA en aderezos y margarinas con un límite de 75 mg/Kg (Cagnasso y col., 2010b). En nuestro país se han llevado a cabo estudios sobre la ingesta diaria potencial de EDTA, teniendo en cuenta todos los alimentos en los cuales su uso está permitido, y se ha demostrado que el consumo potencial es muy bajo y que está muy alejado de la IDA, por lo cual se podría llegar a pensar en su uso como fortificante, dadas sus excelentes propiedades y elevada biodisponibilidad (Galán y col., 2012; Cagnasso y col., 2010a) y más aún teniendo en cuenta que las FE están dirigidas a un grupo poblacional especialmente vulnerable desde el punto de vista nutricional, estado que lleva a requerir ese tipo de alimentación.

IV.3.4.4. Evaluaciones físico-químicas y microbiológicas de la FEE selecta:

En base a los resultados obtenidos y a la factibilidad de conseguir los ingredientes necesarios, se seleccionó una formulación experimental, normocalórica y normoproteica, polimérica, sin agregado de fibra, con sulfato ferroso como fuente de Fe (fortificante permitido por el CAA), con caseína como fuente de proteínas, y sin lactosa, que pueda ser ampliamente utilizada a nivel clínico.

Las FEE con PS presentaron menor bioaccesibilidad de minerales y menor digestibilidad proteica que otras FEE elaboradas con otras fuentes de proteínas. Además, el

APS es una materia prima que actualmente no se produce en Argentina. Por otro lado, el WPC, que fue la fuente proteica que mostró mejor bioaccesibilidad mineral, presenta el inconveniente de que principalmente se comercializa en Argentina como concentrado, por lo que se halla acompañado de otros componentes, tales como la lactosa de la leche, y por lo general, se prefiere evitar el uso de este componente en los pacientes con soporte nutricional, dadas las intolerancias que puede causar. La C fue la única fuente proteica que no mostró un efecto negativo en la bioaccesibilidad de minerales frente al agregado de fibra soluble (Px) y es accesible comercialmente, por lo que resulta interesante su utilización en el desarrollo de FEE.

En cuanto a la fuente de Fe seleccionada, se eligió el sulfato ferroso. Si bien el FeNaEDTA mostró mejores resultados en cuanto a la bioaccesibilidad de minerales, es un fortificante que no se halla permitido por nuestra legislación (CAA). Por otro lado, el sulfato ferroso es un fortificante mucho más económico que el bisglicinato ferroso y ambos mostraron los mismos resultados de bioaccesibilidad de minerales. La fuente de Ca fue el citrato de calcio, por mostrar excelentes resultados (no se observaron interacciones fisicoquímicas negativas con otros minerales) y la fuente de Zn, sulfato de Zn ya que es la más ampliamente utilizada en este tipo de alimentos.

Todos los resultados fueron comparados con una FEC en polvo (FEP2) de composición similar a la de la FEE selecta.

En las Figuras VI. 22 a y b se muestran los reogramas obtenidos en la determinación de la viscosidad de la FEC (FEP2) y de la FEE, respectivamente. Ambas fórmulas mostraron un comportamiento newtoniano.

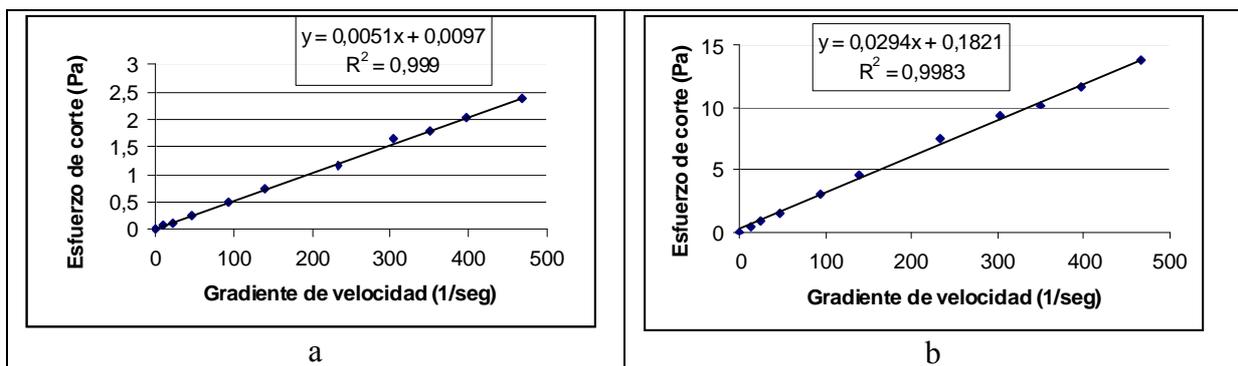


Figura IV.20: Reogramas de la determinación de la viscosidad de una Fórmula Enteral Comercial (a) y de de una Fórmula Enteral Experimental (b).

En la Tabla IV.28 se muestran los resultados de las propiedades físico-químicas analizadas (viscosidad, sólidos solubles y solubilidad proteica). Se puede observar que la viscosidad de la FEC evaluada fue 6 veces mayor que la de la FEE. Por otro lado, los sólidos solubles resultaron mayores en la FEE, en comparación con la FEC (FEP2), y no se observaron diferencias en cuanto a la solubilidad proteica, la cual resultó elevada en ambas muestras.

Tabla IV.28: Propiedades fisicoquímicas de la Fórmula Enteral Experimental selecta en comparación con una Fórmula Enteral Comercial.

Propiedades físico-químicas	FEC (FEP2)	FEE
Viscosidad (cPs)	32,7 ± 0,5 ^b	5,2 ± 0,7 ^a
Sólidos solubles (%)	60,96 ± 0,05 ^a	78,46 ± 0,15 ^b
Solubilidad proteica (%)	99,51 ± 0,97 ^a	99,12 ± 0,47 ^a

Media ± DE. Letras distintas en cada fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$), **FEC:** fórmula enteral, **FEE:** fórmula enteral experimental.

Montejo y col. (2001) evaluaron la viscosidad de distintas FEC y hallaron un valor de 10 cPs para una FE de las mismas características que las evaluadas en el presente estudio. Por otro lado, las FE con esa viscosidad no obstruyeron las SNG cuando se realizó una simulación de su administración por caída libre.

En cuanto a la viscosidad, se debe tener en cuenta que es uno de los parámetros más relacionados con la incidencia de complicaciones, en relación a las sondas utilizadas. La forma de administración más habitual, mediante SNG, es de tipo intermitente y por gravedad. La obstrucción de la SNG es una complicación relativamente habitual y con graves consecuencias, como la interrupción de la administración de la alimentación y de la medicación. El cambio de sonda también implica molestias para el enfermo y un aumento del coste del tratamiento (Serrano y col., 1994).

Por otro lado, se realizó un análisis microbiológico, teniendo en cuenta las exigencias del CAA para alimentos en polvo que se consumen luego de incorporar un líquido, los resultados se muestran en la Tabla IV.29, donde se puede observar que la formulación selecta cumple con las exigencias y resulta apta para el consumo humano.

Tabla IV.29: Evaluación microbiológica de la Fórmula Enteral Experimental selecta.

Parámetro	Resultados FEE	Exigencias CAA
Aerobios Totales (UFC /g)	4,0 x 10 ²	Máx 5x10 ⁴ UFC/g
Coliformes Totales (UFC /g)	< 10	Máx 100/g
<i>Escherichia coli</i> (UFC /g)	Ausencia	Ausencia en: 1g
<i>Salmonella spp</i> (P/A)	Ausencia	Ausencia en: 25g
<i>Stafilococos Aureus</i> (UFC /g)	Ausencia	Ausencia en: 0,1g
Hongos y Levaduras (UFC /g)	< 10	Máx 10 ³ UFC/g

FEE: fórmula enteral experimental, **CAA:** Código Alimentario Argentino, **UFC:** unidades formadoras de colonias.

Una de las principales complicaciones de la NE es la contaminación de las FE empleadas. En la bibliografía se menciona que del 30 a 90% de las FE se contaminan (Kehr y col., 2004). La contaminación de la FE se puede asociar con complicaciones infecciosas, siendo la diarrea la más frecuente (Kehr y col., 2002). Anderson y col (1994) encontraron una asociación significativa entre diarrea y FE que contenían recuentos bacterianos mayores de 10⁴ UFC/mL. En otro estudio en el que se incluyeron 117 pacientes alimentados con FE, Navajas y col. (1992) encontraron que de aquellos pacientes alimentados con fórmulas cuyos recuentos eran superiores a 5x10⁴ UFC/mL, un 67% presentó síntomas gastrointestinales (náuseas, vómitos y diarrea). También se han descrito complicaciones más graves como: neumonía por *Klebsiella pneumoniae* secundaria a la infusión de una FE contaminada por este microorganismo (Anderson y col., 1984), bacteremias por *Enterobacter cloacae* y *K. pneumoniae*, y se ha considerado un vector de infecciones nosocomiales (Thurn y col., 1990). Esto es especialmente importante en los pacientes críticamente enfermos de las unidades de cuidados intensivos y en los pacientes inmuno deprimidos, los que con alta frecuencia reciben nutrición enteral. En un estudio realizado en 24 pacientes críticos, se encontró colonización en 8 de ellos por microorganismos provenientes de las FE, dos de los cuales presentaron neumonías por *Acinetobacter baumannii* (Klaassen y col., 2002). Por otro lado, las complicaciones infecciosas también tienen como consecuencia un aumento significativo de la estadía hospitalaria, con el costo asociado que ello implica (Konh, 1991).

IV.3.4.5. Evaluación del efecto de la inclusión de la FEE selecta en distintas matrices alimentarias, con diferentes procesos de cocción:

La FEE selecta fue incluida en las mismas matrices alimentarias que las FEC evaluadas previamente y además, se propusieron 4 nuevas preparaciones para poder evaluar sus efectos: jugo de naranja, jugo de manzana, gelatina y puré de papas. Las dos primeras preparaciones fueron seleccionadas porque aportan AA, lo cual podría mejorar la bioaccesibilidad mineral, no involucran calentamiento de la fórmula, lo cual demostró ser un factor que va en detrimento de la bioaccesibilidad, y son de muy fácil preparación. El puré de papas resultó de interés por ser una preparación salada, lo cual permite ampliar un poco la variedad de sabores, evitar la monotonía y favorecer la adherencia al tratamiento. Y por último, la gelatina se seleccionó por ser un alimento ampliamente consumido por pacientes que reciben suplementación oral con FE, que al involucrar el calentamiento de la fórmula, podría ayudar a confirmar los resultados obtenidos previamente.

Los efectos de las nuevas preparaciones en la bioaccesibilidad de minerales fueron evaluados tanto en la FEE selecta como en una FEC de similares características (FEP2). A los fines de comparar los efectos de las preparaciones evaluadas previamente sobre la FEE selecta, se tuvo en cuenta el efecto global observado en las 20 FEC analizadas, ya que resulta más representativo.

La Tabla IV.30 muestra la bioaccesibilidad de Fe, Zn y Ca de la FEE selecta, que fue incluida en las mismas preparaciones alimenticias que las FEC analizadas previamente, y en las cuatro nuevas preparaciones propuestas.

Se puede observar que para los tres minerales analizados se produjo una disminución de la bioaccesibilidad al incorporar la FEE en el PC. Este mismo efecto se observó para el %DFe y %DZn cuando fueron incorporados en el T, sin observar diferencias significativas para el %DCa. Por otro lado, se produjo un aumento del %DZn al incluir la FEE en el LB, y una disminución del %DFe y %DZn al ser incorporada en el AL.

Los efectos con respecto al PC y T fueron idénticos a los observados previamente en las FEC incluidas en estas mismas preparaciones alimenticias (Tabla IV.8). No ocurrió lo mismo para el efecto del LB, que previamente aumentó el %DFe, no observándose diferencias estadísticamente significativas con la FEE selecta.

Tabla IV.30: Bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn) y Ca (%DCa) de la Fórmula Enteral Experimental selecta incluida en preparaciones alimenticias.

Muestras	%DFe	%DZn	%DCa
FE-C	14,57 ± 0,31 ^d	8,09 ± 0,17 ^c	22,57 ± 1,08 ^b
FE-C + AL	10,07 ± 0,13 ^c	5,92 ± 0,17 ^{a, b}	22,74 ± 0,20 ^b
FE-C + PC	7,47 ± 0,31 ^b	6,76 ± 0,27 ^b	15,08 ± 0,36 ^a
FE-C + T	5,57 ± 0,21 ^a	5,55 ± 0,09 ^a	22,31 ± 0,41 ^b
FE-C + LB	15,57 ± 0,54 ^d	10,44 ± 0,13 ^d	23,18 ± 0,99 ^b
FE-C + JN	18,07 ± 0,03 ^e	11,59 ± 0,33 ^e	22,44 ± 0,12 ^b
FE-C + JM	17,70 ± 0,37 ^e	11,09 ± 0,41 ^e	22,37 ± 0,58 ^b
FE-C + G	8,21 ± 0,34 ^b	6,03 ± 0,17 ^b	22,75 ± 0,88 ^b
FE-C + PP	14,33 ± 0,61 ^d	8,58 ± 0,24 ^c	22,49 ± 0,55 ^b

Media ± DE. Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

FE-C: fórmula enteral experimental a base de caseína. **T:** té, **PC:** postre de chocolate, **AL:** arroz con leche, **LB:** licuado de banana, **JN:** jugo de naranja, **JM:** jugo de manzana, **G:** gelatina, **PP:** puré de papas.

Por otro lado, el AL había aumentado el %DFe y de %DZn en FEC, pero en el caso de la FEE mostró el efecto contrario. Quizás estas diferencias se deban a la diferente composición de las FEC y la FEE, y a sus diferentes valores iniciales de bioaccesibilidad de minerales. Sin embargo, al comparar los resultados obtenidos para la FEE selecta con los de la FEP2, que tiene características de composición similares, se pueden observar los mismos efectos con respecto al AL y LB para %DFe y %DZn (Tabla IV.8).

Además, al analizar las nuevas preparaciones propuestas en la FEE, se pudo observar que tanto el JN como el JM produjeron un aumento del %DFe y %DZn, probablemente debido a su contenido de AA (en el caso del Fe). Por otro lado, la G que era la única preparación que involucraba calentamiento, produjo una disminución del %DFe y %DZn, mientras que el PP no afectó la bioaccesibilidad de ninguno de los tres minerales analizados. La inclusión de la FEE en preparaciones no modificó el %DCa, salvo en el PC.

En la Figura IV.21 se puede observar la comparación de los efectos de las distintas preparaciones sobre la bioaccesibilidad de minerales (a: %DFe, b: %DZn, c: %DCa) de una FEC (FEP2) y la FEE selecta al ser incluidas en las preparaciones culinarias.

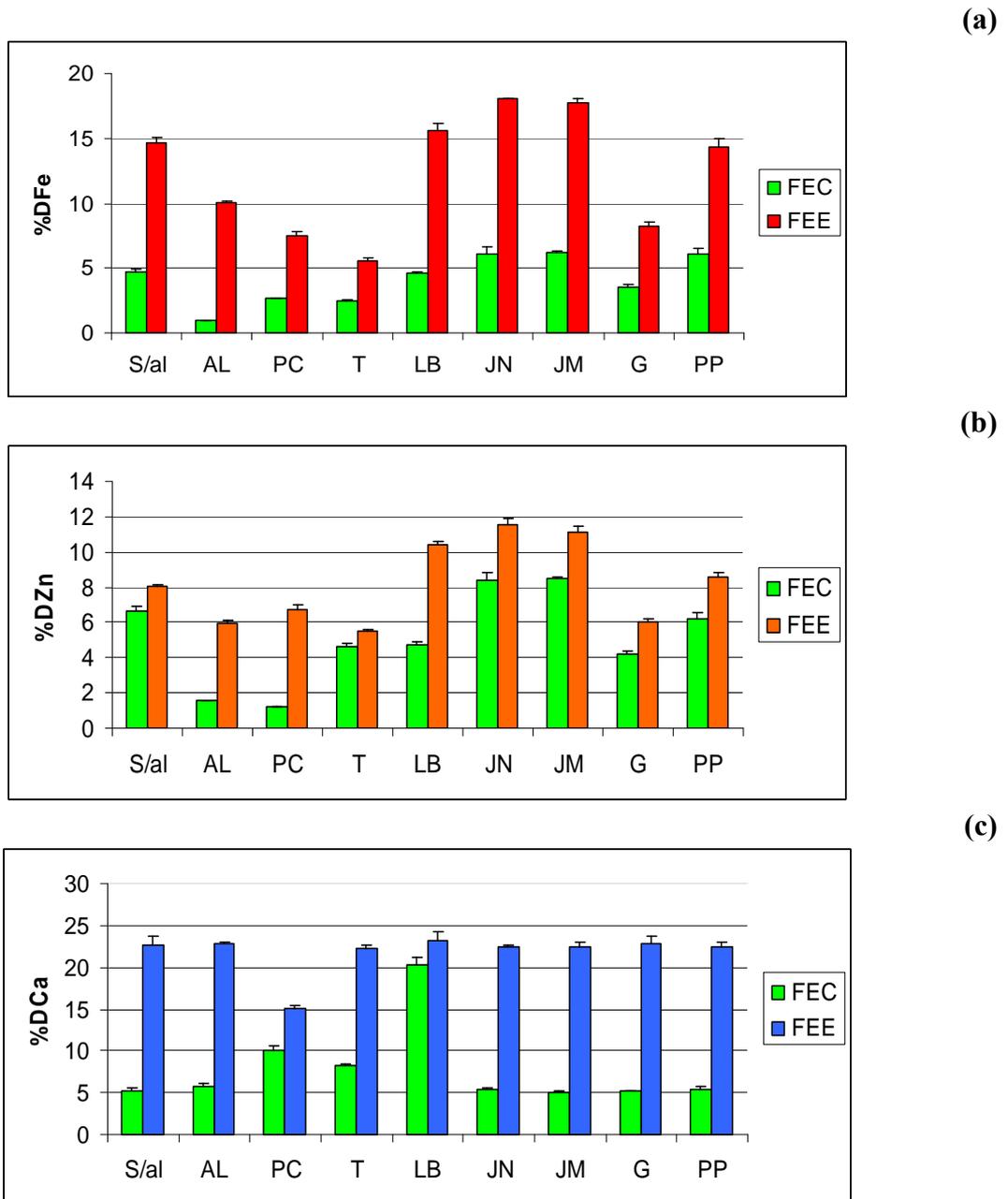


Figura IV.21: Bioaccesibilidad de: a) Fe (%DFe), b) Zn (%DZn) y c) Ca (%DCa) de la Fórmula Enteral Experimental selecta (FEE) con respecto a una Fórmula Enteral Comercial (FEC: FEP2).

T: té, **PC:** postre de chocolate, **AL:** arroz con leche, **LB:** licuado de banana, **JN:** jugo de naranja, **JM:** jugo de manzana, **G:** gelatina, **PP:** puré de papas, **S/al:** fórmulas no incluidas en preparaciones alimenticias.

Se puede observar que la FEC sigue la misma tendencia que la FEE al ser incluida en las nuevas preparaciones propuestas, salvo para %DZn del LB y %DCa para PC, T y LB. Por otro lado, cuando se evaluó el efecto de incluir la FEE en aquellas preparaciones culinarias que involucran el calentamiento de la fórmula (PC, T y G), con respecto a las preparaciones

que no involucran calentamiento (AL, LB, JN, JM y PP), se pudo observar (Tabla IV.31), que el calentamiento de la fórmula generó una disminución del %DFe y %DZn, de manera similar a lo hallado previamente en las FEC (Tabla IV.10), y no se observaron diferencias significativas con respecto al %DCa.

Tabla IV.31: Efecto del calentamiento sobre la bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn) y Ca (%DCa) de la Fórmula Enteral Experimental selecta incluida en preparaciones alimenticias.

Calentamiento	%DFe	%DZn	%DCa
Cal	7,08 ± 1,20 ^a	6,11 ± 0,55 ^a	20,04 ± 3,76 ^a
S/Cal	15,14 ± 3,01 ^b	9,52 ± 2,15 ^b	22,64 ± 0,58 ^a

Media ± DE. Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas (p<0,05). **Cal:** preparaciones culinarias que incluyen calentamiento de la fórmula enteral, **S/Cal:** preparaciones culinarias que no incluyen calentamiento de la fórmula enteral.

En la Tabla IV.32 se muestra el AP de Fe, Zn y Ca la FEE y de las preparaciones culinarias, de una ración estimada de 200 g, lo que equivale a una taza.

Tabla IV.32: Aporte potencial de Fe, Zn y Ca de la Fórmula Enteral Experimental selecta incluida en preparaciones alimenticias y porcentajes que se cubren de los requerimientos diarios (%Req) al consumir una porción (200 g).

Muestras	APFe (µg)	%Req Fe	APZn (µg)	%Req Zn	APCa (mg)	%Req Ca
FE-C	298,49	16,58	132,31	15,61	46,84	6,01
FE-C + AL	43,98	2,44	54,97	7,07	21,23	2,49
FE-C + PC	127,42	7,08	245,25	5,11	15,33	11,4
FE-C + T	206,01	11,44	81,80	13,47	40,42	3,71
FE-C + LB	296,31	16,46	147,56	12,73	38,21	6,7
FE-C + JN	722,42	40,13	268,89	19,11	57,35	12,22
FE-C + JM	724,86	40,27	245,64	9,41	28,25	11,16
FE-C + G	202,26	11,23	80,39	20,78	62,35	3,65
FE-C + PP	249,79	13,87	93,83	9,84	29,53	4,26

APFe: aporte potencial de Fe, **APZn:** aporte potencial de Zn, **APCa:** aporte potencial de Ca. **FE-C:** fórmula enteral experimental a base de caseína. **T:** té, **PC:** postre de chocolate, **AL:** arroz con leche, **LB:** licuado de banana, **JN:** jugo de naranja, **JM:** jugo de manzana, **G:** gelatina, **PP:** puré de papas.

Se llevó a cabo la misma discusión realizada para las FEC en cuanto a los valores de la IDR que cubriría una ración de 200 g (1 taza), teniendo en cuenta que es necesario que se absorban diariamente 1,8 mg de Fe para cubrir las necesidades del 80-90 % de las mujeres adultas y de adolescentes de ambos sexos (Monsen y col., 1978), que las pérdidas inevitables de Ca en el adulto se encuentran alrededor de 300 mg/día (Martín de Portela, 1993) y que los requerimientos de Zn son de 2,2 mg/día (Martín de Portela 1993). En la Tabla IV.33 se muestran los valores que se cubrirían de dichos requerimientos al consumir 200 g de la FEE o de la preparación alimenticia.

Al comparar los resultados con los obtenidos previamente en las FEC (Tabla IV.11.b), se puede observar que los valores de las IDR que se cubren resultan superiores a partir de la FEE y las distintas matrices alimentarias, salvo para los casos de APFe y APZn de las FEC incluidas en el AL, probablemente debido a que en ese caso se observó un aumento de la bioaccesibilidad de estos minerales en la mayoría de las FEC, mientras que se observó el efecto contrario para la FEE.

Tabla IV.33: Efecto del calentamiento sobre el aporte potencial de Fe (APFe), Zn (APZn) y Ca (APCa) de la Fórmula Enteral Experimental selecta incluida en preparaciones alimenticias.

Calentamiento	APFe (µg)	APZn (µg)	APCa (mg)
Cal	178,56 ± 44,33 ^a	135,81 ± 94,77 ^a	39,36 ± 23,53 ^a
S/Cal	407,47 ± 303,84 ^a	162,17 ± 93,18 ^a	34,91 ± 13,91 ^a

Media ± DE. Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas (p<0,05). **Cal:** preparaciones culinarias que producen calentamiento de la fórmula enteral, **S/Cal:** preparaciones culinarias que no producen calentamiento de la fórmula enteral.

Con respecto al efecto del calentamiento sobre el AP de minerales, no se observaron diferencias significativas, probablemente debido a los amplios rangos de valores encontrados.

IV.3.4.6. Conclusiones parciales:

- Los distintos componentes que se evaluaron al desarrollar las FEE mostraron diferentes efectos sobre sus propiedades nutricionales, pero en todos los casos la bioaccesibilidad de minerales fue superior a lo hallado previamente para las FEC.

- En el primer diseño experimental se pudo observar que el contenido de Ca presentó una relación directamente proporcional con el %DCa y no mostró efectos fisicoquímicos adversos en la bioaccesibilidad de Fe y Zn, por lo cual la fuente de Ca utilizada (citrato de calcio) podría constituir una adecuada fuente de fortificación para las FE. Además, a medida que aumentó la proporción de APS, se produjo una disminución del %DFe, %DZn, %DCa y de la %DP, probablemente debido al contenido de ácido fítico y del inhibidor de la actividad de tripsina.
- En el segundo diseño experimental se pudo observar que la relación PS:C afectó negativamente el %DFe, %DZn y la %DP cuando aumentó la proporción de APS. Por otro lado, el contenido de Px en los niveles evaluados no afectó la bioaccesibilidad de minerales, ni la %DP. Sin embargo, si se comparan estos resultados con aquellos del diseño experimental anterior, se observa una disminución del %DFe y %DZn en las FE que contienen APS como fuente proteica y Px.
- Al comparar las tres fuentes proteicas (APS, C y WPC), se observó que con el WPC se obtuvieron valores más altos de %DFe y %DZn, que con APS y C. Por otro lado, al comparar las FE a base de APS y de C, no se observaron diferencias en cuanto al %DFe y %DCa, pero las FE a base de C mostraron mayor %DZn. Además, al evaluar la %DP, se halló que las dos fuentes proteicas de origen animal (C y WPC), mostraron valores más altos que la fuente proteica de origen vegetal (APS).
- Cuando se estudió el efecto de la Px sobre la bioaccesibilidad de minerales de FE con distintas fuentes proteicas, se observó que la incorporación de Px, en cualquiera de los dos niveles estudiados (0,8 y 2,5 g/100 mL), produjo una disminución del %DFe y %DZn, cuando las fuentes proteicas eran APS y WPC, no ocurriendo lo mismo cuando se empleó C, por lo que se estarían generando interacciones fisicoquímicas muy complejas proteína-minerales- Px. Sin embargo, al tratarse de estudios *in vitro* no se pueden ver los efectos de la fibra soluble a nivel de la fermentación colónica. Por otro lado, el agregado de Px no afectó la %DP en ninguno de los casos.
- Cuando se desarrollaron FE oligoméricas, se observó que la bioaccesibilidad de los tres minerales analizados aumentó en las FE con proteínas hidrolizadas, para las tres fuentes proteicas estudiadas (APS, C y WPC). Además, se halló que para las FE que contenían APS y WPC se produjo un aumento de la %DP en las fórmulas que contenían las proteínas hidrolizadas. Es probable que este efecto no se haya observado

en las FE que contenían C porque su %DP ya era demasiado alto en su forma intacta (100%). Por otro lado, se produjo una disminución de los valores de LD en las fórmulas oligoméricas con respecto a las poliméricas.

- Con respecto al uso de distintas fuentes de Fe (sulfato ferroso, bisglicinato ferroso y FeNaEDTA) en las FE con distinta fuente proteica (APS, C y WPC), sobre la bioaccesibilidad mineral se observaron efectos diversos. Cuando se utilizó FeNaEDTA como fuente de Fe, se produjo un aumento del %DFe, para las tres fuentes proteicas estudiadas, con respecto a las FE que estaban fortificadas con sulfato ferroso y bisglicinato ferroso. También se observó un aumento del %DZn en las FE con APS y WPC, y no se observaron diferencias para el %DCa con ninguna de las fuentes proteicas estudiadas. Por otro lado, en este estudio no se observaron diferencias significativas entre la bioaccesibilidad de Fe, Zn y Ca de FEE fortificadas con sulfato ferroso y bisglicinato ferroso, para ninguna de las fuentes proteicas evaluadas.
- La FEE elegida fue una fórmula normocalóricas, normoproteica, polimérica, sin fibra, con caseína como fuente proteica, con sulfato ferroso como fuente de Fe y con citrato de Ca como fuente de calcio, en un nivel de 100 mg/100mL.
- La FE selecta mostró ser apta para el consumo desde el punto de vista microbiológico, ya que cumplió con las exigencias del CAA y por otro lado, demostró tener propiedades físico-químicas adecuadas que permiten disminuir la incidencia de complicaciones, tales como el taponamiento de las sondas.
- Las preparaciones culinarias que involucraron el calentamiento de la fórmula (PC, T y G), produjeron una disminución del %DFe y %DZn, de manera similar a lo hallado previamente en las FEC y no se observaron diferencias significativas con respecto al %DCa. En cuanto a las nuevas preparaciones evaluadas, el JN y JM aumentaron el %DFe y %DZn, la G produjo una disminución y el PP no mostró diferencias con los valores correspondientes de la FEE. El AP de minerales de una porción de las 8 preparaciones evaluadas resultó elevado y aceptable para contribuir a evitar el desarrollo de carencias en los pacientes.

Capítulo IV.4. EVALUACIÓN DEL TIEMPO DE VIDA ÚTIL DE LA FÓRMULA ENTERAL EXPERIMENTAL SELECTA

IV.4.1. Modificación del contenido de diferentes componentes de FEE durante el almacenamiento:

Los alimentos deshidratados, por sus características físicas y químicas tienen una relativa larga vida útil. En ocasiones, es necesario resolver problemas de estabilidad de estos alimentos ya que ésta define su valor comercial. La manera de resolver estos problemas consiste en investigar los mecanismos y principios cinéticos generales de la degradación de los componentes menos estables de dichos alimentos. Sin embargo, a pesar de la importancia de mantener el contenido nutricional en las FE, existen datos limitados sobre las modificaciones de sus componentes durante el almacenamiento.

Como se mencionó anteriormente, se llevó a cabo un estudio de la estabilidad de los componentes de la FEE seleccionada a cuatro temperaturas de almacenamiento (5, 15, 30 y 45 °C), durante un período de 90 días a intervalos regulares de tiempo (0, 15, 30, 60 y 90 días). Los parámetros evaluados en función del tiempo y temperatura de almacenamiento fueron: color, Aw, AA, MDA, LD, %DP, %DFe, %DZn y %DCa. Los resultados se muestran en la Tabla IV.34.

Por otro lado, en la Tabla IV.35 se muestran los ANOVA Simple del efecto del tiempo y de la temperatura de almacenamiento sobre los parámetros mencionados arriba.

IV.4.1.1. Evolución del color:

Una de las principales modificaciones inducidas por las condiciones de almacenamiento a largo plazo es la reacción de Maillard, la cual se produce entre un grupo aldehído o cetona, proveniente de azúcares reductores, y un grupo amino libre de un aminoácido o una proteína, siendo, por lo general, el grupo ϵ -amino de la lisina. La reacción está favorecida en alimentos con un elevado contenido de proteínas y carbohidratos reductores (Torres y col., 2001).

Tabla IV.34: Evaluación de actividad acuosa (Aw), ácido ascórbico (AA), malondialdehído (MDA), lisina disponible (LD), digestibilidad proteica (%DP), bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn) y Ca (%DCa) la Fórmula Enteral Experimental selecta, almacenada a 5, 15, 30 y 45 °C, durante 90 días.

Tempe- ratura (°C)	Almace- namiento (días)	Aw	AA (mg/L)	MDA (µg/L)	LD (mg/g proteína)	%DP	%DFe	%DZn	%DCa
-	0	0,490 ± 0,001 ^h	149,97 ± 4,70 ^{d, e, f, g}	278,57 ± 19,40 ^a	80,18 ± 0,24 ^c	100,96 ± 0,12 ^b	14,55 ± 0,07 ^g	8,01 ± 0,23 ^d	22,64 ± 0,22 ^a
5	15	0,529 ± 0,001 ⁱ	152,53 ± 2,99 ^g	281,62 ± 2,16 ^a	-	-	-	-	-
15		0,535 ± 0,004 ⁱ	149,78 ± 1,92 ^{d, e, f, g}	286,19 ± 12,93 ^a	-	-	-	-	-
30		0,446 ± 0,004 ^g	149,07 ± 3,56 ^{d, e, f, g}	398,96 ± 8,62 ^{a, b}	-	-	-	-	-
45		0,353 ± 0,001 ^f	151,76 ± 0,89 ^{f, g}	574,20 ± 6,47 ^b	-	-	-	-	-
5	30	0,586 ± 0,004 ^l	151,34 ± 2,19 ^{e, f, g}	292,28 ± 8,62 ^a	80,18 ± 0,94 ^c	100,97 ± 0,16 ^b	14,25 ± 0,34 ^g	0,12 ± 22,25 ^d	22,25 ± 0,33 ^a
15		0,565 ± 0,005 ^k	150,44 ± 2,25 ^{e, f, g}	292,28 ± 4,31 ^a	80,35 ± 1,18 ^c	100,40 ± 0,74 ^b	14,19 ± 0,26 ^g	0,22 ± 22,50 ^d	22,50 ± 0,43 ^a
30		0,335 ± 0,005 ^e	146,02 ± 2,35 ^{d, e}	409,62 ± 6,47 ^{a, b}	80,60 ± 0,82 ^c	100,38 ± 1,90 ^b	14,26 ± 0,21 ^g	0,20 ± 22,23 ^d	22,23 ± 0,41 ^a
45		0,319 ± 0,001 ^d	144,58 ± 0,95 ^d	574,20 ± 32,33 ^b	69,12 ± 1,76 ^b	99,23 ± 1,53 ^b	13,72 ± 0,43 ^f	0,42 ± 23,27 ^d	22,27 ± 0,25 ^a
5	60	0,602 ± 0,001 ^m	149,45 ± 3,97 ^{d, e, f, g}	437,05 ± 19,40 ^{a, b}	80,52 ± 0,94 ^c	99,06 ± 1,94 ^b	14,62 ± 0,27 ^g	0,07 ± 22,62 ^d	22,62 ± 0,29 ^a
15		0,626 ± 0,002 ⁿ	149,43 ± 2,41 ^{d, e, f, g}	511,72 ± 4,31 ^b	80,76 ± 1,06 ^c	99,84 ± 0,28 ^b	14,17 ± 0,32 ^{f, g}	0,40 ± 22,43 ^d	22,43 ± 0,24 ^a
30		0,320 ± 0,001 ^d	146,80 ± 2,83 ^{d, e, f}	2091,80 ± 43,10 ^d	80,52 ± 0,24 ^c	98,84 ± 0,71 ^b	12,04 ± 0,24 ^d	0,36 ± 22,37 ^c	22,37 ± 0,28 ^a
45		0,276 ± 0,003 ^b	129,84 ± 0,42 ^b	4103,35 ± 215,51 ^e	66,46 ± 3,88 ^b	94,21 ± 0,10 ^a	11,27 ± 0,28 ^c	0,36 ± 22,65 ^c	22,65 ± 0,23 ^a
5	90	0,556 ± 0,005 ^j	150,04 ± 1,56 ^{d, e, f, g}	475,15 ± 8,62 ^{a, b}	79,77 ± 1,29 ^c	99,06 ± 1,94 ^b	14,16 ± 0,17 ^{f, g}	0,10 ± 22,18 ^d	22,18 ± 1,23 ^a
15		0,592 ± 0,001 ^l	151,02 ± 3,02 ^{e, f, g}	786,03 ± 30,17 ^c	78,69 ± 0,47 ^c	99,84 ± 0,28 ^b	13,01 ± 0,16 ^c	0,27 ± 22,47 ^d	22,47 ± 0,27 ^a
30		0,286 ± 0,001 ^c	138,12 ± 2,55 ^c	4707,32 ± 107,76 ^f	66,46 ± 4,12 ^b	98,84 ± 0,71 ^b	10,26 ± 0,39 ^b	0,29 ± 22,20 ^b	22,20 ± 0,31 ^a
45		0,210 ± 0,001 ^a	111,08 ± 2,38 ^a	9416,17 ± 323,27 ^g	44,27 ± 0,47 ^a	94,21 ± 0,10 ^a	7,84 ± 0,24 ^a	0,21 ± 22,71 ^a	22,71 ± 0,70 ^a

Media ± DE. Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas (p<0,05).

Tabla IV.35: Efecto del tiempo (0, 30, 60 y 90 días) y la temperatura (5, 15, 30 y 45 °C) de almacenamiento sobre la actividad acuosa (Aw), ácido ascórbico (AA), malondialdehído (MDA), lisina disponible (LD), digestibilidad proteica (%DP), bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn) y Ca (%DCa) de la Fórmula Enteral Experimental selecta.

	Aw	AA (mg/L)	MDA (µg/L)	LD (mg/g proteína)	%DP	%DFe	%DZn	%DCa
Tiempo (días)								
0	0,489 ± 0,00 ^a	149,96 ± 4,69 ^{a, b}	278,56 ± 19,39 ^a	80,18 ± 0,23 ^a	100,95 ± 0,12 ^{a, b}	14,55 ± 0,06 ^a	8,01 ± 0,23 ^{b, c}	22,64 ± 0,22 ^a
15	0,465 ± 0,07 ^a	150,78 ± 2,44 ^b	385,24 ± 127,15 ^a	-	-	-	-	-
30	0,451 ± 0,133 ^a	148,09 ± 3,41 ^b	392,09 ± 124,19 ^a	77,56 ± 5,29 ^a	100,24 ± 1,17 ^b	14,10 ± 0,36 ^b	8,10 ± 0,24 ^c	22,39 ± 0,51 ^a
60	0,456 ± 0,169 ^a	143,88 ± 8,98 ^{a, b}	1785,98 ± 1597,44 ^{a, b}	77,06 ± 6,78 ^a	97,98 ± 2,49 ^a	13,03 ± 1,48 ^b	7,21 ± 0,92 ^{a, b}	22,51 ± 0,25 ^a
90	0,410 ± 0,176 ^a	137,56 ± 17,32 ^a	3846,17 ± 3847,95 ^b	67,29 ± 15,36 ^a	97,98 ± 2,49 ^a	11,31 ± 2,57 ^b	6,59 ± 1,61 ^a	22,38 ± 0,67 ^a
Temperatura (°C)								
5	0,568 ± 0,03 ^c	150,83 ± 2,48 ^b	371,52 ± 92,05 ^a	80,15 ± 0,85 ^b	99,69 ± 1,57 ^b	14,34 ± 0,31 ^b	8,07 ± 0,09 ^b	22,34 ± 0,73 ^a
15	0,579 ± 0,03 ^c	150,16 ± 1,95 ^b	469,05 ± 218,88 ^a	79,93 ± 1,23 ^b	100,03 ± 0,47 ^b	13,78 ± 0,62 ^b	8,04 ± 0,27 ^b	22,46 ± 0,23 ^a
30	0,346 ± 0,06 ^b	145,00 ± 4,91 ^b	1901,93 ± 1882,17 ^{a, b}	75,86 ± 7,52 ^b	99,35 ± 1,24 ^b	12,19 ± 1,75 ^a	6,71 ± 1,21 ^a	22,27 ± 0,30 ^a
45	0,298 ± 0,05 ^a	134,31 ± 16,67 ^a	3666,98 ± 3871,14 ^b	59,95 ± 12,36 ^a	95,88 ± 2,68 ^a	10,94 ± 2,57 ^a	6,34 ± 1,49 ^a	22,65 ± 0,55 ^a

Media ± DE. Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas (p<0,05).

Por otro lado, la reacción de Maillard está intensamente influenciada por la temperatura, el tiempo de reacción, la A_w (0,3-0,7) y valores de pH en el intervalo 4-7. Esta reacción ocurre lentamente a bajas temperaturas y con mayor facilidad en alimentos deshidratados y produce una disminución del valor nutritivo (García Baños y col., 2005). El desarrollo de color es un indicador evidente y extremadamente importante de la extensión de la reacción de Maillard avanzados (Martins y col., 2000). Los colores producidos van en la gama de amarillo pálido al marrón muy oscuro, dependiendo del tipo de alimento y el alcance de la reacción (Serpen y Gökmen, 2009). Desde el punto de vista organoléptico, el pardeamiento es deseable en algunos tipos de alimentos (productos de panadería y café), mientras que es indeseable en productos esterilizados o secos como leche en polvo, suero de leche o fórmulas enterales (Mottram, 2007).

En la Tabla IV.36 se pueden observar los valores de los parámetros del sistema CIE, en las distintas temperaturas y tiempos de almacenamiento de la FE.

Tabla IV.36: Parámetros del sistema CIE de la Fórmula Enteral Experimental selecta, almacenada a 5, 15, 30 y 45 °C, durante 90 días.

Temperatura (°C)	Almacenamiento (días)	L*	a*	b*
-	0	83,9	0,06	9,47
5	15	83,55	0,07	9,25
15		83,55	0,07	9,55
30		83,81	0,11	9,53
45		83,11	0,12	10,56
5	30	83,5	0,05	9,44
15		83,14	0,07	9,51
30		82,6	0,12	10,8
45		83,15	0,16	12,3
5	60	82,91	0,06	10,04
15		83,22	0,16	10,59
30		78,82	0,2	11,31
45		78,51	0,2	12,17
5	90	83,86	0,09	10,4
15		82,65	0,19	10,63
30		77,62	0,22	12,55
45		76,01	0,29	13,88

Se puede observar que el parámetro L^* , que mide el grado de luminosidad ($L^*=100$: blanco; $L^*=0$: negro) no se modifica durante el almacenamiento a 5 y 15°C, no ocurriendo lo mismo a 30 y 45°C, donde se observa una disminución a partir de los 60 días de almacenamiento.

En cuanto a los parámetros a^* (- verde; + rojo) y b^* (- azul; + amarillo), muestran una tendencia a aumentar con el tiempo de almacenamiento, siendo más marcado a las mayores temperaturas (30 y 45 °C).

En la Figura IV.21 se muestra la evolución del índice de amarillamiento (*yellow index*, YI) durante el almacenamiento de la FEE a las diferentes temperaturas, lo cual permite tener una idea del desarrollo de color relacionado con la intensidad del pardeamiento (Rufián Henares y col., 2006). Se puede observar que a mayor tiempo y temperatura de almacenamiento se produce más desarrollo de color, relacionado con la reacción de Maillard.

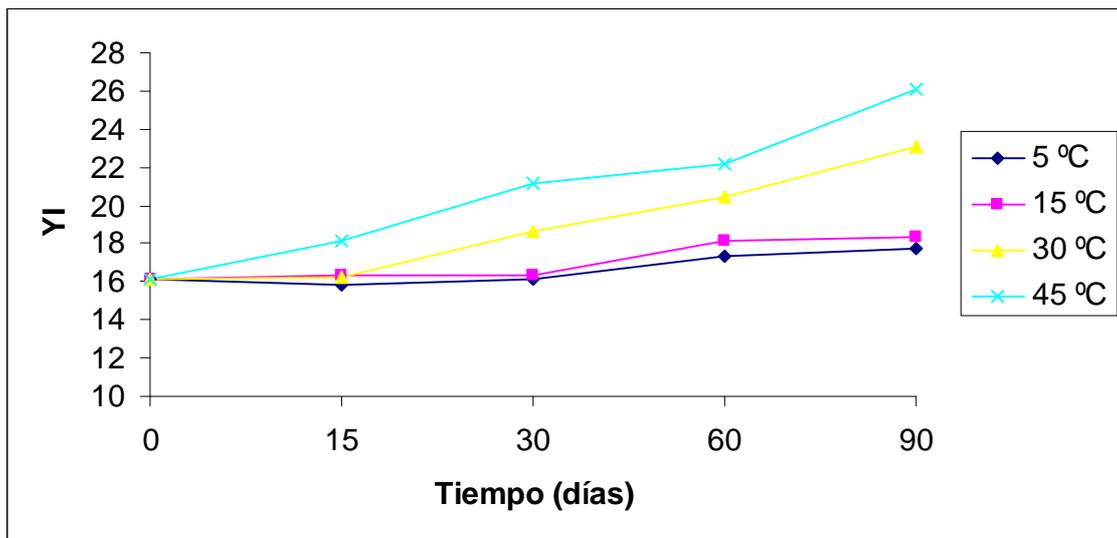


Figura IV.21: Evolución del índice de amarillamiento (YI) de una Fórmula Enteral Experimental selecta almacenada a 5, 15, 30 y 45 °C, durante 90 días

La misma tendencia de evolución de los parámetros L^* , a^* , b^* y YI fue observada por Rufián Henares y col. (2006), quienes evaluaron el color de una FEL durante el almacenamiento (36 semanas) a 4, 20, 32 y 55°C. Lowry y Baker (1989) también observaron una disminución del parámetro L tras 12 meses de almacenamiento a temperatura ambiente de una FEC. A su vez, las mismas tendencias de evolución de los parámetros L , a^* y b^* , fueron

hallados por Bosch y col. (2007) al evaluar el efecto del almacenamiento, durante 9 meses, de alimentos infantiles a base de cereales y leche, a 25, 30 y 37°C.

Por otro lado, el YI se relacionó de manera inversamente proporcional con los siguientes parámetros evaluados durante el presente estudio: A_w ($R^2=0,6457$), LD ($R^2=0,8056$); DP ($R^2=0,6618$), %DFe ($R^2=0,8601$), %DZn ($R^2=0,7992$) y AA ($R^2=0,7805$). Por otro lado se halló una relación directamente proporcional con MDA ($R^2=0,8011$).

En cuanto a A_w y LD, se encuentran muy ligados con YI, ya que la reacción de Maillard transcurre más favorablemente cuando los valores de A_w son muy bajos, y por otro lado la lisina se pierde rápidamente en la primera fase de la reacción de Maillard a causa de su grupo $\epsilon\text{-NH}_2$. En trabajos realizados con modelos de caseína-glucosa se demostró que estos grupos amino libres reaccionaron con grupos aldehídos reductores aún en condiciones de poca cantidad de agua para formar compuestos sin valor nutricional (Torres y col., 2001). Bjorck y col. (1984) estudiaron la formación de color en harinas de trigo sometidas a extrusión y encontraron una correlación entre los valores de reflectancia y el contenido en lisina. McAuley y col. (1987) observaron que los valores Hunter Lab estaban relacionados con la LD en harinas de trigo y diferentes tipos de cereales de desayuno comerciales (copos tostados, tostados y extrudidos e inflados y extrudidos).

Las relaciones entre el YI y los demás parámetros evaluados serán discutidas en sus respectivos apartados.

IV.1.2. Evolución de la actividad acuosa:

La A_w ha sido considerada como uno de los factores más influyentes en la seguridad y estabilidad de los alimentos. Las relaciones entre A_w y el crecimiento microbiano, la cinética de las reacciones químicas de deterioro y otros factores de calidad han sido ampliamente investigadas (Gálvez y col, 2006).

En la Figura IV.22, se puede observar la evolución de la A_w durante el tiempo de almacenamiento a las diferentes temperaturas evaluadas.

El concepto de A_w tiene su origen en una serie de consideraciones termodinámicas que generan la expresión matemática del potencial químico del componente i , el cual constituye una medida de la tendencia de dicho componente a escapar del sistema y está en función de una relación de presiones (P_i/P_{i_0}), conocida como la actividad del componente i ,

en donde, para efectos del componente agua, P_i es la presión parcial del vapor de agua y P_{i_0} constituye la presión parcial del vapor de agua para un estado de referencia el cual está constituido por agua pura. En tal sentido, cuanto menos comprometida se encuentre el agua con las diversas estructuras atómicas y moleculares de un alimento, mayor será su tendencia a escapar del sistema alimento y aumentar la presión parcial de vapor de agua en los alrededores, incrementándose de esa forma la relación P_i/P_{i_0} , constituyendo de esa forma el concepto de A_w , que es una medida de la cantidad de agua disponible en un alimento para una serie de reacciones de deterioro de naturaleza bioquímica y microbiológica (Millán y col., 2001).

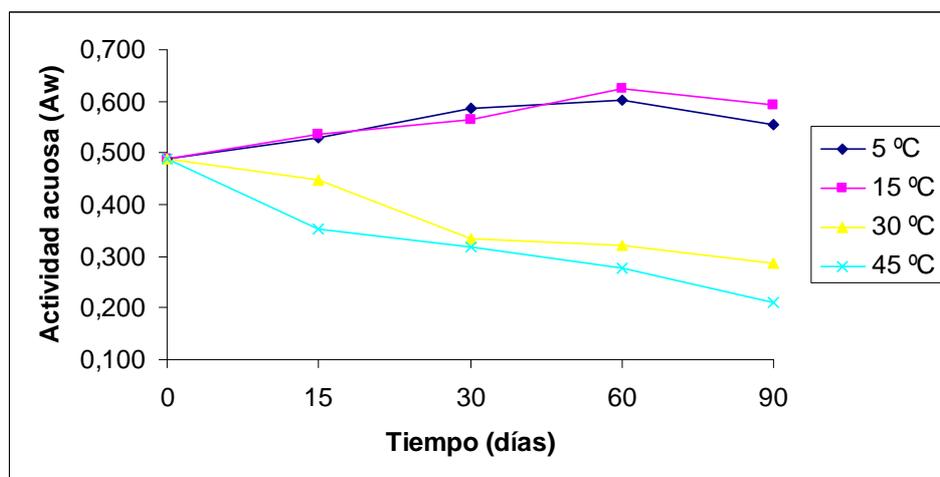


Figura IV.22: Evolución de la actividad acuosa (A_w) la Fórmula Enteral Experimental selecta almacenada a 5, 15, 30 y 45 °C, durante 90 días.

En el presente trabajo se halló que luego de los 90 días de almacenamiento la A_w aumentó en las muestras que fueron conservadas a 5 y 15 °C y disminuyó en las muestras almacenadas a 30 y 45 °C (Tabla IV.34.), en comparación con el valor inicial. Para analizar estos cambios se tuvo en cuenta el diagrama psicrométrico (Figura IV.23), teniendo en cuenta que la muestra inicial tiene una humedad del 8,72 %. Además, se consideró que el aire ambiente, fuera de las estufas donde se encuentran las muestras almacenadas, se mantuvo a una humedad relativa promedio de 70 % y una temperatura de 20°C. Esto habría provocado que el aire dentro de las cámaras termostalizadas a 5 y 15 °C se encontrara saturado y las muestras allí conservadas tenderían a adsorber humedad del aire e hidratarse. Para el caso de la estufa a 30°C, el aire ambiente habría alcanzado una humedad relativa promedio del 38 % y a 45°C la humedad relativa ambiente sería del 16 % y en ambos casos las muestras tenderían a secarse, ya que habría habido un pasaje de humedad desde la muestra al aire. Esto demuestra, que los envases utilizados no fueron totalmente impermeables a la humedad ambiente.

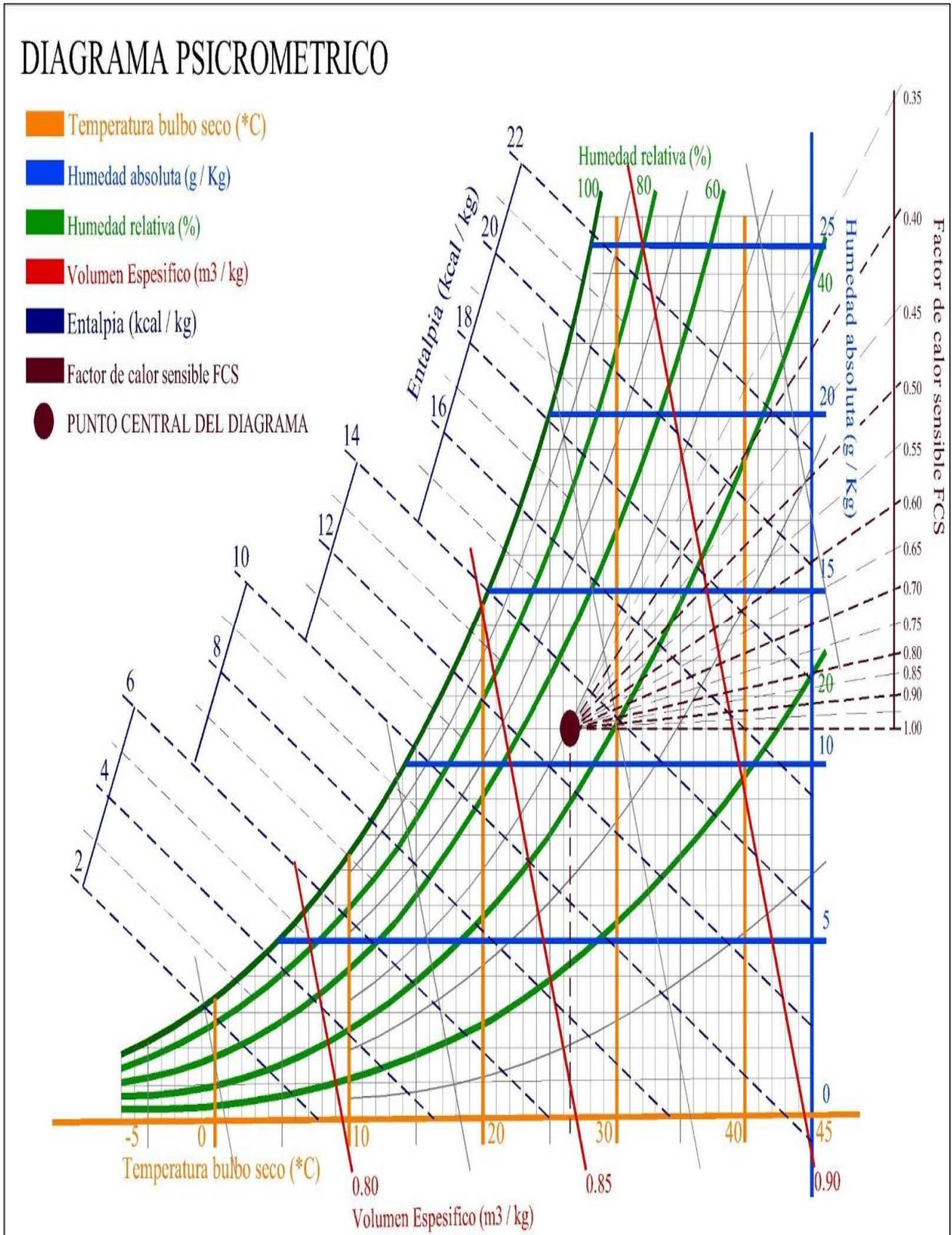


Figura IV.23: Diagrama psicrométrico a 1 atmósfera.

IV.4.1.3. Evolución del contenido de ácido ascórbico:

Es sabido que la estabilidad del AA se ve afectada por diferentes factores como calor, oxígeno, luz, catalizadores metálicos y otros componentes del alimento (Frias y Vidal-Valverde, 2001), por lo tanto resulta interesante conocer su evolución durante el almacenamiento de la FEE a distintas temperaturas.

En el presente estudio se halló una disminución más marcada del AA en las muestras almacenadas a 45 °C, en comparación con las otras temperaturas de almacenamiento (Tabla IV.35).

En la Figura IV.24 se muestra la evolución de los valores de AA de la FEE durante el almacenamiento.

El AA mostró una muy buena estabilidad durante los 90 días del ensayo cuando las muestras fueron conservadas entre 5 y 30 °C. Al final del estudio se produjo una disminución del 7,90 y 25,93% del AA en las FEE almacenadas a 30 y 45 °C, respectivamente.

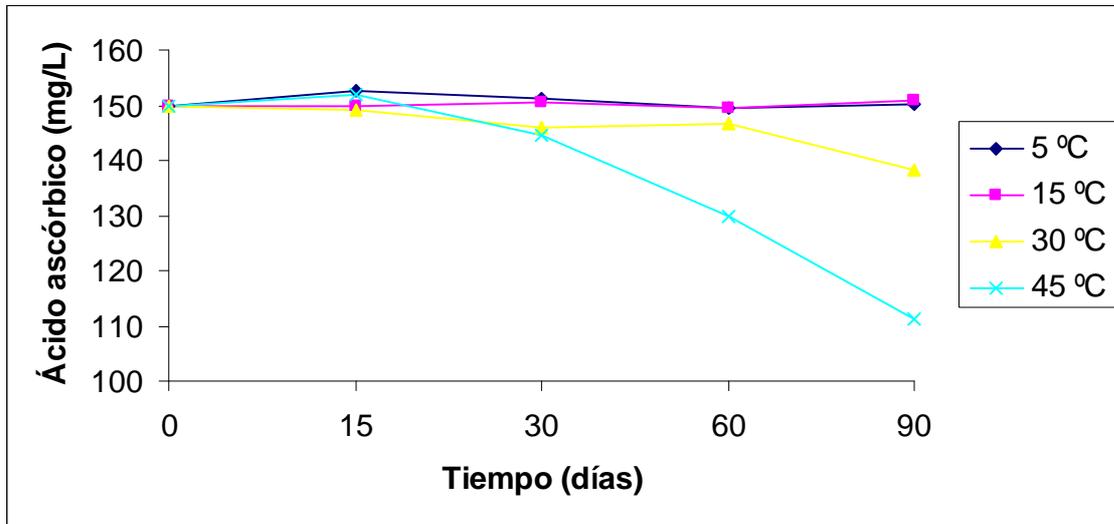


Figura IV.24: Evolución del contenido de ácido ascórbico de la Fórmula Enteral Experimental selecta almacenada a 5, 15, 30 y 45 °C, durante 90 días.

La disminución del contenido de AA de las muestras almacenadas a 30 y 45 °C puede ser debido a que estas temperaturas favorecen la descomposición del AA, como también la formación de peróxidos y productos de oxidación secundarios, con los que la vitamina C puede reaccionar, que a su vez son capaces de intervenir en el pardeamiento no enzimático de

una matriz compleja como una FEP (García Baños y col., 2005). Gliguem y Birlouez-Aragón (2005) informaron los efectos específicos de los productos de degradación de la vitamina C sobre el desarrollo de la reacción de Maillard y la iniciación de las reacciones de radicales en mezclas de vitamina C. De hecho, en el presente estudio se halló una relación inversa entre los contenidos de AA y MDA ($R^2=0,9246$) y de AA con YI ($R^2=0,7805$), y una relación directa entre los contenidos de AA con LD ($R^2=0,9245$).

Por otro lado, la disminución del AA podría afectar la bioaccesibilidad de minerales, especialmente Fe (Hurrell y Egli, 2010) y, en relación a esto, se halló una relación directamente proporcional entre AA y %DFe ($R^2=0,8207$).

IV.4.1.3.1. Determinación de la Energía de activación (Ea) de la reacción de deterioro del AA en FEE:

Para determinar la Ea de la reacción de deterioro del AA en FEE, primero se definió la cinética de la reacción de deterioro del AA que fue de orden uno. A partir de la gráfica del $\ln(Q/Q_0)$ en función del tiempo de almacenamiento (días), para cada temperatura (Figura IV.25) se calcularon los valores de k. Se consideró Q_0 como el valor de AA al inicio del estudio y Q correspondió a los valores hallados para cada tiempo y temperatura de almacenamiento.

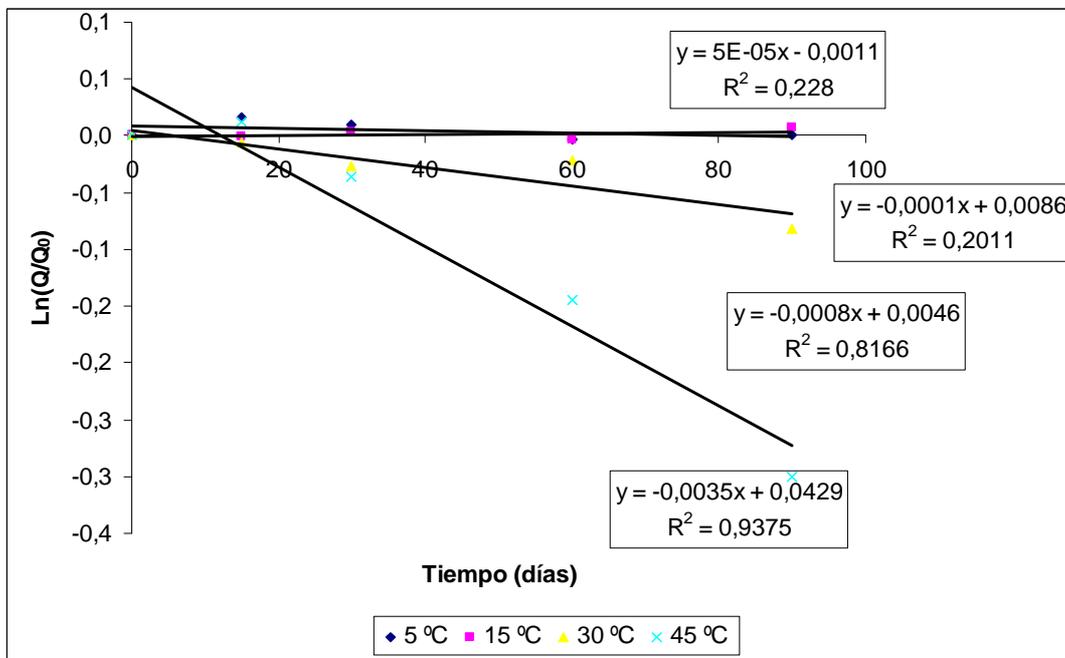


Figura IV.25: Determinación de los valores de k para cada temperatura, correspondiente a la reacción de deterioro del ácido ascórbico.

Luego se graficó el Ln de la constante de reacción en función de la temperatura (Figuras IV.26), se obtuvo el valor de la pendiente n de la recta y se calculó la Ea como: $E_a = n/R$, donde R es la constante universal de los gases ($R = 8,314 \text{ kJ/mol K}$).

La Ea hallada fue de 81,25 KJ/mol, lo que coincide con los valores hallados por Burdurlu y col. (2006) (56-106 kJ/mol), quienes evaluaron las pérdidas de AA en jugos cítricos (naranja, limón, pomelo, mandarina) durante su almacenamiento por ocho semanas a 28, 37 y 45 ° C, que también hallaron siguió una cinética de reacción de primer orden. Por otro lado, valores inferiores fueron hallados por Baéz y col. (2012) (51,96 KJ/mol), quienes evaluaron el efecto del tiempo (105 días) y temperatura (22, 37 y 45°C) de almacenamiento sobre la estabilidad química de una fórmula enteral en polvo, hallando que la cinética de la reacción fue de primer orden. También, valores inferiores fueron hallados por Dhuique Mayer y col. (2007) (35.9 kJ/mol) al evaluar el efecto de la temperatura sobre la degradación del AA de un jugo cítrico que siguió una reacción de primer orden.

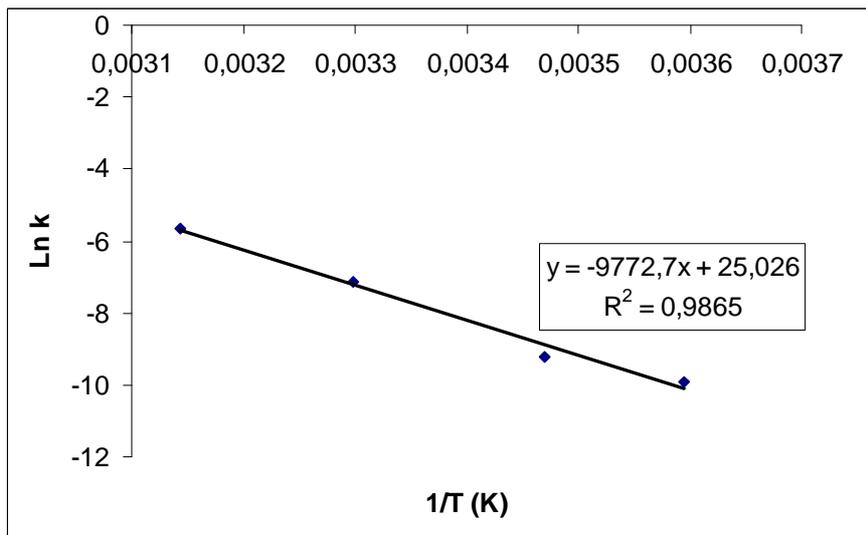


Figura IV.26: Influencia de la temperatura sobre la constante de reacción de deterioro del ácido ascórbico durante el almacenamiento.

IV.4.1.4. Evolución de la oxidación de lípidos:

La peroxidación de lípidos es un proceso complejo que implica pérdida de nutrientes esenciales y de la capacidad antioxidante y un aumento de especies reactivas. Puede resultar en un gran número de productos que pueden ser perjudiciales para la salud de los seres humanos. Los ácidos grasos insaturados en los alimentos son el sustrato de la reacción de

peroxidación de lípidos, y la concentración de estos ácidos grasos es uno de los factores que favorecen el desarrollo de este proceso (Almansa y col., 2013).

El consumo de FE con productos provenientes de la peroxidación lipídica, potencialmente puede incrementar la severidad de distintas enfermedades que puede estar cursando el paciente (Rufián Henares y col., 2005).

En la Figura IV.27 se muestra la evolución de los valores de MDA durante el almacenamiento, a las diferentes temperaturas.

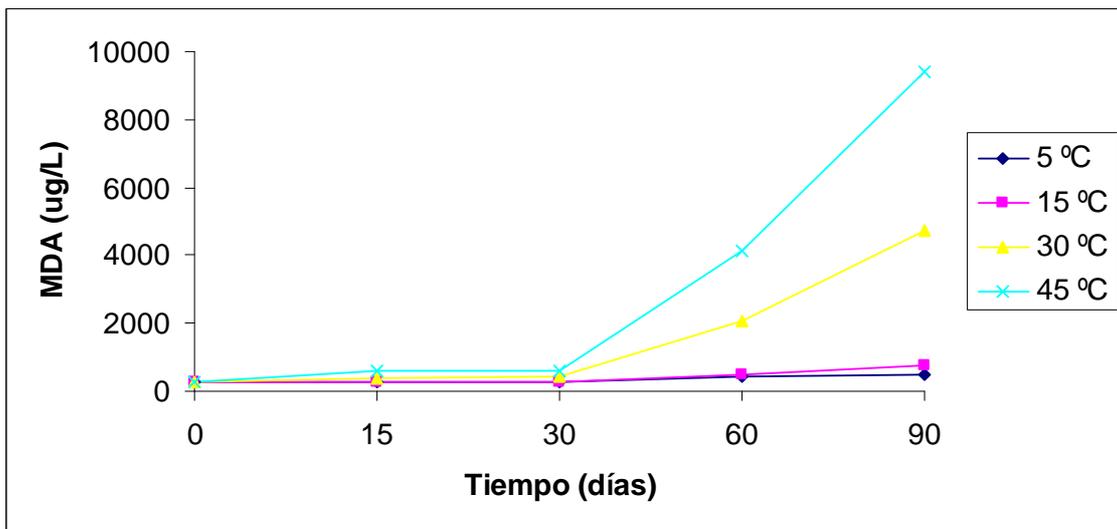


Figura IV.27: Evolución del contenido de MDA (malondialdehído) la Fórmula Enteral Experimental selecta almacenada a 5, 15, 30 y 45 °C, durante 90 días.

En el presente estudio, la concentración del MDA permaneció estable durante los primeros 30 días de almacenamiento, a temperaturas comprendidas entre 5 y 30°C, y hasta los 90 días de almacenamiento a 5°C, no se observaron diferencias significativas con respecto a los valores iniciales (Tabla IV.34). A partir de los 60 días de almacenamiento, a 30 y 45°C se observó un aumento exponencial de los valores de MDA, lo que podría estar indicando que la reacción de oxidación de los lípidos se hallaría en la etapa de propagación, en la cual la generación de los productos de reacción es mayor que la degradación (Baéz y col., 2012). Al final del estudio se produjo un aumento del 182, 1589 y 3280% del MDA en las FE almacenadas a 15, 30 y 45 °C, respectivamente, en comparación con los valores al inicio del estudio. Almansa y col. (2013) evaluaron la evolución del MDA en fórmulas infantiles durante 28 días de almacenamiento a 5 y 23°C y llegaron a la conclusión de que la refrigeración disminuye la peroxidación de lípidos. Condiciones más extremas de temperatura

(32 y 55°C por 36 semanas) fueron evaluadas por Angulo y col. (1998) en fórmulas infantiles en polvo. Ellos observaron que los contenidos de MDA fueron afectados por la temperatura de almacenamiento, mostrando un aumento exponencial, de manera similar a lo hallado en la presente investigación.

Los resultados (Tabla IV.35) ponen de manifiesto que la temperatura de almacenamiento es un factor fundamental a tener en cuenta en la estabilidad de las FEP, lo cual fue previamente observado por Romeu Nadal y col. (2007) en fórmulas lácteas en polvo. Además, en el presente estudio, el tiempo de almacenamiento también resultó un factor significativo.

Por otro lado, se halló una relación inversa entre los valores de MDA y %DFe ($R^2=0,9253$) y MDA con %DZn ($R^2=0,9065$). Esto podría deberse a que los productos resultantes de la oxidación de lípidos establecen determinadas interacciones fisicoquímicas con los minerales en cuestión, lo cual disminuye su bioaccesibilidad.

IV.4.1.4.1. Determinación de la Energía de activación (Ea) de la reacción de oxidación de lípidos en FEE:

Al evaluar los parámetros cinéticos, de igual forma que la descrita en el punto anterior, se halló que la reacción de generación de MDA siguió una reacción de orden uno. En la Figura IV.28 se muestran los valores de k correspondientes a cada temperatura y en la Figura IV.29 se muestra la influencia de la temperatura sobre dicha constante de reacción.

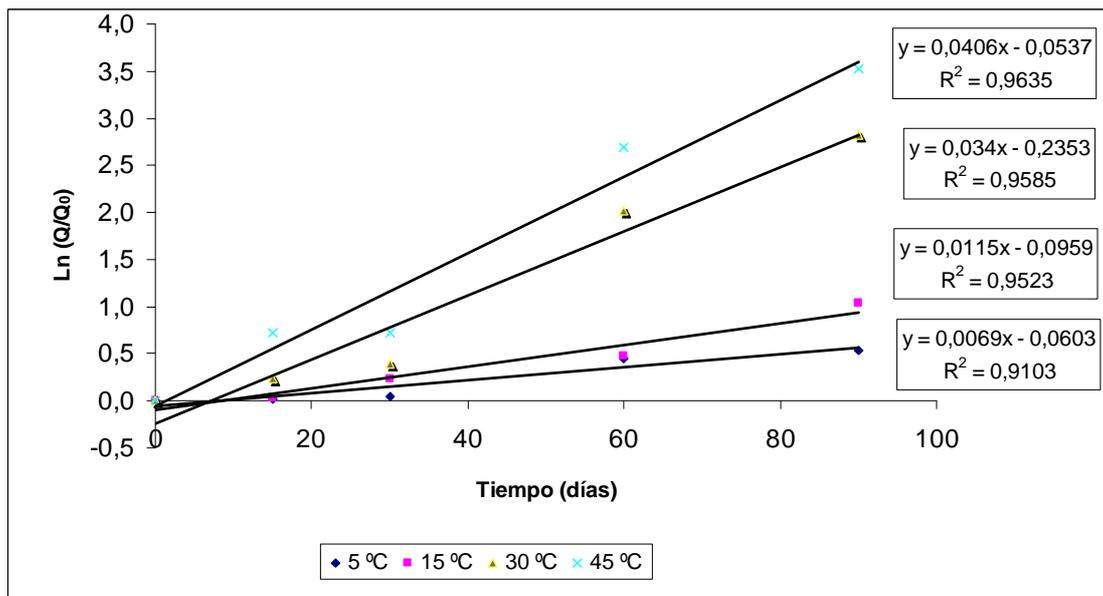


Figura IV.28: Determinación de los valores de k para la reacción de generación de malondialdehído durante el almacenamiento.

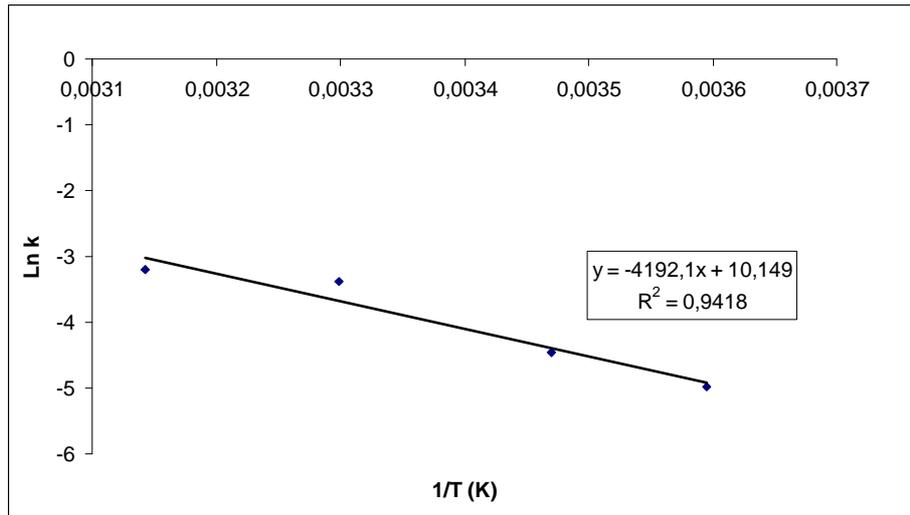


Figura IV.29: Influencia de la temperatura sobre la constante de reacción de generación de malondialdehído durante el almacenamiento.

El valor hallado de E_a fue de 34,85 kJ/mol, lo que coincide con los valores encontrados por Baéz y col. (2012) en una FEP (36,957 kJ/mol), quienes también observaron que la reacción siguió una cinética de primer orden. Por otro lado, resultados similares fueron hallados por Sathivel y col. (2008) (33,2 kJ/mol) al evaluar la peroxidación lipídica de aceite de abadejo y por Yun y col. (2007) (20,3 – 43,5 kJ/mol) al evaluar el contenido de MDA en productos coreanos con salsa de soja.

IV.4.1.5. Evolución del contenido de lisina disponible:

Ya se mencionó que la lisina es un aminoácido esencial que es considerado como un indicador del valor biológico de la proteína. El contenido de lisina total, sin embargo, no siempre se correlaciona bien con el valor nutricional a causa de que los grupos α y ϵ -NH₂ libres puede haber reaccionado con compuestos naturales, tales como los azúcares reductores o aldehídos a partir de la oxidación de lípidos durante el procesamiento o almacenamiento. Por esta razón, es importante determinar el contenido de LD o biológicamente activa (Araújo y Menezes, 2005).

En la Figura IV.30 se muestra la evolución del contenido de LD durante el almacenamiento, a las diferentes temperaturas.

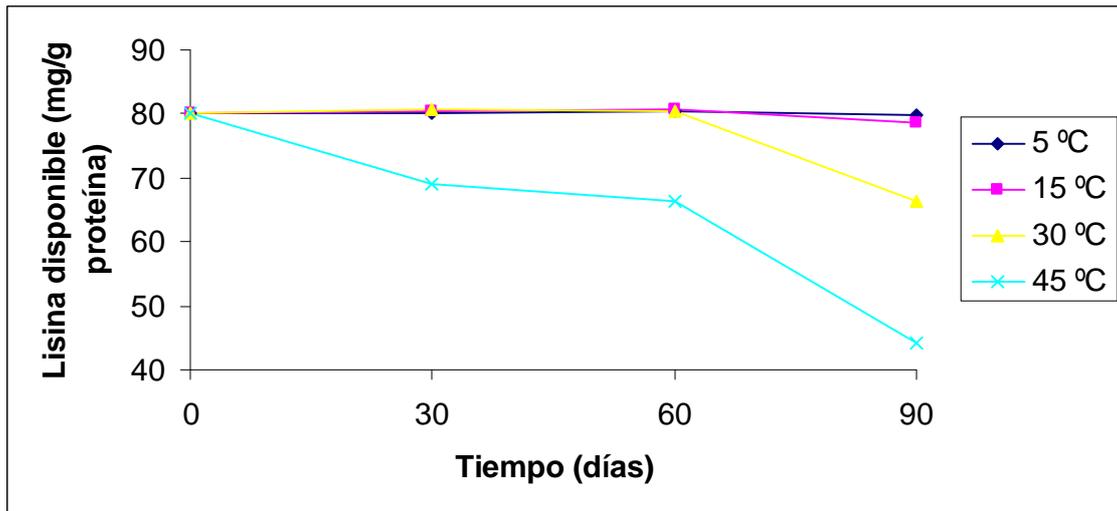


Figura IV.30: Evolución del contenido de lisina disponible la Fórmula Enteral Experimental selecta almacenada a 5, 15, 30 y 45 °C, durante 90 días.

En el presente estudio la LD fue influenciada por la temperatura de almacenamiento (Tabla IV.35), revelando valores menores en la FEE almacenada a 45 °C, en comparación con las otras temperaturas de almacenamiento estudiadas. Al final del estudio se produjo una disminución del 17,11 y 44,79% en la LD en las FEE almacenadas a 30 y 45 °C, respectivamente. Resultados similares fueron hallados por Torres y col. (2001) quienes evaluaron una fórmula dietética para niños con síndrome diarreico, almacenadas a 25, 30 y 35°C, por dos meses y hallaron que se produjo una disminución de la LD en las fórmulas almacenadas a mayor temperatura. Sólo las muestras almacenadas a 45 °C por 90 días presentaron valores de LD por debajo de los valores de lisina recomendados por el CAA para alimentos de régimen (58 mg/g proteína).

Por otro lado, se halló una relación inversa entre los valores de LD y MDA ($R^2=0,8797$). Torres y col. (2001) sugieren que la disminución de la LD puede ser producto de la reacción de radicales libres o compuestos reductores formados por oxidación de lípidos con proteínas, además de la reacción de Maillard.

Además, se halló una relación directa entre los valores de LD y %DFe ($R^2=0,8030$), LD con %DZn ($R^2=0,6917$) y LD con %DP ($R^2=0,6622$). En relación a esto, Seiquer y Navarro (2003) plantearon que los productos resultantes de la reacción de Maillard pueden comportarse como polímeros aniónicos que forman complejos moderadamente estables con algunos minerales, lo que afecta su biodisponibilidad. Por otro lado, Torres y col. (2001)

sugieren que dichos productos de la reacción de Maillard también pueden afectar la digestibilidad de las proteínas al formar complejos que no pueden ser metabolizados por las enzimas digestivas.

IV.4.1.5.1. Determinación de la Energía de activación (Ea) de la reacción de deterioro de la lisina disponible en FEE:

Cuando se evaluaron los parámetros cinéticos de la reacción de deterioro, se halló que la reacción siguió una cinética de primer orden. En la Figura IV.31 se muestran los valores de k correspondientes a las diferentes temperaturas y en la Figura IV.32 se muestra la influencia de la temperatura sobre dicha constante de reacción.

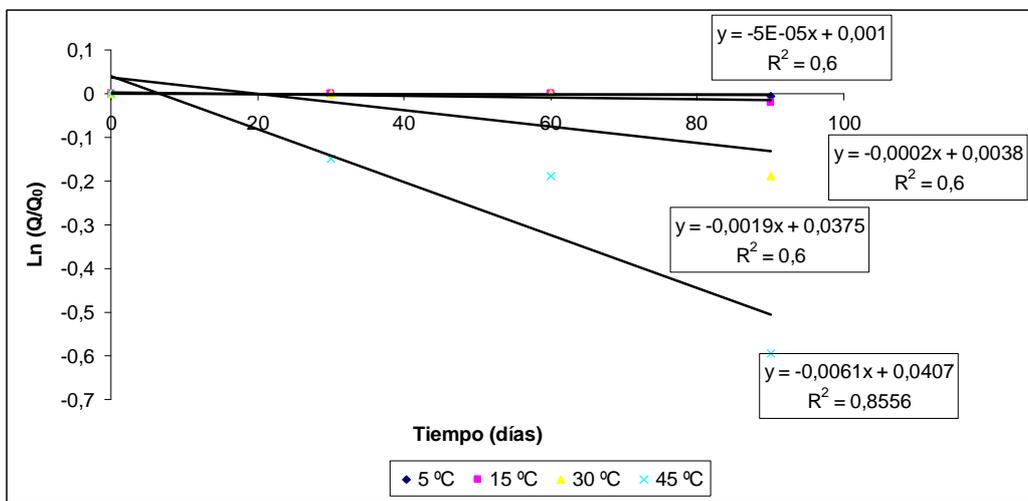


Figura IV.31: Determinación de los valores de k para la reacción de pérdida de la lisina disponible durante el almacenamiento.

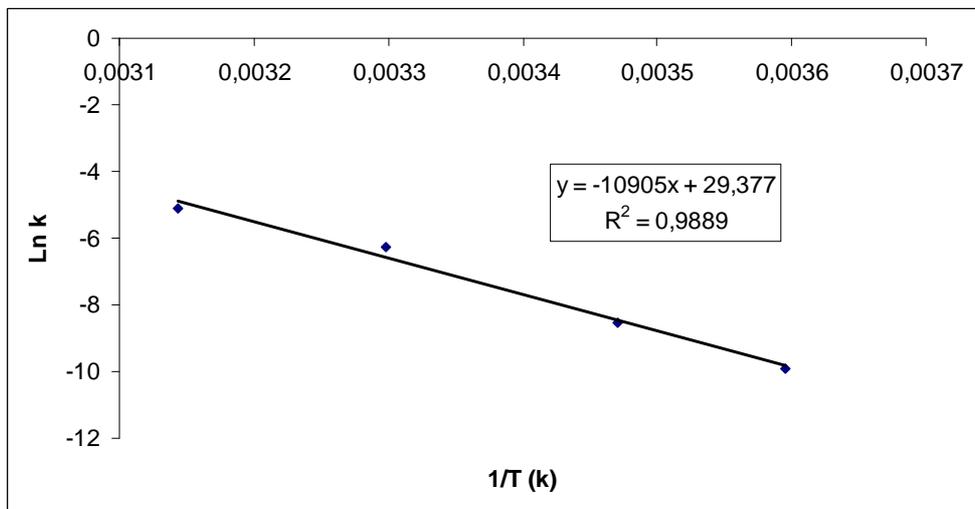


Figura IV.32: Influencia de la temperatura sobre la constante de reacción de deterioro de lisina disponible durante el ensayo de almacenamiento.

El valor hallado de E_a fue de 90,66 kJ/mol. Torres y col. (2001) hallaron valores inferiores (63,44 kJ/mol), pero también encontraron que la reacción siguió una cinética de primer orden. Por otro lado, como la disminución de la LD se halla relacionada con la reacción de Maillard, se citan dos trabajos que evaluaron la E_a de dicha reacción. Saguy y Karel (1980) plantearon que la E_a para la reacción de Maillard se halla comprendida entre 106,4 y 209,2 kJ/mol, mientras que Burdurlu y col. (2006) hallaron valores de 181,71 kJ/mol.

IV.4.1.6. Evolución de la digestibilidad proteica:

La %DP fue afectada por la temperatura de almacenamiento, hallándose valores menores en la FEE almacenada a 45 °C, en comparación con las otras temperaturas de almacenamiento estudiadas (Tabla IV.34). Al final del estudio se produjo una disminución del 4,69% en la %DP en las FE almacenadas a 45 °C.

En la Figura IV.33 se muestra la evolución de los valores de la %DP durante el almacenamiento, a las diferentes temperaturas.

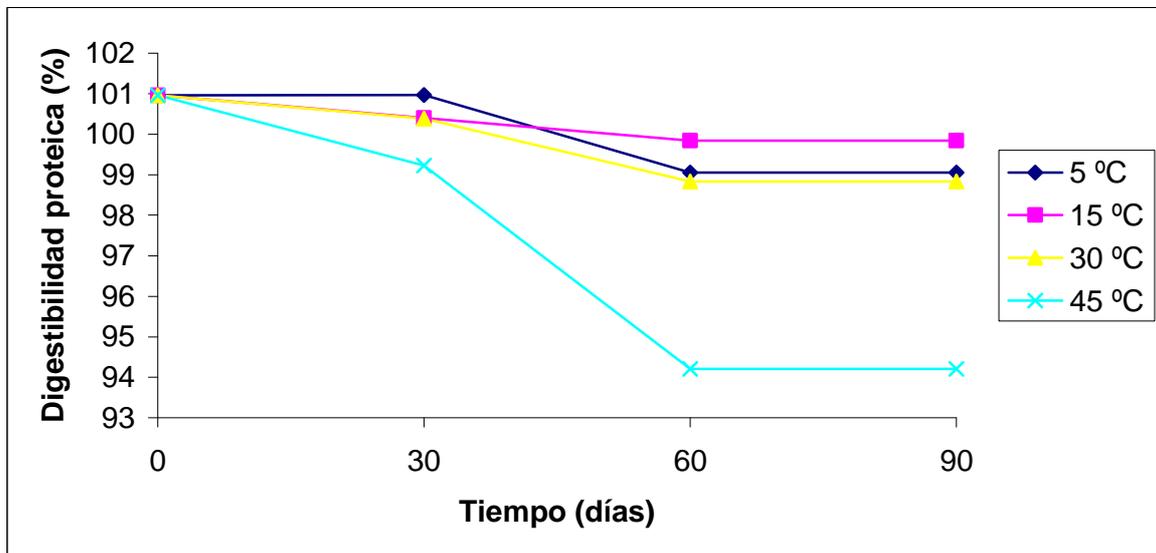


Figura IV.33: Evolución de la digestibilidad proteica la Fórmula Enteral Experimental selecta almacenada a 5, 15, 30 y 45 °C, durante 90 días.

Las reacciones que suceden durante la reacción de Maillard llevan a una disminución de la %DP (Hurrell, 1990). La reducción de la digestibilidad de las proteínas se produce porque los péptidos que tienen aminoácidos modificados no pueden ser hidrolizados por las

proteasas o peptidasas, incrementándose las pérdidas de nitrógeno fecal (Finot, 1990). Simonato y col. (2002), al estudiar la disminución de la digestibilidad *in vitro* de la proteína en la corteza del pan, sugirieron que existe una disminución de la accesibilidad de las proteasas a su sitio de acción, debido a los agregados formados durante la reacción de Maillard.

Ensayos *in vitro* han comparado el efecto de los productos de la reacción de Maillard sobre la proteólisis de determinados oligopéptidos. Tras una digestión proteolítica, el contenido de metionina y lisina fue menor en presencia de productos de pardeamiento que en ausencia de los mismos (O'Brien y col., 1989).

Son pocos los ensayos realizados *in vivo* que muestre el efecto de la reacción de Maillard en la utilización de las proteínas y mucho más escasos en humanos. Un estudio realizado en adolescentes mostró un descenso de la digestibilidad de las proteínas cuando se consumieron dietas ricas en productos de la reacción de Maillard, respecto a otras pobres en productos de pardeamiento, aunque las diferencias no llegaron a ser significativas en el nitrógeno retenido, ni en la eficiencia de utilización del mismo tras el consumo de ambas dietas (Seiquer y col., 2006).

IV.4.1.7. Evolución de la bioaccesibilidad de Fe (%DFe), Zn (%DZn) y Ca (%DCa):

El %DFe se mantuvo aproximadamente constante durante los primeros 30 días de almacenamiento a temperaturas entre 5 y 30 °C. A los 60 días se observó una disminución marcada, incluso a 30 °C (Tabla IV.34). Además, en la Tabla IV.35 se puede observar que el %DFe fue afectado por el tiempo de almacenamiento, ya que presentó valores mayores al inicio que al resto de los tiempos evaluados y, por otro lado, también fue afectado por la temperatura de almacenamiento, mostrando valores menores a 30 y 45°C.

Al finalizar el estudio a los 90 días, se observó una disminución en el %DFe del 10,6 - 29,5 y 46,1% en las FEE almacenadas a 15, 30 y 45°C, respectivamente.

En la Figura IV.34 se muestra la evolución de los valores del %DFe durante el almacenamiento, a las diferentes temperaturas.

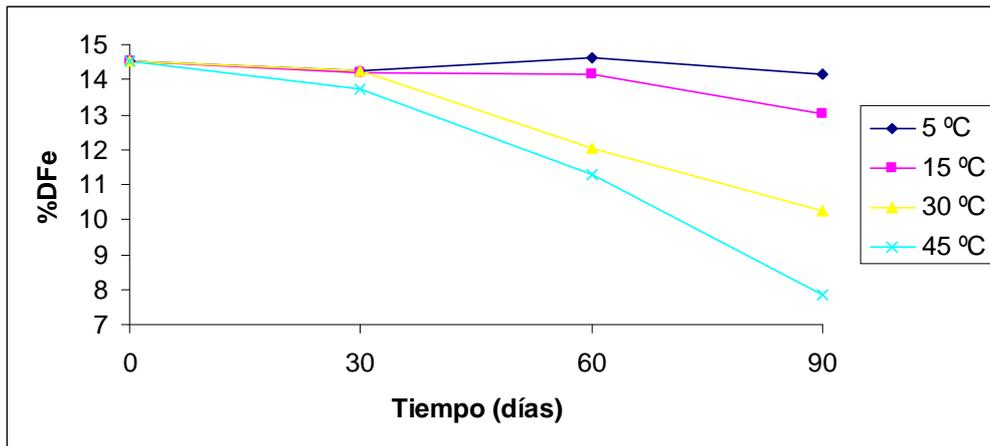


Figura IV.34: Evolución de la bioaccesibilidad de Fe (%DFe) la Fórmula Enteral Experimental selecta almacenada a 5, 15, 30 y 45 °C, durante 90 días.

Por otro lado, el %DZn mantuvo un valor constante durante los primeros 30 días de almacenamiento, a todas las temperaturas evaluadas. Luego mostró una disminución a los 60 días en las muestras almacenadas a 30 y 45°C (Tabla IV.34). Por otro lado, en la Tabla IV.35 se puede observar que el %DZn fue afectado tanto por el tiempo de almacenamiento (90 días), como por la temperatura (30 y 45°C).

Al finalizar el estudio, se observó una disminución de la %DZn del 16,8 y 23,3% en las muestras almacenadas a 30 y 45°C.

En la Figura IV.35 se muestra la evolución de los valores del %DZn durante el almacenamiento, a las diferentes temperaturas.

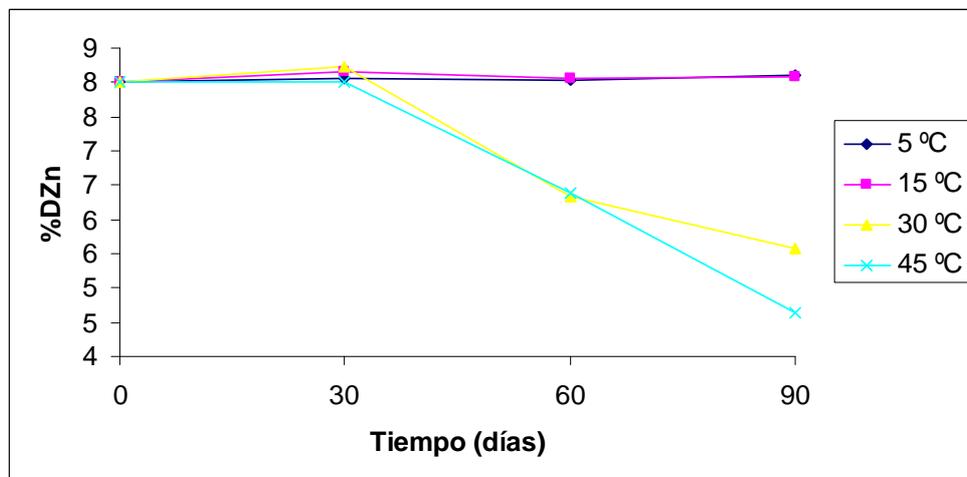


Figura IV.35: Evolución de la bioaccesibilidad de Zn (%DZn) la Fórmula Enteral Experimental selecta almacenada a 5, 15, 30 y 45 °C, durante 90 días.

Por último se evaluó el %DCa el cual mostró ser estable a todos los tiempos y temperaturas de almacenamiento (Tabla IV.34. y Tabla IV.35).

En la Figura IV.36 se muestra la evolución de los valores del %DCa durante el almacenamiento, a las diferentes temperaturas.

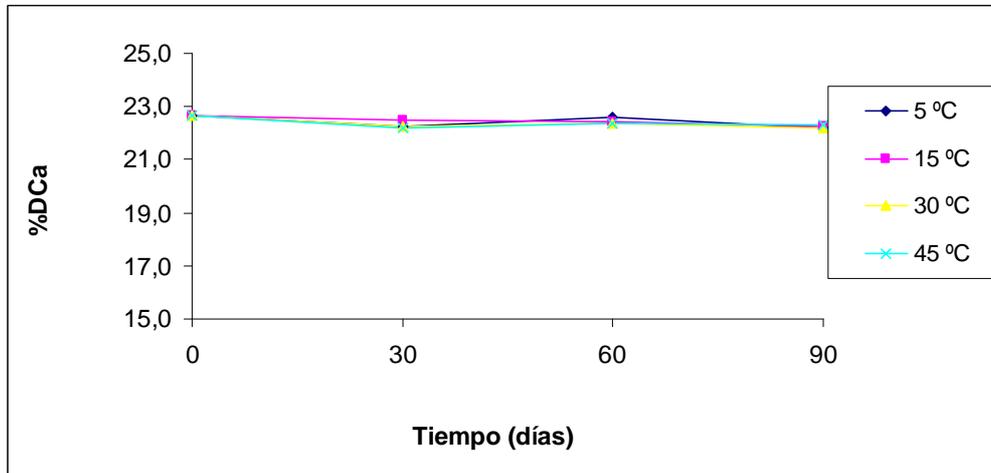


Figura IV.36: Evolución de la bioaccesibilidad de Ca (%DCa) la Fórmula Enteral Experimental selecta almacenada a 5, 15, 30 y 45 °C, durante 90 días.

En relación a los resultados obtenidos, García y col. (2009) plantearon que los productos de la reacción de Maillard pueden comportarse como agentes quelantes de cationes metálicos, formando complejos solubles e insolubles, que pueden interferir con la digestión y metabolismo de los minerales. La formación de complejos con los productos de la reacción de Maillard puede alterar la biodisponibilidad de los minerales (Navarro y col., 2000), por modificar su forma química (especie) en la comida o en el lumen intestinal, por alterar el proceso de absorción o por afectar su normal metabolismo y excreción (Navarro, 2003).

Ensayos *in vitro* utilizando células Caco-2 mostraron menor captación de Fe soluble a medida que aumentaba el contenido de productos derivados del pardeamiento (Delgado Andrade y col., 2004) y otros estudios demuestran este efecto con respecto al Zn (Hurrell, 1990).

Delgado Andrade (2006) estudió la influencia de la presencia de productos de pardeamiento sobre la solubilidad del Ca, demostrando que no alteran la solubilidad del mismo, en un sistema que simula las condiciones gastrointestinales. Estos datos concuerdan con los obtenidos por O'Brien y Morrissey (1997), quienes afirmaron que el Ca y el Mg

tienen menor afinidad por los productos de la reacción de Maillard que otros metales como Fe y Cu.

IV.4.2. Estimación de la vida útil de la FEE:

De los parámetros evaluados (color, A_w , AA, MDA, LD, %DP, %DFe, %DZn y %DCa) se determinó que la concentración de MDA, indicativo de la oxidación de lípidos, es la propiedad que permite estimar la vida útil de la FEE, ya que se observó un incremento notable de dicha parámetro en el período de almacenamiento y además, es el que mayor grado de variación presentó en estos ensayos.

Como se explicó en la introducción, el primer paso para calcular la VU con el método de Singh (1999) es obtener el valor de la pendiente k de la gráfica de decrecimiento porcentual del estimador de calidad, durante el período de almacenamiento a las temperaturas evaluadas, según el orden de reacción. Para ello, en primer lugar se debe determinar el valor que será considerado como una disminución aceptable del nivel de calidad (80 % de calidad remanente). En este caso, se seleccionó un valor de MDA de 800 $\mu\text{g/L}$, ya que con valores superiores se percibió olor rancio. Por otro lado, se consideró como 100% de calidad remanente al valor de MDA obtenido al inicio del estudio (278,57 $\mu\text{g/L}$). Con estos datos (80 y 100% de calidad remanente) se calcularon los valores del porcentaje de calidad remanente en todos los tiempos y temperaturas de almacenamiento evaluadas. Como se trató de una reacción de primer orden, en la Figura IV.37 se muestra el Ln del decrecimiento porcentual del estimador de calidad en función del tiempo, para cada temperatura de almacenamiento evaluada.

A continuación, se calcularon los valores de t_s teniendo en cuenta una pérdida de calidad del 20% y se graficó el $\ln(t_s)$ en función de la temperatura de almacenamiento. La pendiente constituye el valor de a , como se explicó detalladamente en la introducción.

Para calcular el tiempo de vida útil (t_s) a temperaturas diferentes de las evaluadas, se consideró como temperatura de referencia (T_0) 15°C y como tiempo de referencia 90 días, que fue el tiempo máximo evaluado a la temperatura más alta en cuyas condiciones se obtuvo un valor aceptable de calidad remanente.

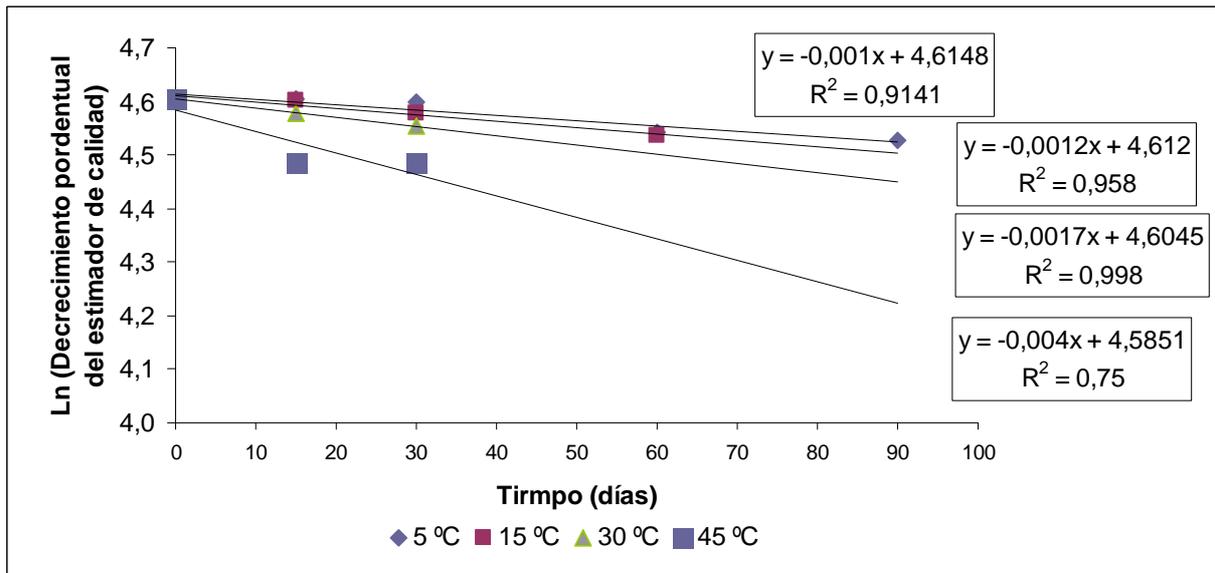


Figura IV.37: Pérdida de calidad por aumento del contenido de malondialdehído de la Fórmula Enteral Experimental selecta almacenada a 5, 15, 30 y 45 °C, durante 90 días.

Teniendo en cuenta estas consideraciones, los tiempos de VU calculados a diferentes T se muestran en la Tabla IV.37.

Tabla IV.37: Tiempo de vida útil (ts) la Fórmula Enteral Experimental selecta a diferentes temperaturas de almacenamiento.

Temperatura	
(°C)	ts (días)
5	126
10	107
15	90
20	76
25	64
30	54
35	46
40	39
45	33
50	27

Los tiempos obtenidos de VU son relativamente cortos debido a que el estudio se acotó a 90 días.

Por otra parte, la VU obtenida es menor que la declarada en las FEC. Un factor clave en esto es el tipo de envase utilizado en este estudio y aquel de las FEC. En general, estas FE se expenden en envases de hojalata sellados al vacío (las FEP) o en envases plásticos (botellas plásticas) en el caso de las FEL. El envase utilizado en este estudio fueron bolsas trilaminadas (térmicamente selladas) y fueron elegidas para evaluar un envase más económico que permitiera un mayor fraccionamiento, considerando la impermeabilidad al O₂ y al vapor de agua. Se realizó esta consideración, ya que uno de los problemas frecuentes en la alimentación hospitalaria es que una vez abierto el envase de la FE, ésta tiene una VU de sólo 3 semanas, se conservan en la cocina sin refrigeración y terminan deteriorándose. Un envase más económico permitiría un mayor fraccionamiento para evitar estas pérdidas innecesarias.

Por otra parte, este estudio debería completarse con la evaluación de la FEE a 15 °C por 24 meses, para proyectar otros resultados.

IV.4.3. Conclusiones parciales:

- El estudio de vida útil realizado permitió evaluar la evolución de distintos factores físico-químicos y nutricionales de la FEE selecta durante el tiempo de almacenamiento elegido (90 días) a cuatro temperaturas (5, 15, 30 y 45°C).
- En cuanto a los parámetros físicos, se pudo apreciar la aparición de color relacionado con la reacción de Maillard, a medida que aumentó el tiempo y temperatura de almacenamiento. Por otro lado, se observó un ligero aumento de la Aw en las muestras almacenadas a 5 y 15°C y una disminución, en las muestras almacenadas a 30 y 45 °C, lo que demuestra que los envases utilizados no fueron totalmente impermeables al vapor de agua.
- Las propiedades nutricionales evaluadas (AA, LD, DP, %DFe, %DZn y %DCa) en general presentaron una buena estabilidad entre 5 y 30 °C, durante el tiempo de almacenamiento evaluado, y se vieron más afectadas a 45°C.
- Con los datos obtenidos se pudo evaluar la cinética de reacción de deterioro o aparición de componentes producto de la oxidación lipídica y obtener los valores de

las E_a para AA, MD y LD, obteniéndose valores 81,25 KJ/mol, 34,85 kJ/mol 90 y 66 kJ/mol, respectivamente.

- La oxidación de lípidos fue el parámetro que más fue afectado durante el almacenamiento y por ese motivo fue seleccionado para calcular la VU del producto. Dicha VU fue relativamente corta, en comparación con la que presentan las FEC, lo que se debe principalmente a que se seleccionó un envase más económico, que tiene la principal ventaja de permitir un mayor fraccionamiento y evitar de esta manera que las FE se deterioren en las cocinas hospitalarias.

V. Conclusiones

V. CONCLUSIONES GENERALES:

Evaluación de fórmulas enterales comerciales

Se encontraron discrepancias entre los valores declarados en los rótulos de las FE comerciales y los valores determinados experimentalmente. Pese a ser fórmulas de uso general, un muy bajo porcentaje cumplió con las recomendaciones de la OMS en cuanto a la proporción de los macronutrientes. Por otro lado, la mayoría de las FEC cumplió con las recomendaciones en cuanto a su perfil de AG, pero sólo el 35% de las cumplieron con las recomendaciones, en cuanto a la relación de ácidos grasos n-6/n-3. Además, se hallaron valores elevados de oxidación de lípidos, lo que podría producir efectos negativos sobre la salud de los pacientes. Los valores de LD fueron bajos en general, y el 75% de las FE no alcanzó los valores de lisina recomendados por el CAA para alimentos de régimen (58 mg/g proteína). Las fuentes proteicas evaluadas por EF fueron las declaradas, pero en algunos casos dichas proteínas presentaron cierto grado de hidrólisis y por esto, no se observaron algunas fuentes proteicas declaradas. La bioaccesibilidad de minerales fue variable y en general resultó baja, lo cual se genera como resultado de múltiples interacciones en esta matriz alimentaria compleja que constituyen las FE. Globalmente, sólo se pudo establecer una correlación negativa entre %DFe y el contenido de Fe y Cu.

Las propiedades nutricionales alteradas de las FEC quizás sean el resultado de los procesos tecnológicos que se llevan a cabo durante la obtención de las mismas (pasteurización, esterilización, secado spray, etc). Por otro lado, las importantes diferencias encontradas entre los valores declarados y los obtenidos experimentalmente podrían llevar a estados de deficiencia (clínicos o sub-clínicos) en los pacientes, ya que los cálculos de ingestas se hacen en base a lo informado en los rótulos. Por otro lado, si bien todas las FE declaraban ser normocalóricas y normoproteicas, en algunos no resultó de esta manera, lo que podría llevar a una selección errónea de una formulación destinada a un paciente con necesidades nutricionales especiales.

Efecto de la inclusión de fórmulas enterales comerciales en distintas matrices alimentarias con diferentes procesos de cocción:

Las distintas matrices alimentarias en las cuales fueron incluidas las FE comerciales afectaron de modo diferente su bioaccesibilidad de Fe, Zn y Ca, ya que contienen promotores (vitamina C) e inhibidores (ácido fítico, taninos y polifenoles) de la absorción intestinal, pero

el efecto más claro sobre la bioaccesibilidad de minerales estuvo dado por el calentamiento de las FE durante el procesamiento de las preparaciones dulces (T y PC), actuando como depresor, posiblemente debido a la degradación de la vitamina C o a las interacciones entre los componentes de la matriz alimentaria. Por otro lado, las preparaciones que no involucraron un calentamiento de la FE (AL y LB) generaron un incremento en la bioaccesibilidad de minerales. Sin embargo, al analizar el AP de esos minerales en una porción de 200 g se pudo ver que las FE y las preparaciones en las que se incluyeron no hacen un buen aporte de los minerales analizados, según las recomendaciones.

A partir de estos resultados, surge la recomendación de evitar incluir a las FE en preparaciones que involucren el calentamiento de las mismas, para que puedan cumplir plenamente con su objetivo, que es evitar la malnutrición y promover la recuperación de los pacientes que requieren soporte nutricional.

Desarrollo de formulaciones experimentales

Al desarrollar las FEE, se observó que los distintos componentes de las mismas afectaron de manera diferente las propiedades nutricionales, pero en todos los casos resultaron mejores que los hallados previamente para las FEC. El contenido de Ca mostró una relación directamente proporcional con el %DCa, por lo cual el citrato de calcio podría constituir una adecuada fuente de fortificación para las FE. El contenido de APS mostró una relación inversamente proporcional tanto con la bioaccesibilidad mineral como con la %DP, probablemente debido al contenido de ácido fítico y de inhibidor de la actividad de tripsina. El contenido de Px produjo una disminución del %DFe y %DZn, cuando las FEE contenían APS y WPC como fuentes proteicas, pero no se observaron efectos cuando la fuente proteica fue C, probablemente debido a interacciones físico-químicas muy complejas que se establecen entre los componentes de las fórmulas. Además, al tratarse de estudios *in vitro*, no se pueden observar los efectos de la fibra a nivel del colon. Por otro lado, las FEE con WPC mostraron valores más elevados de %DFe y %DZn y las FEE con fuentes proteicas de origen animal (WPC y C), mostraron valores más elevados de %DP, en comparación con las FEE con fuente proteica de origen vegetal (APS). Por otra parte, la bioaccesibilidad mineral y %DP aumentó en las FEE con proteínas hidrolizadas, a excepción de WPC, donde la %DP no se modificó, porque ya era del 100%. También se observó una disminución de los valores de LD en las FEE oligoméricas, en comparación con las poliméricas.

Al evaluar las tres fuentes de fortificación de Fe, en las FEE con las tres fuentes proteicas en estudio, se observó que cuando se utilizó FeNaEDTA, se produjo un aumento del %DFe, para las tres fuentes proteicas estudiadas, con respecto a las FEE que estaban fortificadas con sulfato ferroso y bisglicinato ferroso. También se observó un aumento del %DZn en las FE con APS y WPC, cuando las FE estaban fortificadas con FeNaEDTA, y no se observaron diferencias para el %DCa con ninguna de las fuentes proteicas estudiadas. Tampoco se hallaron diferencias en la bioaccesibilidad de minerales al usar sulfato ferroso o bisglicinato ferroso.

La FEE seleccionada mostró ser apta para el consumo, desde el punto de vista microbiológico, ya que cumplió con las exigencias del CAA y por otro lado, demostró tener propiedades físico químicas adecuadas, que permiten disminuir la incidencia de complicaciones, tales como el taponamiento de las sondas. Cuando se incluyó la FEE selecta en las distintas preparaciones culinarias, se encontró que las preparaciones culinarias que involucraron el calentamiento de la fórmula (PC, T y G), produjeron una disminución del %DFe y %DZn, de manera similar a lo hallado previamente en las FE comerciales. En cuanto a las nuevas preparaciones evaluadas, el JN y JM aumentaron el %DFe y %DZn, la G produjo una disminución y el PP no mostró diferencias. El AP de minerales de una porción de las 8 preparaciones evaluadas resultó elevado y aceptable para contribuir a evitar el desarrollo de carencias en los pacientes.

Estudio de la vida útil de la formulación seleccionada

Al evaluar la evolución de diferentes factores físico-químicos y nutricionales en la FEE selecta, durante 90 días de almacenamiento a cuatro temperaturas (5, 15, 30 y 45°C), se pudo observar que las propiedades nutricionales (AA, LD, DP, %DFe, %DZn y %DCa) en general presentaron una buena estabilidad entre 5 y 30 °C, durante el tiempo de almacenamiento evaluado, y se vieron más afectadas a 45°C. Esto resulta muy importante ya que, como se mencionó anteriormente, dichas formulaciones están destinadas a una población vulnerable desde el punto de vista nutricional.

Por otro lado, en cuanto a las propiedades físicas, se pudo apreciar una ligera modificación de la Aw durante el almacenamiento a las diferentes temperaturas, lo que estaría indicando que los envases utilizados no fueron totalmente impermeables al agua. Además, se

pudo apreciar la aparición de color relacionado con la reacción de Maillard a medida que aumentó el tiempo y temperatura de almacenamiento.

Por último, la oxidación de lípidos fue el parámetro que más fue afectado durante el presente estudio, y por ese motivo fue seleccionado para calcular la VU del producto. Dicha VU fue relativamente corta, en comparación con la que presentan las FEC, lo que se debe principalmente a que se seleccionó un envase más económico, que tiene la principal ventaja de permitir un mayor fraccionamiento y evitar de esta manera que las FE se deterioren en las cocinas hospitalarias.

VI. Bibliografía

VI. BIBLIOGRAFÍA:

- A.O.A.C. (1990) Method 986.11 - Phytate in foods. Ed. AOAC official methods of analysis (15th ed.). Arlington (VA), USA.
- A.O.A.C. (1993). Method 931.01- Methods of Analysis for Nutrition Labelling. Ed. Sullivan DM, Carpenter DE. cap 26, 331-365
- A.O.A.C. (2002). Official Methods of Analysis, (17th ed.), Horowitz, Washigton DC, USA.
- Abdel-Lah Mohamed, A.; Abdel-Lah Fernández, O.; Sánchez Fernández, J.; Pina Arroyo, J.; y Gómez Alonso, A. (2006) Vías de acceso quirúrgico en nutrición enteral. *Cir. Esp.* 79(6): 331-341.
- Adams, M.R.; Golden, D.L.; Franke, A.A.; Potter, S.M.; Smith, H.S. y Anthony M.S. (2004) Dietary soy beta-conglycinin (7S globulin) inhibits atherosclerosis in mice. *J. Nutr.* 134: 511-516.
- Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT). Disposición 7333/99. Especialidades Medicinales. B.O. 30/12/99. On Line: http://www.anmat.gov.ar/Legislacion/Alimentos/Disposicion_ANMAT_7333-1999.pdf
- Almansa, I.; Miranda, M.; Jareño, E.; y Silvestre, D. (2013) Lipid peroxidation in infant formulas: Longitudinal study at different storage temperatures. *Int. Dairy J.* 33(1): 83-87.
- Alpers, D.H. (2002) Enteral feeding and gut atrophy. *Cur. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 5: 679-683.
- Als-Nielsen, A.; Korentz, R.L.; Kjaergard, L.L. y Glaud, C. (2004) Branched-chain amino acids for hepatic encephalopathy (Cochrane Review) John Wiley and Sons, Chichester, UK .
- Álvarez Hernández, J.; Peláez Torres, N. y Muñoz Jiménez, A. (2006) Utilización clínica de la Nutrición Enteral. *Nutr. Hosp.* 21(2): 87-99.
- Álvarez. J. y Requena, T. (2000) Ética clínica y soporte nutricional. *Nutr. Hosp.* 15(1): 41-48.
- Anderson, K.R.; Norris, D.J.; Godfrey, L.B.; Avent, K.C. y Butterworth, C.E. (1984) Bacterial contamination of tube-feeding formulas. *J. Parent. Eent. Nutr.* 8(6): 673-8.
- Andrews, N.C. (2005) Molecular control of iron metabolism. *Best. Pract. Res. Cl. Ha.* 18(2): 159-169.

- Angulo, A.J.; Romera, J.M.; Ramirez, M. y Gil, A. (1998) Effect of storage conditions on lipid oxidation in infant formulas based on several protein sources. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 75(11): 1603-1607.
- Araújo, E.M. y Menezes, H.C. (2005) Composição centesimal, lisina disponível e digestibilidade in vitro de proteínas de fórmulas para nutrição oral ou enteral. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 25(4): 768-771.
- Araújo, E.M. y Menezes, H.C. (2006) Formulações con alimentos convencionales para nutrição oral o enteral. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 26(3): 533-538.
- Arenas Márquez, H. y Anaya Prado, R. (2007) Nutrición enteral y parenteral. McGraw-Hill Interamericana, Santa Fe, México.
- Armstrong, W.B.; Wan, X.S.; Kennedy, A.R.; Taylor, T.H. y Meyskens, F.L. (2003) Development of the Bowman-Birk inhibitor for oral cancer chemoprevention and analysis of Neu immunohistochemical staining intensity with Bowman-Birk inhibitor concentrate treatment. *Laryngoscope* 113: 1687-1702.
- Arredondo, M. y Nunez, M.T. (2005) Iron and copper metabolism. *Mol. Aspects. Med.* 26(4-5) :313-327.
- Arrese, E.L.; Sorgentini, D.A.; Wagner, J.R. y Anon, M.C. (1991). Electrophoretic, solubility and functional properties of commercial soy protein isolates. *Journal of Agricultural and Food Chem.* 39(6): 1029-1032.
- Atzingen, M.C. y Silva, M.E.. (2007) Desenvolvimento e análise de custo de dietas enterais artesanais à base de hidrolisado protéico de carne. *Rev. Bras. Nutr. Clín.* 22(3): 210-213.
- Badui Dergal, S. (2006) Química de los alimentos. Alhambra Mexicana S.A., Ciudad de México, D.F., México.
- Baech, S.B.; Hansen, M. y Bukhave, K. (2003) Nonheme-iron absorption from a phytate-rich meal is increased by the addition of small amounts of pork meat. *Am. J. Clin. Nutr.* 77: 173-179.
- Baéz, R.; Rojas, G.; Sandoval-Guillén, J. y Valdivia-López, M.Á. (2012) Effect of storage temperature on the chemical stability of enteral formula. *Adv. J. Food Sci. Technol.* 4(5): 235-242.

- Barberá, R. y Farré, R. (1992) Biodisponibilidad de los elementos traza. Rev. Esp. Cienc. Tecnol. Aliment. 32(4): 381-399.
- Barron, J. (1959) Tube feeding of post-operative patients. Surg. Clin. N. Am. 39: 1481-1491.
- Behall, K.; Scholfield, D.; Lee, K.; Powell, A. y Moser, P. (1987) Mineral balance in adult men: effect of four refined fibers. Am. J. Clin. Nutr. 46(2): 307-314.
- Behrens, W.A. y Madère, R. (1987) A highly sensitive high-performance liquid chromatography method for the estimation of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in tissues, biological fluids and foods. Anal. Biochem. 165(1): 102-107.
- Bengmark, S. (2003) Modulation by enteral nutrition of the acute phase response and immune functions. Nutr. Hosp. 18(1):1-5.
- Bengmark, S. y Ortiz de Urbina, J.J. (2004) Nutrición enteral: pasado y futuro. Nutr. Hosp. 19(2): 110-120.
- Benito, P. y Miller, D. (1998) Iron absorption and bioavailability: An updated review. Nutr. Res. 18(3): 581-603.
- Berganza, B.F.; Moran, A.W.; Rodríguez, G.; Coto, N.M.; Santa María, M. y Bressani, R. (2003) Effect of variety and location on the total fat, fatty acids and squalene content of amaranth. Plant Food Hum. Nutr. 58(3): 1-6.
- Binaghi, M.J.; Baroni, A.; Greco, C.; Ronayne de Ferrer, P.A. y Valencia, M. (2002) Estimación de proteína potencialmente utilizable en fórmulas infantiles de inicio para neonatos prematuros y de término. Arch. Latinoam. Nutr. 52(1): 43-47.
- Binaghi, M.; López, L.; Ronayne de Ferrer, P. y Valencia, M. (2007) Evaluación de la influencia de distintos componentes de la dieta sobre la biodisponibilidad potencial de minerales en alimentos complementarios. Rev. Chil. Nutr. 34(1): 56-60.
- Binaghi, M.J.; Cagnasso, C.E.; Pellegrino, N.R.; Drago, S.R.; González, R.; Ronayne, P.A. y Valencia, M.E. (2011) Disponibilidad potencial *in vitro* de hierro y zinc en una dieta infantil con pan fortificado con distintas fuentes de hierro o con agregado de promotores de la absorción. Arch. Latinoam. Nutr. 61(3): 316-322.
- Bjorck, I.; Asp, N.G. y Dahlgvist, A. (1984) Protein nutritional value of extrusion-cooked wheat flours. Food Chem. 15(3): 203-214.

- Blatt, A.H. (1957) *Synthesis Organic*. Editorial John Wiley & SONS, INC, New-York. USA, p. 165-654.
- Bohn, T.; Davidsson, L.; Walczyk, T. y Hurrell, R.F. (2004) Phytic acid added to white-wheat bread inhibits fractional apparent magnesium absorption in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 79(3): 418-423.
- Boldt, D.H. (1999) New perspectives on iron: an introduction. *Am. J. Med. Sci.* 318(4): 207-212.
- Bongersa, A. y Van den Heuvela, E. (2003) Prebiotics and the bioavailability of minerals and trace elements. *Food Rev. Int.* 19(4): 397-422,
- Booth, V.H. (1971) Problems in the determination of FDNB-available lysine. *J. Sci Food Agric.* 22(12): 658-666.
- Bosch, L.; Alegría, A.; Farré, R. y Clemente, G. (2007) Fluorescence and color as markers for the Maillard reaction in milk–cereal based infant foods during storage. *Food Chem.* 105(3): 1135-1143.
- Bothwell, T.H. y Macphail, A.P. (2004) The potential role of NaFeEDTA as an iron fortificant. *Int. J. Vit. Nutr. Res.* 74(6): 421-434.
- Bovell-Benjamin, A.C.; Viteri, F.E. y Allen, L.H. (2000) Iron absorption from ferrous bisglycinate and ferric trisglycinate in whole maize is regulated by iron status. *Am. J. Clin. Nutr.* 71(6): 1563-1569.
- Bowman, B.A. y Rusell, R.M. (2003) *Conocimientos Actuales sobre Nutrición* (8° ed). Organización Panamericana de la Salud, Washinton DC, USA.
- Briceño, J. y Navas, P. (2005) Comparación de las características químicas, físicas y perfil de ácidos grasos de los aceites de seje, oliva, maíz y soja. *Rev. Fac. Agron.* 31(3): 109-119.
- Brody, A.L. (2003) Predicting packaged food shelf life. *Food Technol.* 57(4): 100-102.
- Bronner, F. y Pansu, D. (1999) Nutritional aspects of calcium absorption. *J. Nutr.* 129(1): 9-12.
- Bronner, F. (2009) Recent developments in intestinal calcium absorption. *Nutr. Rev.* 67(2): 109-113.

- Brown, R.C.; Klein, A.; Simmons, W. y Hurrell, R. (1990) The Influence of Jamaican herb teas and other polyphenol-containing beverages on iron absorption in the rat. *Nutr. Res.* 10(3): 343-353.
- Bueno, L. (2008) Efeito do triglicérido de cadeia média, fibra e cálcio na disponibilidade de ferro, magnésio e zinco em uma formulação de alimentação enteral com otimização conjunta para os três minerais. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 28(1): 125-134.
- Bueno, L. (2012) Synergism between iron and magnesium in enteral feeding formulation optimized for the availability of minerals by response surface methodology. *Int. J. Food Sci. Nutr. Eng.* 2(3): 33-38.
- Bulut Solak, B. y Akin, N. (2012) Functionality of whey protein. *Int. J. Health Nutr.* 3(1): 1-7.
- Burdurlu, H.S.; Koca, N. y Karadeniz, F. (2006) Degradation of vitamin C in citrus juice concentrates during storage. *J. Food Eng.* 74(2): 211-216.
- Burrin, D.G.; Stoli, B.; Chang, X.; Van Goudoever, J.V.; Fujii, H.; Hutson, S.M. y Reed, P.J. (2003) Parenteral nutrition results in impaired lactose digestion and hexose absorption when enteral feeding is initiated in infant pigs. *Am. J. Clin. Nutr.* 78(3): 461-470.
- Cabre, E.; Gassull, M.A. y Buchman, A.L. (2006) Complications of enteral nutrition. En: *Clinical nutrition in gastrointestinal disease* (Ed. Alan Buchman) Slack Incorporated, Thorofare, USA, p. 475-484.
- Cagnasso, C.E.; López, L.B.; Rodríguez, V.G. y Valencia, M.E. (2007) Estimación de la ingesta potencial de ácido etilendiaminoacético en niños y adolescentes argentinos, influencia de la fortificación de cereales para desayuno con sal férrica de este ácido. *Rev. Chil. Nutr.* 34(2): 143-149.
- Cagnasso, C.E.; López, L.B.; Binaghi, M.J.; Pellegrino, N.R. y Valencia, M.E. (2010a) Dializabilidad de hierro y zinc en cereales para desayunos comerciales fortificados con hierro elemental, sulfato ferroso o EDTA ferrico sodico. *Rev. Chil. Nutr.* 37(2): 138-144.
- Cagnasso, C.E.; Lopez, L.B. y Valencia, M.E. (2010b) Sales del ácido etilendiaminotetraacético: una alternativa en la fortificación de alimentos con hierro. *Actualización en Nutrición* 11(2): 140-148.

- Calderón, A.; Bolaños, A. y Román, R. (1996) Composición de proteínas de los sucedáneos de la leche materna más utilizados y su regulación sanitaria. *Salud Públ. Méx.* 38(4): 268-275.
- Carpenter, K. J. (1960) The estimation of available lysine in animal protein foods. *Biochem. J.* 77(3): 604-610.
- Cashman, K. (2003) Prebiotics and calcium bioavailability. *Curr. Iss. Intest. Microbiol.* 4(1): 21-32.
- Castillo, G.; Ángeles Sanz, M.; Ángeles Serrano, M. y Hernández, A. (2002). Influence of protein source, type, and concentration, and product form on the protein quality of commercial enteral formulas. *J. Food Sci.* 67(1): 328-334.
- Cervera, P.; Clapés, J. y Rigolfas, R. (1999) *Alimentación y Dietoterapia* (3ra Ed.) McGraw-Hill Interamericana. Madrid, España, p. 347-353.
- Cesa, S. (2004) Malondialdehyde contents in infant milk formulas. *J. Agric. Food Chem.* 52(7): 2119-2122.
- Champagne, E.T. y Hinojosa, O. (1987) Independent and mutual interactions of copper (II) and zinc (II) ions with phytic acid. *J. Inorg. Biochem.* 30(1): 15-33.
- Charm, S.E. (2007) Food engineering applied to accommodate food regulations, quality and testing. *Alimentos Ciencia e Ingeniería* 16(1): 5-8.
- Choudhry, U.; Barde, C.J.; Markert, R. y Gopalswamy, N. (1996) Percutaneous endoscopic gastrostomy: a randomized prospective comparison of early and delayed feeding. *Gastrointest. Endosc.* 44(1): 164-167.
- Código Alimentario Argentino (CAA). Capítulo V: Normas para la rotulación y publicidad de los alimentos. On Line: http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/Capitulo_V.pdf
- Código Alimentario Argentino (CAA). Capítulo XVII: Alimentos de régimen o dietéticos. Artículo 1340 - (Res 1505, 10.08.88). On Line: http://www.msal.gov.ar/argentina-saludable/pdf/CAPITULO_XVII.pdf
- Collado Hernández, C.M. y Pérez Núñez, V. (2013) Aspectos básicos de la nutrición enteral en el paciente quemado. *Rev. Cubana Cir.* 52(4): 332-341.
- Cook, J.D.; Dassenko, S.A. y Whittaker, P. (1991) Calcium supplementation: effect on iron absorption. *Am. J. Clin. Nutr.* 53(1): 106-111.

- Cook, J.D. y Reddy, M.B. (2001) Effect of ascorbic acid intake on non heme-iron absorption from a complete diet. *Am. J. Clin. Nutr.* 73(1): 93-98.
- Cordano, A. (1998) Clinical manifestations of nutritional copper deficiency in infants and children. *Am. J. Clin. Nutr.* 67(5): 1012S-1016.
- Costa, R.L. y Summa, M.A. (2000) Soy protein in the management of hyperlipidemia. *Ann. Pharmacother.* 34(7-8): 931-935.
- Coudray, C.; Rambeau, M.; Feillet-Coudray, C.; Gueux, E.; Tressol, J.C.; Mazur, A. y Rayssiguier, Y. (2005) Study of magnesium bioavailability from ten organic and inorganic Mg salts in Mg-depleted rats using a stable isotope approach. *Magnesium Res.* 18(4): 215-223.
- Culver, C.A. y Swaisgood H.E. (1989) Changes in the digestibility of dry casein and glucose mixtures occurring during storage at different temperatures and water activities. *J. Dairy Sci.* 72(11): 2916-2920.
- Cummings, J.H. y Macfarlane G.T. (1997) Role of intestinal bacteria in nutrient metabolism. *J. Parent. Ent. Nutr.* 21(6): 357-365.
- Cúneo, F.; Farfan, J.A. y Carraro, F. (2000) Distribuição dos fitatos em farelo de arroz estabilizado e tratado com fitase exógena. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 20(1): 94-98.
- Daddaoua, A.; Puerta, V.; Zarzuelo, A.; Suárez, M.D.; de Medina, F.S. y Martínez-Augustin, O. (2005) Bovine glycomacropeptide is anti-inflammatory in rats with hapten-induced colitis. *J. Nutr.* 135(5):1164-1170.
- Davidsson, L.; Galan, P.; Kastenmayer, P.; Cherouvrier, F.; Juillerat, M.A; Hercberg, S. y Hurrell, R.F. (1994) Iron bioavailability studied in infants: the influence of phytic acid and ascorbic acid in infant formulas based on soy isolate. *Ped. Res.* 36(6): 816- 822.
- Davila, M.; Sangronis, E. y Granito, M. (2003) Leguminosas germinadas o fermentadas: alimentos o ingredientes de alimentos funcionales. *Arch. Latinoam. Nutr.* 53(4): 348-354.
- Davis, G.K. y Mertz, W. (1987) *Trace Elements in Human and Animal Nutrition* (5th Ed.). Academia Press, Orlando, USA.

- Dawson-Hughes, B.; Seligson, F.H. y Hughes, V.A. (1986) Effects of calcium carbonate and hydroxyapatite on zinc and iron retention in postmenopausal women. *Am. J. Clin. Nutr.* 44(1): 83-88.
- De Luis, D.; Aller, R. y Izaola, O. (2006) Algoritmo de utilización de formulas de nutrición enteral. *Endocrinol. Nutr.* 53(5): 290-295.
- De Luis, D. y Bustamante, J. (2008) Aspectos nutricionales en la insuficiencia renal. *Nefrología* 28(3): 1-3.
- De Oliveira Calheiros, K.O. y Cannlatti-Brazaca, S.G. (2011) Disponibilidade de ferro, digestibilidade de proteína e teor de β -caroteno em formulados alternativos de baixo custo para alimentação enteral de idosos. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 31(1): 41-55.
- De Vos, S. y De Schrijver, R. (2003) Lipid metabolism, intestinal fermentation and mineral absorption in rats consuming black tea. *Nutr. Res.* 23(4): 527-537.
- Del Olmo, D.; Martínez, P.; Koning, M.A.; Calañas, A. y Vázquez, A. (1997) Fórmulas enterales: clasificación, criterios de selección. *Endocrinol. Nutr.* 44 (2): 23-31.
- Del Olmo, D.; Koning, M.A.; López, T.; Alcázar, V.; Martínez de Icaya, P. y Vázquez, C. (2002) Utilización de las fórmulas de nutrición enteral. Recomendaciones basadas en la evidencia. *Endocrinol. Nutr.* 49(2): 9-14.
- Del Olmo, D.; López del Val, T.; Martínez de Icaya, P.; De Juana, P.; Alcázar, V. y Koning, A. (2004) La fibra en nutrición enteral: revisión sistemática de la literatura. *Nutr. Hosp.* 19(3): 167-174.
- Del Olmo, D. y Koning, M.A. (2005) Productos dietéticos para usos nutricionales específicos. En: *Tratado de Nutrición, Tomo IV. Nutrición Clínica* (Ed: Gil, A.) Acción Médica, Madrid, España, p. 52-86.
- Delegge, M.H.; Duckworth, P.F.; Mchenry, L.; Foxx-Orenstein, A.; Craig, R.M. y Kirby, D.F. (1995) Percutaneous endoscopic gastrojejunostomy: a dual center safety and efficacy trial. *J. Parent. Ent. Nutr.* 19(3): 239-243.
- Delgado Andrade, C.; Seiquer, I.; Nieto, R. y Navarro, M.P. (2004) Effects of heated glucose-lysine and glucose-methionine model-systems on mineral solubility. *Food Chem.* 87(3): 329-337.

- Delgado Andrade, C.; Seiquer, I. y Navarro, M.P. (2006) Changes in calcium absorption and subsequent tissue distribution induced by Maillard reaction products: *in vitro* and *in vivo* assays. *J. Sci. Food Agric.* 86(2): 271–278.
- Desrosiers, T.; Savoie, L.; Bergeron, G. y Parent, G. (1989) Estimation of lysine damage in heated whey proteins by furosine determinations in conjunction with the digestion cell technique. *J. Agric. Food Chem.* 37(5): 1385-1391.
- Dewell, A.; Hollenbeck, P.L. y Hollenbeck, C.B. (2006) A critical evaluation of the role of soy protein and isoflavone supplementation in the control of plasma cholesterol concentrations. *J. Clin. Endocrin. Metab.* 91(3): 772-780.
- Dhuique Mayer, C.; Tbatou, M.; Carail, M.; Caris-Veyrat, C.; Dornier, M. y Amiot, M.J. (2007) Thermal degradation of antioxidant micronutrients in citrus juice: kinetics and newly formed compounds. *J. Agric. Food Chem.* 55(10): 4209-4216.
- Dittmann, K.H.; Mayer, C. y Rodemann, H.P. (2003) Radioprotection of normal tissue to improve radiotherapy: the effect of the Bowman Birk protease inhibitor. *Curr. Med. Chem. Anticancer. Agents.* 3(5): 360-363.
- Donovan, S.M. y Lönnerdal, B. (1989) Non-protein nitrogen and true protein in infant formulas. *Acta Paediatr. Scand.* 78(4): 497-504.
- Dooley, P.; Zhang, M.; Korbel, G.A.; Nechev L.V.; Harris, C.M.; Stone, M.P. y Harris, T.M. (2003) NMR determination of the conformation of a trimethylene interstrand cross-link in a oligodeoxynucleotide duplex containing a 5-d(GpC) motif. *J. Am. Chem. Soc.* 125(1): 62-72.
- Dos Santos, E.; Hitomi, K.; Haraújo, M.; Ouwehand, A.; Andreollo N. y Miyasaca C. (2009) Partial gastrectomy associated to anterior truncal vagotomy: alteration en metabolism of the calcium experimental study in rats. *Arq. Bras. Cir. Dig.* 22(2): 105-159.
- Drago, S.R. y Valencia, M.E. (2002) Effect of fermentation on iron, zinc, and calcium availability from iron-fortified dairy products. *J. Food Sci.* 67(8): 3130-3134.
- Drago, S.R y Valencia, M.E. (2004) Influence of components of infant formulas on *in vitro* iron, zinc, and calcium availability. *J. Agric. Food Chem.* 52(10): 3202-3207.
- Drago, S.R.; Binaghi, M.J.; Ronayne de Ferrer, P.A. y Valencia, M.E. (2005) Assessment of iron, zinc and calcium dialyzability in infant formulas and iron fortified milks. En: *Food*

- Research, Safety and Policies (Ed Riley A.P.), Nova Science Publishers Inc, Hauppauge NY, p. 113-132.
- Drago, S.R. y Valencia, M.E. (2008) Mineral dialyzability in milk and fermented dairy products fortified with FeNaEDTA. *J. Agric. Food Chem.* 56(8): 2553-2557.
- Draper, H.H.; McGirr, L.C. y Hadley, M. (1986) The metabolism of malondialdehyde. *Lipids* 21(4): 305-307.
- Dudley, M.A.; Wykes, L.J.; Dudley, A.W.; Burrin, D.G.; Nichols, B.L.; Rosemberger, J.; Jahoor, F.; William, C.H. y Peter, J.R. (1998) Parenteral nutrition selectively decreases protein synthesis in the small intestine. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol.* 247(1): 131-137.
- Duggan, C.; Watkins, J. y Walker, A. (2008) Standard and specialized enteral formulas. En: *Nutrition in Pediatrics Basic Science, Clinical Applications* (Ed. Decker, B.C.) Hamilton, Ontario, Canada, p. 757-764.
- Duurán Prada, K.L. (2012) Gastrostomía en la nutrición enteral domiciliaria. *Rev. Gastrohnp.* 14(2): 77-82
- Durán Prada, K.L. (2013) Fórmulas recomendadas para nutrición enteral domiciliaria. *Rev. Gastrohnp.* 15(1): 33-40.
- Ekmekcioglu, C. (2000) Intestinal bioavailability of mineral and trace elements from milk and beverages in human. *Nahrung.* 44(6): 390-397.
- Elia, M.; Goren, A.; Behrens, R.; Barber, R.W. y Neale, G. (1987) Effect of total starvation and very low caloric diet on intestinal permeability in man. *Clin. Sci.* 73(1): 205-210.
- Elia, M.; Ceriello, A.; Laube, H.; Sinclair, A.J.; Engeer, M. y Stratton, R. (2005) Enteral nutrition support and use of diabetes-specific formulas for patients with diabetes. A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care* 28(9): 2267-2279.
- Engel, J.M.; Muhling, J. Junger, A.; Menges, T.; Karcher, B. y Hempelmann, G. (2003) Enteral nutrition practice in surgical intensive care unit: what portion of energy expenditure is delivered enterally? *Clin. Nutr.* 22(2): 187-192.
- Englyst, H.N.; Quigley M.E. y Hudson G.J. (1995). Definition and measurement of dietary fibre, *Eur. J. Clin. Nutr.* 49(3): 48-62.

- Erbersdobler, H.F. y Hupe, A. (1991) Determination of lysine damage and calculation of lysine bioavailability in several processed foods. *Z. Ernährungswiss.* 30(1): 46- 49.
- Escudero Álvarez, E. y González Sánchez, P. (2006) Fibra dietética. *Nutr. Hosp.* 21(2): 60-71, 61-72.
- Espín, N.V.; Sánchez, M.B.; Ros, A.I.; Hernández, M.N.; Valverde, F.M.; Ramos, M.J. y Álvarez, C.S. (2010) Estudio comparativo de dos dietas enterales en ancianos hospitalizados: proteína de soja frente a proteína caseína. *Nutr. Hosp.* 25(4): 610-612.
- Fairweather-Tait, S.J. (1992) Bioavailability of trace elements. *Food Chem.* 43(3): 213-217.
- Fairweather-Tait, S.J. (1995) Iron-zinc and calcium-Fe interactions in relation to Zn and Fe absorption. *Proc. Nutr. Soc.* 54(2): 465-473.
- Falcón, M.F.; Barrón, J.M.; Romero, A.L. y Domínguez, M.F. (2011) Efecto adverso en la calidad proteica de los alimentos de dietas con alto contenido de fibra. *Rev. Chil. Nutr.* 38(3): 369-375.
- Fallis, L.S. y Barron, J. (1952) Gastric and jejunal alimentation with fine polyethylene tubes. *Arch. Surg.* 65(3): 373-381.
- FAO/WHO: Human vitamin and mineral requirements. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation Bangkok, Thailand. Rome. On Line: <http://www.fao.org/docrep/004/y2809e/y2809e00.htm>, 2002
- Feillet-Coudray, C. y Coudray, C. (2005) The stable isotope use in the exploration of bioavailability and metabolism of magnesium. *Curr. Nutr. Food Sci.* 1(1): 63-70.
- Finot, P.A. (1983) Chemical modifications of the milk proteins during processing and storage. Nutritional, metabolic and physiological consequences. *Kieler. Milchw. Forsch.* 35(3): 357-369.
- Finot, P.A. (2005) Historical perspective of the Maillard reaction in food science. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1043(1): 1-8.
- Folch, J.; Lees, M. y Sloane-Stanley, G.H.S. (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226 (1): 497-509.
- Fomon, S.J.; Siegler, E.E.; Nelson, S.E. y Frantz, J.A. (1995) What is the safe protein-energy ratio from infant formula? *Am. J. Clin. Nutr.* 62(2): 358-363.

- Fontana, A.J.; Howard, L.; Cridle, R.S. y Wilhelmsen, E. (1993) Kinetics of deterioration of pineapple concentrated. *J. Food Sci.* 58(6): 1411 - 1417.
- Forbes, A.; Adams, C.; Arnaud, M.; Chichester, C.; Cook, J, Harrison, B.; Hurrell, R.F.; Kahn, S.G.; Morris, E.R.; Tanner, J.T. y Whittaker, P. (1989) Comparison of *in vitro*, animal and clinical determinations of iron bioavailability: International Nutritional Anemia Consultative Group Task Force report on iron bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.* 49(2): 225-238.
- Foutch, G. (1999) Complications of percutaneous endoscopic gastrostomy and jejunostomy. *Gastrointest. Endosc. Clin. North. Am.* 2(1) :231-248.
- Fox, T.E.; Eagles, J. y Fairweather-Tait, S.J. (1998) Bioavailability of iron glycine as a fortificant in infant foods. *Am. J. Clin. Nutr.* 67(4): 664-668.
- Frías, J. y Vidal-Valverde, C. (2001) Stability of thiamine and vitamins E and A during storage of enteral feeding formula. *J. Agric. Food Chem.* 49(5): 2313-2317.
- Friedman, M. y Brandon, D.L. (2001) Nutritional and health benefits of soy proteins. *J. Agric. Food Chem.* 49(3): 1069-1086.
- Frontela, C.; Ros, G. y Martínez, C. (2008) Empleo de fitasas como ingrediente funcional en alimentos. *Arch. Latinoam. Nutr.* 58(3): 215-220.
- Fuqua, B.K.; Vulpe, C.D. y Anderson, G.J. (2012) Intestinal iron absorption. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 26(2): 115-119.
- Gaitán, D.C.; Olivares, M.G.; Arredondo, M.O. y Pizarro, F.A. (2006) Biodisponibilidad de hierro en humanos. *Rev. Chil. Nutr.* 33(2): 142-148.
- Galán, M.G.; Cagnasso, C.E. y Drago S.R. (2012) Study of EDTA intake of children for potential use of FeNaEDTA for breakfast cereal fortification. *Arch. Latinoam. Nutr.* 62(3): 290-294.
- Gálvez, A.V.; Aravena, E.L. y Mondaca, R.L. (2006) Isothermas de adsorción en harina de maíz (*Zea mays L.*). *Food Sci. Technol.* 26(4): 821-827.
- Gao, X.; Schröder, T.J.; Hoffland, E.; Zou, C.; Zhang, F.; y Van der Zee, S.E. (2010) Geochemical modeling of zinc bioavailability for rice. *Soil. Sci. Am. J.* 74(1): 301-309.
- García Baños, J.L.; del Castillo, M.D.; Sanz, M.L.; Olano, A. y Corzo, N. (2005) Maillard reaction during storage of powder enteral formulas. *Food Chem.* 89(4): 555-560.

- García, M.M.; Seiquer, I.; Delgado Andrade, C.; Galdó, G. y Navarro, M.P. (2009) Intake of Maillard reaction products reduces iron bioavailability in male adolescents. *Mol. Nutr. Food Res.* 53(12): 1551-1560.
- Gauderer, M.W.; Ponsky, J.L. y Izant, R.Z. (1980) Gastrostomy without laparotomy: a percutaneous endoscopic technique. *J. Pediatr. Sur.* 15(6): 872-875.
- Gliguem, H. y Birlouez-Aragon, I. (2005) Effects of sterilization, packaging and storage on vitamin C degradation, protein denaturation and glycation in fortified milks. *J. Dairy Sci.* 88(3): 891-899.
- Gómez Candela, C.; De Cos, A.I. e Iglesias, C. (2002) Fibra y nutrición enteral. *Nutr. Hosp.* 17(20): 30-40.
- Gómez Candela, C.; Cos Blanco, A.; García Luna, P.P.; Pérez de la Cruz, A.; Luengo Pérez, L.M.; Iglesias Rosado C.; Vazquez, C.; Koning, A.; Planas, M.; Camarero, E.; Wandenberghe, C.; Chamorro, J.; Pereira, J.L.; Mellado, C. y Morera, M. (2003) Complicaciones de la nutrición enteral domiciliaria. Resultados de un estudio multicéntrico. *Nutr Hosp*, 18(3): 167-173.
- Gómez, P.; Pérez, C.; Rovira, C. y Villazón, F. (1997) Equipamiento técnico. *Endocrinol.* 44 (2): 7-15.
- González, E.P.; Rodríguez, F.S. y García, E.C. (2009) Homeostasis del magnesio. Etiopatogenia, clínica y tratamiento de la hipomagnesemia. A propósito de un caso. *Nefrol.* 29(6): 518-524.
- Gost Garde, J.I. y Villa-Elizaga, I. (1994) Concentración y biodisponibilidad de distintos elementos traza en la leche materna y en fórmulas lácteas. *Rev. Esp. Pediatr.* 50(6): 573-578.
- Gottrand, F. y Sullivan, P.B. (2010) Gastrostomy tube feeding: when to start, what to feed and how to stop. *Eur. J. Clin. Nutr.* 64(1): S17-S21.
- Govindaraj, T.; Krishnarau, L. y Prakash, J. (2007) *In vitro* bioavailability of iron and sensory qualities of iron-fortified wheat biscuits. *Food Nutr. Bull.* 28(3): 299-306.
- Gramlich, L.; Kichian, K.; Pinilla, J.; Rodych, N.J.; Dhaliwal, R. y Heyland, D.K. (2004) Does enteral nutrition compared to parenteral nutrition result in better outcomes in critically ill adult patients? A systematic review of the literature. *Nutr.* 20(10): 843-848.

- Green, C.J. (2001) Fibre in enteral nutrition. *Clin. Nutr.* 20(1): 23-39.
- Guedon, C.; Schmitz, J.; Lerebours, E.; Metayer, J.; Audran, E.; Hemet, J. y Collin, R. (1986) Decreaser brush border hydrolase activities whitout gross morphologic changes in human intestinal mucosa after prolonged total parenteral nutrition of adults. *Gastroenterol.* 90(2): 373-378.
- Guéguen, L. y Pointillart, A. (2000) The bioavailability of dietary calcium. *J. Am. Coll. Nutr.* 19(2): 119S-136S.
- Guenter, P.; Jones, S.; Sweed, M.R. y Erickson, M. (1997) Delivery Systems and Administration of Enteral Nutrition. En: *Clinical Nutrition. Enteral and Tube Feeding.* (Eds. Rombeau, J.L. y Rolandelli, R.H.) WB Saunders, Philadelphia, USA, p. 240- 267.
- Hallberg, L.; Rossander-Hultén, L.; Brune, M. y Gleeurup, A. (1992a) Bioavailability in man of iron in human milk and cow's milk in relation to their calcium contents. *Pediatr. Res.* 31(5): 524-527.
- Hallberg, L.; Rossanser-Hultén, L.; Brune, M.; Gleeurup, A. (1992b) Calcium and iron absorption: mechanism of action and nutritional importance. *Eur. J. Clin. Nutr.* 46(5): 317-327.
- Hallberg, L.; Rossander-Hulte, L.; Brune, M. y Gleeurup, A. (1993) Inhibition of haem-iron absorption in man by calcium. *Br. J. Nutr.* 69(2): 533-540.
- Hambidge, M. (2000) Human zinc deficiency. *J. Nutr.* 130(5): 1344S-1349S.
- Hammarqvist, F. (2004) Can it all be done by enteral nutrition? *Curr. Op. Clin. Nutr. Metab. Care.* 7(2): 183-187.
- Haro, J.F.; Martínez Gracia, C.; Periago, M. y Ros, G. (2008). Prevención de la deficiencia en hierro mediante el enriquecimiento de los alimentos. *Anal. Veterinaria* 21(1): 7-21.
- Harvey, L. (2001) Mineral bioavailability. *Nutr. Food Sci.* 31(4): 179-182.
- Hazell, T. y Johnson, I.T. (1987) *In vitro* estimation of iron availability from a range of plant foods: influence of phytate, ascorbate, and citrate. *Br. J. Nutr.* 57(2): 223-233.
- Heaney, R.P.; Dowell, M.S.; Rafferty, K. y Bierman, J. (2000) Bioavailability of the calcium in fortified soy imitation milk, with some observations on method. *Am. J. Clin. Nutr.* 71(5): 1166-1169.

- Heaney, R.P.; Dowell, M.S.; Hale, C.A. y Bendich, A. (2003) Calcium absorption varies within the reference range for serum 25-hydroxyvitamin D. *J. Am. Coll. Nutr.* 22(2): 142-146.
- Hebden, J.M.; Blackshaw, E.; D'Amato, M.; Perkins A.C. y Spiller R.C. (2002) Abnormalities of GI transit in bloated irritable bowel syndrome: effect of bran on transit and symptoms. *Am. J. Gastroenterol.* 97(9): 2315-2320.
- Heimbürger, D.C. y Weinsten, R.L. (1985) Guidelines for evaluating and categorized enteral feeding formulas according to therapeutic equivalence. *J. Parent. Enter. Nutr.* 9(1): 61-65.
- Hemalatha, S.; Platel, K. y Srinivasan, K. (2007) Influence of germination and fermentation on bioaccessibility of zinc and iron from food grains. *Eur. J. Clin. Nutr.* 61(3): 342-348.
- Hernández, M.; De la Vega, A. y Sotelo, A. (1984) Determinación de la digestibilidad proteínica *in vitro* e *in vivo* en cereales y leguminosas crudos y cocidos. *Arch. Latinoam. Nutr.* 24(3): 515-522.
- Hernández, T.; Martínez, C.; Hernández, A. y Urbano, G. (1997) Protein quality of alfalfa protein concentrates obtained by freezing. *J. Agric. Food Chem.* 45(3): 797-802.
- Hunt, J.R. y Vanderpool, R.A. (2001) Apparent copper absorption from a vegetarian diet. *Am. J. Clin. Nutr.* 74(6): 803-7.
- Hunter, J. (1793) A case of paralysis of the muscles of deglutition cured by an artificial mode of conveying food and medicines into stomach. *Trans. Soc. Improve Med. Chir. Know* 1: 182-188.
- Hurrell, R.F. (1984) Reactions of food proteins during processing and storage and their nutritional consequences. En: *Development in food proteins* (Ed. Hudson B.J.F.) Elsevier Appl Sci Publishers, London, UK, p. 213-244.
- Hurrell, R.F. (1990) Influence of the Maillard reaction on the nutritional value of foods. En: *The Maillard reaction in food processing, human nutrition and physiology* (Ed. Finot, P.A.) Birkhäuser Verlag, Boston, USA, p. 245-258.
- Hurrell, R.F. (1997) Bioavailability of iron. En: *Assessment of the bioavailability of micronutrients. Proceedings of an ILSI Europe Workshop.* *Eur. J. Clin. Nutr.* 51(1): 54-58.

- Hurrell, R.F.; Reddy, M.R.; Burri, J. y Cook, J.D. (2000) An evaluation of EDTA compounds for iron fortification of cereal-based foods. *Br. J Nutr.* 84(6): 903-910.
- Hurrell, R.F. (2004) Phytic acid degradation as a means of improving iron absorption. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 74(6): 445-452.
- Hurrell, R.F.; Reddy, M.B.; Juillerat, M. y Cook, J.D. (2006) Meat protein fractions enhance nonheme iron absorption in humans. *J. Nutr.* 136(11): 2808-2812.
- Hurrell, R.F. y Egli, I. (2010) Iron bioavailability and dietary reference values. *Am. J. Clin. Nutr.* 91(5): 1461S-1417S.
- Illig, K.A.; Ryan, C.K.; Hardy, D.J.; Rhodes, J. Locke, W. y Sax, H.C. (1992) Total parenteral nutrition-induced changes in gut mucosal functions: atrophy alone is not the issue. *Surgey* 112(4): 631-637.
- Jackson, L.S. (1992) The effect of dairy products on iron availability. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 31(4): 259-2570.
- Jeejeebhoy, K.N. (2001) Enteral and parenteral nutrition: evidence based approach. *Proc. Nutr. Soc.* 60(3): 399-402.
- Jenkins, D.J.; Mirrahimi, A.; Srichaikul, K.; Berryman, C.E.; Wang, L.; Carleton, A.; Abdunour, S.; Sievenpiper, J.L.; Kendall, C.W. y Kris-Etherton, P.M. (2010) Soy protein reduces serum cholesterol by both intrinsic and food displacement mechanisms. *J. Nutr.* 140(12): 2302S-2311S.
- Jiang, X.H.; Li, N. y Li, J.S. (2003) Intestinal permeability in patients after surgical trauma and effect of enteral nutrition versus parenteral nutrition. *World J. Gastroenterol.* 9(8): 1878-80.
- Jokinen, J.E.; Reineccius, G.A. y Thompson, D.R. (1976). Losses in available lysine during thermal processing of soy protein model systems. *J. Food. Sci.* 41(4): 816-819.
- Jovani, M.; Alegría, A.; Barberá, R.; Farré, R.; Lagarda, M.J. y Clemente, G. (2000) Effect of proteins, phytates, ascorbic acid and citric acid on dialisability of calcium, iron, zinc and copper in soybased infant formulas. *Nahrung* 44(2): S114-S117.
- Kaerm, P.J. y Donna, C.A. (2001) A controlled comparison of traditional feeding tube verification methods to a bedside, electromagnetic technique. *J. Parent. Ent. Nut.* 25(4): 210-215.

- Kalkwarf, H.J. y Harrast, S.D. (1998) Effects of calcium supplementation and lactation on iron status. *Am. J. Clin. Nutr.* 67(6): 1244-1249.
- Kehr, S.; Castillo, D.; Morales, V.; Ridermann, S. y Campano, B. (2002) Contaminación microbiana de fórmulas enterales de uso hospitalario. *Rev. Chil. Pediatr.* 73(3): 248-256.
- Kehr, S.; Morales, V. y Castillo, D. (2004) Calidad microbiológica de una fórmula enteral lista para usar. *Rev. Chil. Infect.* 21(4): 312-316.
- Kennefick, S. y Cashman, K.D. (2000) Investigation of an *in vitro* model for predicting the effect of food components on calcium availability from meals. *Int. J Food Scie. Nutr.* 51(1): 45-54.
- Kenneth, A. y Kudsk, M.D. (2007). Beneficial effect of enteral feeding. *Gastrointest. Endosc. Clin. N. Am.* 17(4): 647-662.
- Kessler, H.G. y Fink, R. (1986) Changes in heated and stored milk an interpretation by reaction kinetics. *J. Food Sci.* 51(5): 1105 - 1111.
- Kies, C. y Harms, J. (1989) Copper absorption as affected by supplemental calcium, magnesium, manganese, selenium and potassium. En copper bioavailability and metabolism (Ed. Kies, C.) Springer US, New York, USA, p. 45-58.
- King, B.K.; Li, J. y Kudst, K.A. (1997) A temporal study of TPN-induced changes in the gut-associated lymphoid tissue and mucosal immunity. *Arch. Surg.* 132(3): 1303-1309.
- King, J.C.; Shames, D.M. y Woodhouse, L.R. (2000) Zinc homeostasis in humans. *J. Nutr.* 130(5): 1360S-1366S.
- Kirby, D.F.; DeLegge, M.H. y Fleming, C.R. (1995) American Gastroenterological Association technical review on tube feeding for enteral nutrition. *Gastroenterol.* 108(4): 1282-1301.
- Klaassen, J.; García, P.; Maíz, A. y Campano, M. (2002) Mecanismos de contaminación de las fórmulas para nutrición enteral. *Rev. Chil. Infec.* 19(2): 69-73.
- Klein, S.; Cohn, S.M. y Alpers, D.H. (1999) The alimentary tract in nutrition: a tutorial. En: *Modern nutrition in health and disease* (Eds. Shils, M.E.; Olson, J.A.; Shike, M. y Ross, A.C.) Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore, USA, p. 605-629.

- Kloots, W.; Op den Kamp, D. y Abrahamse, L. (2004) *In vitro* iron availability from iron-fortified whole-grain wheat flour. *J. Agric. Food Chem.* 52(26): 8132-8136.
- Konh, C.L. (1991) The relationship between enteral formula contamination and length of enteral delivery set usage. *J. Parent. Ent. Nutr.* 15(5): 567-71.
- Kozarek, R.A.; Ball, T.J. y Ryan, J.A. (1986) When push comes to shove: a comparison between two methods of percutaneous endoscopic gastrostomy. *Am. J. Gastroenterol.* 81(8): 642-646.
- Krebs, N.F. (2000) Overview of zinc absorption and excretion in the human gastrointestinal tract. *J. Nutr.* 130(5): 1374S-1377S.
- Kreymann, K.G.; Berger, M.M.; Deutz, N.E.; Hiesmayrd, M.; Jolliete, P.; Kazandjiev, G.; Nitenberg, G.; Van den Berghe, G.; Wernerman, J.; DGEM; Ebner, C.; Hartl, W.; Heymann, C. y Spies, C. (2006) ESPEN guidelines on Enteral Nutrition: intensive care. *Clin. Nutr.* 25(2) : 210-223.
- Kudsk, K.A. (1994) Clinical applications of enteral nutrition. *Nutr. Clin. Pract.* 9(5): 167-171.
- Kudsk, K.A. (2002) Current aspects of mucosal immunology and its influence by nutrition. *Am. J. Surg.* 183(4): 390-398.
- Kudsk, K.A.; Groce, M.A.; Fabian, T.C.; Minard, G.; Tolley, E.A.; Poret, H.A.; Kuhl, M.R. y Brown, R.O. (1992) Enteral versus parenteral feeding: effects on septic morbidity after blunt and penetrating abdominal trauma. *Ann. Surg.* 215(5): 503-513.
- Labuza, T.P. (1982). *Shelf-life dating of foods* (1º Ed.). Food & Nutrition Press, Connecticut, USA.
- Laemmli, U. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227(5259): 680-685.
- Layrisse, M.; García-Casal, M.N.; Solano, L.; Barón, M.A.; Arguello, F.; Llovera, D.; Ramírez, J.; Leets, I. y Tropper, E. (2000) Iron bioavailability in humans from breakfast enriched with iron bis-glycine chelate, phytates and polyphenols. *J. Nutr.* 130(9): 2195-2199.
- Lee, K. y Clydesdale, F.M. (1981) Effect of thermal processing on endogenous and added iron in canned spinach. *J. Food Sci.* 46(4): 1064-1068.

- Lee, D.Y.; Schroeder, J. y Gordon, D. (1988) Enhancement of copper bioavailability in the rat by phytic acid. *J. Nutr.* 118(6): 712-717.
- León, M. y Bellido, D. (1997) Nutrición enteral y diabetes mellitus. *Endocrinol.* 44(1): 55-59.
- Li, H.; Zhu, K.; Zhou, H.; Peng, W. y Guo, X. (2013) Comparative study about some physical properties, *in vitro* digestibility and immunoreactivity of soybean protein isolate for infant formula. *Plant Foods Hum. Nutr.* 68(2): 124-130.
- Lichtenstein, G.R.; Deren, J.; Katz, S.; Kennedy, A. y Ware, J.H. (2002) The Bowman Birk protease inhibitor: a novel therapy for treatment of patients with active ulcerative colitis. *Gastroenterol.* 122(4): 60-68.
- Life Sciences Research Office (LSRO) Report (1998): Assessment of requirements for infant formulas, V. Protein. *J Nutr* 128: 2110-2114.
- Lindberg, T.; Engberg, S.; Sjöberg, L.S. y Lönnnerdal, B. (1998) *In vitro* digestion of proteins in human milk fortifiers and in preterm formula. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 27(1): 30-36.
- Lindemann-Schneider, U. y Fennema, O. (1989) Stability of lysine, methionine, and tryptophan in dried whey concentrate during storage. *J. Dairy Sci.* 72(7): 1740-1747.
- Lochs, H.; Pichard, C. y Alison, S.P. (2006) Evidence supports nutritional support. *Clin. Nutr.* 25(2): 177-179.
- Lönnnerdal, B.; Cederblad, A.; Davidsson, L. y Sandstrom, B. (1984) The effect of individual components of soy formula and cows' milk formula on zinc bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.* 40(5): 1064-1070.
- Lönnnerdal, B. (1985) Dietary factors affecting trace element bioavailability from human milk, cow's milk and infant formulas. *Prog. Food Nutr. Sci.* 9(1-2): 35-62.
- Lönnnerdal, B. y Hernell, O. (1998) Effects of feeding ultrahigh-temperature (UHT) treated infant formula with different protein concentration or powdered formula, as compared whit breast-feeding, on plasma amino acid, hematology and trace element status. *Am. J. Clin. Nutr.* 68(2): 350-356.
- Lönnnerdal, B.O. (2000) Dietary factors influencing zinc absorption. *J. Nutr.* 130(5): 1378S-1383S.

- Lopez, H.W. ; Coudray, C. ; Levrat-Verny, M.A.; Feillet-Coudray, C.; Demigné, C. y Rémesy, C. (2000) Fructooligosaccharides enhance mineral apparent absorption and counteract the deleterious effects of phytic acid on mineral homeostasis in rats. *J. Nutr. Biochem.* 11(10): 500-508.
- López, M.A. y Martos, F.C. (2004) Iron availability: An updated review. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 55(8): 597-606.
- Lott, J. N.; Ockenden, I.; Raboy, V. y Batten, G. D. (2000) Phytic acid and phosphorus in crop seeds and fruits: a global estimate. *Seed Sci. Res.* 10(1): 11-33.
- Lowry, K.R. y Baker, D.H. (1989) Effect of storage, carbohydrate composition and heat processing on protein quality and amino acid bioavailability of a commercial enteral product. *J. Food Sci.* 54(4): 1024–1030.
- Lowry, K.R.; Fly, A.D.; Izquierdo, O.A. y Baker, D.H. (1989) Effect of heat processing and storage on protein quality and lysine bioavailability of a commercial enteral product. *J. Parent. Enter. Nutr.* 14(1): 68-73.
- Lynch, S.R.; Dasenko, S.A.; Cook, C.; Juillerat, M.A. y Hurrell, R.F. (1994) Inhibitory effect of a soybean-protein-related moiety on iron absorption in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 60(4): 567-572.
- Lynch, S. (2005) The precision of *in vitro* methods and algorithms for predicting the bioavailability of dietary iron. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 75(6): 436-345.
- Ma, G.; Jin, Y.; Piao, J.; Kok, F.; Guusje, B. y Jacobsen, E. (2005) Phytate, calcium, iron, and zinc contents and their molar ratios in foods commonly consumed in China. *J. Agric. Food Chem.* 53(26): 10285-10290.
- Ma, G.; Li, Y.; Jin, Y.; Zhai, F. ; Kok, F.J. y Yang, X. (2007) Phytate intake and molar ratios of phytate to zinc, iron and calcium in the diets of people in China. *Eur. J. Clin. Nutr.* 61(3): 368-374.
- Mahan, L.K.; Escott-Stump, S.; Raymond, J.L. y Krause, M.V. (2012) *Krause's food & the nutrition care process*. Elsevier Health Sciences, Makati City, Philippines.
- Malkowicz, S.B.; Mckenna, W.G.; Vaughn, D.J.; Wan, X.S.; Propert, K.J.; Rockwell, K.; Marks, S,H.; Wein1, A.J. y Kennedy, A.R. (2001) Effects of Bowman-Birk inhibitor concentrate (BBIC) in patients with benign prostatic hyperplasia. *Prostate* 48(1):16-28.

- Malone, A. Enteral Formula Selection: a review of selected product categories. (2005) *Pract. Gastroenterol.* 28: 44-74.
- Marshal, K. (2004) Therapeutic applications of whey protein. *Altern. Med. Rev.* 9(2): 136-156.
- Martín de Portela, M.L. (1993) *Vitaminas y minerales en nutrición* (1° Ed) Libreros López Editores, Buenos Aires, Argentina.
- Martínez Augustin, O. y Martínez de Victoria Muñoz, M. (2006) Proteínas y péptidos en nutrición enteral. *Nutr. Hosp.* 21(2):1-14.
- Martínez Costa, C. y Pedrón Giner, C. (2010) Valoración del estado nutricional. protocolos diagnósticos y terapéuticos en pediatría. En: *Gastroenterología, Hepatología y Nutrición* (Ed. Asociación Española de Gastroenterología) Ergón S.A., Madrid, España.
- Martínez Domínguez, B.; Ibanez Gomez, M.V. y Rincón León, F. (2002) Acido fítico: aspectos nutricionales e implicaciones analíticas. *Arch. Latinoam. Nutr.* 52(3): 219-231.
- Martínez Faedo, C.; Gómez Enterría, P. y Laborda González, L. (2005) Soporte nutricional basado en la evidencia. *Endocrinol. Nutr.* 52(1): 41-46.
- Martínez González, C.; Santana Porben, S. y Barreto Penie, J. (2001) Diseño e implementación de un esquema intrahospitalaria de nutrición enteral. *Rev. Cubana Aliment. Nutr.* 15(2): 130-138.
- Martins, S.I.; Jongen, W.M. y Van Boekel, M.A. (2000) A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modelling. *Trends Food Sci. Technol.* 11(9): 364-373.
- Matarese, L.E. (1994) Rationale and efficacy of specialized enteral nutrition. *Nutr. Clin. Prac.* 9(2): 58-64.
- Mauron, J. (1990) Influence of processing on protein quality. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 36(1): S57-S69.
- McAuley, J.A.; Kunkel, M.E. y Acton, J.C. (1987) Relationships of available lysine to lignin, color and protein digestibility of selected wheat-based breakfast cereals. *J. Food Sci.* 52(6): 1580-1582.
- McCamish, M.A.; Bounous, G. y Geraghty, M.E. (1997) History of enteral feeding: past and present Perspectives. En: *Clinical nutrition. Enteral and tube feeding* (Eds. Rombeau, J.L. y Rolandelli, R.H.). WB Saunders Company, USA, p. 1-11.

- McCord, J.M. (1998) Iron, free radicals, and oxidative injury. *Seminars Hematol.* 35(1): 5-12.
- McFie, J. (2000) Enteral versus parenteral nutrition: the significance of bacterial translocation and gut-barrier function. *Nutr.* 16(7): 606-611.
- McSweeney, S.L.; Healy, R. y Mulvihill, D.M. (2008) Effect of lecithin and monoglycerides on the heat stability of a model infant formula emulsion. *Food hydrocoll.* 22(5): 888-898.
- Medina Gallardo, A.L. (1994) Estudio del comportamiento del hierro fijado sobre la caseína bovina y fosforilada luego de la hidrólisis producida por las proteasas digestivas. *Arch. Latinoam. Nutr.* 44(2): 112-116.
- Mentec, H.; Dupont, H.; Bocchetti, M.; Cani, P.; Ponche, F. y Bleichner, G. (2001) Upper digestive intolerance during enteral nutrition in critically ill patients: frequency, risk factors, and complications. *Crit. Care Med.* 29(10): 1955-1961.
- Mesejom, A.; Carbonell, N. y Oliva, A. (2005) Nutrición Enteral. En: *Tratado de Nutrición. Tomo IV Nutrición Clínica* (Ed. Gil, A.) Acción Médica, Madrid España, p 133-167.
- Millán, F.R.; Roa, V. y Tapia, M.S. (2001) Modelado matemático de isothermas de adsorción de humedad en alimentos usando redes neuronales artificiales. *Interciencia* 26(5): 190-194.
- Miller, D.D.; Schriker, B.R.; Rasmussen, R.R. y Van Campen, D. (1981) An *in vitro* method for estimation of iron availability from meals. *Am. J. Clin. Nutr.* 34(10): 2248-2256.
- Miller, D.D. y Berner, L.A. (1989) Is solubility *in vitro* a reliable predictor of iron bioavailability?. *Biol. Trace. Elem. Res.* 19(1-2): 11-24.
- Minard, G. (2001) Enteral access devices. En: *The science and practice of nutrition support. A case- based core curriculum* (Ed. ASPEN). Kendall/Hunt Publishing Company, USA, p. 167-188.
- Minihane, A.M. y Fairweather-Tait, S.J. (1998) Effect of calcium supplementation on daily non heme-iron absorption and long- term iron status. *Am. J. Clin. Nutr.* 68(1): 96-102.
- Miret, S.; Simpson, R.J. y McKie, A.T. (2003) Physiology and molecular biology of dietary iron absorption. *Annu. Rev. Nutr.* 23(1): 283-301.

- Miura, S.; Tanaka, S.; Yoshioka, M.; Serizawa, H.; Tashiro, H.; Shiozoaki, H.; Imaeda, H. y suchiya, M.T. (1992). Changes in intestinal absorption of nutrients and brush border glycoprotein after total parenteral nutrition in rats. *Gut* 33(4): 484-489.
- Moak, S.; Pearson, N. y Shin, K. (1987) The effect of oat and wheat bran fibers on mineral metabolism in adult males. *Nutr. Rep. Int.* 36(5): 1137 -1146.
- Mobaharn, S. y Trumbore, L. (1991) Enteral tube feeding: a clinical perspective on recent advances. *Nutr. Rev.* 49(5):129-140.
- Monsen, E.R. y Cook, J.D. (1976) Food iron absorption in human subjects. IV. The effects of calcium and phosphate salts on the absorption of nonheme iron. *Am. J. Clin. Nutr.* 29(10): 1142-1148.
- Monsen, E.R.; Hallberg, L.; Layrisse, M.; Hegsted, D.M.; Cook, J.D.; Mertz, W. y Finch, C.A. (1978) Estimation of available dietary iron. *Am. J. Clin. Nutr.* 31(1): 134-141.
- Montejo, O.; Alba, G.; Cardona, D.; Estelrich, J. y Mangués, M.A. (2001) Relación entre la viscosidad de las dietas enterales y las complicaciones mecánicas en su administración según el diámetro de la sonda nasogástrica. *Nutr. Hosp.* 16(2): 41-45.
- Moore, F.A.; Feliciano, D.F.; Andrassy, J.R.; McArdle, A.H.; Booth, F.V.; Morgenstein-Wagner, T.B.; Kellum, J.M.; Welling, R.E. y Moore, E.E. (1991) Early enteral feeding compared with parenteral, reduces postoperative septic complications: the result of a meta-analysis. *Ann. Surg.* 216(2): 172-183.
- Mora, R.J.F. y Greene, H.L. (1990) Digestion and absorption. En: *Enteral and tube feeding* (Eds. Rombeau, J.L. y Caldwell, M.D). WB Saunders, Philadelphia, USA, p. 10-33.
- Mora, R.J.F. (2002) Soporte nutricional especial. Editorial Médica Panamericana S.A., Buenos Aires, Argentina.
- Morera, M. y Banqué, M. (2001) Repercusión de la vía de acceso en el funcionalismo digestivo. En: *Vías de Acceso en Nutrición Enteral* (Ed. Celaya, S.). Multimedia, Barcelona, España, p. 43-65.
- Moretti, D.; Zimmermann, M.B.; Wegmuller, R.; Walczyk, T.; Zeder, C. y Hurrell, R.F. (2006) Iron status and food matrix strongly affect the relative bioavailability of ferric pyrophosphate in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 83(3): 632-638.

- Mottram, D.S. (2007) The Maillard reaction: source of flavour in thermally processed foods. En *Flavours and fragrances* (Ed. Berger, R.G.) Springer, Berlin, Alemania, p. 269-283.
- Nakao, M. Ogura, Y.; Satake, S.; Ito, I.; Iguchi, A.; Takagi, K. y Nabeshima, T. (2002) Usefulness of soluble dietary fiber for the treatment of diarrhea during enteral nutrition in elderly patients. *Nutr.* 18(1): 35-39.
- Nallely López, N.D. (2010) Nutrición enteral: segunda parte. *Rev. Gastrohnp* 12(3): 133-140.
- Napolitano, L.M. y Bochicchio, G. (2000) Enteral feeding of the critically ill. *Curr. Opin. Crit. Care.* 6(2): 136-142.
- National Cholesterol Education Program (NCEP) (2002). Third report of the National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (ATP III), NIH Publication. Bethesda, USA.
- Navajas, M.F.; Chacon, D.J.; Solvas, J.F y Vargas, R.G. (1992) Bacterial contamination of enteral feeds as a possible risk of nosocomial infection. *J. Hosp. Infect.* 21(2): 111-20.
- Navarro, M.P. (2003). Impact of Maillard reaction products on mineral bioavailability. En: *Bioavailability of micronutrients and minor dietary compounds. Metabolic and technological aspects* (Eds. Vaquero, M.P.; García-Arias, T.; Carbajal A. y Sánchez-Muniz, F.J.) Research Signpost, Kerala, India, p. 133-145.
- Navarro, P.; Aspe, T. y Seiquer, I. (2000) Zinc transport in Caco-2 cells and zinc balance in rats: influence of the heat treatment of a casein-glucose-fructose mixture. *J. Agric. Food Chem.* 48(8): 3589-3596.
- Nead, K.G.; Halterman, J.S.; Kaczorowski, J.M.; Auinger, P. y Weitzman, M. (2004) Overweight children and adolescents: a risk group for iron deficiency. *Pediatr.* 114(1): 104-108.
- Nielsen, P.; Petersen, D. y Dambmann, C. (2001) Improved method for determining food protein degree of hydrolysis. *J. Food Sci.* 66(5): 642-646.
- Nisim, A.A. y Allins, A.D. (2005) Enteral nutrition support. *Nutr.* 21(1): 109-112.
- O'Boyle, C.J.; MacFie, J.; Dave, K.; Sagar, P.S.; Poon, P. y Mitchell, C.J. (1998a) Alteration in intestinal barrier function do not predispose to translocation of enteric bacteria in gastroenterologic patients. *Nutr.* 14(4): 358-362.

- O'Boyle, C.J.; McFie, J.; Mitchell, C.J.; Jonhstone, D.; Sagar, P.M. y Sedman, P.C. (1998b) Microbiology of bacterial translocation in humans. *Gut*. 42(1): 29-35.
- O'Brien, J.; Morrissey, P.A. y Ames, J.M. (1989) Nutritional and toxicological aspects of the Maillard browning reaction in foods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 28(3): 211-248.
- O'Brien, J. y Morrissey P.A (1997) Metal ion complexation by products of the Maillard reaction. *Food Chem.* 58(1): 17-27.
- O'Dell, B.L. (1984) Bioavailability of trace elements. *Nutr. Rev.* 42(9): 301-308.
- Olah, A.; Belagyi, T.; Issekutz, A.; Gamal., M.E. y Bengmark, S. (2002) Randomized clinical trial of specific lactobacillus and fibre supplement to early enteral nutrition in patients with acute pancreatitis. *Br. J. Surg.* 89(9): 1103-1107.
- Olivares, M.; Pizarro, F.; Pineda, O.; Name, J.J.; Hertrampf, E. y Walter, T. (1997) Milk inhibits and ascorbic acid favors ferrous bis-glycine chelate bioavailability in humans. *J. Nutr.* 127(7): 1407-1411.
- Organización Mundial de la Salud (OMS) (2003). Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas. Informe de una Consulta Mixta de Expertos OMS/FAO. Serie de Informes Técnicos N° 916. Ginebra. On Line: http://www.who.int/nutrition/publications/obesity/WHO_TRS_916_spa.pdf.
- Organización Panamericana de la Salud (OPS) (2002). Compuestos de hierro para la fortificación de alimentos: Guías para América Latina y el Caribe. OPS, Washington, D.C, USA.
- Ottaway, C.A. (1991) Neuroimmunomodulation in the intestinal mucosa. *Gastroenterol. Clin. North Am.* 20(3): 511-529.
- Pabón, M.L. y Lönnerdal, B. (1992) Distribution of iron and its bioavailability from iron-fortified milk and formula. *Nutr. Re.* 12(8): 975-984.
- Parisi, G.C.; Zilli, M.; Miani, M.P.; Carrara, M.; Bottona, E.; Verdianelli, G.; Battaglia, G.; Desideri, S.; Faedo, A.; Marzolino, C.; Tonon, A.; Ermani, M. y Leandro, G. (2002). High-fiber diet supplementation in patients with irritable bowel syndrome (IBS): a multicenter, randomized, open trial comparison between wheat bran diet and partially hydrolyzed guar gum (PHGG). *Dig. Dis. Sci*, 47(8): 1697-1704.

- Pedron Giner, C. y Martínez Costa, C. (2001) Indicaciones y técnicas de soporte nutricional. *An. Pediatr.* 55(3): 260-266.
- Peng, Y.Z.; Yuan, Z.Q. y Xiao, G.X. (2001) Effects of early enteral feeding on the prevention of enterogenic infection in severely burned patients. *Burns* 27(2): 145-149.
- Perales, S.; Barbera, R.; Laguarda, M.J. y Farré, S. (2006) Fortification of milk with calcium: effect on calcium bioavailability and interactions with iron and zinc. *J. Agric. Food Chem.* 54(13): 4901-4906.
- Pereira, J.L. y García-Luna, P.P. (2004) Vías de acceso en nutrición enteral. *Endocrinol. Nutr.* 51(4): 149-57.
- Pereyra Gonzáles, A.S.; Naranjo, G.B.; Malec, L.S. y Vigo, M.S. (2003) Available lysine, protein digestibility and lactulose in commercial infant formulas. *Int. Dairy J.* 13(2), 95-99.
- Pérez de la Cruz, A.J.; Abilés, J. y Pérez Abud, R. (2006) Perspectivas en el diseño y desarrollo de productos para nutrición enteral. *Nutr. Hosp.* 21(2) 100-110.
- Pérez-Llamas, F.; Larqué, E.; Marín, J.F. y Zamora, S. (2001) Disponibilidad *in vitro* de minerales en fórmulas infantiles con distinta fuente proteica. *Nutr. Hosp.* 16(5): 157-161.
- Pietrangelo, A. (2002) Physiology of iron transport and the hemochromatosis gene. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 282(3): 403-414.
- Pineda Pérez, S. (2003) Soporte nutricional en la atención primaria de la salud. *Rev Cubana Med. Gen. Integr.* 19(3): 3-6.
- Pironi, L.; Paganelli, G.M.; Miglioli, M.; Biasco, G.; Santucci, R.; Ruggeri, E.; Di Febo, G y Barbara, L. (1994) Morphologic and cytoproliferative patterns of duodenal mucosa in two patients after long-term total parenteral nutrition: changes whit oral refeeding and relation to intestinal resection. *J. Ent. Parent. Ntr.* 18(4): 315-354.
- Radcliffe, J.D. y Czajka-Narins, D.M. (1998) Partial replacement of dietary casein with soy protein isolate can reduce the severity of retinoid-induced hypertriglyceridemia. *Plant Foods Hum. Nutr.* 52(2): 97-108.

- Raiha, N.C.R. (1989) Protein quantity and whey-casein ratio in infant formulas. En: Protein and Non-Protein Nitrogen in Human Milk. (Eds. Atkinson, S.A. y Lonnerdal, B.) CRC Press Inc., Boca Raton, FL, USA, p. 138-144.
- Randall, H.T. (1970) Nutrition in surgical patients. *Am. J. Surg.* 119(5): 530-533.
- Riobó, P.; Kozarewski, O. y Vilar, S. (2001) Sondas en Nutrición Enteral: materiales, tipos, cuidados y complicaciones. En: *Vías de Acceso en Nutrición Enteral.* (Ed. Celaya, S.) Novartis eds. Multimedia, Barcelona, España, p. 219-230.
- Roberfroid, M.B. (2000) Prebiotics and probiotics: are they functional foods?. *Am. J. Clin. Nutr.* 71(6): 1682S-1687S.
- Roberfroid, M.B. (2002) Functional foods: concepts and application to inulin and oligofructose. *Br. J. Nutr.* 87(2): 139-143.
- Rodríguez, T. y Planas, M. (2005) Administración de la nutrición enteral por sonda: actualización. *Rev. Rol Enferm.* 28(12): 31-39.
- Roig, M.J.; Alegría, A.; Barberá, R.; Farré, R. y Lagarda, M.J. (1999) Calcium bioavailability in human milk, cow milk and infant formulas- comparison between dialysis and solubility methods. *Food Chem.* 65(3): 353- 357.
- Romeu Nadal, M.; Chávez-Servín, J.L.; Castellote, A.I.; Rivero, M. y López-Sabater M.C. (2007) Oxidation stability of the lipid fraction in milk powder formulas. *Food Chem.* 100(2): 756-763.
- Rosado, J.L.; Lopez, P.; Morales, M.; Muñoz, E. y Allen, L.H. (1992) Bioavailability of energy, nitrogen, fat, zinc, iron and calcium from rural and urban Mexican diets. *Brit. J. Nutr.* 68(1): 45-58.
- Rubio, M.A. (1997) Indicaciones de la nutrición enteral. *Endocrino.* 44 (2): 3-6.
- Rudloff, S. y Lönnerdal, B. (1992) Solubility and digestibility of milk proteins in infant formulas exposed to different heat treatments. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 15(1): 25-33.
- Rufián Henares, J.Á.; Guerra-Hernández, E. y García-Villanova, B. (2005) Evolution of fatty acid profile and lipid oxidation during enteral formula storage. *J. Parent. Enter. Nutr.* 29(3): 204-211.

- Rufián Henares, J.Á.; Guerra-Hernandez, E. y García-Villanova, B. (2006) Colour measurement as indicator for controlling the manufacture and storage of enteral formulas. *Food Control* 17(6): 489-493.
- Ruston, I.Y.S.; López-Leiva, M.M. y Nair, B.M. (1996) UHT sterilized peanut beverages: kinetics of physicochemical changes during storage and shelf-life prediction modeling. *J. Food Sci.* 61(1): 198-208.
- Rutherford-Markwick, K.J. y Moughan, P.J. (2005) Bioactive peptides derived from food. *J. A.O.A.C. Int.* 88(3): 955-966.
- Saguy, I. y Karel M. (1980) Modeling of quality deterioration during food processing and storage. *Food Technol.* 34(2): 78-84.
- Sánchez Sánchez, C.; López-Herce Cid, J.; Carrillo Álvarez, A.; Bustinza Arriortúa, A.; Sancho Pérez, I. y Vigil Escribano, D. (2003) Nutrición enteral transpilórica en el niño críticamente enfermo (I): técnica e indicaciones. *An. Pediatr.* 59(1): 19-24.
- Sanz, A.; Barragán, A. y Albero, R. (2005) Evidencias clínicas sobre el soporte nutricional en el paciente diabético: revisión sistemática. *Endocrinol. Nutr.* 52(2): 47-55.
- Sanz-Penella, J.M.; Laparra, J.M.; Sanz, Y. y Haros, M. (2012) Bread supplemented with amaranth (*Amaranthus cruentus*): effect of phytates on *in vitro* iron absorption. *Plant Foods Hum. Nutr.* 67(1): 50-56.
- Sathivel, S.; Huang, J. y Prinyawiwatkul, W. (2008) Thermal properties and applications of the Arrhenius equation for evaluating viscosity and oxidation rates of unrefined pollock oil. *J. Food Eng.* 84(2): 187-193.
- Sauquillo, A.; Barberá, R. y Farré, R. (2003) Bioaccessibility of calcium, iron and zinc from three legume samples. *Nahrung* 47(6): 438-441.
- Sauret, C.; Humanes, A. y Trallero, R. (1999) Nutrición enteral: vías de acceso y fórmulas. *Rev. Rol Enf.* 22(3): 176-182.
- Schlemmer, U. (1989) Studies of the binding of copper, zinc and calcium to pectin, alginate, carrageenan and guar gum in HCO₃-CO₂ buffer. *Food Chem.* 32(3): 223-231.
- Schricker, B.R.; Miller, D.D.; Rasmussen, R.R. y Van Campen, D. (1981) A comparison of *in vivo* and *in vitro* methods for determining availability of iron from meals. *Am. J. Clin. Nutr.* 34(10): 2257-2263.

- Sedman, P.C.; McFie, J.; Palmer, M.D.; Mitchell, C.J. y Sagar, P.M. (1995) Preoperative total parenteral nutrition is not associated with mucosal atrophy or bacterial translocation in human. *Br. J. Surg.* 82(12): 166-167.
- Seiquer, I. y Navarro, M.P. (2003) Influencia de los productos de la reacción entre lípidos oxidados (4, 5 (E)-epoxy-2 (E)-heptenal y 4, 5 (E)-epoxy-2 (E)-decenal) y lisina sobre la utilización de zinc y calcio: ensayos en células Caco-2. *Grasas aceites* 54(4): 350-357.
- Seiquer, I.; Díaz-Alguacil, J.; Delgado-Andrade, C.; López-Frías, M.; Hoyos, A.M.; Galdó, G. y Navarro, M.P. (2006) Diets rich in Maillard reaction products affect protein digestibility in adolescent males aged 11–14 y. *Am. J. Clin. Nutr.* 83(5): 1082-1088.
- Serpen, A. y Gökmen, V. (2009) Evaluation of the Maillard reaction in potato crisps by acrylamide, antioxidant capacity and color. *J. Food Comp. Anal.* 22(6): 589-595.
- Serrano, L.; Palma, F.; Carrasco, F. y Guinda, A. (1994) Relación entre la viscosidad de los productos de nutrición enteral y los retrasos o interrupciones del ritmo de infusión seleccionado. *Nutr. Hosp.* 9(1): 257-261.
- Sharp, P. (2004) The molecular basis of copper and iron interactions. *Proc. Nutr. Soc.* 63(4): 563-569.
- Shen, L.; Luten, J.; Robberecht, H.; Bindels, J. y Deelstra, H. (1994) Modification of an *in vitro* method for estimating the availability of zinc and calcium from foods. *LWT-Food Sci. Technol.* 199(6): 442-445.
- Shen, L.; Robberecht, H.; Van Dael, P. y Deelstra, H. (1995) Estimation of the bioavailability of zinc and calcium from human, cow's, goat, and sheep milk by an *in vitro* method. *Biol. Trace. Elem. Res.* 49(2-3): 107-118.
- Shirabe, K.; Matsumata, T.; Shimada, M.; Takenaka, K.; Kawahara, N.; Yamamoto, K.; Nishizaki, T. y Sugimachi, K. (1996) A comparison of parenteral hyperalimentation and early enteral feeding regarding systemic immunity after major hepatic resection--the results of a randomized prospective study. *Hepato-gastroenterol.* 44(13): 205-209.
- Silk, D.B A.; Walters, E.R.; Duncan, H.D. y Green, C.J. (2001) The effect of a polymeric enteral fórmula supplemented with a mixture of six fibres on normal human bowel ppunction and colonic motility. *Clin. Nutr.* 20(1): 49-58.

- Silva Trejos, P. y Valverde Montero, E. (2010) Validación de la metodología de cuantificación del magnesio por espectroscopia de absorción atómica de llama en la canasta básica de Costa Rica. Rev. Costarric. Salud Pública 19(1): 36-41.
- Silva Trejos, P. (2012) Cobre en alimentos de consumo básico por espectroscopia de absorción atómica modalidad de llama, Costa Rica. Rev. Costarric. Salud Pública 21(2): 92-95.
- Simonato, B.; Pasini, G.; Giorato, M.; Spettoli, P. y Curioni, A. (2002) Effect of cooking on *in vitro* protein digestibility of bread dough. Tec. Mol. 53(11): 1128-1126.
- Singh, R.P. (1999) Scientific principles of shelf life evaluation. En: Shelf life evaluation of foods (Ed. Singh, R.P.) Aspen Publisher Inc, Maryland, USA, p. 3-25.
- Sirtori, C.R. y Lovati, M.R. (2001) Soy proteins and cardiovascular disease. Curr. Atheroscler. Rep. 3(1): 47-53.
- Smith, G.A. y Friedman, M. (1984) Effect of carbohydrates and heat on the amino acid composition and chemically available lysine content of casein. J. Food Sci. 49(3): 817-820.
- Sofferman, R.A.; Haisch, C.E.; Kirchner, J.A. y Hardin, N.J. (1990) The nasogastric tube syndrome. Laryngoscope 100(9): 962-968.
- Soluble fiber reduce the incidence of diarrhea in septic patients receiving total enteral nutrition: a prospective, double-blind, randomized and controlled trial. Clin. Nutr. 20(4): 301-305.
- Southon, S.; Fairweather-Tait, J. y Hazell, T. (1998) Trace element availability from de human diet. Proc. Nutr. Soc. 47(1): 27-35.
- Spaeth, G.; Gottwald, T. and Hirner, A. (1995). Fibre is an essential ingredient of enteral diets to limit bacterial translocation in rats. Eur. J. Surg. 161(7): 513-518.
- Spain, D.A.; DeWeese, R.C.; Reynolds, N.A. y Richardson, J.D. (1995) Transpyloric passage of feeding tubes in patients with head injuries does not decrease complications. J. Trauma. 39(6): 1100-1102.
- Spapen, H.; Diltor, M.; Van Malderen, C.; Opdenacker, G.; Suys, E. y Huyghens, L. (2001)
- Steinke, F.H.; Prescher, E.E. y Hopkins, D.T. (1980) Nutritional evaluation (PER) of isolated soybean protein and combinations of food proteins. J. Food Sci. 45(2): 323-327.

- Stekel, A.; Olivares, M.; Pizarro, F.; Chadud, P.; López, I. y Amar, M. (1986) Absorption of fortification iron from milk formulas in infants. *Am J Clin Nutr* 43(6): 917-922.
- Stengel, A. y Ravdin, I.S. (1939) The maintenance of nutrition in surgical patients with a description of the oroyeyunal method of feeding. *Surg.* 6(4):511-519.
- Stroud, M.; Duncan, H. y Nightingale, J. (2003) Guidelines for enteral feeding in adult hospital patients. *Gut.* 52(7): 1-12.
- Tahiri, M.; Tressol, J. C.; Arnaud, J.; Bornet, F.; Bouteloup-Demange, C.; Feillet-Coudray, C.; Ducros, V.; Pepin, D.; Brouns, F.; Rayssiguier, A.M. y Coudray, C. (2001) Five week intake of short-chain fructo-oligosaccharides increases intestinal absorption and status of magnesium in post-menopausal women. *J. Bone. Miner. Res.* 16(11): 2152–2160.
- Teschemacher, H.; Koch, G. y Brantl, V. (1997) Milk protein-derived opioid receptor ligands. *Biopoly.* 43(2): 99-117.
- Teucher, B.; Olivares, M. y Cori, H. (2004) Enhancers of iron absorption: ascorbic acid and other organic acids. *Int. J. Vit. Nutr. Res.* 74(6): 403-419.
- Thankachan, P.; Walczyk, T.; Muthayya, S.; Kurpad, A.V. y Hurrell, R.F. (2008) Iron absorption in young Indian women: the interaction of iron status with the influence of tea and ascorbic acid. *Am. J. Clin. Nutr.* 87(4): 881-886.
- Thurn, J.; Crossley, K.; Gerds, A.; Maki, M. y Johnson, J. (1990) Enteral hyperalimentation as a source of nosocomial infection. *J. Hosp. Infect.* 15(3): 203-217.
- Torres, A.; Guerra, M. y Rosquete, Y. (2001) Estimación de la Vida Útil de una Fórmula Dietética en función de la disminución de Lisina Disponible. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 21(2): 129-133.
- Turlund, J.R.; King, J.C.; Keyes, R.W.; Gong, B. y Michel, M.C. (1984) A stable isotope study of zinc absorption in young men: effects of phytate and alpha-cellulose. *Am. J. Clin. Nutr.* 40(5): 1071-1077.
- Turlund, J.R.; King, J.C.; Gong, B.; Keyes, W. y Michel, M.C. (1985) A stable isotope study of copper absorption in young men: effect of phytate and alpha-cellulose. *Am. J. Clin. Nutr.* 42(1): 18-23.

- Uauy, R.; Hertrampf, E. y Reddy, M. (2002) Iron fortification of foods: Overcoming technical and practical barriers. *J. Nutr.* 132(4): 849-852.
- Uchiyama, M. y Mihara, M. (1978) Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Analytical Biochem.* 86(1): 271-278.
- Uddin, M.S.; Hawlader, M.N.A.; Ding, L. y Mujumbar, A.S. (2002) Degradation of ascorbic acid in dried guava during storage. *J. Food Eng.* 51(1): 21-26.
- Umeta, M.; West, C.E. y Fufa, H. (2005) Content of zinc, iron, calcium and their absorption inhibitors in foods commonly consumed in Ethiopia. *J. Food Comp. Anal.* 58(8): 803-817.
- Uscátegui, H. (2010) Inmunonutrición: Enfoque en el paciente quirúrgico. *Rev. Chil. Cir.* 62(1): 87-92.
- Van Campen, D.R. y Glahn, R.P. (1999) Micronutrient bioavailability techniques: accuracy, problems and limitations. *Field Crop. Res.* 60(1): 93-113.
- Van Pee, W.M.; Boni, L.E.; Foma, M.N. y Hendriks, A. (1981) Fatty acids composition and characteristics of the kernel fat of different mango varieties *J. Sci. Food Agric.* 32(5): 485- 488.
- Vanek, V.W. (2002) Ins and outs of enteral access. Part 1: short-term enteral access. *Nutr. Clin. Pract.* 17(5): 275-283.
- Vanek V.W. (2003) Ins and outs of enteral access. Part 2: long term access-enteral: esophagostomy and gastrostomy. *Nutr. Clin. Pract.* 18(1): 50-74.
- Vaquero, P.; Veldhuizen, M.; Van Dokkum, W.; Van den Hamer, C.J. y Schaafsman, G. (1994) Copper bioavailability from breakfasts containing tea. Influence of the addition of milk. *J. Sci. Food Agric.* 64(4): 475-481.
- Vázquez, C. (1994) Los comienzos de la nutrición enteral. *Alim. Nutr. Salud* 1(2): 25-26.
- Vázquez, C.; Santos, M.A. y Riarola, J. (1988) *Vademécum de nutrición artificial* (1º Ed) Ediciones CEA, Madrid, España.
- Vázquez, C. y Santos, M.A. (2004) *Vademécum de nutrición artificial* (6º Ed.) Díaz de Santos, Madrid, España.

- Viadel, B.; Barberá, R. y Farré, R. (2006) Uptake and retention of calcium, iron, and zinc from raw legumes and the effect of cooking on lentils in Caco-2 cells. *Nutr. Res.* 26(11): 591-596.
- Vijay, G. y Kies, C.V. (1994) Zinc bioavailability and tea consumption. *Plant Foods Hum. Nutr.* 46(3): 267-276.
- Vitali, D.; Vedrinaro Dragojević, I. y Šebečić, B. (2008) Bioaccessibility of Ca, Mg, Mn and Cu from whole grain tea-biscuits: Impact of proteins, phytic acid and polyphenols. *Food Chem.* 110(1): 62-68.
- Waitzberg, D.L.; Plopper, C. y Terra, R.M. (2000) Access routes for nutritional therapy. *World J. Surg.* 24(12): 1468-1476.
- Wall, M.M. (2006) Ascorbic acid, vitamin A, and mineral composition of banana (*Musa sp.*) and papaya (*Carica papaya*) cultivars grown in Hawaii. *J. Food Comp. Anal.* 19(5): 434-445
- Walzem, R.L.; Dillard, C.J. y German, J.B. (2002) Whey components: millenia of evolution create functionalities for mammalian nutrition: What we know and what we may be overlooking. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 42(4): 353-375
- Ward, T.A. y Reichert, R.D. (1986) Comparison of the effects of cell wall and hull fiber from canola and soybean on the bioavailability for rats of minerals, protein and lipid. *J. Nutr.* 116(2): 233-234.
- Watzke, H.J. (1998) Impact of processing on bioavailability examples of minerals in foods. *Trends Food Sci. Technol.* 9(8): 320-327.
- Weaver, C.M. (1998) Use of calcium tracers and biomarkers to determine calcium kinetics and bone turnover. *Bone* 22(5): 103-104.
- Welsh, F.K.S.; Farmery, S.M.; McLennan, K.; Sheridan, M.B.; Barclay, G.R.; Guillou, P.J. y Reynolds, J.V. (1998) Gut barrier function in malnourished patients. *Gut* 42(3): 396-401.
- Wienk, K.J.H.; Marx, J.J.M. y Beynen, A.C. (1999) The concept of iron bioavailability and its assessment. *Eur. J. Nutr.* 38(2): 51-75.

- Witting de Penna, E.; Avendaño, P.; Soto, D. y Bungler, A. (2003) Caracterización química y sensorial de bizcochuelos enriquecidos con fibra dietética y micronutrientes para ancianos, Arch. Latinoam. Nutr. 53(1): 74-83.
- Wong, K.H. y Cheung, P.C.K. (2003) Effect of fiber-rich brown seaweeds on protein bioavailability of casein in growing rats. Int. J. Food Sci. Nutr. 54(4): 269-279.
- Wood, R.J. y Zheng, J. (1997) High dietary calcium intakes reduce zinc absorption and balance in humans. Am. J. Clin. Nutr. 65(6): 1803-1809.
- Woodcock, N.P.; Zeigler, D.; Palmer, M.D.; Buckley, P.; Mitchell, C. J. y MacFie, J. (2001) Enteral versus parenteral nutrition: a pragmatic study. Nutr. 17(1): 1-12.
- Wortley, G.; Leussner, S.; Good, C.; Gugger, E. y Glahn, R. (2005) Availability of a fortified processed wheat cereal: a comparison of fourteen iron forms using an *in vitro* digestion/human colonic adenocarcinoma (CaCo-2) cell model. British J. Nutr. 93(1): 65-71.
- Wright J. (2000.) Total parenteral nutrition and enteral nutrition in diabetes. Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care. 3(1): 5-10,
- Yokohama, S.; Aoshima, M.; Asama, T.; Shindo, J. y Maruyama, J. (2009) Clostridium difficile associated enteric disease after percutaneous endoscopic gastrostomy. J. Gastroenterol. 44(2): 121-125
- Younes, H.; Coudray, C.; Bellanger, J.; Demigné, C.; Rayssiguier, Y. y Rémésy, C. (2001) Effects of two fermentable carbohydrates (inulin and resistant starch) and their combination on calcium and magnesium balance in rats. Br. J. Nutr. 86(4): 479-485.
- Yun, J.H.; Cha, Y. J. y Lee, D.S. (2007) Storage stability and shelf life characteristics of Korean savory sauce products. J. Food Sci. Nutr. 12(4): 242-250.
- Ziegler, E.E. y Filer, L.J. (1990) Conocimientos Actuales sobre nutrición (7º Ed.) OMS. ILSI Pub Cientif, Washinton DC, USA.
- Ziegler, T.R.; Smith, R.J.; O'Dwyer, S.T.; Demling, R.H. y Wilmore, D.W. (1998) Increased intestinal permeability associated with infection in burn patients. Arch. Surg. 123(11): 1313-1319.