

Estudio de los Métodos "Recolección" y "Oxido Crómico" en la rata. Sus aplicaciones para conocer la digestibilidad de la arepa(*) ()**

ALEJANDRO MOSQUEDA SUÁREZ
Instituto Nacional de Nutrición

CONSIDERACIONES

En una publicación anterior (1) demostramos la marcada importancia de la arepa como alimento popular. En esta ocasión, mediante el estudio de los métodos "Recolección" y "Oxido crómico", nos proponemos conocer las características de su digestibilidad, tema éste de interés nutricional y de aplicación en la dietética general en infantil.

La digestibilidad reviste la importancia de dar a conocer el valor nutritivo de un alimento en sus funciones de digestión, fracción digerida y metabolismo (2) (3).

La digestibilidad proteica se define como la relación entre el nitrógeno dietario absorbido y el nitrógeno dietario ingerido. Se representa por la ecuación (4):

$$D = \frac{A}{I}$$

La fracción de N dietario absorbido del tracto intestinal a la corriente sanguínea es denominada "Verdadera Digestibilidad".

(*) El autor agradece a la señorita Hortensia Olivares la asistencia técnica en las determinaciones de nitrógeno.

(**) Trabajo presentado al Sexto Congreso Latinoamericano de Química.

El N absorbido A se calcula de acuerdo con la ecuación:

$$A = I - (F - F_x)$$

donde

I = N ingerido

F = N total de las heces

F_x = N metabólico

Para establecer la digestibilidad proteica de un alimento es necesario utilizar el concepto de una proteína tipo con un alto valor de referencia.

En nuestras experiencias utilizamos como proteína tipo la caseína, cuya digestibilidad, según Block and Mitchell (5), es de 98.6.

MÉTODOS

1) *Método de Recolección:*

Se fundamenta en conocer la cantidad de dieta ingerida y las heces excretadas en un tiempo determinado.

Para la digestibilidad proteica se requieren las cifras de N ingerido, N excretado y N metabólico, datos indispensables en el cálculo de las fórmulas siguientes:

% de Digestibilidad Aparente = % de Digestibilidad de proteína tipo — % N excretado.

$$\% \text{ de N excretado} = \frac{\text{N excretado} \times 100}{\text{N ingerido}}$$

% de Digestibilidad Verdadera = % de Digestibilidad de proteína tipo — % de N residual.

$$\% \text{ de N residual} = \frac{(\text{N excretado} - \text{N metabólico}) 100}{\text{N ingerido}}$$

Parte experimental

Las experiencias se verificaron en ratas albinas "Sprague Dawley" 4-5 semanas, con un peso de 50-55 gramos. Los animales se colocaron en jaulas individuales con comida y agua *ad libitum*. La dieta se preparó por desmenuzando del pan de maíz (arepa), evaporación del agua en estufa a 85-90 y moliendo la masa resultante hasta obtener un polvo de fino grosor. A cada kilo de arepa molida se añadió las substancias señaladas en la tabla 1, a fin de completar los requerimientos de vitaminas y minerales.

El N ingerido en la dieta se obtuvo por análisis químico y luego referido a la cantidad de dieta ingerida individualmente por los animales en dos semanas. A un grupo de doce ratas dividido en dos subgrupos de seis ratas cada uno (A y B) se les alimentó con la dieta precedente. En el primer subgrupo el N excretado fué chequeado (kjeldahl) a los 3, 7, 10 y 14 días; en el segundo subgrupo también se chequeó el nitrógeno de manera individual, pero sólo en el conjunto de heces de los 14 días.

El N metabólico se llevó a efecto en condiciones muy similares que para el N excretado. Es decir, con igual número de ratas e iguales subgrupos; valores de nitrógeno (kjeldahl), misma cria, edad y peso aproximado. Sólo se varió la dieta en la siguiente forma: almidón, 860 gramos; caseína, 60 gramos; sales minerales, 30 gramos; vitaminas lipo e hidrosolubles, iguales cantidades a las señaladas en la tabla 1.

Debemos aclarar que tanto las heces para determinar N excretado y N catabólico fueron lavadas con alcohol de 95, facilitando así la eliminación de pelos y restos de alimento. En estufa a 90 grados se eliminó la humedad.

Los resultados de la digestibilidad por el método directo de Recolección de Heces se reportan de manera resumida en la tabla 2.

TABLA N° 1
SUBSTANCIAS AGREGADAS A UN KILOGRAMO DE AREPA

Mezcla de sales N° 2 (*)	Mezcla de vitaminas hidrosolubles	Mezcla de vitaminas liposolubles
Cloruro de sodio 1.73 gms.	Vitamina B ₁ 3 mgr.	Vitamina A 6000 U.I.
Sulfato de magnesio . . 5.45 "	Vitamina B ₂ 3 "	Vitamina D 850 U.I.
Bifosfato de sodio 3.47 "	Niacina 20 "	dl - alfa tocoferol 0,2 mg.
Fosfato de potasio 9.54 "	Pantotenato de calcio . . 20 "	
Bifosfato de calcio 5.40 "	Vitamina B ₆ 2 "	
Citrato férrico 1.18 "	Acido fólico 0.25 "	
Lactato de calcio 13.00 "	Biotina 0.10 "	
	P. A. B. A. 250 "	
	Colina 1000 "	
	Inositol 100 "	

(*) Se utilizaron 20 gms. de esta mezcla.

TABLA N° 2

VALORES DE DIGESTIBILIDAD OBTENIDOS EN UN GRUPO DE RATAS ALBINAS SPRAGUE DAWLEY DE 4-5 SEMANAS CON UN PESO DE 50-55 GRAMOS EN 14 DIAS.

Método Recolección de Heces.

Grupo	Sub-grupo	N° de animales	N ingerido gms. %	Dieta ingerida gms.	N ingerido por día, por rata, gms.	N metabólico gms. %	Peso de las heces, gms.	N metabólico por día, por rata, gms.	N excretado gms. %	Peso de las heces, gms.	N excretado por día, por rata, gms.	N residual por día, por rata, gms.	N no digerible gms. %	N. digerible aparente, gms. %	N. digerible "residual", gms. %	Alimento disponible gms. %
1	A	6	1.28	92.54	0.085				5.16	5.07	0.019	0.003	3.5	76.2	95.1	94.5
	B	6				4.40	5.0	0.016								
2	A	6	1.27	89.0	0.081				5.27	4.13	0.016	0.003	3.7	78.9	94.9	95.4
	B	6				5.59	3.23	0.013								

2) *Método del Oxido Crómico:*

Este procedimiento, que ha sido usado con éxito por Schurch y col. (6), se fundamenta en introducir a la dieta una substancia colorante inabsorbible, atóxica, y que elimine por las heces en forma constante. Estas condiciones nos permiten calcular en el alimento, indirectamente, el grado de digestibilidad por el coeficiente.

$$100 \left(\frac{\text{Parte de nutrientes por unidad de colorante en la dieta} - \text{Parte de nutrientes por unidad de colorante en las heces}}{\text{Parte de nutrientes por unidad de colorante en la dieta}} \right)$$

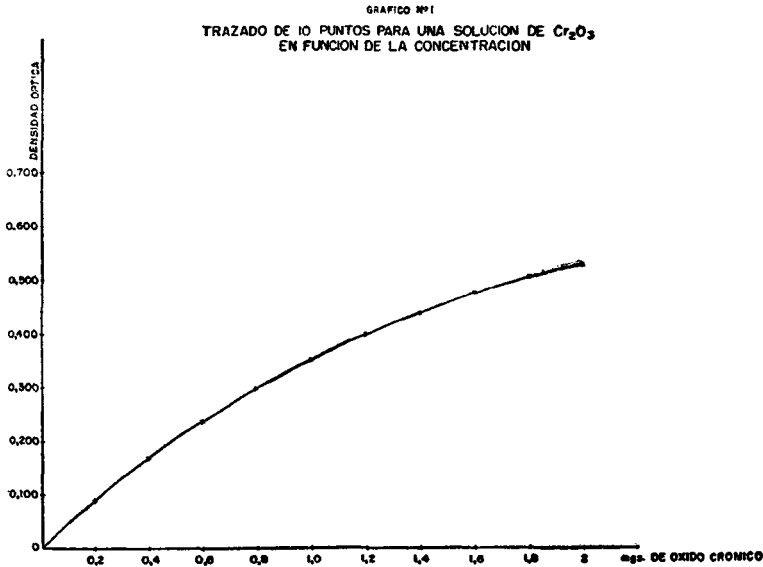
La operación es práctica por cuanto no es necesario controlar la cantidad de alimento ingerido. Sólo basta conocer la cantidad del colorante en la dieta (puede ser 1%) y la cantidad de colorante presente en la cantidad de heces de rata analizada.

Parte experimental

Pesar \pm 1 gm. de heces y convertirlas a cenizas en crisol de níquel de 50 ml. a fuego directo (500-600°C). Enfriar; añadir 1 gm. de Na_2O_2 ; mezclar bien; fundir la mezcla a calor suave; agitar uniformemente para lograr la conversión cuantitativa del óxido a cromato. Enfriar. Transvasar el contenido a una fiola de 500 ml., lavando cuantitativamente el crisol. Aforar y dejar sedimentar. Filtrar la solución por embudo de vidrio poroso pyrex tipo M en trompa de agua. Tomar una alícuota (que contenga aproximadamente 1 mg.) y completar con agua destilada a 10 cc. Leer la transmisión de luz en un colorímetro fotoeléctrico, usando filtro 440 y agua destilada como blanco.

Como las soluciones de cromato no siguen la ley de Beer Lambert, es necesario trazar una curva de calibración con un óxido crómico "Reagent Grade" (*) sometido a la misma técnica y usando la misma cubeta de análisis (10 cc.). La curva obtenida por nosotros es el producto de dos determinaciones.

(*) Manufacturado por Matheson Coleman & Bell, Inc. N. J. Límite de impurezas máximo: substancias no precipitables por NH_4 , OH, 0,5%; Cl, 0,003%; SO_4 , 0,05%.



La uniformidad de los valores resultantes es evidente (ver gráfico 1).

Como puede observarse, la técnica es sencilla. Y así, en ratas de edad, peso y condiciones similares a las utilizadas en el método de recolección, se analizaron las heces de un grupo de 8 animales, dividido en dos subgrupos. Los valores de digestibilidad obtenidos son ampliamente concordantes (tabla 3).

Son igualmente satisfactorios los valores reproducibles, según se desprende de los análisis verificados en un grupo de 4 ratas con recolección de heces durante tres días seguidos (tabla 4).

DISCUSION

Los resultados de la investigación permiten señalar las siguientes cifras de valores para la arepa: digestibilidad proteica aparente, 77,6%; digestibilidad proteica verdadera, 95,0%; digestibilidad total del alimento por medida de la dieta ingerida y las heces excretadas, 95,0%; digestibilidad total del alimento por el método crómico, 93,6%.

TABLA N° 3
VALORES DE DIGESTIBILIDAD OBTENIDOS EN RATAS ALBINAS SPRAGUE DAWLEY DE 4 - 5 SEMANAS
CON UN PESO DE 50-55 GRAMOS EN CINCO DIAS
Método del Oxido Crómico

Rata N°	1	2	3	4	5	6	7	8	Promedio
Alimento Digerible %	93.6	94.1	94.2	92.5	93.8	93.9	93.0	93.7	93.6

Desviación standard: $\pm 0,57$

TABLA N° 4
DIGESTIBILIDAD A LOS 4, 5 Y 6 DIAS CON UN TOTAL DE
DOCE DETERMINACIONES
Método del Oxido Crómico

Rata N°	A	B	C	Promedio	Media de error
1	93.3	93.8	92.7	93.3	± 0.37
2	93.9	92.9	93.8	93.5	± 0.43
3	93.1	93.8	93.3	93.4	± 0.27
4	93.5	93.9	93.0	93.5	± 0.30

El procedimiento del óxido crómico es de fácil aplicación por su sencillez, corta duración y exactitud. Su uso resulta práctico para el estudio de alimentos digeribles.

Sabemos, por otra parte, que no es sólo de interés clasificar y seleccionar aquellos alimentos que acusen alto índice de constituyentes. Interesa más bien considerar el grado de digestibilidad que pueden aportar al organismo. En los trabajos de nutrición estas cuestiones son fundamentales.

SUMARIO

Se presenta un estudio de los métodos de Recolección y Oxido Crómico, aplicables en la determinación de la Digestibilidad.

Las cifras obtenidas para ambos métodos indican buenos resultados en cuanto a exactitud y reproductibilidad.

El método crómico, que hemos modificado acortando en tiempo de duración de la técnica y asimismo del tiempo de recolección de heces, es más simple en su aplicación y requiere menos material.

Como fuente proteica se utilizó la arepa criolla. A este alimento los valores de digestibilidad resultantes le conceden la categoría de muy digerible.

SUMMARY

A comparison between digestibility determination with the recollection method and the chromium oxide method is presented.

Both method gave satisfactory results. The chromium oxide method was modified and is considered more practical than the recollection method.

The assays were run with "arepas", the Venezuelan corn bread, which showed to be very digestible.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird ein Vergleich zwischen den Bestimmungsmethoden für die Verdaulichkeit angestellt wobei entweder die Gesamttfeces gesammelt werden oder durch Chromtrioxyd markiert werden.

Beide Methoden gaben gut übereinstimmend Ergebnisse. Die Chromoxyd Methode, die leicht modifiziert wurde, wird als bequemer angesehen. Die Versuche wurden mit "Arepas" d. i. Venezolanischen Maisbrotten durchgeführt, die eine gute Verdaulichkeit zeigten.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Mosqueda Suárez, A. — Arch. Venez. Nutr. 5, 407 (1954).
- (2) M. Sahyun. — Proteins and Amino Acids in Nutrition. Reinhold Publishing Corporation. New York, 1948.
- (3) L. A. Maynard. — Animal Nutrition. Mc. Graw-Hill Book Company Inc. New York, 1951.
- (4) Allison J. B. — Advances in Proteins Chemistry. Vol. V, 1949.
- (5) Nutrition Abst. Rews. 16, 263 (1946).
- (6) J. Nutrition. 41, 629 (1950).