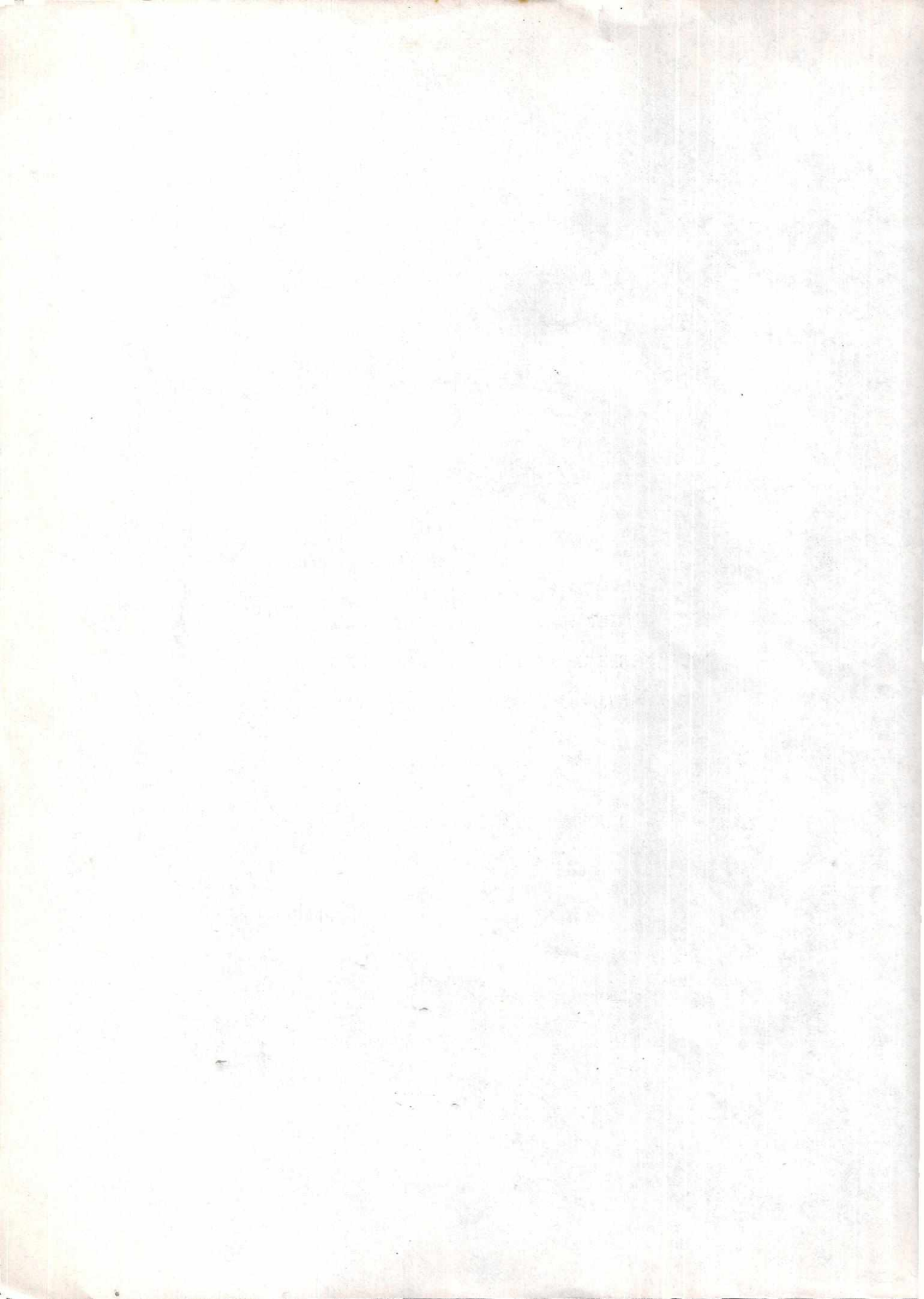


BIODISPONIBILIDAD Y DIGESTIBILIDAD DE
CAROTENOIDES DE MAIZ COMUN Y MAIZ COMUN
SUPLEMENTADO CON LISINA Y TRIPTOFANO
EN RATAS



Te
C281
1987

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ciencias y Humanidades

BIODISPONIBILIDAD Y DIGESTIBILIDAD DE
CAROTENOIDES DE MAIZ COMUN Y MAIZ COMUN
SUPLEMENTADO CON LISINA Y TRIPTOFANO
EN RATAS

EDWIN JOSUE CASTELLANOS LOPEZ

Trabajo de Investigación presentado
para optar al grado academico de
Licenciado en Química

**BIBLIOTECA
DE LA
UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA**

Guatemala

1987

LIBRARY
OF THE
CITY OF BOSTON

Vo. Bo.

f) Concepción Inde Bosque
Licenciada Concepción de Bosque
Asesor

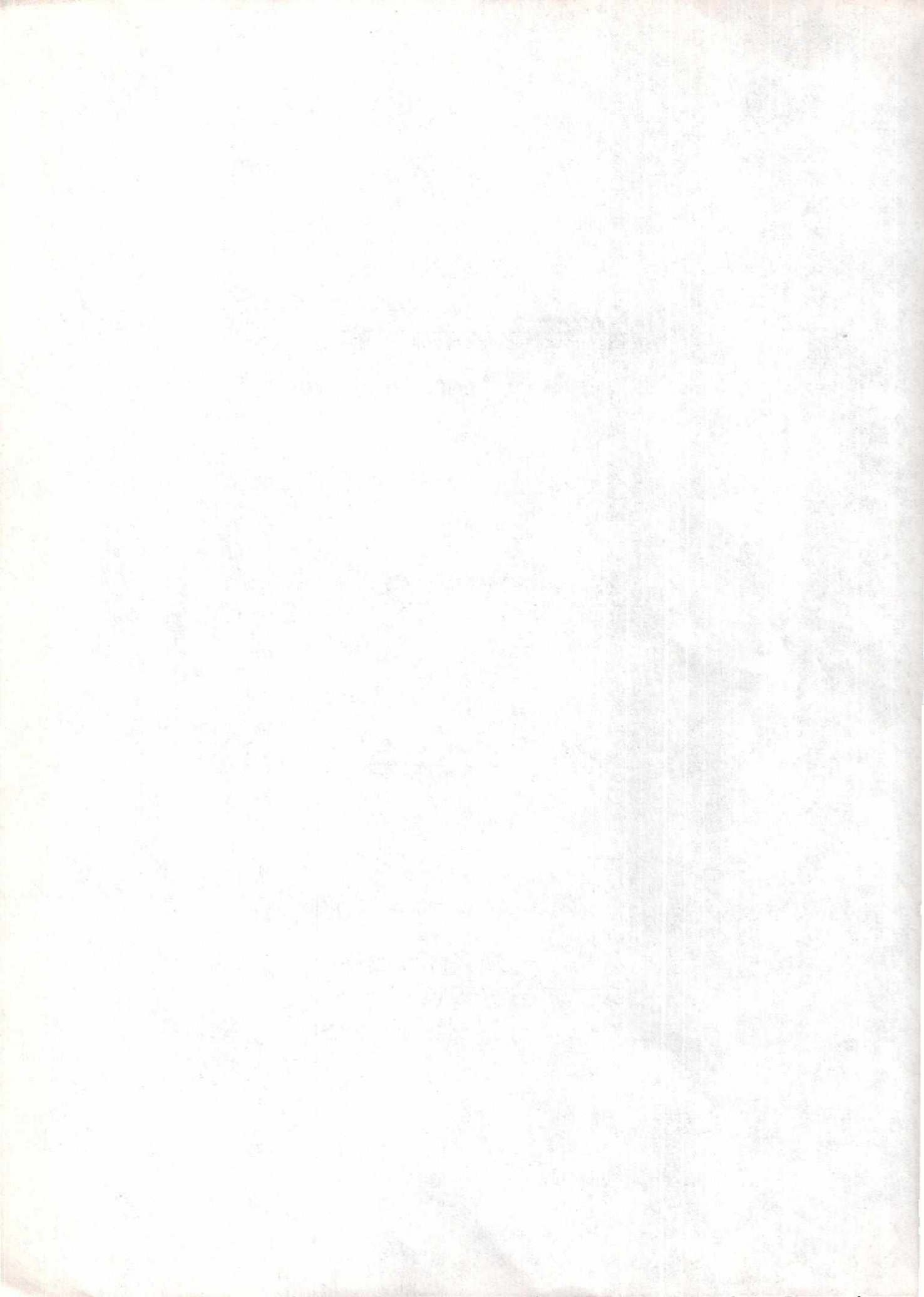
Tribunal:

f) Concepción Inde Bosque
Licenciada Concepción de Bosque

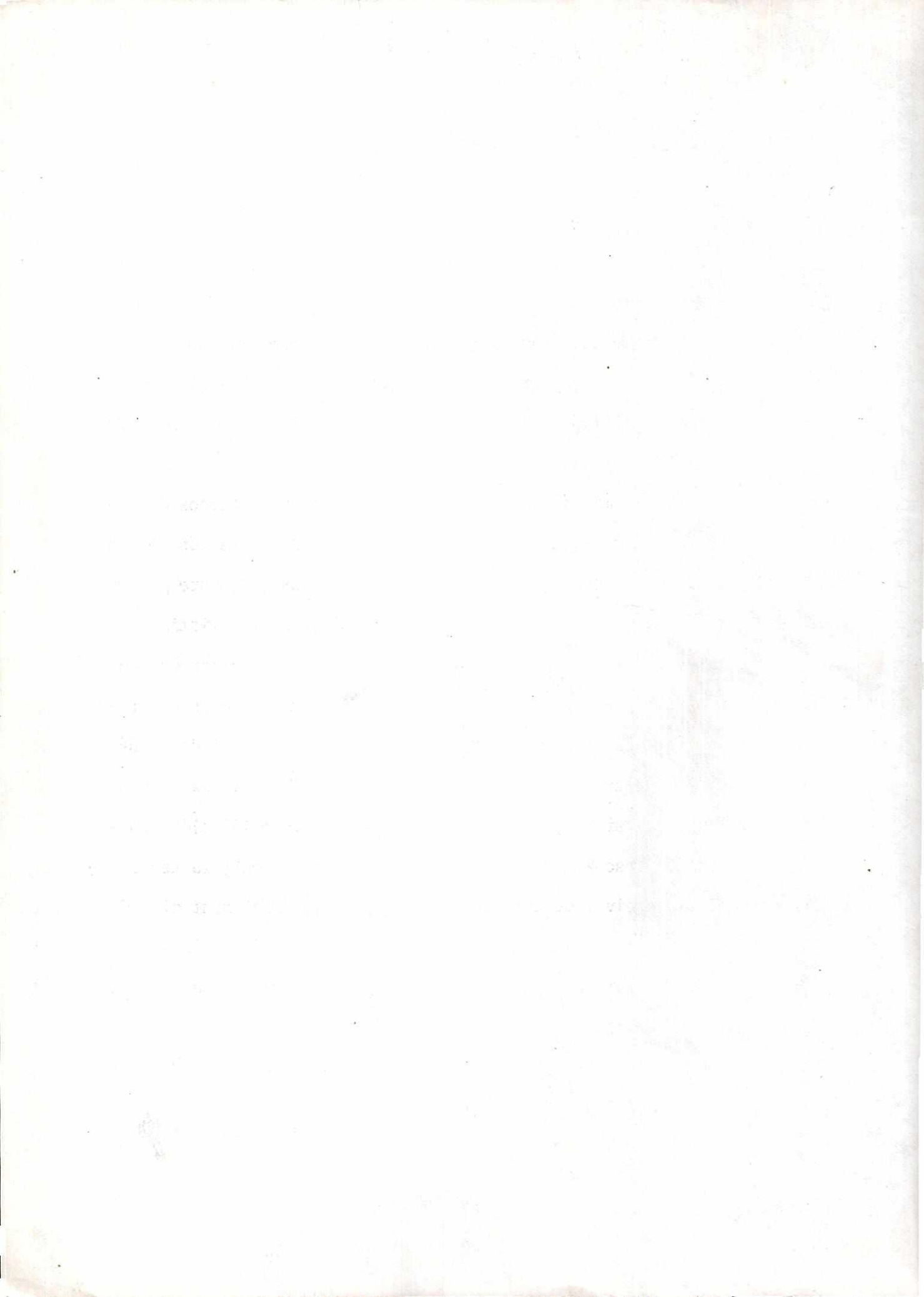
f) Juan de Dios Calle
Doctor Juan de Dios Calle

f) Ricardo Bressani
Doctor Ricardo Bressani

Fecha de aprobación: 11 de agosto de 1987



A mi Familia
A Waleska
A Julia Esther



RESUMEN

Se estudió el efecto de la suplementación de lisina y triptofano al maíz común amarillo sobre la digestibilidad y biodisponibilidad de sus carotenos como fuente de vitamina A. Para ello se colocaron 10 grupos de 8 ratas cada uno en un período de depleción con una dieta libre de vitamina A. Se sacrificó un grupo de ratas al inicio del período de depleción, a los 37 días del mismo período y a los 67 días para mantener un registro de la disminución de los niveles sericos y hepáticos de vitamina A del conjunto de ratas. Una vez comprobada la depleción de las ratas se inició un período de repleción que duró 7 días. En este período se asignó cada uno de los grupos de ratas a siete dietas distintas: un control negativo (dieta sin vitamina A), dos dietas estandar de contenido de retinol de 0.2 y 0.4 mg retinol/100 g y cuatro dietas experimentales elaboradas a base de maíz: la primer dieta con nivel de carotenos alto (0.677 mg caroteno/100 g dieta) y proteina normal; la segunda dieta con nivel de carotenos más bajo (0.412 mg caroteno/100 g) debido a la adición de una fracción de maíz blanco y proteina normal; la tercer dieta con el mismo nivel de carotenos altos, pero con suplementación de lisina (310 mg/100 g) y triptofano (100 mg/100g) y la última dieta con el mismo nivel de carotenos bajos pero con la misma suplementación mencionada. Se colectaron heces durante el período de repleción para cuantificar los carotenos presentes y calcular luego su digestibilidad. Al final del período de repleción se sacrificaron las ratas para determinar niveles sericos y hepáticos de retinol. Con el nivel de retinol hepáti-

co se calculó la potencia de vitamina A de los carotenos de los dos tipos de muestra de maiz, obteniéndose valores de 0.150 ± 0.091 mcg retinol/mcg caroteno para maiz normal y de 0.193 ± 0.093 mcg retinol/mcg caroteno para maiz suplementado. Estos valores son comparables con otros reportados en literatura. El nivel de reservas hepáticas del grupo de ratas con dieta III mostró un aumento significativo respecto a los otros grupos. Esto indica que la suplementación si aumentó la deposición de carotenos como retinol. Las ratas hembras mostraron una mayor reserva hepática, pero niveles sericos más bajos respecto a los machos. La digestibilidad de los carotenos de las cuatro dietas fue similar, obteniéndose un valor promedio de absorción de 80% del total ingerido.

CONTENIDO		Páginas
	RESUMEN	ix
I.	INTRODUCCION	1
II.	ANTECEDENTES	5
	A. Vitamina A y Carotenoides	5
	1. Factores que afectan la utilización de vitamina A	7
	2. Requerimientos de vitamina A de la rata	8
	B. El maiz	9
III.	OBJETIVOS	13
IV.	DISEÑO EXPERIMENTAL	15
V.	MATERIALES Y METODOS	17
	A. Materiales	17
	B. Métodos	17
	1. Análisis de muestras	17
	2. Preparación de dietas	17
	3. Evaluación biológica	21
VI.	RESULTADOS	27
	A. Cálculo de potencia de Vitamina A de maices	46
VII.	DISCUSIONES	53
VIII.	CONCLUSIONES	67
IX.	RECOMENDACIONES	69
X.	BIBLIOGRAFIA	71

APENDICES

A.	Métodos de análisis utilizados en la presente investigación	77
B.	Método para el cálculo de potencia de vitamina A.	81
C.	Análisis de varianza de los análisis estadísticos.	89
D.	Unidades para definir actividades de vitamina A	91
E.	Cromatograma de análisis HPLC para muestra de maiz común.	95

I. INTRODUCCION

Es ya ampliamente conocido que la hipovitaminosis A es uno de los principales problemas nutricionales del mundo (1-4). En 1976 se publicó una lista de 74 países y territorios donde se consideraba que la hipovitaminosis A era un problema de salud pública (5). En ese entonces se estimó en 100,000 el número de casos de ceguera derivada de xeroftalmía aguda (enfermedad carencial por deficiencia de vitamina A) anuales, y en un millón el número de casos no agudos (6). Encuestas más recientes indican que sólo en Asia un cuarto de millón de personas quedan permanentemente ciegas debido a la deficiencia de vitamina A que presentan (2).

América Latina, constituida principalmente por países en desarrollo, presenta uno de los focos principales de este problema (7). Las encuestas nutricionales del INCAP entre 1965 y 1967 (8) confirmaron que en Guatemala y el resto de países centroamericanos el problema de hipovitaminosis A era muy serio. Se encontró por ejemplo que uno de cada tres niños de edad preescolar en el área rural tenía niveles de vitamina A debajo de lo considerado normal. Esto motivó al INCAP a desarrollar el programa de fortificación con vitamina A para tratar de contrarrestar el problema. Luego de varias investigaciones se decidió que el alimento adecuado para la fortificación era el azúcar, y se inició así el programa de fortificación de este alimento (9). Los resultados obtenidos fueron muy buenos (10) y todos los países centroamericanos emitieron leyes para que el programa se efectuara a gran escala.

En 1979 las industrias azucareras presentaron resistencia al progra-

ma de fortificación debido a la baja del precio del azúcar y al aumento del precio de la vitamina A. Panamá interrumpió su programa y Guatemala y Honduras lo sostuvieron en pequeña escala. En la actualidad el programa de fortificación del azúcar prácticamente ha dejado de funcionar (2).

La OMS enumeró una serie de medidas a tomar para combatir la hipovitaminosis A. La aplicación de una u otra medida dependerá de las circunstancias particulares del problema. Las medidas a aplicar pueden ser (2): distribución de dosis masivas, enriquecimiento de alimentos (método que probó ser muy eficaz en Guatemala pero que lamentablemente ha cesado) programas educativos para la población, atención primaria de salud, programas de rehabilitación nutricional y la promoción de horticultura y actividades productivas afines.

Esta última técnica de intervención es de particular ayuda en países eminentemente agrícolas como lo es Guatemala. Ya se ha iniciado un programa de nutrición y huertas escolares que entre otras cosas pretende educar a las familias para promover el cultivo y consumo de verduras y frutas ricas en nutrientes (11).

En este tipo de programas es necesario promover el cultivo y consumo de plantas genéticamente adaptadas a las condiciones del medio y que sean conocidas por los agricultores de la región. Debe además tener la planta la cantidad adecuada de nutrientes, en este caso vitamina A. Se ha advertido que existe hoy en día grandes dudas sobre la exactitud de las cifras de las tablas de composición de alimentos en lo que respecta al contenido de vitamina A. Esto se basa en descubrimientos recientes de que métodos tradicionales para la cuantificación de carotenoides,

como el método de la AOAC (12), presentan errores elevados al ser aplicados a ciertos tipos de alimentos (13). Por lo tanto es necesario volver a evaluar las fuentes de vitamina A que tradicionalmente han sido confiables, para poder desarrollar actividades de promoción. Se debe buscar además otras fuentes no tradicionales útiles por su abundante producción y consumo adecuado en ciertas áreas rurales (2).

El maíz es el alimento básico para la mayoría de la población de América (14-16). Se han desarrollado un sinfín de razas y variedades de donde es posible seleccionar aquellas que sirvan mejor a los objetivos que se deseen lograr (14). El consumo de maíz en Guatemala es elevado, y es de mucha importancia el hecho de que los niños preescolares, el sector poblacional mayormente afectado por la hipovitaminosis (8,9), consumen en su dieta el 30% en peso de maíz (17).

El maíz contiene una cantidad de provitamina A en forma de beta-caroteno. Se plantea entonces la interrogante: si el maíz contiene vitamina A y es consumido en altas cantidades en Guatemala y América Latina, ¿por qué en esta región del hemisferio la carencia de vitamina A es un problema tan grande? Se puede presentar dos respuestas a esta interrogante: en primer lugar, el tratamiento al que es sometido el maíz antes de ser ingerido es bastante drástico, tomando en cuenta lo inestable de los compuestos con actividad de vitamina A. La tortilla es una de las principales formas en que se consume el maíz. Se ha encontrado (18) que en la elaboración de la tortilla se pierde un 40% de los carotenos. La segunda respuesta concierne a la calidad del maíz ingerido. No todas las variedades de maíz contienen provitamina A, y no en todas este com-

puesto está igualmente disponible. En Guatemala se presenta un consumo elevado de maíz blanco, variedad que no contiene vitamina A en lo más mínimo.

Se ha investigado bastante el contenido de carotenoides del maíz utilizando métodos químicos, pero si se desea conocer la verdadera actividad de vitamina A de estos, se hace necesario utilizar métodos biológicos (40). Estos métodos toman en cuenta eficiencias variables en absorción, conversión y utilización de fuentes precursoras de vitamina A (41). Sin embargo estos métodos son poco utilizados por ser costosos en tiempo y dinero, pero son los métodos finales que deben aplicarse para conocer el potencial de vitamina A de una muestra de alimento.

Siendo la hipovitaminosis A uno de los principales problemas del hemisferio, debe de ser atendido inmediatamente desarrollando programas adecuados a nuestro medio. Uno de los programas que mejor se adecúa es el de promover el cultivo y consumo de alimentos vegetales ricos en vitamina A. Uno de estos alimentos bien puede ser el maíz, por lo que su potencial de vitamina A debe ser adecuadamente determinado. Para aprovechar al máximo esta fuente de vitamina A se debe enseñar a la gente la forma de consumir el maíz de manera que la pérdida de vitamina sea mínima. Además se debe buscar formas de aumentar la disponibilidad de los carotenos y fomentar el uso de variedades más ricas en estos compuestos, no sólo por su mayor contenido de carotenos sino por su mayor biodisponibilidad.

II. ANTECEDENTES

A. Vitamina A y carotenoides

Vitamina A es un término genérico que se aplica a todos los compuestos que tienen actividad biológica de vitamina A. Incluye los compuestos de retinol y los carotenos convertibles en retinol. Este último es el verdadero compuesto con actividad biológica, pero los carotenos son fácilmente convertidos a retinol en el intestino e hígado de todos los animales con necesidad de vitamina A.

Los carotenoides son pigmentos poliisoprenoides altamente conjugados, generalmente con 40 átomos de carbono. Alrededor de 400 carotenoides han sido aislados e identificados a partir de plantas, animales y micro-organismos. Una clasificación útil de los carotenoides los divide en dos grupos: los que al romperse pueden producir retinol con actividad de vitamina A (provitaminas) y los que no tienen esta propiedad. Al primer grupo, de interés central para el presente trabajo de investigación, pertenecen aproximadamente 20 compuestos. Entre estos, los más conocidos son los carotenos, alfa, beta y gamma, y criptoxantina (19,20).

De todos los carotenoides, es el beta-caroteno el que presenta la mayor actividad como provitamina A. Esto resulta claro al estudiar su estructura, donde se encuentra que la molécula es perfectamente simétrica y que al romperse por la mitad (en el enlace 15-15') producirá dos moléculas de retinol. En el resto de carotenoides activos sólo uno de los lados de la molécula representa una molécula de retinol. Es por ello que al beta-caroteno se le asigna el doble de actividad biológica que al res-

to de carotenoides (21).

Por otro lado, los carotenoides con actividad biológica no llegan a tener nunca la actividad del retinol, que es el verdadero compuesto activo. Esto es debido a dos razones: primero, la absorción de carotenoides en el intestino es más baja que la de retinol (30% a 60% para los primeros: 75% para el último); segundo, la enzima encargada de romper los carotenoides para transformarlos a retinol no actúa con 100% de eficiencia como es de esperar. Esta enzima es una oxigenasa que actúa a nivel de la mucosa intestinal (20,22).

Una revisión de nomenclatura en 1965 (23) estableció que el término retinol debería de usarse para indicar el alcohol de vitamina A, y que el término vitamina A incluiría todos los compuestos con posible actividad biológica. Para trabajar con las múltiples formas de vitamina A se ha establecido el término equivalentes de retinol, en el cual se transforma de beta-caroteno a retinol dividiendo entre 6, y de otros carotenoides a retinol dividiendo entre 12. Esto se hizo en base a la efectividad biológica de los carotenoides, aunque luego se encontró que esta actividad no era propia del compuesto en sí, sino del alimento donde el compuesto estuviera contenido (20,24).

Otro descubrimiento que suscitó interés en la década pasada fue la existencia de una proteína acarreadora del retinol en el plasma. Aquí el retinol es enlazado a la proteína enlazante de retinol (RBP por sus siglas en inglés) para poder ser transportado. Se encontró luego que el metabolismo de la vitamina A involucra varios tipos de proteínas, sin las cuales no puede ser utilizada (2,20,22).

Aparte de la proteína de enlace de retinol (RBP), se encontró que el retinol intracelular se encontraba unido a otra proteína, la cRBP (c por celular), completamente distinta. Se descubrió además que luego de ser transportada a su destino final, la vitamina A no se encuentra libre en solución en las células donde será usada; más bien se encuentra unida a proteínas celulares específicas, enzimas o agregados ricos en lípidos y membranas (20). Esto demostró que el metabolismo de la vitamina A presenta una interrelación con una diversidad de compuestos y que para estudios nutricionales se debe estudiar no sólo el contenido de vitamina A de los alimentos, sino sus otros componentes.

1. Factores que afectan la utilización de vitamina A.

Se ha enumerado una serie de factores que pueden influenciar la buena utilización de vitamina A (19):

i. Adecuación de ingesta de proteínas: como ya se ha mencionado, existe una estrecha relación entre el metabolismo de la vitamina A y el metabolismo de proteínas. Además de funcionar como transportadores internos, las proteínas ayudan a la buena absorción de la vitamina A en el intestino. Una ingesta no adecuada de proteínas de buena calidad obstaculizará la absorción de la vitamina A (25). La presencia de cantidades de proteína entre el 20 y el 40% de la dieta ayudan a la formación intracelular del retinaldehído a partir de caroteno (20).

ii. Forma física de la vitamina A: la forma física de una dosis oral de vitamina A influenciará su velocidad de absorción. Los estudios han revelado que las preparaciones acuosas de vitamina A son mejor absorbidas que las oleosas.

iii. Influencias de la vitamina C; los estudios sugieren que las concentraciones altas de vitamina C en la dieta disminuyen la deposición de vitamina A en el hígado. En animales que sintetizan vitamina C, como la rata, existen datos conflictivos en cuanto al papel de esta vitamina como reductora de los síntomas de hipervitaminosis A (2).

iv. Papel de la vitamina E: Los efectos antioxidantes de la vitamina E pueden ser benéficos para la absorción de la vitamina A (19,20). En animales experimentales la vitamina E aumenta la absorción intestinal y el almacenamiento en el hígado de las vitaminas (28).

v. Antagonismo de la vitamina K: experimentos con ratas indican que cantidades excesivas de vitamina A aumentan el tiempo de cicatrización, lo que indica un posible antagonismo con la vitamina K (29).

vi. Interrelaciones de minerales: la hipovitaminosis A está frecuentemente relacionada con anemia en los niños mal nutridos y la corrección de deficiencia de vitamina A ha disminuido la prevalencia de anemia. Las deformaciones de los huesos y la hipercalcemia en casos de hipervitaminosis A sugieren una posible relación de antagonismo de la vitamina A con el calcio. Finalmente se ha estudiado una posible relación de vitamina A con zinc, en la que este último ayudaría a mejorar los niveles séricos de la proteína.

2. Requerimientos de vitamina A de la rata. Los requerimientos de vitamina A para las ratas han sido estudiados más que para otros animales. El valor final recomendado depende de el estandar empleado, ya sea niveles sanguíneos, hepáticos, crecimiento o longevidad.

Considerando los estudios efectuados se estima que con 30 mcg de retinol por kilo de peso por día se obtienen animales de crecimiento normal (21). Sin embargo, otros estudios muestran que con dietas conteniendo el doble o el cuádruple de esta vitamina, la longevidad y el período reproductivo son mayores. Por otro lado, existen los peligros de una sobredosis en los animales. Uno de los primeros reportes al respecto fue dado por investigadores japoneses 50 años atrás. Ellos probaron concentrados crudos de vitamina A en ratas y ratones. Grandes dosis orales producían pérdida de cabello, adelgazamiento y parálisis, con advenimiento de muerte después de varios días o semanas (30). Otros estudios sobre hipervitaminosis A en ratas corroboran los resultados de serios trastornos fisiológicos (31-33).

B. El Maíz

El maíz ha sido desde tiempos muy remotos el principal alimento en la dieta de los americanos. En estos países y en otros de Asia se observan ingestas tan altas como 350 g por persona al día (14). En el área de Centroamérica se observa que en países como Guatemala, El Salvador y Honduras el maíz constituye la principal porción del alimento ingerido en el área rural, siendo así el más importante proveedor de nutrientes en la dieta (8).

La tabla 2.1 muestra la composición química de dos tipos de maíz en Guatemala. El alto contenido de carbohidratos hacen del maíz una fuente excelente de energía. Por otro lado se tiene un bajo contenido de proteína total, con deficiencia en dos aminoácidos esenciales: lisina y triptofano. La ingesta de una dieta basada en maíz como fuente de proteínas llega a causar trastornos por su deficiencia. Se ha tratado de atacar

Tabla 2.1

Composición química proximal promedio del maíz

	Blanco	Amarillo
Materia seca	80.1	87.8
Extracto etereo	4.83	3.53
Nitrogeno	1.29	1.34
Proteina	8.06	8.37
Fibra cruda	1.58	1.33
Ceniza	1.28	1.08
Carbohidratos	70.04	73.86
Carotenos (mg%)	----	0.30
Calorías/100g	356	370

Fuente: Bressani et al (34)

esta deficiencia proteínica mediante el uso de dietas combinadas con frijol o soya. Se ha experimentado también con formas de fortificación directa de los aminoácidos deficientes.

Uno de los descubrimientos más interesantes, emocionantes y significativos ha sido el hecho de que la proteína del maíz puede ser sustancialmente mejorada empleando ciertos genes que afectan especialmente el contenido de lisina (35). El suceso notable ocurrió a mediados de los sesenta cuando Mertz y colaboradores reportaron (36) que la inclusión de un gen recesivo, opaco-2, en el maíz producía un aumento del contenido de lisina hasta en un 69%.

Desde su descubrimiento, el maíz opaco-2 ha demostrado repetidas veces sus cualidades nutricionales en ratas, pollos, cerdos y humanos de todas las edades (14). Los ensayos biológicos nutricionales han mostrado que en las especies experimentales el maíz opaco tiene un mayor valor nutritivo. El gen se introduce fácilmente en distintas variedades, pero presenta dos problemas: baja la producción de algunas variedades y cambia las características físicas del endospermo, haciéndolo más suave y harinoso, lo que limita su aceptabilidad popular. Estos problemas fueron notados desde el descubrimiento de los híbridos de opaco-2 (35,37,38,39).

En los primeros trabajos de investigación de actividad de vitamina A de los carotenos del maíz, Weis y Bisbey (42) encontraron que el extracto metanólico de carotenoides de maíz (que contenía las xantofilas) no mostraba ninguna actividad de vitamina A en ratas. Sin embargo Fraps (43) encontró que las ratas vivían más tiempo cuando la fuente de carotenos se les administraba en aceite de algodón o de maíz que con aceite de hí-

gado de bacalao o alfalfa. Se ha determinado ahora que el maíz contiene pequeñas cantidades de beta-zea-caroteno y criptoxantina con alguna actividad de vitamina A (41). Sadana y Ahmad (44) usaron valores analíticos para calcular biopotencias esperadas de carotenos de maíz. Utilizaron para ello la definición de UI y llegaron a estimar que 1 mg de carotenos de maíz tendría una biopotencia de 1041 UI para la rata. Wellenreiter y colaboradores (45) realizaron un experimento para determinar la biopotencia de carotenos de maíz utilizando cerdos. Reportaron un valor de 261 UI por mcg de caroteno.

Los experimentos que han estudiado la relación proteína uso de carotenos en el maíz se han centrado principalmente en el efecto de la cantidad de proteínas y no tanto la calidad. Jagannathan y Patwardhan (46) concluyeron de sus estudios que si el nivel de proteína de la dieta bajaba, el uso de betacarteno, tanto en su absorción como en su transformación, bajaba. Encontraron un nivel óptimo de proteína en la dieta de 12%. Stoecker y Arnrich (47) reportan que a mayor cantidad de proteína en la dieta ocurre mayor uso de carotenos.

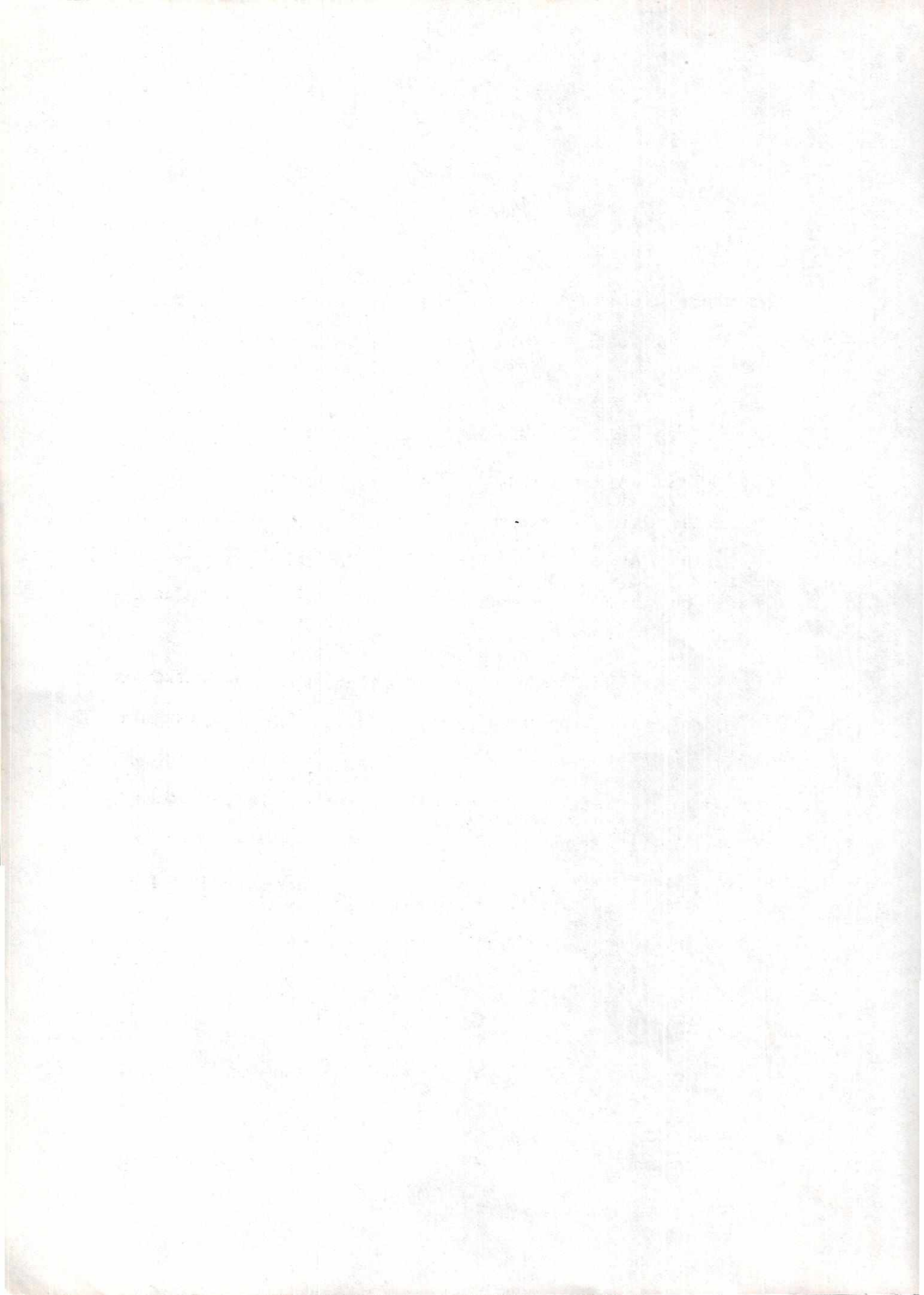
III. OBJETIVOS

General:

Determinar el efecto de la calidad de la proteína de el maíz común sobre la digestibilidad y biodisponibilidad de sus carotenoides.

Específicos:

1. Determinar la digestibilidad de los carotenos en maíz común y en maíz suplementado con lisina y triptofano, y establecer si hay diferencia significativa en este aspecto para cada tipo de muestra.
2. Determinar la disponibilidad biológica de los carotenos como precursores de vitamina A en maíz común y maíz suplementado con lisina y triptofano.
3. Determinar el efecto producido por la suplementación del maíz común con lisina y triptofano sobre la digestibilidad y disponibilidad de carotenos como precursores de vitamina A.
4. Estudiar el efecto del nivel de dosis de carotenos en la dieta sobre la digestibilidad de carotenos y su posterior transformación a retinol de reserva hepática.



IV. DISEÑO EXPERIMENTAL

Ya que el presente trabajo involucra dos variables distintas (digestibilidad y biodisponibilidad), se plantean hipótesis separadas para cada una de estas variables.

En lo referente a digestibilidad, se estudia el efecto de dos factores: calidad de proteínas y cantidad de carotenoides. Se plantea así la siguiente hipótesis nula: (cada hipótesis nula conlleva su correspondiente hipótesis alterna).

"La calidad de la proteína y/o cantidad de carotenoides en las dietas elaboradas a base de maíz común no afecta significativamente la digestibilidad de los carotenoides presentes en dichas dietas".

Se diseñó un experimento factorial 2x2 con los siguientes factores y niveles: 1) calidad de proteína: nivel normal y mejorado; 2) cantidad de carotenoides: nivel bajo (0.412 mg/100 g dieta) y nivel alto (0.677 mg/100 g dieta). Se utilizó un diseño completamente al azar con ocho repeticiones para cada uno de los cuatro tratamientos, para dar un total de 32 unidades experimentales. El nivel de significancia para prueba de hipótesis se estableció en 0.05.

La biodisponibilidad de carotenoides en maíz es evaluada por la respuesta biológica de las ratas presentada para cada tipo distinto de dieta. Específicamente se utiliza el nivel de reservas hepáticas de vitamina A. Las dos variables usadas en la evaluación son: mcg de vit. A/g de hígado y mcg totales de vitamina A en el hígado. Se estudia el efecto de tres factores: calidad de proteína, cantidad de carotenoides y sexo

de la rata. La hipótesis nula planteada es:

"La calidad de proteína en la dieta, cantidad de carotenoides en la dieta y el sexo de la rata no afecta significativamente el nivel de reservas hepáticas de vitamina A en las ratas".

Se diseñó un experimento factorial $2 \times 2 \times 2$ con los siguientes factores y niveles: 1) calidad de proteína: nivel normal y mejorado; 2) cantidad de carotenoides: nivel bajo (0,412 mg/100 g dieta) y nivel alto (0,677 mg/100 g dieta); 3) sexo de la rata: nivel 1 macho y nivel 2 hembra. Se utilizó un diseño de bloques completos al azar utilizando como variable de bloqueo la digestibilidad de carotenoides. Se formaron cuatro bloques para los ocho tratamientos, para dar un total de 32 unidades experimentales. Cada unidad experimental fue analizada con un submuestreo en triplicado. El nivel de significancia para pruebas de hipótesis fue de 0.05.

Para calcular un valor numérico de disponibilidad de carotenoides o potencia de vitamina A de cada uno de los dos tipos de dieta (a base de maíz normal y a base de maíz suplementado con lisina y triptofano) se utilizó un diseño de ensayo de radio de pendientes con seis puntos (dos estándar y dos para cada dieta) y cero común de intercepto. Los dos puntos para cada dieta representan dos niveles de dosis de vitamina A o carotenoides administrados. Se colocó además un grupo control con dieta libre de vitamina A. Cada nivel de dosis para dietas estándar tuvo 6 repeticiones y para dietas problema 8 repeticiones. En total 50 unidades experimentales. La variable de respuesta utilizada en el análisis fue concentración de retinol hepático expresado en mcg de retinol/g de hígado. Se obtuvieron límites de confianza utilizando t de student con n.s. del 0,05 (para una mejor explicación véase el apéndice B).

V. MATERIALES Y METODOS

A. Materiales:

- 2 Kg de maíz común amarillo obtenidos en el ICTA,
- 1 Kg de maíz común blanco obtenido en el ICTA.
- 80 ratas de la raza Wistar de ambos sexos (40 machos y 40 hembras) de 22 días de edad.

B. Métodos:

(Una descripción detallada de los métodos de análisis químico aquí mencionados se encuentra en el apéndice A)

1. Análisis de muestras. Las dos muestras de maíz fueron molidas y pasadas por un tamiz número 30. Se realizó un análisis de carotenos totales y xantofilas totales dos días antes de preparar las dietas siguiendo el método AOAC (12). En el maíz blanco se hizo únicamente la parte de extracción, comprobándose que no había carotenos detectables. Los maíces fueron guardados a 4 C en la oscuridad hasta el momento de preparar las dietas.

2. Preparación de dietas. Para el período de depleción se utilizó la dieta libre de vitamina A utilizada por Wolzak y Bressani (48) en su estudio de biodisponibilidad de carotenoides. La composición de la dieta se muestra en la tabla 5.1. Esta dieta se preparó en dos batches ya que debido al número de ratas y al período de depleción tan largo la cantidad de dieta a preparar fue elevada. Esta misma dieta libre de vitamina A se utilizó durante el período de repleción como control negativo. Esta dieta también sirvió de base para elaborar las dos dietas estandar

Tabla 5.1

Composición de la dieta libre de vitamina A
utilizada durante el período de depleción

Ingrediente	Contenido (100 g dieta)
Caseína (g)	14.4
Almidón (g)	76.6
Minerales (62) (g)	4.0
Aceite de algodón (ml)	5.0
Solución de vitaminas del complejo B (63) (ml)	5.0

del período de repleción, adicionando a la misma cantidades conocidas de solución acuosa de palmitato de retinol (Merck) con una potencia calculada de 2000 UI/ml (según reporte del fabricante). Las composiciones de la dieta control y las dos dietas estandar se muestran en la tabla 5.2. Las dietas estandar fueron preparadas el mismo día de ser dadas a las ratas.

Se prepararon además cuatro dietas a base de maíz según la composición mostrada en la tabla 5.3. Estas dietas también fueron preparadas el mismo día de ser dadas a las ratas.

Puede observarse en la tabla 5.3 que el maíz blanco es agregado como un diluyente para mantener el mismo porcentaje de maíz, pero un nivel de carotenos más bajo. La cantidad de maíz blanco agregado fue calculada para dar un nivel mínimo de carotenos adecuado para la rata. El porcentaje de maíz total agregado a las dietas es el máximo posible, ya que es necesario agregar a las dietas otros ingredientes como minerales, aceite y vitaminas para poder cubrir todos los requerimientos nutritivos de la rata (49). Las dietas III y IV fueron suplementadas con hidrocloreuro de 1-lisina grado alimenticio de la compañía Kyowa Hakko Kogyo Co. Ltd. con una concentración de 310 mg/100 g dieta y con DL-triptofano grado analítico de la compañía Merck con una concentración de 100 mg/100 g dieta. Para mantener el contenido total de nitrógeno en niveles similares en las cuatro dietas se adicionó una cantidad calculada de glicina (ICN Pharmaceuticals, Inc.) a las dietas I y II.

Una vez elaboradas las siete dietas para el período de repleción fueron mantenidas a 4 C en la oscuridad. Se determinó el porcentaje total de nitrógeno de los siete tipos diferentes de dietas utilizando el mé-

Tabla 5.2

Composición de la dieta de control negativo
y las dietas estandar para el período de repleción

Ingrediente	Composición por 100 g de dieta		
	C.N.	STD 0.2	STD 0.4
Caseína (g)	14.4	14.4	14.4
Almidón (g)	76.6	76.6	76.6
Minerales (62) (g)	4.0	4.0	4.0
Aceite de algodón (ml)	5.0	5.0	5.0
Solución de vitaminas del complejo B (63) (ml)	5.0	5.0	5.0
Solución vitamina A (ml)*	0.0	0.533	1.066

*Concentración de la solución de vitamina A: 2000 UI/ml

Concentración final de vitamina A en las dietas:
Control negativo (C.N.): 0,0 mg retinol/100 g dieta
Estandar 0.2 (STD 0,2): 0.2 mg retinol/100 g dieta
Estandar 0.4 (STD 0,4): 0.4 mg retinol/100 g dieta

todo macro Kjeldahl.

3. Evaluación biológica:

i. Disposición de los animales experimentales: Las 80 ratas fueron ordenadas de acuerdo a sus pesos y se formaron 10 grupos de 8 ratas cada uno, lo más homogéneo posible entre si respecto a pesos. En cada grupo se colocaron 4 machos y 4 hembras. Los grupos fueron divididos físicamente colocando uno por cada hilera horizontal de jaulas de metal.

ii. Período de depleción: Al inicio del período de depleción (el día en que se colocaron las ratas en sus jaulas) se sacrificó un grupo completo de ratas escogido al azar. El sacrificio en esta y en todas las etapas del experimento se hizo de la manera descrita a continuación:

Se durmió el animal con cloroformo. Se hizo un corte en el cuello para tener acceso a la arteria yugular. Se hizo un corte en la arteria y se colectó la sangre del animal sobre un plato petri plástico, cuidando de esparcir en la mayor superficie la sangre colectada. Una vez colectada suficiente cantidad de sangre, se sacrificó el animal haciéndolo respirar cloroformo. La sangre fue dejada coagular por unos 15 minutos hasta que separara el suero. El suero separado fue centrifugado en frío para clarificarlo (4000 RPM, 10 Min, 10°C) y luego fue congelado a -20C hasta el momento de su análisis. Se extrajo el hígado completo de la rata sacrificada para pesarlo. Se cortó una fracción del extremo del lóbulo mayor para pesarla. Ambos, el hígado completo y su fracción fueron congelados a -20 C hasta el momento de su análisis.

Tabla 5.3

Composición de las dietas de prueba
utilizadas durante el período de repleción
elaboradas a base de maíz

Ingrediente	Composición por 100 g de dieta			
	I	II	III	IV
Maíz amarillo (g)	91.0	55.4	91.0	55.4
Maíz blanco (g)	-----	35.6	-----	35.6
Minerales (62) (g)	4.0	4.0	4.0	4.0
Aceite de algodón (ml)	5.0	5.0	5.0	5.0
Solución de vitaminas del complejo B (63) (ml)	5.0	5.0	5.0	5.0
Glicina (mg)	327.9	327.9	-----	-----
Lisina (mg) (Hidrocloruro)	-----	-----	310.0	310.0
DL-Triptofano (mg)	-----	-----	100.0	100.0

Dieta I: Proteína normal y carotenos altos;
Dieta II: Proteína normal y carotenos bajos;
Dieta III: Proteína suplementada y carotenos altos;
Dieta IV: Proteína suplementada y carotenos bajos.

Durante el período de depleción, se alimentó a las ratas con la dieta libre de vitamina A y agua ad libitum. Semanalmente se pesaron las ratas para mantener un registro del aumento de peso y se obtuvo el peso de alimento ingerido para mantener un registro de eficiencias de alimento. Este dato se calculó con la siguiente fórmula:

Eficiencia de alimento = alimento ingerido/aumento de peso.

Los datos de peso y eficiencia de alimento permitían controlar el estado nutricional general de las ratas.

A los 37 días de depleción se sacrificaron 8 ratas más para mantener un registro del nivel de depleción alcanzado hasta ese momento. Para escoger las ratas a sacrificar se calcularon las eficiencias de alimento de esa semana para todas las ratas. Se ordenaron las eficiencias de menor a mayor y se escogieron las 8 ratas (4 de cada sexo) de puntos equidistantes, para obtener una muestra lo más representativa del grupo completo.

iii. Período de repleción: A los 60 días las ratas mostraron signos de depleción completa de vitamina A. Se inició entonces a los 67 días el período de repleción con las dietas estandar y las dietas problema. Antes de iniciar el período de repleción se reorganizaron los grupos de ratas restantes (8 grupos) de acuerdo a las eficiencias alimenticias mostradas en la última semana, para formar de nuevo grupos homogéneos. En el momento del inicio de repleción habían muerto 3 ratas, por lo que 3 grupos debieron quedar con 7 ratas. Las 7 dietas fueron asignadas al azar a 7 grupos y el octavo grupo se sacrificó para obtener las concentraciones hepáticas y sericas de vitamina A para el inicio de repleción. Los grupos de 7 ratas fueron asignados al grupo de sacrificio y a los

grupos con dietas estandar, ya que los grupos con dietas de maices debían quedar completos para lograr un mejor análisis estadístico. En la asignación al azar, si un grupo de 8 ratas era asignado a una dieta estandar la rata 8 de ese grupo era transferida a un grupo con dieta de maíz, cuidando de mantener la homogeneidad de los grupos.

Los siete grupos reordenados para el período de repleción fueron ordenados físicamente por hileras. Se les alimentó con la dieta respectiva y agua ad libitum por un período de 7 días. Durante este tiempo se recolectaron las heces de cada rata. Estas fueron secadas a 60 C con aire circulante por 24 horas y luego fueron pesadas y guardadas en refrigeración hasta el momento de su análisis.

Al finalizar el período de repleción se sacrificaron todas las ratas para obtener muestras de suero e hígado de la manera ya descrita. Las muestras fueron analizadas en un tiempo no mayor de 15 días.

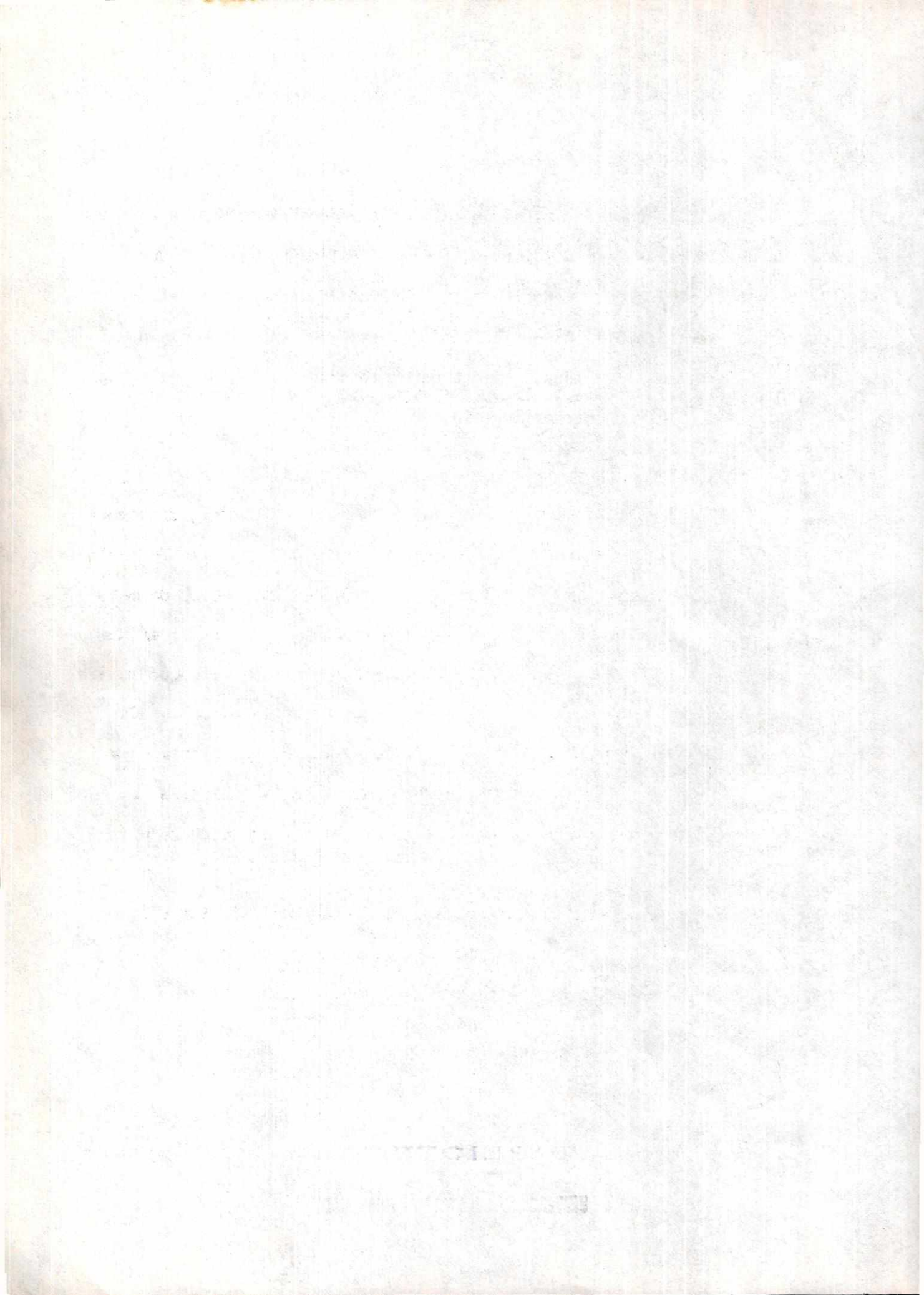
Se determinó el nivel de retinol en los sueros e hígados de los 10 grupos de ratas siguiendo el método descrito originalmente por Besey y colaboradores (50). La muestra de hígado se homogenizó con solución de glicerol-agua 50+50 (v/v) en un homogenizador de Potter-Elvehjem (51).

Se determinó la cantidad de carotenos totales en las heces siguiendo el método desarrollado por el autor basado en el método descrito por Nozenko (32). Se analizó una muestra representativa de heces del total colectado para cada rata durante los 7 días de repleción. Con esto se encontró la concentración de carotenos expresada en mcg de caroteno por gramo de heces. Este valor se multiplicó luego por el peso total de heces colectadas en el período de repleción, para obtener el valor de ca-

rotenos totales excretados.

Se calculó la cantidad total de carotenos ingeridos en base a el contenido de carotenos de cada dieta y al peso de alimento ingerido durante la semana de repleción. Conociendo la cantidad de carotenos ingeridos y excretados se calculó la digestibilidad de estos mediante la fórmula

$$D = \frac{\text{Carotenos ingeridos} - \text{carotenos excretados}}{\text{carotenos ingeridos}} \times 100$$



VI, RESULTADOS

La tabla 6.1 presenta el contenido de carotenos totales y xantofilas totales del maíz común utilizado según los resultados obtenidos por las cuatro réplicas de análisis efectuadas. Estos cuatro resultados dan un promedio de 7.4 ± 0.9 mcg de beta-caroteno por gramo de maíz húmedo (intervalo de confianza al 95%). El contenido de xantofilas totales promedio fue de 11.9 ± 2.4 mcg de luteína por gramo de maíz húmedo.

La tabla 6.2 presenta el contenido de nitrógeno, proteína, carotenos y vitamina A de las dietas usadas durante el estudio. La dieta de depleción se preparó en dos batches, como ya se indicó en la sección de métodos, por lo que se presentan dos datos para la dieta libre de vitamina A. La dieta marcada como nivel 0.0 tiene la misma composición que la dieta de depleción, pero al ser elaborada en distinta fecha el contenido de nitrógeno varió ligeramente. Las cuatro dietas elaboradas a base de maíz tuvieron un porcentaje de proteína de alrededor de 8.4%, mientras que las dietas usadas como estandares y de depleción tuvieron un porcentaje de alrededor de 12.8%.

Las concentraciones de carotenos en las dietas son calculadas conociendo el contenido de carotenos del maíz amarillo (tabla 6.1) y el porcentaje de maíz amarillo en cada dieta (tabla 6.3) de la siguiente manera:

$$\text{Carotenos dieta} = \text{carotenos maíz (mg/g)} \times \% \text{ de maíz en dieta.}$$

La tabla 6.3 muestra los cambios en los niveles hepáticos y séricos de las ratas durante el período de depleción. En el sacrificio inicial

Tabla 6.1

Contenido de carotenos totales y xantofilas totales
del maíz amarillo utilizado

Réplica	carotenos totales (como beta-caroteno) mcg/g	xantofilas totales (como luteína) mcg/g
1	6.64	11.7
2	7.58	-----
3	8.07	11.0
4	7.47	12.9
Promedio	7.4+0.9*	11.9+2.4*

*intervalo de confianza al 95%

TABLA 6.2

Contenido de nitrógeno, proteína, carotenos y vitamina A de las dietas utilizadas durante el estudio

Dieta	%N ¹	%P ¹	Carotenos ² mg/100 g	Vitamina ^{A3} mg/100g	UI/100g
De depleción	2.14	13.3	0.0	0.0	0.0
De depleción	2.08	13.0	0.0	0.0	0.0
estandar 0.0	2.05	12.8	0.0	0.0	0.0
estandar 0.2	2.02	12.6	0.0	0.2	667
estandar 0.4	2.04	12.8	0.0	0.4	1333
maíz I (prot.normal) ⁴	1.35	8.4	0.677	0.0	1128
Maíz II (prot.normal)	1.35	8.4	0.412	0.0	687
Maíz III (prot.mejorada)	1.33	8.3	0.677	0.0	1128
Maíz IV (prot.mejorada)	1.36	8.5	0.412	0.0	687

Notas:

- 1: Promedio de dos réplicas. El % de proteína se obtiene al multiplicar %N por 6.25.
2. Carotenos totales expresados como beta-caroteno
3. El estandar de vitamina A fue agregado como palmitato de retinol, pero esta concentración está expresada como mg de retinol/100 g.
4. Para las cuatro dietas a base de maíz, los números I a IV corresponden a los números en la tabla 2.

de ocho ratas no se logró obtener muestra de suero suficiente para hacer el análisis. A pesar de haberse utilizado un análisis micro, se necesitaban por lo menos 200 microlitros de suero. Por ser las ratas de muy corta edad, la cantidad de sangre obtenida fue poca, y el suero separado aún menos, e insuficiente. Las ratas sacrificadas en ese momento pesaron entre 40 y 48 g. Este grupo de ratas presentó una concentración de retinol hepático con una media de 22.1 mcg/g con un rango de variación de 17.2-31.0 mcg/g. Las ratas sacrificadas después de 37 días de depleción mostraron una concentración media de 1.2 mcg/g con rango de 0.3-1.9 mcg/g. Las ratas sacrificadas al final del período de depleción mostraron una concentración hepática media de 1.1 mcg/g con rango de 0.7 a 1.5 mcg/g. Aunque la diferencia en reservas hepáticas es mínima entre estos dos grupos, sus concentraciones de retinol en suero si varían significativamente y a los 67 días las 4 ratas que se pudieron analizar mostraron una concentración menor que el límite de detección del método de análisis usado (5mcg/dl (51)).

La tabla 6.4 presenta los datos de niveles séricos de retinol en las ratas alimentadas durante el período de repleción. La rata 3 de la dieta estandar 0.2 y la rata 5 de la dieta estandar 0.4 murieron antes de iniciar el experimento. No se presenta el valor de el nivel sérico de vitamina A para la rata 5 de la dieta control negativo (nivel 0.0) debido a que no fue posible separar completamente el suero de esta muestra de sangre. Las ratas marcadas con un asterisco mostraron en sus sueros un ligero nivel de hemólisis. Dos asteriscos significan un nivel de hemólisis un poco mayor.

TABLA 6.5

Niveles séricos y hepáticos de retinol de las ratas sacrificadas durante el periodo de depleción¹

Sexo ⁷	Rata	Inicial ⁵		57 días		67 días		Suero ⁶		
		Higado ²	Higado ³	Suero ⁴	Higado	Suero	Higado			
M	1	22.9±3.1	48.2±6.6	---	0.9 ±0.2	11.4±2.4	19.6±5.6	1.2±0.6	11.2±5.6	<5
M	2	31.0±1.0	52.8±1.7	---	1.7 ±0.1	11.0±0.8	9.8±0.2	0.7±0.6	4.6±3.9	<5
M	3	19.4±1.4	24.7±1.8	---	0.3 ±0.2	4.3±3.0	17.5±3.4	0.7±0.3	7.0±3.4	<5
M	4	19.2±1.7	30.2±2.5	---	0.6 ±0.2	7.1±2.2	25.5±4.4	0.9±0.1	8.7±0.8	<5
H	5	24.8±3.4	47.9±6.5	---	1.9 ±0.2	16.5±2.0	18.6±1.2	1.4±0.2	11.8±1.5	<5
H	6	17.2±0.9	26.7±1.4	---	1.5 ±1.1	9.9±7.0	20.1±2.7	1.5±1.3	8.7±7.2	<5
H	7	23.5±2.0	38.1±3.2	---	1.2 ±1.0	9.8±8.6	23.4±2.8	1.1±0.9	7.8±6.0	<5
H	8	18.7±4.5	29.6±7.2	---	1.3 ±0.5	7.9±3.1	16.8±3.1	---	---	<5
X		22.1	37.3	---	1.2	9.7	18.9	1.1	8.5	
	peso medio									
						201.1±40.8 g				226.9±44.5 g

- Notas: 1. Promedio de tres determinaciones = desviación estandar
 2. Microgramos de retinol por gramo de higado; 3. Microgramos retinol total
 4. Microgramos de retinol por decilitro de suero
 5. No se obtuvieron sueros iniciales
 6. muestras de ratas 2, 4 y 6 perdidas
 7. M = macho H = Hembra

La tabla 6.5 presenta los valores promedio totales y por sexo de rata de los niveles séricos de retinol de los grupos alimentados durante el período de repleción.

La tabla 6.6 presenta la concentración de retinol hepático expresado como mcg de retinol/g de hígado de los grupos de ratas del período de repleción. Esta concentración es la que se determinó en la porción de hígado trabajada (extremo inferior del lóbulo mayor).

La tabla 6.7 es similar a la anterior, pero con la concentración de retinol hepático expresada como mcg de retinol total en el hígado. Este valor se obtuvo de multiplicar las concentraciones de retinol de la tabla 6.6 por el peso de hígado total correspondiente.

La tabla 6.8 presenta los promedios totales y por sexo para cada grupo de los valores mostrados en las tablas 6.6 y 6.7.

La tabla 6.9 presenta las eficiencias de alimento de las dietas elaboradas a base de maíz utilizadas durante el período de repleción. Estas eficiencias son calculadas sobre el período total de repleción de 7 días. Una sola rata mostró disminución de peso sobre este período (rata 7 dieta II), por lo que su eficiencia resultó negativa. Este valor negativo no fue utilizado en el cálculo del promedio del grupo.

La tabla 6.10 presenta las eficiencias de alimento de las dietas estándar y la dieta control negativo utilizadas en el período de repleción.

La tabla 6.11 presenta las digestibilidades de los carotenos contenidos en las cuatro dietas a base de maíz, calculadas durante el período completo de repleción.

La tabla 6.12 presenta la digestibilidad de materia seca de las cuatro dietas a base de maíz.

TABLA 6.4

Niveles sericos de retinol (mcg/dL) de los grupos de ratas alimentados durante el período de repleción¹

Sexo ⁴	Rata	Dietas a base de maíz						
		I	II	III	IV	0.0	0.2	0.4
M	1	34.0±3.1	19.8±1.8	52.1±9.4	39.4±4.6	10.4±5.9	41.7±3.6	39.6±0.6
M	2	33.4±8.6	25.4±2.8	48.3±11.0	23.4±3.6*	10.1±5.4	50.9±1.0	41.4±1.0
M	3	31.7±1.0	17.3±1.8	37.6±4.4	36.1±4.4	6.5±2.6	-----2	27.1±1.1
M	4	32.6±2.7	26.1±4.6	61.6±5.8	44.7±1.4**	29.4±5.0 d	55.1±7.5	53.3±6.3 d
H	5	43.1±0.6*	14.5±1.9	22.8±1.9	17.5±1.8	-----3	34.0±2.2	-----2
H	6	37.9±5.6	16.6±1.4	21.6±1.4	32.5±4.6	11.5±4.4	33.7±3.6	32.4±1.8**
H	7	33.4±1.3	15.1±0.9	21.6±4.1	32.6±2.5	6.2±1.6	31.4±5.3	27.9±4.4**
H	8	42.6±7.7	14.2±3.8	20.4±1.6	24.6±1.0	5.0	32.8±2.3	28.0±0.6
	$\bar{x} \pm s$	36.1±4.6	18.6±4.8	35.8±16.5	31.4±9.0	8.0±3.2	39.9±9.6	32.7±6.3

Notas:

- 1: Promedio de tres determinaciones. El intervalo es la desviación estándar
- 2: Ratas muertas antes del inicio del experimento
- 3: Suero perdido
- *: Sueros ligeramente hemolizados
- ** : Sueros más hemolizados
- d: dato descartado en el cálculo del promedio (véanse discusiones)
- 4: M = macho; H = hembra

TABLA 6.5

Promedios total y por sexo de los niveles séricos de retinol (mcg/dL) para cada grupo alimentado durante el período de repleción

Dieta	Machos	Hembras	Total	No. 20mcg/dL ¹
Maíz I	32.9	34.2	36.1±4.6 ²	0
Maíz II	22.2	15.1	18.6±4.8	5
Maíz III	49.9	21.6	35.8±16.5	0
Maíz IV	35.9	26.8	31.4±9.0	1
0.0	9.0	7.0	8.0±3.2	6 (todas)
0.2	49.2	33.0	39.9±9.6	0
0.4	36.0	29.4	32.7±6.3	0

Notas:

- 1: Número de ratas dentro del grupo con nivel sérico de vit. A. debajo de 20 mcg/dL
- 2: El intervalo es la desviación estándar del grupo.

TABLA 6,6

Niveles hepáticos de retinol expresados como mcg de retinol por gramo de hígado, para los siete grupos de ratas con dietas de repleción-Período de repleción: 7 días

Sexo	Rata	Dietas a base de maíz 4				Dietas estándar 4		
		I	II	III	IV	0.0	0.2	0.4
M	1	1.8±8.4	0.5±0.8	1.6±0.3	1.0±0.7	0.4±0.2	7.8±1.3	23.2±3.0
M	2	1.3±0.2	2.3±1.3	2.8±0.8	2.3±0.3	0.2±0.1	8.3±1.9	21.4±1.0
M	3	1.4±0.3	0.4±0.5	2.0±0.9	1.1±0.2	0.4	-----	15.7±1.0
M	4	1.4±1.0	1.1±0.3	2.2±1.1	1.4±0.2	15.6±0.8 ^d	7.4±0.5	4.4±0.7 ^d
H	5	2.6±0.5	7.1±1.8	8.3±0.1	7.4±1.1	0.3±0.1	13.7±1.5	-----
H	6	4.3±0.8	5.0±0.3	6.3±0.8	6.3±0.7	0.2±0.1	13.3±2.7	28.3±1.9
H	7	5.5±0.3	5.3±0.2	6.3±0.9	4.8±0.8	0.1	14.7±2.6	33.7±2.2
H	8	6.6±0.2	2.3±0.2	7.4±0.8	3.5±0.3	0.5±0.1	14.7±2.1	44.7±1.5
	$\bar{x} \pm s$	3.1±2.1	3.0±2.5	4.6±2.7	3.5±2.5	0.3±0.15	11.4±3.4	27.8±10.3

Notas:

- 1: Los datos son el promedio de tres determinaciones. El intervalo mostrado es la desviación estándar.
- 2: Ratas muertas antes del inicio del experimento
- 3: Dato de un solo análisis
- 4: El contenido de cada dieta puede verse en la tabla 6.2
- d: Datos descartados (véanse discusiones)

TABLA 6.7

Niveles hepáticos de retinol expresados como mcg de retinol total en el hígado, para los siete grupos de ratas con dietas de repleción. 1 Período de repleción: 7 días.

Sexo	Rata	Dietas a base de maíz 4				Dietas estándar 4		
		I	II	III	IV	0.0	0.2	0.4
M	1	18.9±9.1	5.2±9.0	20.6±3.1	10.7±7.0	4.0±1.7	103±17	273±35
M	2	12.9±1.8	21.2±12	22.1±6.1	24.5±3.5	2.4±1.0	76±17	231±11
M	3	13.1±2.5	3.7±5.7	15.4±6.5	11.0±1.7	4.0	----- ²	175±11
M	4	12.6±8.6	13.3±3.8	21.4±11	12.1±2.1	131±6 ^d	94±6	40±6 ^d
H	5	21.5±5.2	56.2±14	67.8±1.1	58.2±8.1	1.9±0.7	99±11	----- ²
H	6	32.4±5.6	40.8±2.2	47.3±5.8	54.2±6.4	1.0±0.5	69±14	191±13
H	7	39.9±2.3	29.8±1.3	48.5±2.8	38.0±6.3	0.3	3	121±21
H	8	41.0±1.2	14.8±1.6	45.4±4.7	25.8±2.4	3.3±0.8	100±14	269±9
	$\bar{x} \pm s$	24.0±12.1	23.1±18.2	35.8±18.6	29.3±19.1	2.4±1.4	94.6±17.4	218±46

Notas:

1: Cada una de las determinaciones promediadas en la tabla 8a. fue multiplicada por el total del peso del hígado respectivo. Estos tres datos fueron promediados y son los mostrados en esta tabla. El intervalo es la desviación estándar.

2: Ratas muertas antes del inicio del período de repleción.

3: Dato de un solo análisis

d: Datos descartados (véanse discusiones)

4: El contenido de cada dieta puede verse en la tabla 6.2

TABLA 6.8

Promedios total y por sexo de los niveles
hepáticos de retinol para cada grupo
alimentado durante el período de repleción

Dieta ²	MACHOS		HEMBRAS		TOTAL	
	mcg/g	mcg total	mcg/g	mcg total	mcg/g	mcg total
Maíz I	1.5	14.4	4.8	33.7	3.1±2.1 ¹	24.0±12.1
Maíz II	1.1	10.8	4.9	35.4	3.0±2.5	23.1±18.2
Maíz III	2.2	19.9	7.1	51.8	4.6±2.7	35.8±18.6
Maíz IV	1.4	14.6	5.5	44.1	3.5±2.5	29.3±19.1
0.0	0.35	3.5	0.24	1.6	0.29±0.15	2.4±1.4
0.2	7.8	91.0	14.1	97.2	11.4±3.4	94.6±17.4
0.4	20.1	226.0	35.6	210.	27.8±10.3	218.0±46.0

Notas:

- 1: El intervalo es la desviación estándar del grupo
- 2: Véase la descripción de la dieta en la tabla 6.2

TABLA 6.9

Eficiencias alimenticias de las diferentes dietas elaboradas a base de maíz durante la semana de repleción de las ratas

Sexo ¹	Dieta I			Dieta II			Dieta III			Dieta IV			
	Rata	A(g)	B(g)	C(%)	A(g)	B(g)	C(%)	A(g)	B(g)	C(%)	A(g)	B(g)	C(%)
M	1	140	8	17.5	131	8	16.4	196	41	4.78	178	43	4.14
M	2	140	12	11.7	194	11	16.4	161	30	5.37	143	31	4.61
M	3	136	14	9.7	140	4	35.0	150	30	5.00	144	22	6.54
M	4	154	24	6.4	177	24	7.4	174	39	4.46	140	19	7.37
H	5	161	7	23.0	160	29	5.5	184	29	6.34	159	26	6.12
H	6	145	20	7.2	144	12	12.0	163	32	5.09	183	35	5.23
H	7	163	23	7.1	124	-2	-622	152	31	4.90	164	26	6.31
H	8	142	16	<u>8.9</u>	140	19	<u>7.4</u>	124	19	<u>6.53</u>	160	24	<u>6.67</u>
$\bar{x} \pm s$		11.4±5.9			14.5±10.2			5.31±0.74			5.87±1.11		

A = Consumo de alimento en gramos, B = Aumento de peso en gramos, C = Eficiencia alimenticia

Eficiencia alimenticia = $\frac{\text{Consumo de alimento}}{\text{Aumento de peso}}$

1: M = Macho H = Hembra

2: Dato no utilizado en el cálculo del promedio de grupo.

TABLA 6.10

Eficiencias alimenticias de las dietas suministradas como estándares durante la semana de repleción de las ratas.

Sexo	Rata	Dieta 0.0			Dieta 0.2			Dieta 0.4		
		A(g)	B(g)	C	A(g)	B(g)	C	A(g)	B(g)	C
M	1	163	26	6.26	184	45	4.09	153	32	4.78
M	2	159	37	4.30	151	27	5.59	163	56	2.91
M	3	161	34	4.74	---	--	----	162	40	4.05
M	4	139	39	3.56 ^d	180	52	3.46	134	32	4.19 ^d
H	5	131	8	16.4	132	18	7.35	---	--	----
H	6	115	18	6.39	109	14	7.79	120	25	4.8
H	7	122	11	11.1	182	38	4.79	105	10	10.5
H	8	124	16	7.75	123	25	4.92	147	28	5.25
	$\bar{x} \pm s$			9.13±4.28			5.42±1.61			5.38±2.64

A = Consumo de alimento en gramos; B = aumento de peso en gramos; C = eficiencia de alimento calculada así:

$$\text{Eficiencia} = \frac{\text{Consumo de alimento}}{\text{Aumento de peso}}$$

Notas:

- 1: Ratas muertas antes de iniciar el período de repleción.
2. Ratas descartadas (véase discusión)

TABLA 6.11

Digestibilidad de los carotenos contenidos en las cuatro dietas preparadas a base de maíz, calculadas sobre 7 días de repleción

Sexo	Rata	Dieta I				Dieta II				Dieta III				Dieta IV			
		A	B	C	D(%)	A	B	C	D(%)	A	B	C	D(%)	A	B	C	d(%)
M	1	948	250	698	73.6	540	191	549	64.6	1327	212	1115	84.0	733	170	563	76.8
M	2	948	230	718	75.7	799	118	681	85.2	1090	270	820	75.2	589	149	440	74.7
M	3	921	197	724	78.6	577	131	446	77.3	1016	268	748	73.6	593	126	467	78.8
M	4	1043	203	840	80.5	729	149	580	79.6	1178	243	935	79.4	577	114	463	80.2
H	5	1090	190	900	82.6	659	115	544	82.5	1246	210	1036	85.1	655	81	574	87.6
H	6	982	235	747	76.1	593	113	480	80.9	1104	187	917	83.1	754	127	627	83.2
H	7	1104	259	845	76.5	511	48	463	90.7	1029	169	860	83.6	676	144	532	78.7
H	8	961	155	806	83.9	577	95	482	83.5	839	140	699	83.3	659	132	527	80.0
	$\bar{x} \pm s$		785±73		78.8±3.2		503±99		80.5±7.6		891±140		80.7±4.1		524±64		80.0±4.0

A = Carotenos ingeridos en microgramos; B = Carotenos excretados en mcg;

C = Carotenos absorbidos (A-B) en mcg; D = Digestibilidad calculada por la fórmula:

$$\text{digestibilidad} = \frac{\text{Carotenos ingeridos} - \text{carotenos excretados}}{\text{Carotenos ingeridos}} \times 100$$

TABLA G.12
 Digestibilidad de materia seca de las cuatro dietas
 a base de maíz, calculadas sobre los 7 días de repleción

Sexo	Rata	DIETA I			DIETA II			DIETA III			DIETA IV		
		A	B	C(%)	A	B	C(%)	A	B	C(%)	A	B	C(%)
M	1	120	11.42	90.5	113	11.14	90.1	165	14.59	91.2	153	11.93	92.2
M	2	120	10.09	91.6	167	11.82	92.9	156	12.31	90.9	123	10.11	91.8
M	3	116	9.53	91.8	121	12.11	90.0	126	12.42	90.1	124	11.70	90.6
M	4	132	11.68	91.2	152	14.20	90.7	147	14.21	90.3	120	11.79	90.2
H	5	138	11.13	91.9	138	11.20	91.9	155	12.54	91.7	137	9.77	92.9
H	6	124	11.62	50.6	124	10.31	91.7	137	10.94	92.0	157	11.36	92.8
H	7	140	11.71	91.6	108	9.48	91.2	128	10.79	91.6	141	11.69	91.7
H	8	122	10.56	91.3	121	10.40	91.4	104	6.84	93.4	137	11.69	91.5
	$\bar{x} \pm S$			91.3 \pm 0.53			91.2 \pm 0.97			91.4 \pm 1.0			91.7 \pm 0.96

A = Peso seco de dieta ingerida (g)

B = Peso seco de heces

C = Digestibilidad calculada por la fórmula

$$\text{Digestibilidad} = \frac{\text{Alimento ingerido} - \text{Alimento excretado}}{\text{Alimento ingerido}} * 100$$

La tabla 6.13 presenta los niveles séricos y hepáticos de carotenos de los grupos de ratas alimentados con dietas a base de maíz durante el período de repleción. La tabla 6.14 presenta los niveles séricos y hepáticos de carotenos de las ratas con dietas estandar y control negativo. La tabla 6.15 presenta los promedios por grupos totales y por sexo de los niveles séricos y hepáticos de carotenos de las ratas alimentadas durante el período de repleción.

TABLA 6.13

Niveles de carotenos en suero e hígado de los grupos de ratas tratados con dietas a base de maíz¹; Tiempo de Tratamiento 7 días

Sexo	Rata	Dieta I			Dieta II			Dieta III			Dieta IV		
		A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
M	1	0.26	2.80	0.2	0.40	4.49	0.0	0.43	5.47	4.1	0.35	3.65	3.6
M	2	0.10	0.93	0.7	0.57	5.35	0.0	0.72	5.72	2.7	0.35	3.65	4.6
M	3	0.07	0.68	2.2	0.38	3.92	0.0	0.59	4.49	3.6	1.12	11.4	4.1
M	4	0.35	3.09	2.9	0.41	4.86	0.0	0.71	6.98	3.6	1.46	12.2	4.7
H	5	1.23	9.73	2.2	1.78	14.0	0.0	2.0	16.3	2.7	1.72	13.5	4.3
H	6	1.0	7.55	4.6	1.69	14.0	0.0	0.85	6.43	2.7	2.45	21.1	7.7
H	7	1.14	8.32	2.4	1.54	8.67	0.0	0.84	6.51	3.1	1.56	12.4	4.8
H	8	1.84	11.4	3.6	0.82	5.39	0.0	1.33	7.84	3.1	1.22	9.08	4.3

A = microgramos de caroteno por gramo de hígado. B= microgramos de caroteno total (hígado)

C = microgramos de caroteno por decilitro de suero

1: El contenido de cada dieta puede verse en la tabla 6.2

TABLA 6.14

Niveles de carotenos en suero e hígado de los grupos de ratas tratados con dietas estandar^s. Tratamiento 7 días.

Sexo	Rata	Dieta 0.0			Dieta 0.2			Dieta 0.4		
		A	B	C	A	B	C	A	B	C
M	1	0.00	0.00	0.0	0.17	2.25	7.4	0.15	1.74	2.2
M	2	0.03	0.32	6.2	0.20	1.81	6.2	0.10	1.07	2.2
M	3	0.22	1.94	0.0	-----	-----	--- ¹	0.16	1.75	1.1
M	4	0.29	2.46	0.0	0.10	1.27	4.5 ^d	0.16	1.43	9.0 ^d
H	5	0.55	3.39	--- ²	0.20	1.45	5.8	-----	-----	--- ¹
H	6	0.26	1.63	0.0	0.29	1.51	4.3	0.17	1.15	3.2
H	7	0.00	0.00	0.0	0.65	5.35	5.3	0.33	1.69	3.6
H	8	0.05	0.39	0.0 ^e	0.44	3.03	6.5	0.64	3.87	2.5

A = microgramos de caroteno por gramo de hígado; B = microgramos de caroteno total (en hígado); C = microgramos de caroteno por decilitro de suero.

1: Ratas muertas antes de iniciar el período de repleción

2: Suero perdido

3: El contenido de las dietas en la tabla 6.2

d: Ratas descartadas (véase discusión)

TABLA 6.15

Promedios total y por sexo de los niveles séricos y hepáticos de carotenos para cada grupo alimentado durante el período de Repleción

Dieta	Machos			Hembras			Total 1		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C
Maíz I	0.20	1.88	1.5	1.30	9.25	3.2	0.75±0.65	5.5±4.2	2.4±1.4
Maíz II	0.44	4.66	0.0	1.46	10.5	0.0	0.95±0.62	7.6±4.2	0.0
Maíz III	0.61	5.66	3.5	1.25	9.27	2.9	0.93±0.50	7.5±3.7	3.2±0.5
Maíz IV	0.86	8.18	4.2	1.74	14.0	5.3	1.30±0.67	11±5	4.8±1.2
Dieta 0.0	0.08	1.18	0.0	0.22	1.35	0.0	0.16±0.20	1.1±1.3	0.0
Dieta 0.2	0.16	1.78	6.0	0.40	2.84	5.5	0.29±0.19	2.4±1.4	5.7±1.1
Dieta 0.4	0.14	1.52	1.8	0.38	1.40	3.1	0.26±0.10	1.0±1.0	2.5±0.9

A = Microgramos de caroteno por gramo de hígado

B = Microgramos de caroteno totales (en hígado)

C = Microgramos de caroteno por decilitro de suero

Notas:

1: El intervalo es la desviación estándar del grupo

A. Cálculo de la potencia de vitamina A de el maíz común amarillo y del mismo maíz suplementado con lisina y triptofano.

En el cálculo de la potencia de vitamina A se utilizó el método estadístico descrito por Bliss y White (40), el cual requiere que exista una respuesta lineal entre el nivel de dosis administrado y la respuesta biológica analizada. Se uso como variable de respuesta la concentración de retinol hepática expresada como mcg de retinol por gramo de hígado.

Para comprobar la relación lineal entre el nivel de vitamina A en la dieta y el nivel de retinol hepático, se dibujó la gráfica 1 con los datos de las tres última columnas de la tabla 6.6 (dietas estandar). La ecuación de la recta mostrada en la gráfica se calculó con un análisis de regresión, que dió los siguientes resultados:

$$R = 0.891$$

$$\text{Pendiente: } 68.5 \pm 8.2 \text{ (desviación estandar)}$$

$$\text{intercepto: } -0.57$$

$$\text{Desv. estandar de residuos: } sr = \pm 5.9$$

$$\text{número de puntos: } n = 20$$

El valor de R obtenido tiene una significancia arriba del 99.9% lo que indica una muy buena correlación. El análisis de varianza efectuado (apéndice C) muestra que el modelo de regresión es altamente adecuado. El cuadrado de R indica que la variable concentración de retinol en la dieta explica en un 79.4 % la reserva hepática obtenida en la rata.

Una vez comprobada la relación lineal de las variables se procedió a hacer el cálculo de potencia de acuerdo al método estadístico ya indi-

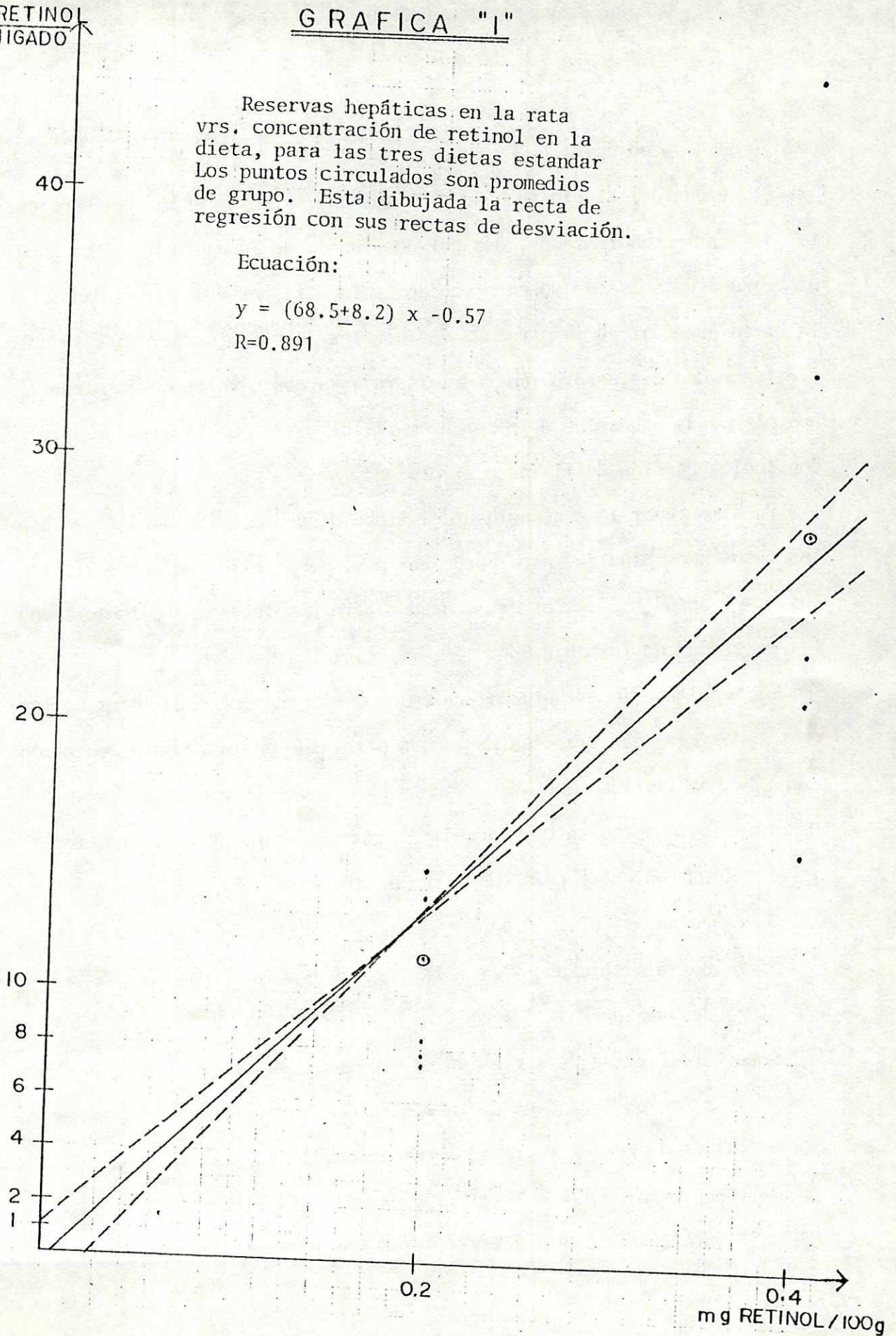
GRAFICA "I"

Reservas hepáticas en la rata
vrs. concentración de retinol en la
dieta, para las tres dietas estandar
Los puntos circulados son promedios
de grupo. Esta dibujada la recta de
regresión con sus rectas de desviación.

Ecuación:

$$y = (68.5 \pm 8.2) x - 0.57$$

$$R=0.891$$



cado (véase apéndice B).

El método de cálculo se basa en hacer una relación entre las pendientes de las rectas trazadas, una por dos puntos de la dieta problema administrada a dos niveles de carotenoides y la otra por dos puntos dados por la dieta estándar administrada a dos niveles de vitamina A. En esta caso se tienen dos dietas problema administradas a dos niveles de carotenos: una elaborada a base de maíz común amarillo y otra con la misma base pero con suplementación de lisina y triptofano.

Para mantener la continuidad del trabajo se presentan aquí solamente los resultados finales, pero puede verse el desarrollo completo de cálculos en el apéndice B. Los datos usados para completar los cálculos son los mostrados en la tabla 6.6.

El resultado importante del cálculo es el grupo de pendientes de las rectas de regresión trazadas para cada pareja de puntos. Esta regresión tiene la peculiaridad que es forzada a pasar por el intercepto. Además, la variable independiente se trabaja con unidades relativas. Se tiene así que las pendientes para cada tipo de dieta son:

Dieta estandar (02. y 0.4)	12.508
Dieta de maíz mejorado (III y IV)	3.1438
Dieta de maíz normal (I y II):	2.4488

Estas tres rectas de regresión se presentan en la gráfica 2, con los respectivos puntos para cada dieta y el promedio por dieta. La potencia es calculada por el cociente de estas pendientes, así:

Maíz suplementado: $P = 3.1438/12.508 = 0.2513$ adimensional

Maíz normal: $P = 2.4488/12.508 = 0.1958$ adimensional

La validéz del método estadístico utilizado se comprueba por el análisis de varianza mostrado en el apéndice B. De esta análisis de varianza se encuentra el error del método, que es utilizado para calcular los límites de confianza de los valores aquí obtenidos. El resultado de este cálculo es:

maíz suplementado: $P = 0.2560 \pm 0.1231$ adimensional

maíz normal: $P = 0.1994 \pm 0.1211$ adimensional

Los valores de potencia se encuentran en este momento adimensionales porque en el cálculo de pendientes de rectas de regresión se utilizaron unidades relativas para la variable independiente. Las dimensionales de estas potencias son obtenidas multiplicando el valor por un cociente que indique en el numerador la diferencia entre los niveles de dosis dados en la dieta estandar. En el denominador se coloca la diferencia entre los niveles de dosis de la dieta problema.

Las diferencias en los niveles de dosis de las dietas pueden expresarse en las unidades que se deseen, obteniéndose así la potencia en las unidades que más convenga. En el presente trabajo se obtuvo la potencia en dos unidades distintas. De la tabla 6.2 se observa que la separación en niveles de carotenos entre las dietas altas y bajas de carotenos es:

$0.677 - 0.412 = 0.265$ mg de beta-caroteno/100 g dieta. La separación entre niveles de dosis en dietas estandar es de $0.4 - 0.2 = 0.2$ mg de retinol/100 g dieta. Entonces la potencia en unidades reales es:

maíz suplementado: $P = (0.2560 \pm 0.1231) \times 200/265$

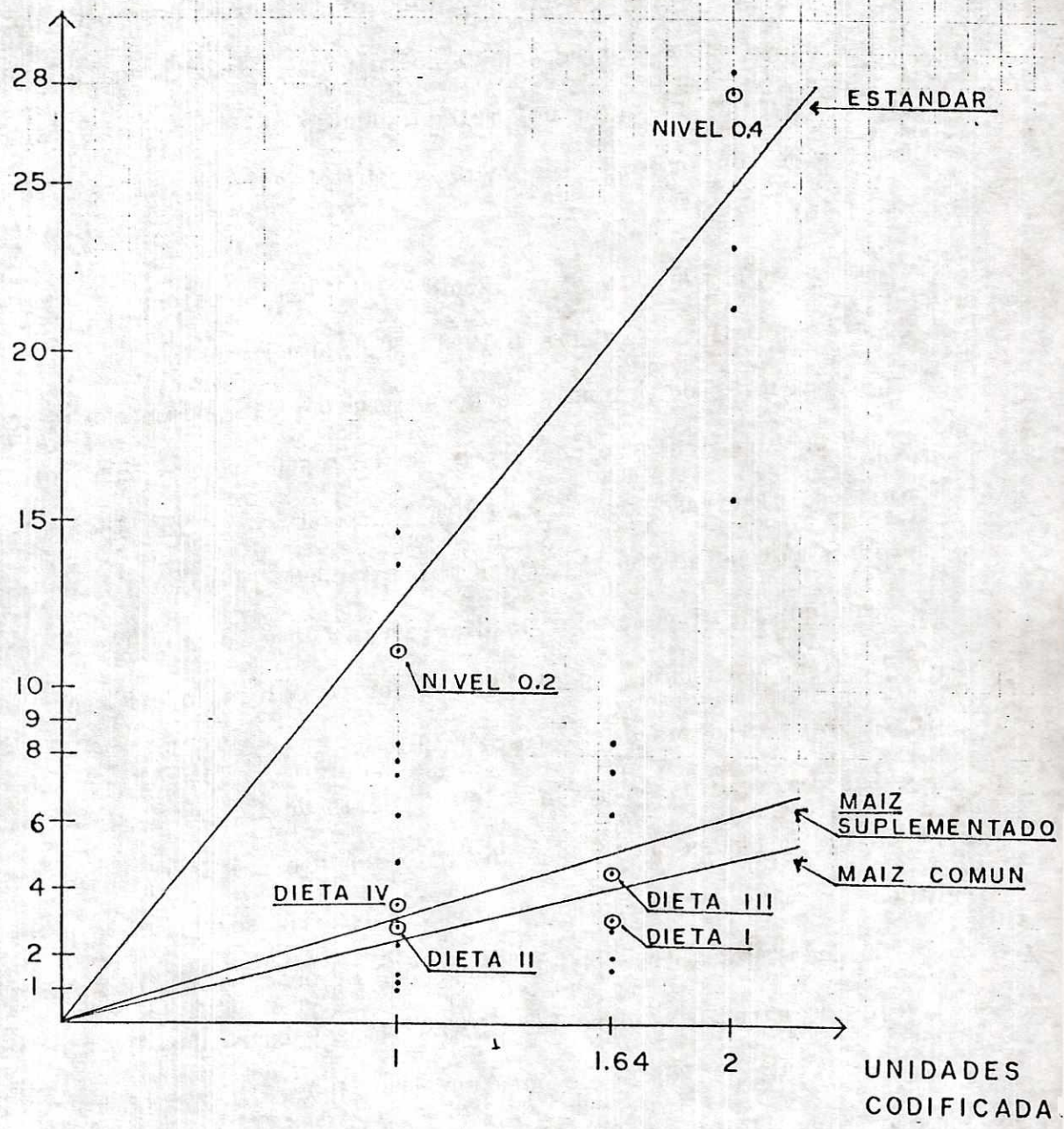
$P = 0.193 \pm 0.093$ mcg retinol/mcg beta-caroteno

maíz normal: $P = (0.1994 \pm 0.1211) \times 200/265$

$P = 0.150 \pm 0.091$ mcg retinol/mcg beta-caroteno

GRAFICA "2"

$\frac{\mu\text{g RETINOL}}{\text{g HIGADO}}$



Rectas de regresión obtenidas en el cálculo de potencia de vitamina A, para las dietas a base de maíz y las dietas estandar. En el eje horizontal está la concentración de retinol en dieta en unidades relativas. En círculo los promedios de grupo.

Las incertidumbres son intervalos de confianza al 95%.

En las otras dimensionales que se trabajó no se tomó en cuenta el contenido de carotenos de maíz, sino el contenido de maíz amarillo en las dietas problema. En la tabla 5.3 se observa que la dieta de contenido alto de maíz amarillo excede a la de contenido bajo en: $91.0 - 55.4 = 35.6$ g maíz. La potencia en estas unidades es:

$$\text{Maíz suplementado: } P = (0.2560 \pm 0.1231) \times 200/35.6$$

$$P = 1.44 \pm 0.69 \text{ mcg retinol/g de maíz}$$

$$\text{Maíz normal: } P = (0.1994 \pm 0.1211) \times 200/35.6$$

$$P = 1.12 \pm 0.68 \text{ mcg retinol/g de maíz}$$

Todos los resultados de potencia aquí obtenidos son mostrados en la tabla 6.16 de resultados finales.

TABLA 6.16

Resultados de potencia de Vitamina A calculados para las dietas elaboradas a base de maíz amarillo común, y maíz amarillo suplementado con lisina y triptofano. Niveles de suplementación: Lisina: 3.4 mg/g de maíz; Triptofano: 1.1 mg/g de maíz.

Tipo muestra	Potencia vitamina A
1. Maíz común amarillo	1.12+0.68 ¹ mcg retinol/g maíz ó 0.150+0.091 mcg retinol/mcg caroteno ²
2. Maíz común amarillo suplementado	1.44+0.69 mcg retinol/g maíz ó 0.193+0.093 mcg retinol/mcg caroteno

Notas:

1: Intervalo de confianza al 95%

2: Expresado como beta-caroteno

VII. DISCUSIONES

Antes de iniciar cualquier explicación de resultados es necesario comentar sobre la exclusión de los resultados obtenidos de las ratas número 4 de las dietas 0.0 y 0.4. Como puede verse en la tabla 6.6 las reservas hepáticas de la rata número 4 alimentadas con dieta libre de vitamina A son extremadamente altas, inclusive mayores que los valores de las ratas del grupo estandar 0.2. La rata 4 del grupo 0.4 muestra valores muy bajos comparados con el resto del grupo. Esto sugiere que se cometió un error al momento de suministrar las dietas para estas dos ratas, recibiendo cada una la dieta correspondiente a la otra. Pero a lo largo del período de repleción se continuó dando alimento a las ratas a medida que los comederos se vaciaban. El error en las dietas estuvo únicamente al inicio, pero cuando se dió alimento en posteriores ocasiones, cada rata recibió su dieta correcta, porque cada grupo estaba separado en hileras de jaulas. Es por esto que los valores de reservas hepáticas de la rata 4 nivel 0.0 no son tan altos como para compararse con los del grupo 0.4 y viceversa. Como no se puede cambiar cada una de las ratas con error de grupo, se tuvo que descartar los datos de estas dos ratas, para cualquier cálculo efectuado.

En lo referente al análisis de carotenos en los maíces observamos en la tabla 6.1 que los resultados de cada réplica tienen una variación relativamente alta entre si, lo que viene a dar un intervalo de confianza para el valor real bastante amplio (12% del valor medio). Esto es resultado de el alto grado de dificultad que presenta el análisis de caro-

tenoides en muestras vegetales y, en general, en cualquier tipo de muestra. Es muy fácil perder muestra por oxidación o por exposición a la luz, lo que da una fuente de variación entre muestras muy difícil de controlar. A el problema de la precisión del método se suma el de su exactitud. El método AOAC ha sido criticado por dar una sobreestimación del potencial vitamínico en muestras alimenticias (13), principalmente porque en el método se separa una franja completa de carotenos que contiene alfa, beta y gamma, e isómeros de estos carotenos, y todo lo cuantifica como beta-caroteno. Este error viene a acentuarse cuando el contenido de carotenos distintos de beta es mayor. Sin embargo el método AOAC es de fácil y rápida aplicación, ya que para lograr una cuantificación separada de todos los carotenoides se tendría que recurrir a métodos que consumen demasiado tiempo (columnas cromatográficas muy especializadas) o mucho dinero (métodos HPLC). Y entre los métodos de análisis de carotenos rápidos y baratos, el AOAC es el método más probado y usado. En el presente trabajo se escogió este método de análisis ya que el valor de contenido de carotenos en maíz no es un dato clave en la obtención de los resultados finales, como pudo observarse en la sección de resultados y como podrá verse más adelante. Además, las fallas en el método AOAC han sido detectadas cuando el contenido de otros carotenos aparte de beta es significativo (13). en el caso del maíz se tenía evidencia que el contenido de alfa y gamma caroteno es insignificante comparado con el contenido de beta. En el apéndice V puede verse un análisis de maíz común hecho con la técnica de HPLC, en la actualidad la mejor técnica de análisis de carotenoides (51), que muestra un pico para beta caroteno, pero ningún pico detecta-

ble para alfa o gamma, que debieron haber aparecido alrededor del pico de beta.

Como se explicó en la sección métodos, las dietas de maíz fueron elaboradas en base a dos conceptos: en las dietas de contenido de carotenos alto, el maíz fue agregado en la mayor proporción posible, ya que era necesario agregar aceite y minerales en la dieta. En las dietas de nivel bajo de carotenos el contenido de maíz era el mismo que en las dietas de niveles altos de carotenos, pero la cantidad de estos se diluyó a un nivel mínimo que cubriera las necesidades de la rata. Este nivel mínimo es difícil de determinar, ya que diferentes autores reportan diferentes requerimientos de vitamina A para la rata (49). Se optó por poner un margen de seguridad sobre el reporte de requerimiento por rata mayor que se encontró en la literatura, para asegurar suficientes carotenos en la dieta. Puede deducirse de los datos de la tabla 6.2 que las dietas de carotenos bajos tienen 687 UI/100 g, y la dieta estandar de nivel más bajo tiene 667 UI/100 g. Se observa que los niveles de carotenos en las 4 dietas problema caen dentro de los niveles de las dietas de la curva estandar.

El análisis de contenido de nitrógeno de las dietas reveló que las cuatro dietas a base de maíz tienen un porcentaje de nitrógeno prácticamente igual. Lo mismo ocurre con las dietas estándar. Jaganathan y Patwardhan (46) reportan que el almacenamiento de vitamina A en el hígado alcanza un máximo con un porcentaje de proteína de 12%; un porcentaje mayor o menor disminuye el almacenamiento de vitamina A. Las dietas estándar tienen el nivel de proteína adecuado, pero las dietas de maíces están

debajo de este nivel, pero es el máximo que se podía obtener,

Pasando al análisis de los resultados de potencia de vitamina A en maíces, se observa que el maíz amarillo suplementado mostró un aumento en su potencia de vitamina A, pero este aumento no resultó significativo sobre el valor de potencia para el maíz sin suplementación. Como se puede observar en la tabla 6.15, los intervalos de confianza al 95% son tan amplios que se traslapan entre si. Esto fue debido principalmente a la gran variación que se encontró entre cada grupo de ratas, principalmente entre machos y hembras. En los experimentos de cálculo de potencia de vitamina A usando como variable de respuesta el nivel de reservas hepáticas descritos en un principio por Guggenheim y Kich (53) y luego detallados por Ames y Harris (54) se recomienda utilizar ratas del mismo sexo para evitar esta fuente de variación. Sin embargo, en experimentos previos efectuados por el autor se observó que no había una diferencia grande entre los valores hepáticos de vitamina A de machos y hembras. Además se consideró que utilizando machos y hembras se obtendría un resultado aplicable a un rango mayor de situaciones.

Desafortunadamente, en el presente experimento sí hubo una variación significativa entre los resultados de reservas hepáticas de machos y hembras, como se mostrará más adelante.

Al promediar entonces los resultados por grupo se obtuvo una desviación grande, que resultó en un límite de confianza calculado muy amplio. Una idea de la dispersión de los datos se puede obtener de las gráficas 1 y 2. Para tratar de reducir la variación entre grupos se pensó en trabajar los cálculos por separado para machos y para hembras. Esto no pro-

dujo ninguna mejora en los resultados ya que al hacer los cálculos separando sexos de ratas si se lograba disminuir la variación entre cada grupo, pero también se disminuía considerablemente el número de grados de libertad para hacer la estimación del error del método. Esto se acentuó más en las dietas estandar, debido al rechazo de datos que se efectuó, y al faltante de datos por la muerte de ratas de estos grupos. Al hacer el análisis por separado para cada sexo quedaron entonces solamente tres repeticiones por dieta estandar, un número muy reducido. La disminución de los grados de libertad al hacer el análisis por separado en sexos resultó en una estimación del error experimental mayor (incluso en el análisis de ratas macho se tuvo que usar un nivel de significancia de 0.1 para obtener un análisis válido). Se reportó por eso el resultado del análisis conjunto de machos y hembras,

Aunque la precisión del método no fue muy buena, los resultados de potencia obtenidos sí son satisfactorios. Aquí se encuentra el primer ejemplo de que el conocimiento del contenido exacto de carotenos del maíz no es fundamental en el presente trabajo. Como se observa en la tabla 6.16, la potencia puede expresarse como mcg de retinol/g de maíz, y en esta valor no influye en nada el contenido de carotenos del maíz. Sin embargo, el resultado obtenido es bastante útil, porque expresa el equivalente real de vitamina A que contiene el maíz. Es de hacer nota que el valor de 1.12 mcg de retinol/g de maíz reportado para el maíz común no indica que ingiriendo un gramo de maíz se depositará en el hígado 1.12 mcg de retinol. Significa más bien que ingerir un gramo de maíz equivale a ingerir un gramo de una dieta ideal (estandar con cantidad y calidad de proteína óptima) con un contenido de vitamina A de 1.12 mcg de retinol. Se de-

be recordar aquí que aún en una dieta ideal el retinol ingerido no se deposita en su totalidad en el cuerpo (20),

El resultado de contenido de carotenos en el maíz sí es útil para expresar la potencia en unidades que permitan comparación con otros valores reportados. Se observa aquí que el resultado de 0.150 (o también el de 0.193 por la incertidumbre de los datos) mcg de retinol por mcg de beta-caroteno concuerda muy bien con la definición de equivalente de retinol dada por FAO/WHO (55). Esta definición asume que la absorción de caroteno en el intestino es del 33%, y que su transformación a vitamina A para ser almacenada es del 50%, con esto se obtiene que un equivalente de retinol es igual a un microgramo de retinol y es igual a 6 microgramos de beta-caroteno, nutricionalmente hablando (véase apéndice D). Colocando estos números de otra forma, se observa que FAO/WHO indica que 0.167 microgramos de retinol equivalen a un mcg de beta-caroteno en general, valor que concuerda con el obtenido en el presente experimento. El valor obtenido por Madsen y colaboradores (56) de 0.229 mcg de retinol por mcg de caroteno para maíz amarillo usando ratas también concuerda con los resultados del presente experimento, tomando en cuenta sus límites de confianza. Por otro lado, el valor calculado por Sadana y Ahmad (44) de 312 mcg de retinol/mcg carotenos resulta muy alto en comparación con los otros valores reportados. Debe tomarse en cuenta que esta cálculo se hizo asumiendo que 1 UI es igual a 0.3 mcg de retinol e igual a 0.6 mcg de beta-caroteno. Este antiguo sistema de medida no toma en cuenta que el caroteno tiene una digestibilidad del 33% del valor para el retinol (véase apéndice D). Haciendo una corrección al valor dado por Sadana y Ahmad por

la baja digestibilidad del caroteno se obtiene un valor calculado de 102 mcg de retinol por mcg de caroteno, un valor más concordante con los resultados de este experimento. Finalmente, el valor de potencia obtenido por Wellenreiter y colaboradores (45) es de 0.078 mcg de retinol/mcg caroteno utilizando cerdos. Se debe hacer notar aquí que se ha reportado (57,58) que el cerdo es menos eficiente que la rata en la conversión de caroteno a retinol hepático.

Analizando ahora los resultados obtenidos para la digestibilidad de carotenos en maíz se debe hacer notar en primer lugar que para el cálculo de este resultado tampoco afecta el error introducido en el análisis de carotenos en maíces al asumir que toda la franja de carotenos es beta-caroteno. Esto se debe a que en el análisis de haces se utilizó el mismo tipo de columna que se usó en el análisis de maíces. Por tanto, la franja eluida como carotenos en ambos casos debería contener los mismos compuestos, eliminando así el error. Se observa que las digestibilidades mostradas por todas las ratas son muy similares, y que los promedios de grupo por dieta son prácticamente iguales. Para comprobar esto estadísticamente se hizo un análisis de varianza trabajando las cuatro dietas como dos factores (calidad de proteína y cantidad de carotenos) a dos niveles, con un diseño completamente al azar (Se puede observar el ANDEVA en el apéndice C). Como se esperaba, ninguna dieta mostró diferencia significativa del resto. Esto es, la digestibilidad de los carotenos del maíz no se vió afectada por la calidad de proteína de la dieta ni por la cantidad de carotenos presentes en la misma. Esto está en concordancia con lo encontrado por Johnson y Baumann (57), que reportan que el nivel de dosis

de carotenos no afecta el % de excreción en heces. Por otro lado los porcentajes de digestibilidad reportados en el presente experimento son elevados de acuerdo a lo reportado por otros autores (57,59). Debe notarse sin embargo que en la digestibilidad calculada en este experimento los animales experimentales se encontraban totalmente depletados de vitamina A, lo que puede explicar la asimilación tal alta de carotenos que se observó. A pesar de la digestibilidad elevada mostrada por los grupos de ratas experimentales, la potencia de vitamina A calculada a base de reservas hepáticas resultó en el rango esperado. Esto sugiere que una buena parte de los carotenos asimilados fue utilizada inmediatamente para llenar las necesidades básicas del animal, dejando una cantidad menor para reservas hepáticas.

En la tabla 6.12 se observa que las digestibilidades de materia seca de las cuatro dietas de maíz resultaron altas e iguales entre sí. Esto está en total acuerdo con lo encontrado para las digestibilidades de carotenos.

El beneficio obtenido al suplementar el maíz con lisina y triptofano queda mostrado observando las eficiencias alimenticias obtenidas durante la semana de repleción con las dietas de maíz suplementado. Estas eficiencias son mucho mejores que las obtenidas con las dietas de maíz normal, y similares a las obtenidas con las dietas estandar.

En otro análisis estadístico efectuado para evaluar el rendimiento de las cuatro dietas experimentales se realizó un análisis de varianza utilizando los valores de reservas hepáticas obtenidos para dichas dietas. Este análisis de varianza simplemente trata de evaluar qué dieta causó un nivel mayor de reservas hepáticas en la rata evidenciando así

una mayor capacidad de conversión de carotenos a retinol hepático. La explicación del análisis estadístico efectuado se encuentra en la sección de diseño experimental y en el apéndice C. Sin embargo es necesario aclarar las bases sobre las que se efectuó el bloqueo de los tratamientos. Como se indica en la sección de métodos, antes del período de repleción se reordenaron las ratas utilizando como criterio la eficiencia de alimento de la semana anterior al inicio de repleción. Esto se debió a que experimentos previos realizados por el autor mostraron una correlación entre la eficiencia de alimento y el nivel de reservas hepáticas de la rata.

En ese entonces, la mejor variable con que se contaba para bloqueo era la misma eficiencia alimenticia. Sin embargo, una vez sacrificadas las ratas y obtenidos los resultados, se pensó que el bloqueo debería hacerse utilizando la digestibilidad mostrada, ya que las ratas con mayor digestibilidad de carotenos deberían de tener una mayor reserva hepática de vitamina A.

Se efectuaron dos análisis estadísticos, uno para cada variable relacionada con el retinol hepático (mcg/g y mcg totales). Los resultados de ambos análisis se presentan en el apéndice C. Los dos análisis de varianza muestran los mismos resultados, por lo que sólo se discutirá aquí el resultado del primero (reservas hepáticas expresadas como mcg/g (tabla C 7.1)). Se observa en primer lugar en la fila 1 que la variación debida a bloques no resultó significativa. Sin embargo haciendo un análisis de eficiencia de bloqueo según la fórmula indicada por Bernard (61) se encontró que la estimación del error experimental hubiera sido igual si

se trabajara en un diseño completamente al azar. De los tratamientos se observa que la variación debida al tratamiento C es altamente significativa, lo que indica que el sexo de las ratas influye grandemente en el nivel de reservas hepáticas de los animales experimentales. Este resultado era notorio al analizar los datos obtenidos y concuerda con lo reportado por Jaganathan y Patwardhan (46). La diferencia debida al tratamiento A resultó significativa, lo que indica que la suplementación de la proteína si aumentó significativamente las reservas hepáticas de vitamina A de la rata, debidas a los carotenos del maíz. Se observa que ninguna de las variaciones debidas a las interacciones entre factores resultó significativa, lo que indica que los tres factores actúan independientemente. Se puede entonces concluir de el andeva que el sexo de la rata influencia el nivel de reserva hepática no importando la calidad de proteína de la dieta o su contenido de carotenos. Por otro lado, la suplementación de proteína produce un aumento en las reservas hepáticas, no importando el sexo de la rata o el nivel de carotenos de la dieta.

Observando los resultados de este análisis de varianza podría hacerse la siguiente pregunta: ¿Por qué en el cálculo de potencias de vitamina A no se mostró un aumento significativo debido a la suplementación de la proteína del maíz y en este análisis de varianza sí?. La respuesta es fácil de dar: como se indicó anteriormente, en el cálculo de potencias de vitamina A el efecto de la variación entre sexos de ratas resultó en un intervalo de confianza muy amplio, lo que no permitió detectar diferencias significativas. En este segundo análisis de varianza se controló la variación producida por el factor sexo, eliminándola de el error

experimental. Esto permitió que la diferencia producida por calidades de proteína fuera significativa.

Hasta ahora no se ha comentado nada sobre los valores de niveles séricos de vitamina A mostrados por las ratas colocadas en dietas de repleción. Este valor no fue utilizado para hacer comparaciones estadísticas entre dietas. Mas bien fue utilizado para comprobar la eficiencia de la dieta en restablecer los niveles de vitamina A adecuados. El nivel serico de vitamina A da una indicación de el estado nutricional del animal respecto a ese nutriente. Un nivel menor que 20 mcg retinol/decílitro de suero se considera deficiente (49). Todas las dietas de repleción, excepto la dieta II a base de maíz, lograron restablecer a las ratas a sus condiciones normales, como se muestra en la tabla 6.5. Observando los promedios de nivles séricos separados por sexo para cada grupo se obtienen conclusiones interesantes. Los niveles séricos de los machos son en promedio más altos que los de las hembras. Por otro lado, las reservas hepáticas muestran un comportamiento inverso. Se puede dar entonces la siguiente explicación: los requerimientos de vitamina A de los machos para cubrir sus funciones metabólicas básicas son mayores que para las hembras debido talvez a su mayor tamaño. Entonces de toda la vitamina A ingerida (ya sea como retinol o caroteno) las ratas macho utilizaron una buena parte para satisfacer su metabolismo básico, y el resto lo dejaron para reservas hepáticas.

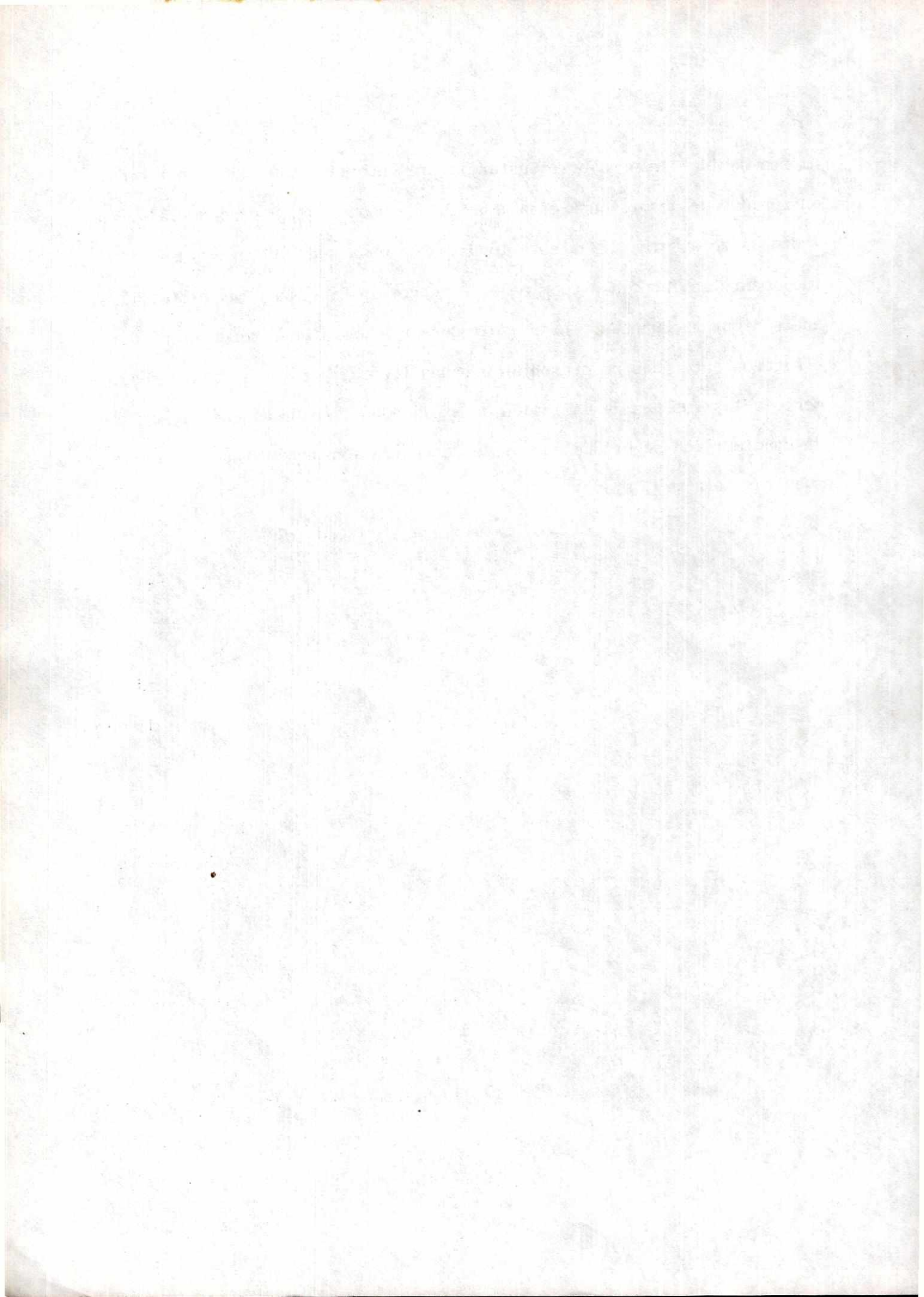
Como las hembras requieren menos vitamina A sus reservas hepáticas son mayores. Los niveles séricos de vitamina A mayores para los machos concuerdan con la idea de una mayor utilización de esta vitamina A en su metabolismo. Más aún, cuando la ingesta de vitamina A es elevada (como

en la dieta estandar 0.4) el metabolismo básico es cubierto fácilmente y las reservas hepáticas de los machos logran subir entonces a un nivel igual o mayor que el de las hembras (comparese para esto las reservas hepáticas totales de machos y hembras en las dietas estandar 0.2 y 0.4) (Ver tabla 6.8).

Otra relación interesante que se deduce de los resultados se obtiene al observar la tabla de digestibilidad (Tabla G.U). En la primera columna de cada grupo se presenta la cantidad de carotenos ingerida por las ratas de cada dieta. Se observa que las ratas de las dietas I y III (de niveles altos de carotenos) ingirieron una mayor cantidad de carotenos (lógicamente). Sin embargo las reservas hepáticas de estas ratas no fueron significativamente mayores que las de las ratas alimentadas con dietas bajas en carotenos, según lo demuestra el análisis de varianza mostrado en el apéndice C. Esto sugiere que debido a la necesidad de satisfacer sus necesidades básicas de vitamina A, las ratas que ingirieron menor cantidad de carotenos en sus dietas lo transformaron con más eficiencia a vitamina A. Esto resultó en una reserva hepática de vitamina A. Esto resultó en una reserva hepática de vitamina A similar para los cuatro grupos.

Para terminar esta discusión de resultados, se debe señalar que la determinación de carotenos en las muestras de suero e hígados no resultó satisfactoria, y los resultados presentados se incluyeron únicamente a manera de información. El análisis químico utilizado para determinar retinol sérico y hepático no es el más adecuado para determinar carotenoides en estas muestras. En primer lugar no se hace ninguna separación de contaminantes, y es muy posible que la lectura que se obtenga a 460

no sea debida a alguna otra sustancia presente (incluso el retinol tiene un residuo de absorción a esta longitud de onda (60)). Por otro lado las lecturas de absorbancia a esta longitud de onda son muy bajas y se ven fácilmente influenciadas por pequeñas contaminaciones en las microceldas, que son muy frecuentes. Los resultados de niveles de carotenos en sueros e higados obtenidos no presentan ninguna lógica, y esto es debido seguramente a las fuentes de variación ya explicadas. Lo único que si se puede concluir con seguridad es que la concentración de carotenos en estas muestras era muy baja.



VIII, CONCLUSIONES

1. La suplementación del maíz común con lisina y triptofano a concentraciones de 3.41 mg/g y 1,1 mg/g produjo un aumento significativo en la disponibilidad de los carotenoides para ser transformados en retinol en reserva en el hígado.
2. La suplementación ya mencionada también produjo una mejora significativa en la eficiencia de alimento de las dietas elaboradas con dicho maíz suplementado.
3. Dicha suplementación no tuvo ningún efecto sobre la digestibilidad de los carotenoides contenidos en el maíz.
4. Las potencias de vitamina A de los maíces normal y suplementado fueron: normal: 1.12 ± 0.68 mcg retinol/ g maíz; suplementado: 1.44 ± 0.69 mcg retinol/g maíz.
5. Las potencias de vitamina A de los carotenos contenidos en dichos maíces fueron: normal: 0.150 ± 0.091 mcg retinol/mcg de caroteno; suplementado: 0.193 ± 0.093 retinol/mcg de caroteno. Dichos valores concuerdan con otros reportados.
6. La digestibilidad de carotenos en maíz no se ve afectada por el nivel de éstos en la dieta.
7. El nivel de carotenos en la dieta afectó la eficiencia de transformación de éstos a vitamina A. Las ratas con dietas bajas en caro-

tenos a pesar de haber tenido una ingesta menor de carotenos presentaron reservas hepáticas similares a las de las ratas alimentadas con dietas altas en carotenos.

8. Las reservas hepáticas de vitamina A de las hembras resultaron mayores que las de los machos, pero en los niveles séricos de vitamina A ocurrió el caso contrario. Esto sugiere que los niveles de vitamina A y carotenos administrados en las dietas no fueron suficientes en los machos para obtener una reserva hepática plena, y gran parte de los carotenos ingeridos se utilizó para satisfacer las necesidades básicas de las ratas.

IX, RECOMENDACIONES

En base a la experiencia adquirida en la realización del presente experimento, se hacen las siguientes recomendaciones para la realización de experimentos de este tipo en el futuro,

1. Disminuir el tiempo de depleción al mínimo utilizando los siguientes recursos:
 - a) ratas madres alimentadas con dieta baja en vitamina A durante el período de lactancia de las ratas experimentales.
 - b) dietas de depleción con alto contenido de proteína de óptima calidad.
2. Utilizar en el experimento ratas del mismo sexo, con un número de repeticiones lo más elevado posible por grupo.
3. Elaborar la dieta problema con niveles de dosis separados equidistantemente.

Como recomendaciones para investigaciones adicionales se plantean los siguientes temas:

1. Elaborar una curva de depleción de las ratas mostrando el tiempo óptimo para la repleción.
2. Determinar el límite de detección del método de cuantificación de vitamina A en hígado.
3. Determinar el efecto de las condiciones ambientales sobre los procesos de depleción-repleción de vitamina A de la rata.

4. Determinar la digestibilidad de carotenos en maíz en condiciones normales (ratas no depletadas).
5. Determinar el efecto de la complementación de maíz con frijol (o algún otro grano) en la disponibilidad de carotenoides.
6. Estudio de disponibilidad de carotenoides del maíz en otros animales (por ejemplo monos).

X, BIBLIOGRAFIA

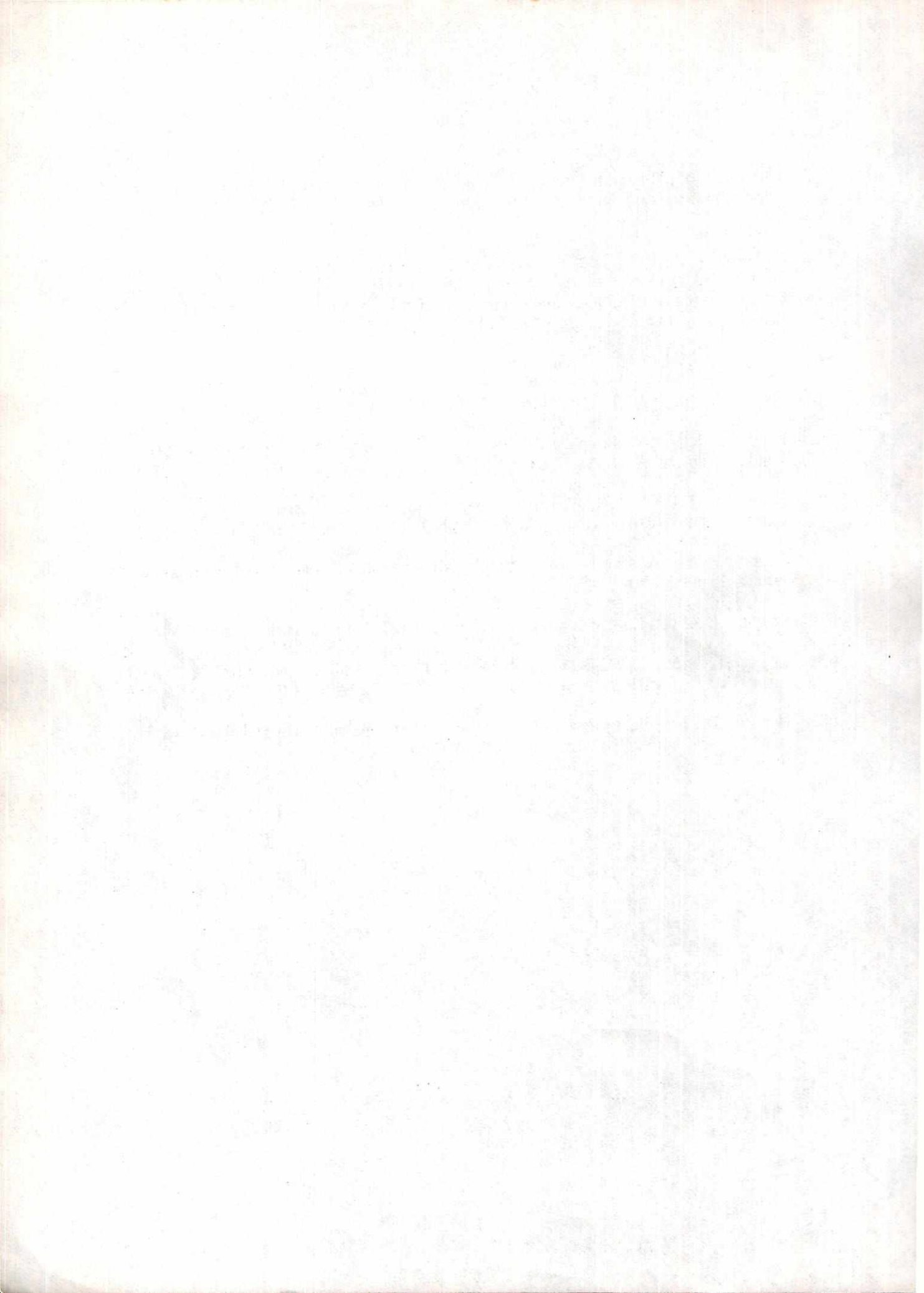
1. McLaren, D.S. Vitamin A Deficiency: The nature and magnitude of the problem. Presentation: XI Congr. Nutr. Rio de Janeiro, Brazil. August 26-sept, 1, 1978.
2. Organización mundial de la salud. Prevención y tratamiento de la carencia de vitamina A y de la xeroftalmia. Informe técnico No.672, 1082.
3. Aykroyd, W.R. Eliminación de las enfermedades carenciales. Organización mundial de la salud. Estudio básico No. 24, 1970.
4. Bressani, Ricardo. World Needs for Improved Nutrition and the role of Vegetables and Legumes. Asian Vegetable Research and Development Center, 10th Anniversary Monograph Series. Taiwan 1983.
5. Organización mundial de la salud. Carencia de vitamina A y xeroftalmia. Informe técnico No. 590, 1976.
6. DeMaeyer, E.M. Report on Symposium on Vitamin A Deficiency and Xeroftalmia, IVACG (International Vitamin A Consultative Group) Secretariat, Nutr. Fdtn. New York 1978.
7. Organización panamericana de la salud, Hipovitaminosis A en las Américas. Publicación científica No. 198, 1970.
8. Instituto de nutrición de Centroamericana y Panamá. Evaluación nutricional de la población de Centroamerica y Panamá. Guatemala 1969.
9. Instituto de nutrición de Centroamerica y Panamá. Fortificación del azúcar con vitamina A en Centroamerica y Panamá. Guatemala 1974.
10. Arroyave, G., J.R. Aguilar, M. Flores y M.A. Guzmán. Evaluación del programa nacional de fortificación de azúcar con vitamina A. Publicación científica No. 384, 1979. Organización panamericana de la salud.
11. FAO. Programa de educación en nutrición. Informe a los gobiernos de América Central. Programa ampliado de Asistencia Técnica. FAO No. 2120, 1966.
12. AOAC. Official Methods of Analysis, 15th ed. Washington D.C. 1975
13. Zakaria, M. Use of reverse-phase high-performance liquid chromatographic analysis for the determination of provitamin A carotenes in tomatoes. J. Chromatog., 176: 109-117 (1979).

14. Bressani, Ricardo, La importancia del maíz en la nutrición humana en América Latina y otros países. En: Mejoramiento Nutricional del maíz Memorias de una conferencia internacional realizada en el INCAP. 1972.
15. Ramírez, M.A. Los alimentos en Centroamerica. Secretaría General de ODECA, San Salvador, 1968.
16. Bressani, R., S. Castillo & M. Guzmán. The nutritional Evaluation of processed whole corn flours. *J. Agr. Food Chem.* **10**:308 (1962)
17. Murillo. B., M.T. Cabezas y R. Bressani. Influencia de la densidad calórica sobre la utilización de la proteína en dietas elaboradas a base de maíz y frijol, *Arch. Latinoamer. Nutr.* **24**:223-241 (1974).
18. Cravioto, B.R., R.K. Anderson, E.E. Lockhart, F. de P. Miranda & R.S. Harris. Nutritive value of the mexican tortilla. *Science* pp.91-93 1945.
19. IVACG, The safe use of vitamin A. A report of the International Vitamin A consultative group 1980.
20. IVACG. Guidelines for the eradication of Vitamin A deficiency and xeroftalmia. Report VI: Recent advances in the metabolism and function of vitamin A and their relationship to applied nutrition. International Vitamin A consultative group 1977.
21. Sebrell, W.h. Jr, & R.S. Harris (ed) The vitamins. Chemistry, Physiology, Pathology. Vol. I. Academic Press Inc., New York 1954. Ch. 1 Sec. IX: Requirements of animals for vitamin A and carotenes, by F.H. Mattson.
22. DeLuca, H.F. (ed) Handbook of lipid research. Vol. 2 The fat- soluble vitamins. Plenum Press, New York 1978. Chapter 1: Vitamin A, by Luigi M. DeLuca.
23. FAO/WHO. FAO Nutritional Meetings Report Service No. 37, 1965.
24. Stanley Davidson. Human Nutrition and Dietetics. 7th ed. Churchill Livingstone, London 1979.
25. Arroyave, Guillermo Interrelations between Protein and Vitamin A metabolism. *Amer. J. Clin. Nutr.* **22**:1119-1128 (1969)
26. Lewins, J. M., O. Bodansky, J. Birmingham & S.Q. Cohlman. Vitamin A comparative absorption, excretion, and storage of oily and aqueous preparations. *J. Pediat.* **31**:496-508 (1947).
27. Lewis, J.M. & S.Q. Cohlman. Comparative Absorption of various types of vitamin A preparations. *Med. Clin. N. Amer.* **34**:413-422 (1950)

28. Yang, N.Y.J. & I.D. Deşai. Effect of high levels of dietary vitamin E on hematological indices and biochemical parameters in rats, Effect of high levels of dietary Vitamin E on liver and plasma lipids and fat soluble vitamins. *J. Nutr.* **107**:1410-1426 (1977)
29. Maddock, C.L., S.B. Wolbach & D. Jensen. Hypothrombinemia with hemorrhage as a cause of death in the rat with hypervitaminosis A. *Fed. Proc.* **7**:275 (1948).
30. Takahashi, K., Z. Nakamiya, K. Kawakami & T. Kitasato. Physical and chemical properties of biosterin and its physiological significance *Sci. Pap. Inst. Phys. Chem. Res.* **3**:81-148 (1925). Consultado en: *Chem. Abs.* **20**:618 (1926)
31. Ventura, U., T. Ceriani, F. Zelaschi & G. Rindi. Action potential modifications in rat myocardial cells induced by hypervitaminosis A. *Q. J. Exp. Physiol.* **56**:147-155 (1971)
32. Leelaprute, V., V. Boonpucknavig, N. Bhamarapravati & W. Weerapradist. Hypervitaminosis A in rats: varying responses due to forms, doses and routes of administration. *Arch. Pathol.* **96**:5-9 (1973).
33. Maddux, G.W. F.M. Foltz & S.R. Nelson. Effect of vitamin A intoxication on intracranial pressure and brain water in rats. *J. Nutr.* **104**:478-482 (1974)
34. Bressani, R., L. G. Elias, M. Santos, D. Navarete y N. S. Scrimshaw. El contenido de nitrógeno y de aminoácidos esenciales de diversas selecciones de maíz. *Arch. Venez. Nut.* **10**:85-100 (1960)
35. Mangelsdorf, Paul. Corn, its origin, evolution and improvement. Harvard University press, Cambridge, Massachusetts 1974.
36. Mertz, E.T., L.S. Bates & O.E. Nelson. Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm. *Science* **145**:279-280 (1964).
37. Jugenheimer, R. Corn, improvement, seed production and uses. John Wiley & sons. New York 1976.
38. Pollmer, W.G. & R.H. Phipps (ed) Improvement of Quality traits of maize for grain and silage use. Martinus Nijhoff Publishers. Netherlands 1980. Session 2: Genetic modifiers and breeding strategies in developing hard endosperm opaque-2 materials, by S.K. Vasal et. al.
39. Poey, Federico. Desarrollo y utilización del maíz con los genes opaco-2 y harinoso-2 En: Recursos proteínicos en América Latina. Memorias de una conferencia en el INCAP 1970.

40. Gyorgy, P. & W. N. Pearson (ed) The Vitamins vol. VI, 2nd ed, Academic Press, New York 1967, Chap. 2; Statistical methods in biological assay of the vitamins, by Bliss, C.I. & C. White.
41. Underwood, B.A. Vitamin A in animal and human nutrition. In: The Retinoids Vol I. Academic Press, New York 1984.
42. Weis, A.E. & B. Bisbey. Relation of the carotenoid pigments of the diet to the growth of young chicks and to the storage in their tissues. Missouri Agr. Expt. Sta. Res. Bull. **405**: 5-51 (1947).
43. Fraps, G.S. The premature death of white rats fed low levels of carotenes from different sources. Arch. Biochem **15**:239-243 (1947).
44. Sadana, J.C. & B. Ahmad. Observations on the carotenoid pigments of local varieties of yellow maize. Indian J. Med. Res. **34**:59 (1946).
45. Wellenreiter, R.H., D.E. Ullrey, E.R. Miller & W.T. Magee. Vitamin A activity of corn carotenes for swine. J. Nutr. **99**(2):129-136 (1969).
46. Jaganathan, S. N. & V.N. Patwardhan. Dietary protein in vitamin A metabolism. Ind. J. Med. Res. **48**:775-784 (1960).
47. Stoecker, B. & L. Arnrich. Patterns of protein feeding and the biosynthesis of vitamin A from carotene in rats. J. Nutr. **103**: 1112-1118 (1973).
48. Wolzak, A. y R. Bressani. Efecto de la calidad y cantidad de proteina dietaria en la tasa de depleción de vitamina A y disponibilidad biológica de precursores de vitamina A. Arch. Latinoamer. Nutr. **36** (3): 415-431 (1986).
49. Nutrient requirements of laboratory animals. National Research Council. 2nd ed. National Academic of Sciences. Washington, D.C.1972.
50. Bessey, O.A., O.H. Lowry, M.J. Brock & J.A. López. Determination of vitamin A and carotene in small quantities of blood serum. J. Biol. Chem. **166**:177 (1946).
51. International Vitamin A Consultative Group. Biochemical methodology for the assesment of vitamin A status IVACG 1982.
52. Nozenko, A. Latvijas PSR Zinatnu Akad.Vestis. **6**:105-108 (1963) (en ruso). Consultado en Chem. Abs. **60**:3258h (1964).
53. Guggeinheim, K. & W. Koch. Liver-Storage test for the assessment of vitamin A. Biochem. J. **38**:256 (1944).
54. Ames, S.R. & P.L. Harris. Slope-ratio liver storage bioassay for vitamin A. Anal. Chem. **28**:874 (1956).

55. FAO/WHO Joint expert group. Requirements of vitamin A Thiamine, Riboflavine, and Niacin. WHO Tech. Rep. Ser. No. 362, Switzerland 1967.
56. Madsen, L.L., O.N. Eaton, L. Heemstra, R.E. Davis, C. A. Cabell & B. Knapp. Effectiveness of carotene and failure of ascorbic acid to increase sexual activity and semen quality of vitamin A-deficient beef bulls J. Animal Sci. **7**:60-69 (1948).
57. Johnson, R.M. & C.A. Baumann. Storage of vitamin A in rats fed cryptoxanthine and certain other carotenoids with parallel data on absorbability. Arch. Biochem. **19**:493 (1948).
58. Braude, R., A.S. Foot, K.M. Henry, S.K. Kon, S.Y. Thompson & T.H. Mead. Vitamin A studies with rats and pigs. Biochem. J. **35**:693 (1941)
59. Sweeney, J.P. & A.C. March. Liver storage of vitamin A by rats fed carrots in various forms. J. Nutr. **104**:1115-1120 (1974).
60. Olson, J.A. A simple dual assay for vitamin A and carotenoids in human liver. Nutr. Rep. Int. **19** (6): 807-813 (1979).
61. Ostle, B. Estadística aplicada. Editorial Limusa. México 1973.
62. Hegsted, D.M., R.C. Mills, C.A. Elvehjem & E.B. Hart. Choline in the nutrition of chicks. J. Biol. Chem. **138**:459-466 (1941).
63. Manna, L. & S.M. Hauge. A possible relationship of vitamin B 13 to orotic acid. J. Biol. Chem., **202**:91-96 (1953).



APENDICE A

Métodos de análisis utilizados en la presente investigación

A.1 Análisis de carotenoides en maiz (métodos AOAC números 43.018 a 43.023 (1981))

Extracción:

Se muele la muestra hasta pasar por tamiz No. 40. Se pesan 4 gramos de muestra dentro de un balón aforado de 100 ml. Se pipetea 30 ml del extractante (hexano-acetona-etanol absoluto-tolueno (10+7+6+7)) y se agita por un minuto. Se pipetea 4 ml de KOH metanólico al 40% dentro del balón, se agita por un minuto y se coloca en un baño a 56 C por 20 minutos. Se adhiere al balón un condensador para evitar pérdida de solvente. Se enfría la muestra y se deja en la oscuridad por 1 hora. Se pipetea 30 ml de hexano dentro del balón, se agita y se lleva a volumen con solución acuosa de sulfato de sodio al 10%. Se agita vigorosamente y se deja en la oscuridad por 1 hora, antes de la cromatografía.

Cromatografía:

La columna cromatografica debe ser un tubo de vidrio de 1 cm. de diámetro y 30 cm. de largo, con llave para controlar el flujo. En el fondo de la columna se coloca lana de vidrio y encima se deja caer la tierra adsorbente (mezcla de óxido de magnesio activado y Hyflo Super-Cel (1+1)) hasta formar una capa de 12 cm. Se le aplica vacío a la columna para compactar la tierra y se aplanan la superficie con una varilla de vidrio. Se coloca encima una capa de 2 cm. de sulfato de sodio anhidro.

Se transfieren 15 ml del extracto a la columna y se aplica vacío para forzar su paso. Se eluye la franja de carotenos con hexano-acetona 9+1, y la franja de xantofilas con hexano-acetona-metanol 8+1+1. Los eluyentes se recogen en un balón aforado de 10 ml, y se llevan a volumen con la solución eluyente. Se lee la absorbancia de la solución de carotenos a 436 nm y la de la solución de xantofilas a 474 nm. Se obtiene el factor de corrección del aparato leyendo una solución 0.04 mM de sudan I a las longitudes de onda descritas.

Cálculos:

La solución de sudan deberá leer 0,561 a 474 nm y 0,460 a 436 nm. El factor de corrección f se obtiene dividiendo la lectura esperada por la lectura obtenida, para cada longitud de onda. La concentración en mg/g se obtiene de la fórmula:

$$C = (A_x f x 50) / (E x g)$$

donde A es la absorbancia de la muestra a 436 nm según se esté calculando carotenos totales expresados como beta-caroteno o la absorbancia a 474 si se calcula xantofilas totales expresadas como luteína. f es el factor de corrección, E es la absortividad (196 para beta-caroteno y 236 para luteína). g es el peso de la muestra en gramos.

A,2 Método para cuantificar carotenos en heces:

Extracción: (adaptación de Nozenko (52))

Se pesa 1 g de heces secas y 2 g de sulfato de sodio anhidro y se maceran juntos en un mortero. Del macerado homogéneo se toma una alícuota de 1.5 g y se coloca en un frasco mediano de boca ancha. Se adiciona 1 g de arena y se agregan 25 ml de MeOH/éter de petróleo (p.e. 60-80) 1:1

(v/v). Se sella y se coloca en aparato de agitación por 5 minutos. Se decanta el sobrenadante a un matraz de 50 ml, Se repite la extracción con porciones de 15 y 10 ml por 10 minutos, juntando todos los extractos. Se adiciona 4 ml de KOH metanolico al 40% y se coloca la muestra en baño térmico a 45 C por 10 Min. Se transfiere a ampolla de decantación y se agrega agua para separar las capas. El agua separada se transfiere a otra ampolla de decantación y se extrae con porciones de 10 ml. de eter de petroleo hasta obtener extracto incoloro. Se juntan todos los extractos etereos y se lavan con porciones de agua destilada hasta obtener un agua de lavado neutra. Se evapora el extracto etereo con nitrogeno en un recipiente adecuado. Los residuos de humedad son evaporados adicionando un poco de etanol absoluto.

Cromatografía: (método AOAC (1980) 43.021)

El método de cromatografía es el mismo que el descrito para cuantificación de carotenos en maiz. El extracto de heces se recoge en el mínimo volumen de hexano y se transfiere a la columna.

A.3 Cuantificación de retinol y carotenos en muestras de suero sanguineo e higado. (método original de Besey y Lowry (50)).

El suero debe separarse del coagulo sanguineo por centrifugación en frío. El higado se macera en glicerol-agua 1+1 (v/v).

Se colocan 200 microlitros (mcl) de muestra en un microtubo y se agregan 200 mcl de KOH 1N (se prepara KOH acuoso 11N y se diluye en el momento 1 ml de solución con 10 ml de etanol absoluto). Se agita en Vortex por 10 seg. Se coloca la muestra en baño térmico a 56 C por 20 Min. Se deja enfriar y se adiciona extractante (Xileno-keroseno 1+1 (v/v). Los

reactivos deben destilarse). Se agita en Vortex por 1 Min. Se centrifuga a 4000 rpm por 10 Min. a 10 C. El sobrenadante se transfiere a una microcelda y se lee a 328 nm. Para cuantificar carotenos se lee a 460 nm. Se transfiere a tubo de vidrio y se irradia con luz UV por 35 Min. Se vuelve a leer la muestra a 328 nm. La concentración en mcg de retinol/dl se obtiene de la fórmula:

$$C = (A - A_i) \times 592 \times 1,5$$

donde A es la absorbancia a 328 nm antes de irradiar y A_i la absorbancia después de irradiar. En el caso del hígado, el valor dado por esta fórmula se multiplica por 0,1 dL para obtener mcg de retinol, y se divide dentro del peso de muestra para obtener mcg/g.

Para calcular la concentración de carotenos en mcg de betacaroteno/dL se usa la fórmula:

$$C = A \times 480 \times 1,5$$

donde A es la absorbancia a 460 nm. Para el cálculo de concentración hepática se procede de igual manera que con el cálculo de concentración de retinol.

APENDICE B

Método para el cálculo de Potencia de Vitamina A

El método es descrito por C.I. Bliss y C. White en el capítulo 2 del libro *The Vitamins* vol VI por Gyorgy y Pearson (ed.) Segunda edición. Academic Press, 1967, New York.

El método se aplica cuando la respuesta de un bioensayo es una función lineal del nivel de dosis. Las pruebas concurrentes de dos o más preparaciones que difieren sólo en el contenido de un ingrediente activo son aproximadas por líneas rectas que convergen en el intercepto cero dosis. Como la potencia de un desconocido relativa a un estandar puede ser entonces determinada de el radio de pendientes de sus líneas de dosis-respuesta, el ensayo se llama de radio de pendientes. El caso de la vitamina A es un caso especial porque la varianza de los datos de respuesta a un nivel de dosis dado, depende de ese mismo nivel de dosis. Más específicamente se tiene que la varianza en la respuesta es proporcional al cuadrado del valor de la dosis.

En este caso se tiene que la mejor estimación de la pendiente de regresión es el promedio de los radios y/x para cada observación:

$$b_0 = \frac{\sum (y/x)}{N}$$

La varianza del error se estima de cada muestra como:

$$s^2 = \frac{\sum (y^2/x^2) - \sum^2 (y/x) / N}{N-1}$$

La varianza de la pendiente es:

$$V(b_0) = \frac{S^2}{N}$$

La validez del método se prueba con un análisis de varianza ejecutado de acuerdo a lo mostrado en la tabla B.1. En esta tabla se observa que la variación debida a las m pendientes se divide en las primeras dos filas en una pendiente promedio y la diferencia entre pendientes. Todos los k niveles de dosis para una preparación dada deben tener la misma frecuencia f , pero ambos k y f pueden diferir entre preparaciones. Si la dispersión promedio de las medias de respuesta a cada x alrededor de las m pendientes no es significativamente mayor que el cuadrado medio residual (variación entre dosis), estos dos componentes son combinados en una varianza de error para el ensayo.

Cuando el análisis de varianza confirma la validez de computar cada una de las m regresiones con intercepto en cero, la potencia relativa de cada desconocido en unidades codificadas puede ser computada del radio:

$$P = b_2/b_1$$

donde b_1 es la pendiente para los estándar y b_2 para el desconocido. Cada potencia relativa es convertida a la potencia real multiplicando por el radio de los intervalos reales de dosis.

La precisión de la potencia en unidades codificadas se mide convenientemente mediante su intervalo de confianza. La precisión del radio calculado depende mucho de su denominador, en este caso, la pendiente del estándar, a través del término:

$$C = \frac{b_e^2}{b_e^2 - V(b_e)} t^2 \quad b_e = \text{pendiente de recta estándar}$$

donde t es el valor de t de student con el nivel de significancia escogi-

do. El intervalo de confianza viene dado por:

$$X'_L = CP' \pm \sqrt{(C-1) (CP'^2 + N_L/N_2)}$$

Estas fórmulas y cálculos se aclaran un poco con el ejemplo del cálculo de potencia para los datos de este experimento. La disposición de los datos se muestra en la tabla B.2.

El análisis de varianza se muestra en la tabla B.3. De este ANDEVA se desprende que la variación entre pendientes es significativa respecto a la variación entre dosis, y que la variación combinada de las medias de cada dosis alrededor de las pendientes no excedió significativamente la variación entre ratas dentro de cada dosis. Estos dos eventos confirman la validez del ensayo. Se junta entonces la variación debida a la dispersión de medias y la debida a la variación entre dosis para obtener una varianza del error del ensayo. Con este dato se obtiene la varianza de la pendiente estandar $V(be)$. Usando el valor de t con n.s. de 0.05 (2.02) se calcula el factor de corrección C , y con este factor los intervalos de confianza. A continuación se muestran los cálculos en detalle.

$$\text{Varianza Media: } 8.410 \quad \text{GL. } 41 \quad t^2_{.05} = 4.0804$$

$$V (be) = \frac{8,410}{2} = 0,7008$$

$$C = \frac{(12.508)^2}{(12.508)^2 - 0.7008(4.0804)} = 1.0186$$

Intervalos:

a) Muestra mejorada:

$$\begin{aligned} & 0.2513 \times 1.0186 \pm \sqrt{(0.0186) [1.0186 \times (0.2513)^2 + 12/16]} \\ & = 0.2560 \pm 0.1231 \quad \text{Adimensional} \end{aligned}$$

b) Muestra normal;

$$0.1958 \pm 1.0186 \sqrt{(0.0186) [1.0186 \times (0.1958)^2 + 12/16]}$$
$$= 0.1994 \pm 0.1211 \text{ Adimensional}$$

TABLA B.1

Análisis de varianza para un ensayo de radio de pendientes con m regresiones cada una con k niveles de dosis igualmente espaciados y f respuestas para cada dosis. Cada regresión con intercepto en cero y una varianza esperada.

Fila	Término	GL	
1	Pendiente promedio	1	$(\sum \sum Y/X)^2 / N = B_0 c^2$
2	Entre pendientes	$m-1$	$\sum \{ (\sum Y/X)^2 / f k \}_i - B_0 c^2 = S_2$
3	Dispersión de medias	$mk-m$	$\sum \{ (\sum Y)^2 / f x^2 \}_i - B_0 c^2 - S_2$
4	Entre dosis	$N-mk$	RESTO
5	Total	N	$\sum \sum Y^2 / X^2$
6	Error del ensayo	$N-m$	$\sum \sum Y^2 / X^2 - B_0 c^2 - S_2$

TABLA R.2

Bioensayo de radio de pendientes usando reservas hepáticas como variable de respuesta, para dietas de maiz común y maiz suplementado con lisina y triptofano. La reserva hepática dada en mcg de retinol/g de hígado

Respuesta a dosis								
Término	E0	E1	E2	D11	D12	D21	D22	Total
y (por	0.4	7.8	23.2	1.0	1.6	0.5	1.8	
rata)	0.2	8.3	21.4	2.3	2.8	2.3	1.3	
	0.4	7.4	15.7	1.1	2.0	0.4	1.4	
	0.3	13.7	28.3	1.4	2.2	1.1	1.4	
	0.1	14.7	33.7	7.4	8.3	7.1	2.6	
	0.5	14.7	44.7	6.3	6.3	5.0	4.3	
				4.8	6.3	5.3	5.5	
				3.5	7.4	2.3	6.6	
	1.9	66.6	167.0	27.8	36.9	24.0	24.9	
		804.36	5177.4	139.2	222.3	115.7	107.9	
		1	2	1	1.64	1	1.64	
		66.6	83.5	27.8	22.5	24.0	15.2	239.6
		739.3	1162.0	96.6	63.3	72.0	28.8	2162.0
		804.4	1294.3	139.2	82.6	115.7	40.1	2476.4

be = 150.1/12=12.508; bD1 = 50.3/16=3.1438; bD2 = X 39.18/16 = 2.4488

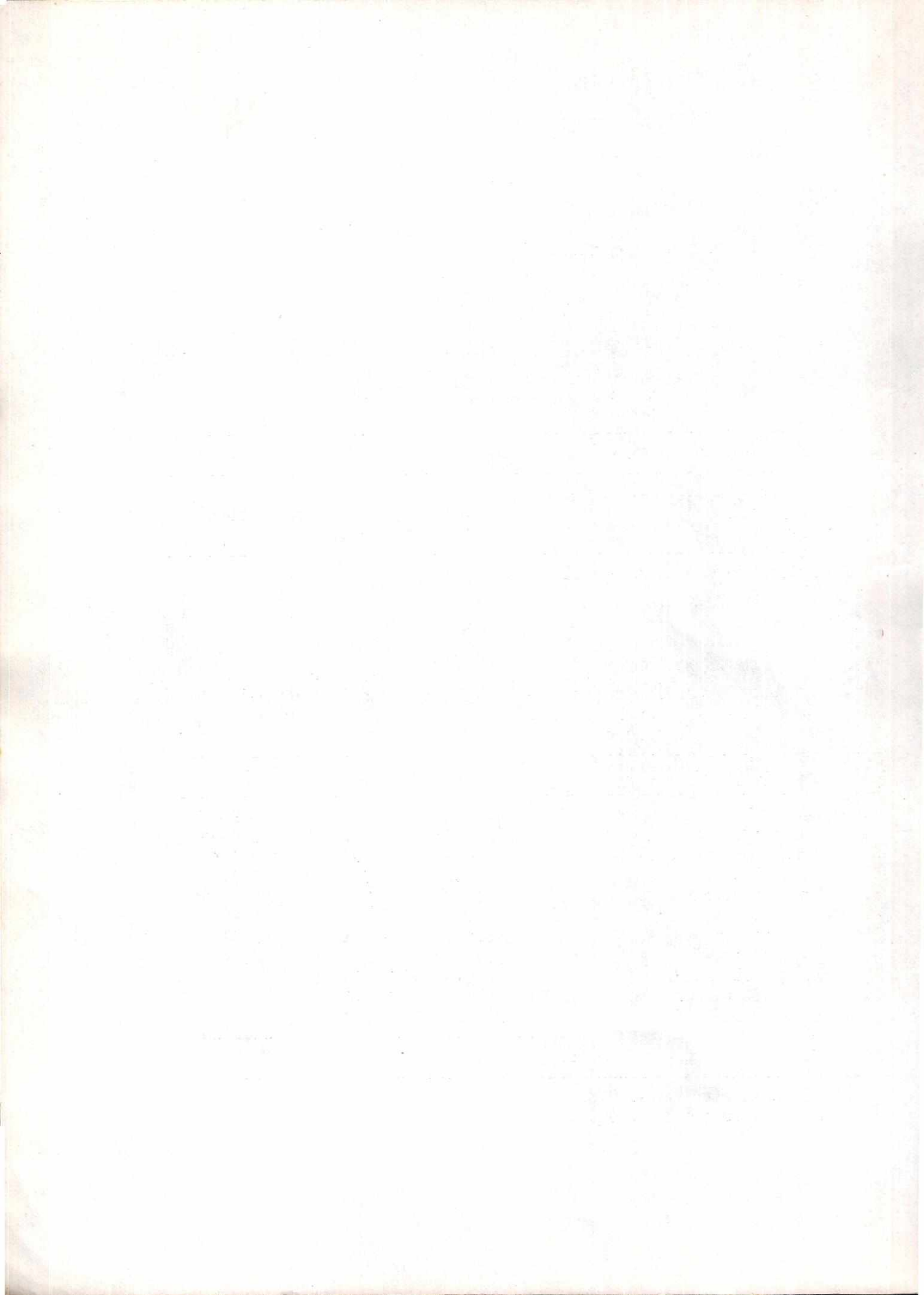
P'D1 = 3.144/12.508 = 0.2513

P'D2 = 2.449/12.508 = 0.1958

TABLA B.3

Análisis de varianza para ensayo de radio de pendientes
para muestras de maiz común y maiz suplementado
(Datos de tabla B.2)

Fila	Término	GL	SC	CM	F
1	Pendiente promedio	1	1304.51	1304.51	
2	Entre pendientes	2	827.06	413.53	50**
3	Dispersión de medias	3	30.44	10.15	1.2
4	Entre dosis	38	314.35	8.27	
5	Total	44	2476.36		
6	Error del ensayo	41	344.79	8.41	



APENDICE C

Análisis de varianza efectuados en el análisis estadístico de el presente trabajo de investigación

Tabla C 6.1

Andeva realizado para probar el modelo de regresión realizado entre las variables nivel retinol en dieta-reserva hepática de retinol

Fila	Fuente de Variación	GL	SC	CM	F
1.	Total	19	3061,21		
2.	Regresión	1	2430,60	2430,6	69,4**
3.	Error	18	630,61	35,0	

** significativo con nivel de significancia menor que 0.001

Tabla C 7.1

Andeva de el modelo estadístico utilizado para comparar las cuatro dietas elaboradas a base de maiz en base a la variable de respuesta: retinol hepático expresado como mcg retinol/g de hígado

Fila	Fuente de Variación	GL	SC	CM	F
1.	Bloques	3	12,898	4,299	0,94
2.	Tratamientos	7	401,569	57,367	12,61**
3.	Trat. A (proteína)	1	20,104	20,104	4,42*
4.	Trat. B (caroteno)	1	8,052	8,052	1,77
5.	Trat. C (sexo)	1	364,833	364,833	80,18**
6.	Interacción AB	1	5,397	5,397	1,19
7.	Interacción AC	1	3,693	3,693	0,81
8.	Interacción BC	1	0,076	0,076	0,02
9.	Interacción ABC	1	3,015	3,015	0,66
10.	Error de muestreo	61	31,467	0,516	
11.	Error residual	21	95,551	4,550	
12.	Total	92	541,485		

* significativo con n.s. 0,05

** significativo con n.s. 0,01

Tabla C 7,2

Andeva de el modelo estadístico utilizado para comparar las cuatro dietas elaboradas a base de maiz en base a la variable de respuesta: retinol hepático expresado como mcg retinol total en el higado

Fila	Fuente de Variación	GL	SC	CM	F
1.	Bloques	3	570,072	190,024	0,59
2.	Tratamientos	7	17513,270	2501,096	7,77**
3.	Trat. A (proteína)	1	1610,517	1610,517	5,00*
4.	Trat. B (caroteno)	1	281,181	282,181	0,87
5.	Trat. C (sexo)	1	15275,879	15275,879	47,43*
6.	Interacción AB	1	159,401	159,401	0,50
7.	Interacción AC	1	329,802	329,802	1,02
8.	Interacción BC	1	17,446	17,446	0,05
9.	Interacción ABC	1	75,276	75,276	0,23
10.	Error de muestreo	61	2380,223	39,020	
11.	Error residual	21	6763,468	322,070	
12.	Total	92	27227,033		

* Significativo con n.s. 0,05

** Significativo con n.s. 0,01

APENDICE D

Unidades para definir actividad de vitamina A

Nota aclaratoria: A lo largo de la historia de la investigación sobre vitamina A se han utilizado distintas unidades de medida para definir el contenido de vitamina A de un alimento dado. Se puede crear confusión al leer literatura de distintas épocas, ya que se encontrarán una serie de términos distintos para definir la misma cosa. En este apéndice se transcriben materiales aclaratorios sobre estas unidades de medida de actividad de vitamina A.

Los siguientes párrafos fueron extraídos de: Roels, O.A. "Standardization of Vitamin A Activity". en "The Vitamins" second edition, Volume I, Sebrell, W.H. & R.S. Harris (ed.) Academic Press, 1967, New York.

"En los primeros años de estudio de vitamina A había una gran confusión concerniente a la actividad exacta de la vitamina, ya que estaban disponibles pocas preparaciones puras de vitamina A o provitaminas A. Eran necesarias pruebas biológicas para determinar la actividad de las vitaminas, y era difícil obtener resultados reproducibles cuando se comparaban datos obtenidos en diferentes laboratorios."

"Los primeros trabajadores en el área trataron de comparar la actividad biológica de varios extractos o preparaciones de vitamina A disponibles y crearon una medida común de actividad biológica de vitamina A llamada la unidad internacional (UI)".

"Esfuerzos tempranos para estandarizar la actividad fueron realizados por la Conferencia sobre Estándares de Vitaminas realizada en Génova en 1931 bajo los auspicios de la Liga de Naciones."

"En 1960 el Comité Experto sobre Estandarización Biológica de la Organización Mundial de la Salud (O.M.S.) redefinió la unidad internacional para vitamina A como la actividad de 0,000344 mg de todo trans acetato de retinol puro. Similarmente, este comité ha designado la unidad

internacional para provitamina A como la actividad de 0,0006 mg de todo trans beta-caroteno puro", .

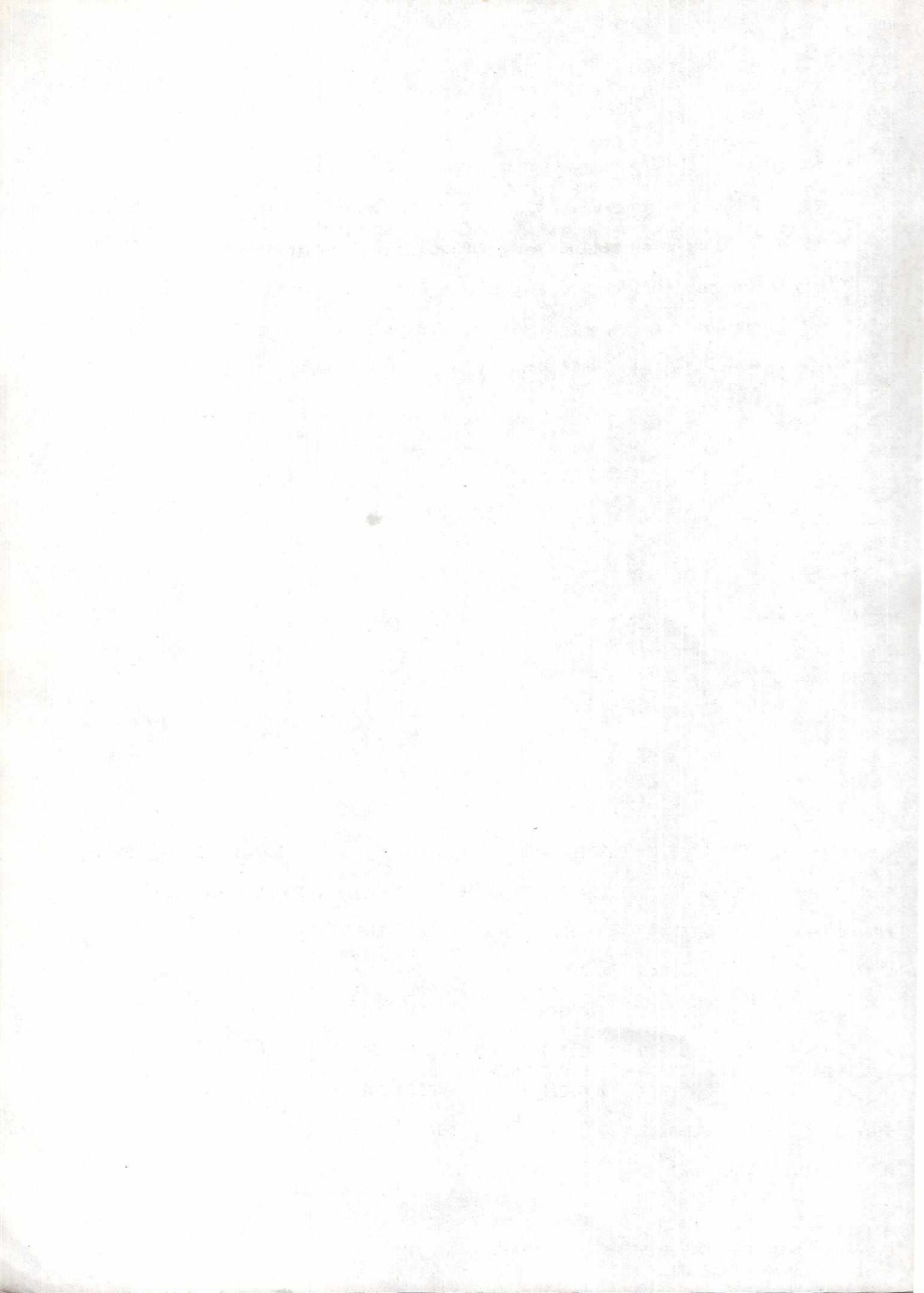
El siguiente párrafo fue extraído de: Underwood, B.A. "Vitamin A in Animal and Human Nutrition", en "The Retinoids" vol. I. Academic Press, 1984. New York.

"Aunque una base de peso es la unidad preferida para expresar el valor de vitamina A de las dietas, se necesita una terminología diferente para expresar el valor nutricional o biológico para distinguirlo del valor químicamente determinado. La unidad escogida por un comité experto conjunto de la Organización de Alimentos y Agricultura y la Organización Mundial de la Salud fue "equivalentes de retinol" (RE) (FAO/WHO. 1967). Esta nomenclatura fue subsecuentemente adoptada por el Reino Unido y el Consejo Nacional de Investigación de los Estados Unidos. La terminología de equivalente de retinol es puramente un concepto dietético. Toma en cuenta la eficiencia promedio de conversión de carotenoides a retinol (1/2 betacaroteno + 1/4 otros carotenoides) y su absorbabilidad promedio (1/3 de los carotenoides totales). El retinol se asume como totalmente disponible sobre una base de peso. Por tanto, las dietas son evaluadas sobre la base de sus equivalentes de retinol donde se aplican las siguientes definiciones:

$$\begin{aligned} 1 \text{ RE} &= 1 \text{ mcg retinol} \\ &= 6 \text{ mcg de beta-caroteno} \\ &= 12 \text{ mcg de otros carotenoides provitamina A.} \end{aligned}$$

Expresado en términos de beta-caroteno en comidas entonces, 1 mcg de beta-caroteno = 0.167 RE (que puede también ser proveído por 0.167 mcg de retinol). Para otros carotenoides provitamina A, 1 mcg de otros ca-

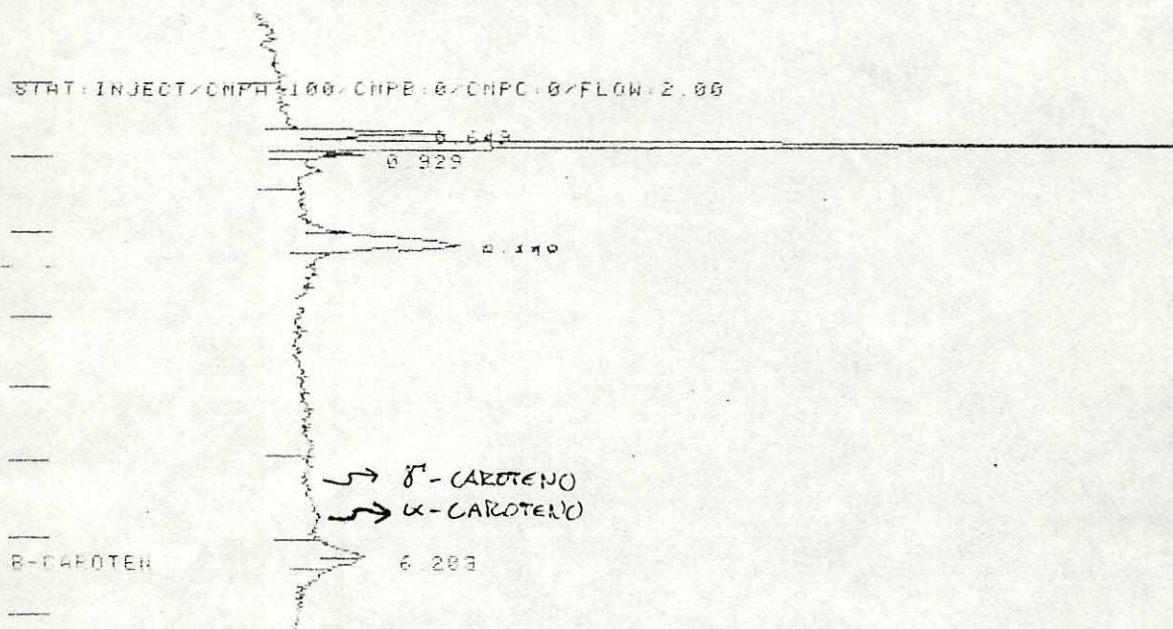
rotenoides = 0.083 RE (que puede también ser proveído por 0.083 mcg de retinol). Para evaluar dietas, por lo tanto, se aplica la siguiente fórmula: Equivalentes de retinol = mcg retinol + mcg beta-caroteno x 0,167 + mcg otros carotenoides provitamina A x 0,083. Para comparación con valores en la literatura antigua, los valores equivalentes de UI de retinol pueden ser calculados multiplicando los valores de RE por 3.33".



APENDICE E

Cromatograma obtenido por analisis HPLC para carotenos de una muestra de maiz comun

CHART SPEED 1.0 CM/MIN
ATTEN: 1 ZERO: 5% 1 MIN/TICK



CHANNEL: 1A - 1 TITLE: CAROTENOIDES EN NOVAPAK 20:43 23 DEC 86

SAMPLE: MAIZCOMUN-A METHOD: CAROTENOIDES CALCULATION: A% - ANALYS

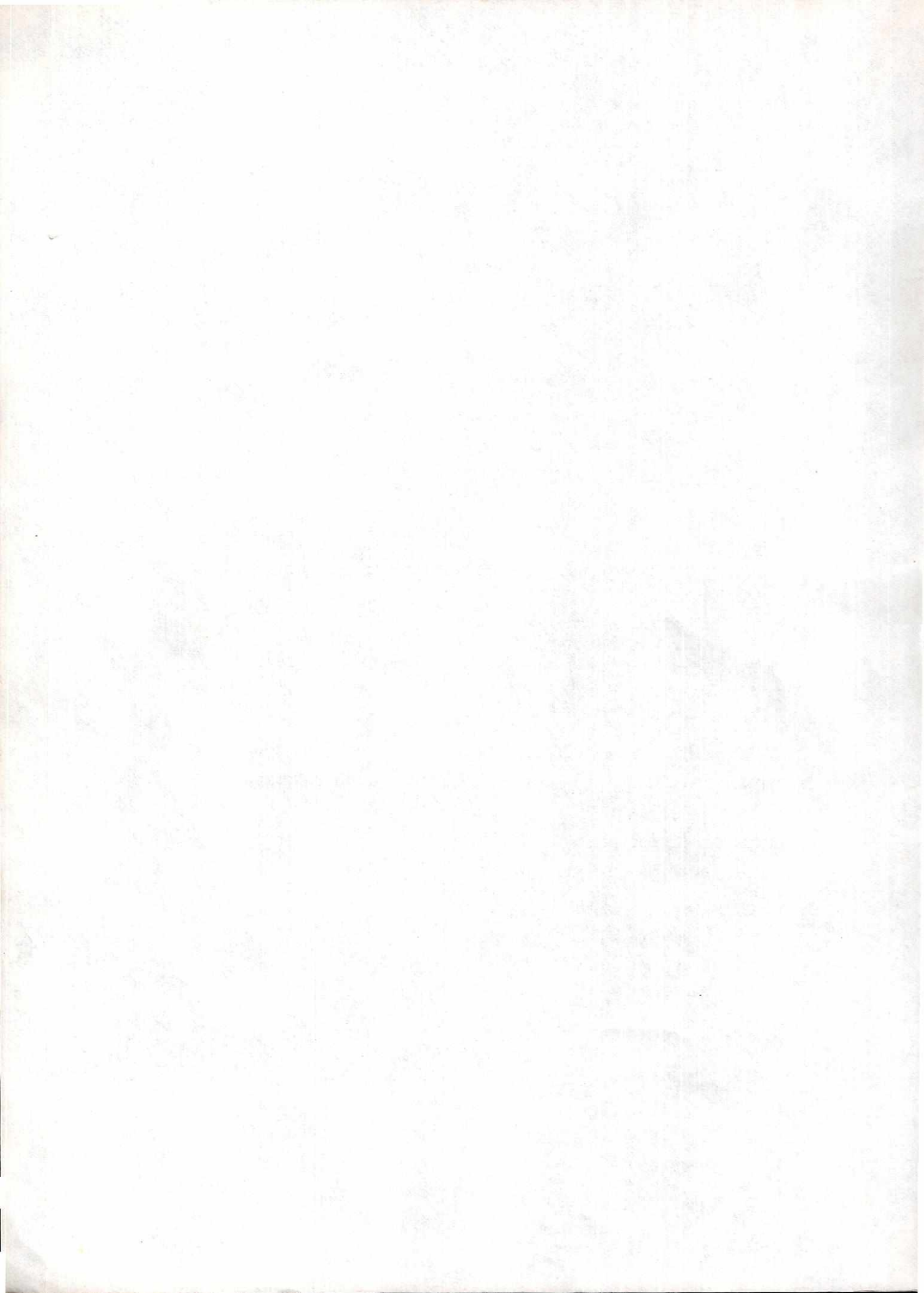
PEAK NO	PEAK NAME	RESULT AREA%	TIME (MIN)	AREA COUNTS	SEP CODE
1		5.2840	0.649	521	BV
2		70.8519	0.807R	6986	VV
3		0.9736	0.929	96	T
4		1.1868	0.938	117	T
5		14.3915	2.148	1419	BB
6	B-CAROTEN	4.0264	6.203R	397	BV
7		3.2860	6.226	324	VB

TOTALS: 100.0000 9860

MULTIPLIER: 1.00000

NOTES:

COLUMNA: NOVA PAK C18 (WATERS) 3.9MMX15CM
FASE MOBIL: ACETONITRIL/ETANOL/THF (58:35:7 W:V:V)



AGRADECIMIENTOS:

A el Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá INCAP,
en cuyas instalaciones se realizó esta investigación.

A la Licenciada Concepción de Bosque

A el Doctor Ricardo Bressani
por su asesoría y colaboración

A Julia Esther de Cazali

por su invaluable ayuda en el trabajo de laboratorio

A Carmen de Escobar

por el trabajo de mecanografía