

RETENCION DE LA CAROTINA Y DE LA RIBOFLAVINA Y NIVELES SERICOS DE VITAMINAS EN RATAS CARENTES DE VITAMINA A ALIMENTADAS CON CUATRO FORRAJES, ACHIOTE Y ACEITE DE PALMA AFRICANA¹

Por ROBERT L. SQUIBB

*Instituto Agropecuario Nacional de Guatemala*²

MIGUEL GUZMAN y NEVIN S. SCRIMSHAW

Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá^{3, 4}

Los forrajes de desmodio deshidratado (*Desmodium intortum*), grama kikuyu (*Pennisetum clandestinum*), ramio (*Boehmeria nivea*) y hojas de banano abundan en los trópicos americanos, y según han demostrado Squibb y colaboradores (1952), tienen valor como fuentes de carotinoides y riboflavina en las raciones para polluelos. Otros dos productos tropicales presentan excelentes posibilidades como fuentes de carotinoides en la alimentación animal y en la humana. Se trata del aceite de palma africana (*Eleasis guineensis*) y el achiote (*Bixa orellana*). En Costa Rica se ha observado que los carotinoides del aceite de palma africana producen carotinemia en el ser humano (1951) y que poseen actividad de vitamina A (1932). El achiote se usa extensamente como colorante vegetal.

La gran eficiencia de la rata para convertir los carotinoides en vitamina A, y el hecho de que la conversión se realice en la pared intestinal, hacen que la rata resulte útil en los estudios de absorción de la actividad de la vitamina A en los alimentos.

¹ Publicado originalmente en la revista *Turrialba*, N° 2, abril-junio, 1953, bajo el título "Carotene and Riboflavin Retention and Serum Vitamin Levels in Vitamin A Depleted Rats Fed Four Forage Meals, Achiote and African Palm Oil" con el número INCAP I-14.

² El Instituto Agropecuario Nacional de Guatemala es un organismo agrícola técnico que actúa bajo la dirección conjunta del Gobierno de Guatemala y la Oficina de Relaciones Exteriores del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, de acuerdo con el programa del Punto IV a cargo de la Administración de Cooperación Técnica del Departamento de Estado, E. U. A.

³ El Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá, Guatemala, es un Instituto de estudios de la nutrición humana sostenido por los Gobiernos de Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras y Panamá y administrado por la Oficina Sanitaria Panamericana, Oficina Regional de la Organización Mundial de la Salud.

⁴ Se expresa el sincero reconocimiento por la ayuda financiera prestada por el Instituto de Fomento de la Producción de Guatemala. Publicación Científica INCAP E-45.

Sexton y colaboradores (1946) no pudieron demostrar la presencia de carotina en el hígado de ratas alimentadas con dietas que contenían un 25 % de alfalfa, después de un período de alimentación de 14 días. Patel y colaboradores (1950) demostraron, del mismo modo, que no se presenta criptoxantina en el hígado de la rata a menos que se le inyecte por vía intraperitoneal. Al ensayar el efecto de las dietas sobre los varios elementos componentes de la sangre de los animales, Squibb y colaboradores (1952) encontraron menos de 2 microgramos por ciento de carotinoides en el suero sanguíneo de las ratas.

En estos estudios se trató de medir la proporción de carotinoides que absorbe la rata, provenientes de los forrajes de *Desmodium* deshidratado, grama kikuyu, ramio y hojas de banano, el aceite de palma africana y el achiote. Se establece también la influencia de estos alimentos sobre 7 de los elementos que componen la sangre de los animales estudiados, lo mismo que sobre la ingestión y retención de la riboflavina.

MÉTODOS

A 80 ratas blancas recién destetadas se les administró la siguiente dieta, escasa en contenido de vitamina A: caseína cruda, 20; sacarosa, 63.98; mezcla de sal, Farmacopea de los Estados Unidos XII, 4; aceite Wesson, 5; levadura de cerveza, 7; y delsterol, 0.02. Las pruebas preliminares indicaron que las ratas recién destetadas se depauperan en vitamina A aproximadamente de los 50 a los 65 días de esta dieta, y que al cabo del período de depleción el promedio de peso es de 150 gm. Es necesario emplear ratas depauperadas, grandes, a fin de poder extraer fácilmente, por punción al corazón, muestras de sangre de 2 a 3 ml.

Se anotaron los pesos individuales dos veces por semana al comenzar el período de depleción y después a intervalos más frecuentes. Las ratas se consideraron depauperadas en vitamina A cuando dejaron de ganar peso o comenzaron a perderlo durante un período de una semana.

Una vez depauperadas, las ratas se dividieron en seis grupos comparables compuestos de 5 hembras y 5 machos, y se alojaron en jaulas individuales de alambre, con pisos de tela metálica levantados. Se les proporcionó agua y la dieta de experimentación *ad libitum*. Antes de empezar la prueba, se obtuvieron muestras de sangre de un grupo representativo de ratas depauperadas, seis hembras y seis machos, a fin de establecer los niveles de carotinoides y vitamina A en el suero de los animales depauperados. Estas ratas fueron eliminadas del experimento.

Se deshidrataron, en un horno de aire caliente circulante a una temperatura de 115°F, *Desmodium*, grama kikuyu, ramio y hojas de banano. Estos forrajes desecados y las semillas de achiote, enteras, se molieron en forma de polvo fino. Debido a la presencia en el *Desmodium* (1950) de cierto factor o factores que cohiben el desarrollo de los polluelos, se

administraron todos los forrajes para reemplazar el 5% de la sacarosa de la dieta basal, sin tener en cuenta su contenido de carotinoides.

Cada uno de los grupos de ratas se mantuvo con la dieta de prueba durante un período total de 12 días. Después del quinto día se midió cuidadosamente la ingestión de alimentos y se recogieron todas las heces mezclándose las de cada grupo durante el período restante de 7 días. Se determinaron los carotinoides y riboflavina totales en los alimentos y en las heces. Estos datos se utilizaron para calcular la tasa de absorción de los carotinoides y la retención de la riboflavina. Se calculó la absorción y retención combinadas de estos elementos de nutrición sustrayendo la cantidad excretada en las heces de la cantidad consumida

CUADRO No. 1.—*Absorción de carotinoides y niveles de carotinoides y vitamina A resultantes en el suero de ratas alimentadas con cuatro clases de forrajes, achioté y aceite de palma africana*

Ingredientes ensayados	No. de ratas	Aumento en peso	Alimento por gm de aumento de peso	Total de carotinoides			Suero sanguíneo	
				Ingeridos	Excretados	Absorbidos	Carotinoides	Vitamina A
		gm	gm	mg	mg	%	γ%	γ%
Grupo testigo.....	12	—	—	—	—	—	1	1.1
<i>Forraje</i>								
Desmodio.....	10	36	4.28	13.68	5.56	59	3	23.1
Gramma kikuyu . . .	10	36	4.10	17.41	3.94	77	4	23.6
Ramio.....	10	33	4.60	9.77	5.76	41	4	25.5
Hojas de banano....	10	38	4.65	13.60	4.65	66	8	19.2
<i>Otros alimentos</i>								
Aceite de palma.....	10	26	5.41	17.95	6.24	65	6	20.5
Achioté.....	10	33	4.56	1.42	0.79	44	35	11.9

Diferencia mínima significativa a un nivel de 5% para carotinoides del suero, 3.0; vitamina A, 7.6.

en el alimento. No se hizo corrección alguna por posible síntesis intestinal de la riboflavina.

Al terminar el 12° día del período de experimentación se obtuvieron, por punción del corazón, de 2 a 3 ml de sangre de cada una de las ratas y se analizó el suero en cuanto a contenido de proteínas totales, riboflavina, ácido ascórbico, fosfatasa alcalina, carotinoides, vitamina A y los tocoferoles totales por los métodos químicos ya citados (Squibb y colaboradores, 1952).

RESULTADOS

En el Cuadro 1 se presentan los aumentos de peso, las eficiencias de utilización de los alimentos y los porcentajes de carotinoides absorbidos. Entre las ratas alimentadas con los 4 forrajes deshidratados y el achioté no se observó diferencia alguna en la tasa de aumento ni en la de apro-

vechamiento de los alimentos. En cambio, el grupo al que se administró aceite de palma mostró depresión tanto en el desarrollo como en la eficiencia de utilización de los alimentos.

Los análisis de sangre de las 12 ratas utilizadas para determinar los carotinoides y vitamina A residuales tras el período de depleción, demostraron que los sueros contenían sólo 1.0 microgramo por ciento de carotinoides y 1.1 microgramo por ciento de vitamina A. Los datos de absorción (Cuadro 1) demuestran que con la alimentación de desmodio absorbieron el 59% de los carotinoides consumidos, en comparación con 77% con la grama kikuyu; 41% con ramio y 66% con hojas de banano. Los carotinoides del aceite de palma fueron absorbidos a razón de 65% y los de achiote a razón de 44%.

CUADRO NO. 2.—*Ingestión y retención de riboflavina en ratas alimentadas con cuatro clases de forraje, achiote y aceite de palma africana*

Ingredientes ensayados	Riboflavina			
	Ingestión total de alimentos	Total retenido en el organismo ¹		Suero ²
		mg	mg	
<i>Forraje</i>				<i>mcg/%</i>
Hojas de banano.....	8.15	3.29	40	4.22
Grama kikuyu.....	4.87	4.07	84	3.69
Desmodio.....	4.66	3.60	77	4.35
Ramio.....	4.19	3.36	80	3.53
<i>Otros alimentos</i>				
Achiote.....	7.11	4.92	69	3.20
Aceite de palma.....	3.34	2.08	68	3.05

¹ Se calculó sustrayendo el total excretado en las heces de la ingestión total en el alimento. No se hizo corrección alguna por posible síntesis intestinal.

² Diferencia mínima significativa a un nivel de 5% para la riboflavina del suero, 1.04.

Los niveles de vitamina A en el suero fueron parecidos en los grupos que recibieron forrajes y en los que recibieron el aceite de palma. Los grupos alimentados con achiote presentaron un nivel sérico significativamente más bajo de este elemento de nutrición. Los carotinoides del suero se elevaron considerablemente en el grupo que recibió achiote, pero fueron bajos en los grupos alimentados con forraje de grama kikuyu, ramio y desmodio. Los niveles de carotinoides en el suero de los grupos alimentados con forraje de hojas de banano y aceite de palma fueron mucho más elevados que los de las ratas alimentadas con otros forrajes.

Como se ve en el Cuadro 2 el porcentaje más bajo de retención de riboflavina se observó en el grupo alimentado con hojas de banano, que fué el que recibió la cantidad más alta de riboflavina en la dieta. La

ingestión más baja de riboflavina correspondió al grupo alimentado con aceite de palma, que fué también el que retuvo la menor cantidad a pesar de que su porcentaje de retención fué igual al de los grupos alimentados con achiote y desmodio. En los grupos alimentados con ramio y grama kikuyu se observó una ingestión media de riboflavina y un índice de absorción relativamente alto. Los niveles resultantes de riboflavina en el suero no demostraron diferencias importantes entre los seis grupos, aunque los niveles más altos correspondieron a los grupos alimentados con desmodio y hojas de banano.

En el Cuadro 3 aparecen los restantes niveles de suero para los otros elementos de nutrición determinados. Los tocoferoles totales fueron mucho más altos en el suero de las ratas alimentadas con ramio, forraje de hojas de banano y achiote, siendo las hojas de banano las que mantu-

CUADRO No. 3.—Efecto de cuatro clases de forrajes deshidratados, achiote y aceite de palma africana en cuatro componentes de la sangre de ratas

Ingredientes	Proteínas totales	Acido ascórbico	Fosfatasa alcalina	Tocoferoles totales
	mg/%	mg/%	unidades	mg/%
<i>Forrajes</i>				
Kikuyu	6.40	0.73	4.08	0.04
Desmodio	6.30	0.92	5.28	0.03
Ramio	6.35	0.93	6.06	0.16
Hojas de banano	6.20	0.85	4.74	0.31
<i>Otros alimentos</i>				
Achiote	6.81	0.75	2.92	0.16
Aceite de palma	6.29	0.79	5.24	0.09
Diferencia mínima significativa a un nivel de 5%	0.46	0.17	2.19	0.12

vieron el nivel más alto de tocoferoles en el suero. La fosfatasa alcalina fué significativamente más baja en el grupo alimentado con achiote; las otras variaciones en la fosfatasa alcalina no fueron significativas. Los niveles de proteína total y ácido ascórbico en el suero no presentaron gran diferencia entre los grupos.

DISCUSIÓN

Entre los seis alimentos estudiados, la absorción de carotinoides fué más elevada en aquellos que proporcionaron la mayor ingestión total. Los carotinoides del suero permanecieron bajos, lo que indica una buena conversión a vitamina A en todos los grupos excepto en los que recibieron achiote. Basándose en determinaciones químicas, al parecer la rata no puede convertir en vitamina A parte de los carotinoides del

achiote, o bien existe en este alimento algún factor que impide dicha conversión. Estos altos valores de carotina del suero parecen más extraordinarios en vista de que las ratas alimentadas con achiote absorbieron sólo el 5% de la ingestión total de carotinoides. Sin embargo, el nivel de vitamina A de este grupo fué diez veces mayor que el de los grupos testigos y aproximadamente la mitad del de los grupos que recibieron uno de los forrajes o el aceite de palma. Estos datos indican que parte de los carotinoides del achiote deben poseer buena actividad de vitamina A. Esta información concuerda con los hallazgos de Cook y Axtmayer (1932).

El hecho de que las otras diferencias en la ingestión de carotina no se reflejen en los valores divergentes de vitamina A, puede obedecer, en parte, a la duración relativamente breve del experimento. Sin embargo, el índice de acumulación de esta vitamina y la razón de conversión de los carotinoides en vitamina A, en la pared intestinal, pueden haber contribuído a compensar las diferencias de ingestión y ser la causa de algunas de las diferencias en absorción.

Como no se depauperó completamente a las ratas en riboflavina, cabía esperar que las diferencias en la ingestión total afectaran la retención. Al parecer así fué, excepto en las ratas alimentadas con hojas de banano, en las cuales se observó la ingestión más alta y el porcentaje de retención más bajo. Aunque el grupo alimentado con aceite de palma demostró la ingestión más baja de riboflavina, el porcentaje retenido fué parecido al del grupo alimentado con achiote que reveló una ingestión de riboflavina casi dos veces mayor.

No puede ofrecerse ninguna explicación de los niveles relativamente semejantes de riboflavina sérica en los varios grupos de ratas, pues pueden intervenir en ellos la síntesis intestinal, los factores dietéticos, o las posibles diferencias en el índice de utilización y fijación.

Las diferencias significativas observadas entre los valores de la fosfatasa alcalina del suero en los diferentes grupos no pueden tampoco ser explicadas por los datos obtenidos en este experimento. Los altos niveles de tocoferol en el suero de las ratas alimentadas con forraje de hojas de banano, ramio y achiote, parecen deberse a los altos niveles de este elemento de nutrición que contienen los alimentos consumidos.

RESUMEN

Se alimentó con cuatro forrajes, achiote y aceite de palma africana, a ratas de la cepa USDA, previamente depauperadas en vitamina A. El porcentaje de absorción de los carotinoides procedentes de forrajes deshidratados fueron: desmodio (*Desmodium intortum*), 57; grama kikuyu (*Pennisetum clandestinum*), 77; ramio (*Boehmeria nivea*), 41 y hojas de banano, 66. Los carotinoides de la semilla íntegra del achiote

(*Bixa orellana*) y aceite de palma africana (*Eleasus quineensis*) fueron absorbidos a razón de 44 y 65 %. El porcentaje de retención de riboflavina en las ratas alimentadas con diferentes alimentos, fueron: hojas de banano, 40; grama kikuyu, 84; desmodio, 77; ramio, 80; achiote, 69; y aceite de palma africana, 68.

A pesar de las diferencias en la ingestión total de carotinoides y riboflavina procedentes de los forrajes y del aceite de palma africana, no se observaron en el suero variaciones importantes en los valores de riboflavina o vitamina A. Se sugieren posibles explicaciones a esos fenómenos.

Aunque los carotinoides del achiote fueron bien absorbidos, el elevado valor de la carotina en el suero demuestra que no todos los carotinoides, medidos químicamente, poseen actividad de vitamina A.

Las pruebas realizadas demuestran que los forrajes deshidratados, el achiote, y el aceite de palma africana, son buenas fuentes de actividad de vitamina A en las ratas.

REFERENCIAS

- Cook, D. H., y J. H. Axtmayer: A new plant source of vitamin A activity, *Science*, 75:85-86, 1932.
- Patel, S. M.; J. W. Mehl, y H. J. Deuel, Jr.: Studies on carotenoid metabolism. XI. The site of conversion of cryptoxanthine to vitamin A in the rat, *Arch. Biochem.*, 30:103-109, 1950.
- Peña Chavarría, Antonio: Comunicación personal, 1951.
- Sexton, E. L.; J. W. Mehl, y H. J. Deuel, Jr.: Studies on carotenoid metabolism. VI. The relative provitamin A activity of carotene when introduced orally and parenterally in the rat, *Jour. Nut.*, 31:299-320, 1946.
- Squibb, R. L., y M. K. Wyld: Further studies on the value of desmodium meal in the baby chick diet, *Jour. Poultry Sc.*, 29:586-589, 1950.
- Squibb, R. L.; Miguel Guzmán, y N. S. Scrimshaw: Dehydrated desmodium, kikuyu grass, ramie and banana leaf forages as protein, riboflavin and carotenoid supplements in chick rations, en prensa, 1952.
- Squibb, R. L.; Miguel Guzmán; F. Aguirre, y N. S. Scrimshaw: Diez constituyentes de la sangre de ratas blancas, gallinas, cerdos, carneros y caballos de las regiones tropicales de la América Latina, véase la página 57 de este Suplemento.