

# EFFECTO DE LA CALIDAD Y CANTIDAD DE PROTEINA DIETARIA EN LA TASA DE DEPLECION DE VITAMINA A, Y DISPONIBILIDAD BIOLOGICA DE PRECURSORES DE VITAMINA A<sup>1</sup>

Arlene Wolzak<sup>2</sup> y Ricardo Bressani<sup>3</sup>

Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP),  
Guatemala, Guatemala, C.A.

## RESUMEN

Se evaluó el efecto de la calidad y cantidad de proteína dietética sobre la tasa de depleción de vitamina A, a través de cambios en los niveles séricos y en las reservas hepáticas de retinol en ratas adultas de ambos sexos, de la raza Wistar. Un total de 64 ratas fueron distribuidas en cuatro grupos, las que fueron alimentadas *ad libitum* con dietas adecuadas en todos los nutrientes, salvo en vitamina A. Las dietas fueron: A (91<sup>o</sup>/o de maíz común); B (91<sup>o</sup>/o de maíz Opaco-2); C (64<sup>o</sup>/o maíz común más 27<sup>o</sup>/o de harina precocida de frijol), y D (64<sup>o</sup>/o maíz Opaco-2, más 27<sup>o</sup>/o de harina de frijol).

El período de depleción duró 60 días. A los 15, 30 y 60 días se sacrificaron cuatro ratas de cada grupo para comparar la concentración del retinol sérico y hepático con el dato basal. Las 16 ratas restantes se utilizaron para evaluar la biodisponibilidad de los carotenos en la zanahoria.

Durante los primeros 15 días, la mayor tasa de depleción en las reservas hepáticas se observó con la dieta a base de maíz Opaco-2 y frijol (Dieta D) que, a su vez, mostró la mayor ganancia de peso. La menor tasa de depleción y menor ganancia ponderal se observó con la dieta a base de maíz común (Dieta A). Las dietas B (Opaco 2-

---

Manuscrito modificado recibido: 16-4-86.

1 Este trabajo fue financiado por el Programa INC-NUT-370/PN/85/CA - Bean/Cowpea CRSP-Título XII.

2 Graduada del Curso de Postgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Centro de Estudios Superiores en Nutrición y Ciencias de Alimentos (CESNA), Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia/INCAP, Guatemala, C.A., agosto de 1980.

3 Coordinador de Investigación y Jefe de la División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), Apartado Postal 1188, Guatemala, Guatemala, C.A.

maíz) y C indujeron valores intermedios, siendo la primera más efectiva que la segunda, a pesar de su menor contenido proteínico. A partir de los 30 días se produjeron cambios en las reservas hepáticas en función de dietas, y al final del periodo de depleción todas las dietas produjeron valores estadísticamente iguales.

A partir de los resultados obtenidos, concluimos que la concentración y calidad proteínica de la dieta influyen positivamente la movilización de reservas hepáticas de retinol, y que la calidad proteínica influye independientemente la cantidad de retinol movilizado.

La capacidad biológica de la harina de zanahoria en suplir vitamina A fue evaluada en 16 ratas adultas que habían sido depletadas durante 60 días. Se alimentaron *ad libitum* tres grupos de cuatro ratas cada uno, con dietas que contenían 14% de caseína, adicionadas de 25, 50 y 75% del requerimiento de retinol para la rata, con miras a elaborar la curva estándar de respuesta biológica.

El cuarto grupo se alimentó con una dieta análoga, pero en este caso la harina de zanahoria (67.1 mg % de caroteno total) era la fuente de vitamina A.

Al cabo de una semana, las ratas fueron sacrificadas, y se determinó en ellas el retinol sérico y hepático. La ecuación de regresión obtenida fue:

$$\text{mg \% retinol hepático por 100 g de peso de rata} = 2.47 + 0.063 (\mu \text{ retinol/ 100 g de dieta}) \quad (r = 0.585).$$

La disponibilidad biológica de carotenos en la harina de zanahoria sometida a ensayo fue de 21.8%, valor comparable a la eficiencia de utilización sugerida por FAO/OMS.

## INTRODUCCION

La deficiencia de vitamina A constituye uno de los principales problemas nutricionales en las poblaciones centroamericanas y, en general, en todos los países en desarrollo (1). Esta situación es contradictoria si se considera la amplia variedad de fuentes potenciales de precursores de vitamina A disponibles.

La influencia de diferentes niveles de caseína en la utilización de beta-caroteno fue evaluada por Jaganathan y Patwardhan (2). Las reservas hepáticas de vitamina A a partir de beta-caroteno fueron mínimas en ratas alimentadas con dietas que contenían 6% de proteína y máximas en las que recibieron la dieta con 12% de dicho nutriente.

Ruffin y Arnrich (3) y Stoecker y Arnrich (4) observaron que una mayor ingesta proteínica aumenta la utilización de caroteno pero no la de vitamina A preformada, presentes en la dieta, y que las reservas hepáticas y renales aumentaban al incrementarse el nivel de proteína en la dieta de 10 a 40%.

Gronowoska-Senger y Wolf (5) demostraron que la actividad máxima de la enzima caroteno dioxigenasa, responsable de la conversión del caroteno a retinol, ocurría cuando la ingesta proteínica a base de caseína era del 10%, y menor a ingestas de 5, 20 y 40%.

Kamath y Arnrich (6) confirmaron que la proteína ejerce efecto en el metabolismo carotenóide en la etapa en que éstos se encuentran en el intestino. Sin embargo, dichos autores informaron una mayor recuperación de ésteres de <sup>14</sup>C retinilo en animales alimentados con 40% que

con 100/o de proteína en la dieta.

En el curso de un estudio, Fraps y Meinke (7) encontraron que la absorción de caroteno de zanahoria variaba aproximadamente de 2 a 490/o del total presente.

Otro estudio efectuado en humanos por el Medical Research Council (8) reveló que el porcentaje de absorción de carotenos, o bien de aquellos que no eran excretados, fluctuaba entre 740/o en el caso de aceite de maní y 560/o en el caso de zanahorias homogenizadas y enlatadas, y a un 250/o en zanahorias en rodajas. El factor que complica la absorción es que las células que contienen el caroteno no son degradadas del todo durante la absorción.

Considerando la influencia que el tamaño de la partícula ejerce en la absorción de carotenos, Sweeney y Marsh (9) evaluaron la magnitud de reservas hepáticas y renales en ratas como indicadores de la disponibilidad del caroteno según su contenido en zanahorias sometidas a diferentes tratamientos destinados a reducir el tamaño de la partícula. Estos resultados se compararon con la absorción de beta-caroteno (all-trans) disuelto en aceite de semilla de algodón. Los hallazgos indicaron que la disponibilidad del caroteno que contenía la zanahoria era igual a la del caroteno disuelto en aceite, lo que indica que la ruptura de las células vegetales no aumentó la disponibilidad del caroteno. Estos autores notaron, además, que cuando la tasa de crecimiento en el período de ensayo se restringía disminuyendo la ingesta de alimentos, las reservas hepáticas de vitamina A ascendían.

El estudio tema de este artículo tuvo como objetivo principal, evaluar el efecto de la cantidad y calidad de la proteína dietaria, proveniente de alimentos típicos en la dieta centroamericana, sobre la tasa de depleción de vitamina A en comparación con dietas a base de caseína. El segundo objetivo fue medir a través de un método biológico, la capacidad de la zanahoria en cuanto a suplir vitamina A, ya que se considera de importancia el desarrollo de ensayos que midan la disponibilidad biológica de los precursores de vitamina A.

## MATERIAL Y METODOS

### 1. Tasa de Depleción de Vitamina A

#### a) Animales de experimentación

Se utilizaron 68 ratas en crecimiento de la raza Wistar, de ambos sexos y de aproximadamente 35 días de edad. Cuatro de ellas fueron sacrificadas al inicio del estudio para obtener datos basales referentes a su estado nutricional de vitamina A.

Las 64 ratas restantes fueron distribuidas según sexo y peso en cuatro grupos de 16 cada uno (integrados por 8 machos y 8 hembras). Los grupos presentaban un promedio ponderal inicial de aproximadamente 102 g. Las ratas fueron alojadas en jaulas de metal, y se les ofreció agua y alimento *ad libitum* durante todo el estudio.

#### b) Dietas

La composición de las dietas experimentales y su contenido proteínico

total determinado por el método de Kjeldahl (10), se muestran en la Tabla 1. El maíz utilizado fue el blanco almidonado conocido como salpor, que no contiene carotenos.

Las dietas fueron preparadas en utensilios perfectamente limpios y lavados con alcohol para evitar posible contaminación con vitamina A de dietas anteriormente preparadas en ellos.

### *c) Respuesta biológica*

Los cambios ponderales y consumo de alimentos fueron registrados semanalmente.

La depleción se realizó por un período de 60 días. A los 15, 30 y 60 días de iniciada la depleción, cuatro ratas de cada grupo (dos hembras y dos machos) fueron sacrificadas cada vez por decapitación para obtener muestras de sangre y para extirpar el hígado, con lo que se determinaron los cambios en niveles séricos y reservas hepáticas de retinol a lo largo de la depleción. A los 60 días y debido al tamaño de los animales, éstos fueron anestesiados con cloroformo durante 20 segundos, previo al sacrificio.

Las muestras se almacenaron a  $-4^{\circ}\text{C}$  por un período máximo de 15 días hasta su análisis. Las determinaciones de retinol sérico y hepático se llevaron a cabo por el método de Bessey y colaboradores (13). Las muestras de hígado fueron homogeneizadas con solución salina al 0.85% utilizando el homogeneizador de Potter-Elvehjem.

El período de depleción se finalizó con cuatro ratas (2 hembras y 2 machos) en cada grupo, las cuales fueron utilizadas en la evaluación de la disponibilidad biológica de precursores de vitamina A en zanahoria.

## *2. Disponibilidad Biológica de Precursores de Vitamina A*

### *a) Animales de experimentación*

Como se indica en la sección anterior, se emplearon 16 ratas de ambos sexos de 95 días de edad y depletadas de vitamina A. Los valores de retinol sérico y de reservas hepáticas que produjeron las diferentes dietas al finalizar el período de depleción, no fueron significativamente diferentes entre sí, por lo que se consideró a las 16 ratas como un lote homogéneo en relación a su estado nutricional de la vitamina en mención.

Los animales fueron distribuidos en cuatro grupos, dentro de los cuales se consideró una rata proveniente de cada una de las dietas experimentales provistas en el período de depleción.

Durante el ensayo, las ratas ingerían las dietas con vitamina A, y al final de la depleción se sacrificaron por decapitación para obtener la muestra de sangre y el hígado total. El suero y el hígado se conservaron en congelación hasta el momento de su análisis.

### *b) Alimento ensayo, fuente de vitamina A*

La disponibilidad biológica de los carotenos en harina de zanahoria, molida en un tamiz de 100 mallas (mesh 100), se obtuvo de la siguiente manera. Las zanahorias frescas, peladas y rodajadas se secaron en horno

TABLA 1

## COMPOSICION Y CONTENIDO PROTEINICO TOTAL DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES

Ingredientes	Dietas			
	A	B	C	D
Harina de maíz salpor <sup>1</sup>	91.0	—	64.0	—
Harina de maíz opaco-2	—	91.0	—	64.0
Harina de frijol	—	—	27.0	27.0
Minerales (11)	4.0	4.0	4.0	4.0
Aceite de semilla de algodón	5.0	5.0	5.0	5.0
<b>TOTAL</b>	<b>100.0</b>	<b>100.0</b>	<b>100.0</b>	<b>100.0</b>
Solución de vitaminas del complejo B, ml (12)	5	5	5	5
Proteína total, %	6.43	9.36	10.73	11.80

1 Maíz blanco almidonado.

con circulación de aire, a 60°C, y posteriormente fueron molidas. Su contenido de carotenos fue cuantificado (10), obteniéndose un valor de 67.1 mg de caroteno por 100 de harina.

### c) Dietas

Tres de los grupos experimentales ingirieron, durante una semana, dietas a base de caseína (% proteína por dieta: 14%) que aportaban 25, 50 y 75% del requerimiento de retinol para ratas. Este se estimó en 0.6µ de retinol/kg de dieta (14). El retinol fue adicionado como palmitato de retinilo en solución acuosa. La actividad del éster determinada experimentalmente fue de 229,551 UI de vitamina A. El cuarto grupo de ratas fue alimentado, en el mismo período, con una dieta a base de caseína, cuya fuente de vitamina A era la harina de zanahoria. La composición de las dietas y la asignación a los respectivos grupos experimentales se indica en la Tabla 2.

### d) Respuesta biológica

La respuesta biológica fue evaluada en función de reserva hepática y retinol sérico después de una semana de repleción.

Los valores de reserva hepática por 100 g de peso de rata se graficaron contra el contenido de retinol por 1,000 g de dieta. La respuesta a la dieta de ensayo fue extrapolada de la gráfica obtenida, y con este dato se calculó la disponibilidad de caroteno como precursor de vitamina A.

TABLA 2

## COMPOSICION DE LAS DIETAS SUPLEMENTADAS CON VITAMINA A

Componentes	Ratas asignadas a grupo experimental No.			
	I	II	III	IV
Caseína, g	144	144	144	144
Almidón, g	766	766	766	764.9
Minerales, g (11)	40	40	40	40
Aceite de semilla de algodón, ml	50	50	50	50
Harina de zanahoria, g <sup>2</sup>	—	—	—	1.1
Solución de vitaminas del complejo B, ml (12)	50	50	50	50
Retinol, $\mu\text{g}^3$	150	300	450	—
Retinol agregado, $^{\circ}/o$ del requerimiento	25	50	75	—

- 1 Cantidad suficiente para 1,000 gramos de dieta.
- 2 Calculada para dar una respuesta biológica capaz de ser extrapolada de la curva estándar.
- 3 Adicionado en solución acuosa, como palmitato de retinilo.

## RESULTADOS

Los datos basales del estado nutricional de vitamina A de los animales experimentales se muestran en la Tabla 3.

1. *Reservas Hepáticas*a) *Microgramos de retinol/g de hígado*

En los tres períodos de depleción, con todas las dietas, se obtuvo valores inferiores significativamente diferentes con respecto al dato inicial. A los 30 días, todas las dietas (A,B,C,D) producen menores niveles hepáticos pero que no difieren significativamente de valor a los 15 días de depleción. En cambio, las reservas hepáticas/g de tejido a los 60 días sí difieren del nivel obtenido a los 15 y 30 días, salvo en el caso de la dieta D de 30 días.

Los bajos niveles producidos a los 15 días por todas las dietas no difirieron significativamente entre sí. A los 30 días, la dieta A produjo valores más altos y diferentes a los de las dietas C, B y D, pero entre sí estos últimos no fueron diferentes. A los 60 días la depleción máxima fue producida por la dieta C ( $0.92 \pm 0.27 \mu$  retinol/g de hígado) y la depleción mínima ocurrió con la dieta A ( $2.25 \pm 1 \mu\text{g}$  retinol/g de hígado). Si se observan los valores individuales, se puede comprobar que en los animales que ingirieron la dieta D, los niveles de retinol virtualmente han desaparecido.

TABLA 3

RESERVAS HEPATICAS Y RETINOL SERICO DURANTE EL PROCESO DE DEPLECION

Dieta	Período	Reservas hepáticas <sup>1</sup>			Retinol sérico <sup>1</sup> µg/ml
		µg/g hígado	Total µg	µg/100 rata	
—	0	37.9 ± 4.33	157.2 ± 19.63	143.3 ± 15.21	44.8 ± 3.60
A	15	14.6 ± 2.94	70.6 ± 19.22	63.3 ± 16.70	42.0 ± 3.02
	30	20.1 ± 2.88	86.3 ± 11.51	66.9 ± 11.30	42.1 ± 1.96
	60	2.2 ± 1.11	11.1 ± 5.56	7.3 ± 3.50	24.7 ± 8.10
B	15	12.8 ± 4.32	69.0 ± 23.40	46.2 ± 15.66	30.6 ± 2.23
	30	11.3 ± 2.88	65.3 ± 15.93	39.1 ± 9.96	28.5 ± 7.89
	60	1.9 ± 1.36	11.2 ± 2.04	5.3 ± 0.94	20.1 ± 5.72
C	15	15.4 ± 1.64	82.4 ± 13.22	55.5 ± 5.44	54.7 ± 9.45
	30	13.0 ± 1.90	96.5 ± 15.20	46.8 ± 6.59	62.5 ± 7.53
	60	0.9 ± 0.27	7.1 ± 2.12	3.1 ± 1.08	11.2 ± 3.42
D	15	10.0 ± 2.12	61.2 ± 20.10	38.1 ± 8.78	38.3 ± 2.41
	30	7.7 ± 1.00	55.3 ± 9.00	27.4 ± 3.96	74.2 ± 3.37
	60	2.1 ± 1.35	13.1 ± 8.17	6.4 ± 4.12	16.7 ± 3.02

1 Promedio ± ES.

Sin embargo, el análisis estadístico no detectó diferencias significativas entre los niveles producidos por todas las dietas en este período final de depleción, pues la diferencia mínima requerida era de 6.685.

*b) Microgramos de retinol en hígado total*

Para este conjunto de datos la diferencia significativa resultó ser 40.13; según ello todas las dietas en cualquier período de depleción, fueron significativamente diferentes con respecto al dato inicial. Al analizar los datos obtenidos dentro de cada dieta es factible deducir que en todas las dietas la reserva hepática más baja producida a los 60 días de depleción, difiere significativamente del valor obtenido a los 15 y a los 30 días, pero los valores entre los dos períodos de depleción no acusan diferencias.

Al comparar todas las dietas entre sí, a los 15 días, ninguno de los valores obtenidos son diferentes; a los 30 días sólo los datos de las dietas C y D difieren entre sí, pero ninguno de éstos es diferente del valor correspondiente para A o B.

*c) Microgramos de retinol/100 de peso por rata*

Los resultados obtenidos con todas las dietas en los diferentes períodos de depleción, son significativamente menores con respecto al valor inicial, a un nivel ( $P < 0.001$ ). La diferencia mínima requerida era de 26.74.

Dentro de cada dieta, a los 60 días de depleción se habían producido valores menores y diferentes de los obtenidos a los 15 y 30 días con las dietas A, B y C. A los 15 y 30 días, estos resultados no son diferentes entre sí. Para la dieta D la concentración de retinol a los 60 días sólo difiere del nivel a los 15 días, mas no se observó diferencia significativa a los 15 días comparado con el valor a los 30 días, ni entre 30 y 60 días de depleción.

La comparación entre dietas permite deducir que la depleción producida por la dieta D fue mayor que aquélla originada por las dietas A, B o C las que a su vez fueron diferentes entre sí. No obstante, la disminución de las reservas hepáticas a los 30 días para cada dieta fue mayor que la producida por la dieta A, pero sin diferir de aquélla producida por las dietas B y C.

En el segundo período de depleción las dietas B y C originaron una mayor disminución que la dieta A, pero la B y C no difirieron entre sí. A los 60 días la reducción en las reservas producidas por cada una de las cuatro dietas no reveló diferencias de significado estadístico entre sí.

## *2. Niveles Séricos de Retinol*

De acuerdo a la diferencia mínima significativa, 15.2, la dieta A rindió resultados menores y diferentes con relación al dato inicial sólo a los 60 días de depleción, durante el cual la concentración de retinol se había reducido a un 55% del nivel inicial. No hubo diferencia a los 15 días, y a los 30 el nivel de retinol permanecía prácticamente igual.

Los valores obtenidos con la dieta B a los 15 días no difieren significativamente del valor inicial, pero a los 30 y 60 días, las concentraciones

sí eran significativamente menores que el dato basal. Los niveles obtenidos a los 30 días no fueron diferentes de los observados a los 15 días, pero entre los valores de 15 y 60 días sí se observó una diferencia significativa.

La dieta C ejerció un efecto contrario al provocado por las dos dietas anteriores, ya que produjo incrementos séricos, tanto a los 15 como a los 30 días. En cambio, a los 60 días hubo reducción en el nivel, hasta un 25<sup>o</sup>/o con relación al dato basal. El incremento en cuestión sólo fue significativo a los 30 días del experimento; igualmente, la reducción en el último período de depleción fue significativamente diferente de los valores obtenidos en los dos períodos anteriores.

Siguiendo un patrón similar al de la dieta C, la dieta D originó a los 15 días una disminución no significativa. El retinol sérico a los 30 días se encontró aumentado en forma significativa en 66<sup>o</sup>/o por encima del valor inicial. A los 60 días la disminución fue brusca, y el nivel sérico fue equivalente a un 37<sup>o</sup>/o del valor inicial.

La comparación entre dietas para cada período de depleción indica que, a los 15 días, el aumento en el nivel sérico de retinol, originado por la dieta C, difirió significativamente del valor inicial y que, en cambio, el valor que indica el descenso en la concentración con la dieta D, no difirió significativamente al del dato basal. Los valores para las dietas A y B no difirieron entre sí al compararlos con los valores de las dietas C y D.

Los niveles obtenidos con las dietas A y B a los 30 días fueron menores y diferentes que los de las dietas C y D, mas no hubo diferencia significativa entre los valores de las dietas A y B, ni entre los de las C y D.

Ninguna de las dietas sometidas a ensayo produjo niveles diferentes entre sí a los 60 días de depleción.

### 3. *Consumo de Alimento*

Los patrones de consumo de alimento mostraron características propias según la dieta en cuestión (Tabla 4). Para la dieta A se observó un aumento gradual en el consumo, haciéndose relativamente constante a partir de los 30 días. En cambio para las dietas B, C y D se observó un aumento de ingesta hasta los 30 días, el cual se mantuvo prácticamente constante hasta los 45 días, después de lo cual el consumo de alimento descendió.

Los niveles de consumo para la dieta A (maíz blanco salpor), fueron siempre menores que para las otras dietas experimentales, mientras que para la dieta D (maíz Opaco más frijol) se registró un mayor consumo.

Las cantidades consumidas de las dietas B y C acusaron valores intermedios, pero más cercanos a los valores de la dieta D.

### 4. *Ganancia Ponderal*

El peso de las ratas que ingirieron la dieta A reveló un aumento progresivo pequeño hasta los 45 días, a partir de los cuales hubo un descenso en la ganancia ponderal (Tabla 4). Para las dietas B, C y D se observó un incremento ponderal pronunciado durante los primeros 15 días. De los 15 a los 30 días, las dietas B y D produjeron incrementos menores, mientras que la dieta C produjo un aumento en peso similar al del primer período. De los 30 a 45 días y de los 45 a 60 días los incrementos en peso fueron

TABLA 4  
VALORES PROMEDIO DE CONSUMO DE ALIMENTO, GANANCIA PONDERAL Y EFICIENCIA DE ALIMENTO  
DURANTE LA DEPLECION

Dieta	Período	Consumo de alimento, g <sup>1</sup>	Ganancia ponderal, g <sup>1</sup>	Eficiencia de alimento promedio <sup>2</sup>
A Maíz común	0 - 15	149.6 ± 7.4 <sup>3</sup>	5.8 ± 1.3	26.02
	15 - 30	160.6 ± 7.1	12.5 ± 0.9	12.85
	30 - 45	173.9 ± 4.9	13.9 ± 1.7	12.53
	45 - 60	175.8 ± 4.1	9.9 ± 0.7	17.79
	0 - 60	660.7 ± 10.8	43.2 ± 2.5	15.28
B - Maíz opaco-2	0 - 15	222.9 ± 5.8	36.9 ± 3.9	6.04
	15 - 30	237.4 ± 7.0	34.0 ± 3.7	6.98
	30 - 45	246.0 ± 10.4	32.5 ± 3.3	7.57
	45 - 60	231.2 ± 1.9	18.6 ± 2.7	12.41
	0 - 60	936.4 ± 25.7	124.2 ± 7.7	7.53
C Maíz común + frijol	0 - 15	211.8 ± 10.6	42.3 ± 3.4	5.01
	15 - 30	243.4 ± 13.8	41.8 ± 4.1	5.83
	30 - 45	242.3 ± 15.9	30.4 ± 4.2	7.97
	45 - 60	230.8 ± 15.0	16.4 ± 2.9	14.08
	0 - 60	928.1 ± 52.0	130.8 ± 12.4	7.10
D Maíz 0-2 + frijol	0 - 15	232.0 ± 9.7	47.3 ± 3.4	4.91
	15 - 30	253.9 ± 9.7	41.6 ± 5.6	6.10
	30 - 45	251.8 ± 13.2	30.9 ± 4.3	8.15
	45 - 60	244.9 ± 13.7	21.6 ± 4.7	11.32
	0 - 60	982.5 ± 33.5	141.4 ± 14.4	6.94

1 Media ± error estándar.

2 Eficiencia de alimento promedio =  $\frac{\text{Consumo de alimento promedio, g}}{\text{Ganancia ponderal promedio, g}}$

3 Datos promedio para 4 ratas de cada grupo.

menores que los anteriores para las tres dietas (B,C,D).

Durante los primeros quince días la ganancia ponderal fue mayor para la dieta D, seguida de C, B y A, respectivamente. En el transcurso de las dos semanas siguientes, el crecimiento producido por C y D fue similar, siendo mayor que el producido por las dietas B y A. De 30 a 45 días después del inicio, el crecimiento observado para las dietas B, C y D fue esencialmente el mismo, y mayor que para A. Entre los 45 y 60 días, las dietas D y A produjeron incrementos mayor y menor, respectivamente, mientras que las dietas B y C mostraron valores intermedios.

##### 5. *Eficiencia de Alimento*

Las mayores eficiencias de alimento, exceptuando la dieta A, ocurrieron durante las primeras cuatro semanas del ensayo (Tabla 4). La dieta A acusó una eficiencia mínima durante los primeros 15 días, pero mantuvo una eficiencia mayor y constante en las cuatro semanas siguientes, con un nuevo descenso de la eficiencia hacia los últimos 15 días del estudio.

Las dietas B, C y D disminuyeron su eficiencia de los 30 a los 60 días. Esta reducción fue gradual, pero mucho mayor en los 45 a 60 días que entre los 30 y 45 días.

En general, la eficiencia de las dietas B, C y D —evaluada en función de consumo promedio e incremento en peso durante los 60 días del estudio— fue similar y mayor que la de la dieta A.

##### 6. *Evaluación de la Disponibilidad Biológica de Precursores de Vitamina A*

El lote homogéneo de las ratas depletadas tenía los valores promedio siguientes: retinol sérico,  $\mu\text{g}/100$  ml suero 18.2

retinol hepático,  $\mu\text{g}/100$  de peso de rata 5.5

Los resultados individuales obtenidos después de la semana de repleción se exponen en la Tabla 5, y el informe de los valores promedio en la Tabla 6.

La ecuación de regresión de la respuesta biológica al contenido de retinol por 1,000 g de dieta fue:  $\mu\text{g}/100$  g de peso de rata =  $2.47 + 0.063$  ( $\mu\text{g}$  retinol/1,000 g dieta) ( $r = 0.585$ ).

La actividad de la dieta ensayo obtenida por extrapolación demostró ser de  $163.97 \mu\text{g}$  por 1,000 g de dieta.

El contenido de caroteno por kg de dieta se calculó a partir de la cantidad de zanahoria empleada y su porcentaje de caroteno. El valor así obtenido fue de  $751.1 \mu\text{g}$  de beta-caroteno por kg de dieta.

Finalmente, se calculó el porcentaje de disponibilidad biológica del caroteno de la harina de zanahoria sometida a ensayo, siendo ésta de 21.80/o.

## DISCUSION

La incidencia de xeroftalmia en los países en desarrollo es la causa más importante de la ceguera en niños (1). En Indonesia, el 80% de casos de Kwashiorkor se acompaña de xeroftalmia, siendo probable que la defi-

TABLA 5  
DATOS INDIVIDUALES DURANTE EL PERIODO DE REPLECION (1 semana)

Dieta <sup>1</sup>		No. - Sexo	Peso g	Peso de hígado, g	Reserva hepática			Retinol sérico g/dl	Ganancia de peso, g	Consumo de alimentos g
Ant.	Act.				g/g	total, g	g/100g rata			
A	I	1 - M	193	7.22	3.77	27.21	14.60	28.79	35	121
B	I	2 - F	215	6.27	4.50	28.22	13.13	36.85	7	105
C	I	3 - M	296	11.57	1.94	22.51	7.60	66.21	16	138
D	I	4 - F	220	8.91	1.87	16.72	7.60	22.45	5	110
B	II	1 - M	217	9.04	4.14	37.47	15.61	52.97	23	122
C	II	2 - F	212	9.75	8.35	81.40	35.86	16.12	15	123
D	II	3 - M	160	10.02	3.47	34.81	11.64	38.00	39	140
A	II	4 - M	151	7.07	8.80	62.22	32.40	40.30	41	109
C	III	1 - M	230	8.70	3.90	33.98	14.78	36.85	21	112
D	III	2 - F	198	7.23	13.94	100.81	50.90	20.73	3	100
A	III	3 - F	139	5.75	8.36	48.06	34.58	34.54	23	94
B	III	4 - M	257	9.40	4.85	45.61	17.75	13.82	21	110
D	IV	1 - M	330	13.72	1.73	23.72	7.19	26.48	20	136
A	IV	2 - F	155	5.35	4.28	22.90	14.77	27.64	24	94
B	IV	3 - F	227	8.66	3.28	28.37	12.50	28.79	-5	102
C	IV	4 - F	185	6.16	4.91		16.42	17.27	5	99

<sup>1</sup> Ant = Dieta anterior a repleción.  
Act = Dieta usada para la repleción.

TABLA 6

VALORES PROMEDIO<sup>1</sup> PARA EL PERIODO DE REPLECION

Dieta	Reservas hepáticas			Retinol sérico μg/dl	Consumo de alimento g	Ganancia ponderal g	Eficiencia de alimento <sup>2</sup>
	μg/g	Total, μg	μg/100 g rata				
I	3.02 ± 0.06	23.7 ± 2.63	10.7 ± 1.8	38.6 ± 9.67	118.5 ± 7.3	15.8 ± 6.9	7.5
II	6.19 ± 1.39	54.0 ± 11.0	23.9 ± 6.02	36.9 ± 7.65	123.5 ± 6.4	29.5 ± 6.29	4.2
III	7.76 ± 2.27	57.1 ± 14.9	29.5 ± 8.36	26.5 ± 5.52	104.0 ± 4.2	17.0 ± 4.69	6.12
IV	3.55 ± 0.69	26.3 ± 1.8	12.8 ± 2.01	25.1 ± 2.63	107.8 ± 9.6	11.0 ± 6.72	9.8

1 Media ± error estándar.

2 Eficiencia de alimento promedio =  $\frac{\text{Consumo de alimento promedio, g}}{\text{Ganancia ponderal promedio, g}}$

ciencia proteínica induzca cambios en la pared intestinal con la consiguiente depresión de enzimas digestivas que disminuyen el nivel de absorción de la vitamina A o de sus precursores. En otros casos, cuando el Kwashiorkor no se acompaña de xeroftalmia, el tratamiento de la desnutrición con dietas buenas en lo que se refiere a calidad y cantidad proteínica pero sin suplemento adicional de vitamina A, precipita la xeroftalmia. Consecuentemente, McLaren (15) ha recomendado que a todos los niños desnutridos se les administren dosis de vitamina A, adicional a su dieta de repleción proteínica.

Gopalan y Venkatachalam (16) han demostrado la correlación que existe entre el metabolismo de proteína y de vitamina A en niños desnutridos sometidos a tratamientos de recuperación proteínica con restricción de vitamina A. Dichos investigadores observaron que la ingesta de proteína de buena calidad producía incrementos en los niveles séricos de retinol. En el presente estudio se detectó un efecto análogo en el caso de las dietas de mayor concentración proteínica, siendo éstas la C y la D, a base de maíz salpor más frijol y maíz Opaco-2 más frijol, respectivamente. No se observó un efecto similar por calidad proteínica ya que la dieta B a base de maíz Opaco-2, produjo una mayor disminución en los niveles séricos que aquella producida por la dieta de maíz salpor, a pesar de su mejor calidad proteínica. No obstante, debe tenerse en cuenta que los niveles séricos de retinol no se consideran como un buen indicador de la concentración tisular de vitamina A (17). Las reservas hepáticas se consideran el mejor indicador del estado nutricional de vitamina A y de la capacidad potencial del organismo para hacer frente a una ingesta inadecuada de este nutriente.

A los 15 días de experimentación, la dieta D produjo la máxima tasa de depleción en las reservas hepáticas, aunada a una mayor ganancia ponderal, y a un mayor consumo de alimento por las ratas que ingerían esta dieta. En ese mismo período, se observó la menor tasa de depleción así como la menor ganancia ponderal y consumo de alimento con la dieta A, a base de maíz salpor. Estas observaciones concuerdan con los hallazgos de McLaren (15), quien sugirió que las reservas hepáticas son utilizadas más lentamente en animales cuyo crecimiento está restringido por ingestas bajas de proteína.

El efecto de calidad proteínica en la utilización de reservas hepáticas se aprecia al comparar las tasas de depleción producidas por las dietas B y C. El porcentaje de proteína de la dieta B fue de 9.36% (preparada a base de maíz Opaco-2) y el de la dieta C (maíz salpor más frijol) de 10.73%. La dieta B produjo una mayor tasa de depleción a pesar de tener un menor contenido de proteína que la dieta C. Esto permitiría que el efecto de la mayor utilización de reservas hepáticas se debiera a las diferencias en calidad proteínica dietaria. Lo anterior se corrobora al comparar las tasas de depleción producidas por las dietas A (maíz salpor) y B (maíz Opaco-2), siendo mayor la producida por esta última, cuya calidad proteínica es de reconocida superioridad (18).

Se observó una tasa de depleción similar para los 45 días restantes del experimento con las dietas B, C y D. Sin embargo, la dieta A, mostró un aumento de reservas hepáticas a los 30 días en relación al valor obtenido a los 15 días. Este aparente aumento se explica por una concentración del retinol hepático, debido al menor crecimiento de los animales (Tabla 3).

El grado de depleción es también dependiente del tiempo de ingesta de las dietas libres de vitamina A. Se pudo apreciar diferencias en las reservas hasta los 30 días, mientras que todas las dietas produjeron valores finales que no diferían significativamente entre sí.

Los datos de eficiencia de alimento (Tabla 3) y de contenido proteínico permiten suponer que la dieta B es de mejor calidad que la dieta C, puesto que ambas muestran una eficiencia de alimento similar a pesar de que el contenido de proteína de la B es aproximadamente 130/o menor que el de la C. Ello corrobora el efecto de calidad en las tasas de depleción de las reservas hepáticas.

Los resultados obtenidos señalan, pues, la importancia que tienen la cantidad y calidad de la proteína dietética en el estado nutricional de vitamina A, utilizando para ello los componentes básicos de las dietas de las poblaciones centroamericanas.

Estos hallazgos, a nuestro juicio, son de gran trascendencia, ya que indican que toda mejora nutricional de la dieta, como sería, por ejemplo, la introducción de variedades mejoradas de maíz (mejor calidad y mayor cantidad de proteína), o bien el cambio en la proporción de maíz/frijol dietario hacia la combinación óptima de valor nutritivo proteínico, no puede limitarse a un nutriente de la dieta, como sucede en este caso con la proteína. Para lograr un verdadero impacto habrá que tener en cuenta las interacciones con otros nutrientes como minerales y particularmente en este caso, vitaminas.

El presente estudio confirma investigaciones anteriores en relación a la disponibilidad biológica de caroteno como precursor de vitamina A (4, 9). Fraps y Meinke (7) encontraron que la absorción de caroteno de zanahoria en ratas variaba de 2 a 490/o. En humanos se ha informado una variación de 24 a 740/o según su procedencia (8). FAO/OMS (19) establece que la eficiencia de beta-caroteno como fuente de vitamina A es de un sexto, pero esto incluye el margen de seguridad por variabilidad individual.

Se concluye que en vista de la importancia que las verduras pueden tener como fuentes de precursoras de vitamina A y de la gran variabilidad en su biodisponibilidad, se hace necesario desarrollar condiciones experimentales óptimas, tanto en lo que se refiere a las condiciones físicas del alimento en prueba, como en la composición de la dieta y en el estado nutricional de los animales de experimentación.

#### SUMMARY

##### EFFECT OF QUANTITY AND QUALITY OF DIETARY PROTEIN ON VITAMIN A DEPLETION RATE, AND BIOLOGICAL AVAILABILITY OF VITAMIN A PRECURSORS

The effect of quantity and quality of protein from cereal and legume sources on the rate of vitamin A depletion was evaluated through changes in retinol serum levels and liver stores in male and female Wistar strain rats. A total of 64 animals were distributed into four groups and fed *ad libitum* with diets adequate in all nutrients, except vitamin A. The protein in the diets was derived from 910/o common maize (Diet A); 910/o Opaque-2 maize (Diet B), 640/o common maize plus 270/o precooked

common black bean flour (Diet C), and 64% Opaque-2 maize with 27% bean flour (Diet D).

The total depletion period lasted 60 days and four rats per group were sacrificed at 15, 30 and 60 days. A total of 4 animals were sacrificed at 0 day to count with a basal serum and hepatic retinol concentration value. The 16 depleted remaining rats were used for the carotene bioavailability study with dehydrated carrots.

During the first 15 days the greater rate of depletion was observed in animals fed the highest protein quality diet made from Opaque-2 maize and beans (Diet D), which also caused the greatest weight increase. The least depletion rate and lowest weight gain was obtained with the common corn diet (Diet A). Diets B and C caused intermediate depletion rates, with Diet B (Opaque-2 maize) being more effective than Diet C in spite of its lower protein content. At the end of 60 days all groups presented depletion levels not statistically different. Thus, these results confirm that protein quantity and quality from basic staple foods influence mobilization of retinol liver reserves.

The 16 remaining depleted rats were then divided into four groups and fed a standard 14% casein diet to which 25, 50 and 75% of the retinol requirements was added to obtain a reference standard biological response. The fourth group was fed with an amount of dehydrated and ground carrot containing 67.1 mg % of total carotenoids. After seven days, serum and hepatic retinol were obtained, from which a regression equation of liver retinol to diet retinol was calculated ( $\mu\text{g } \% \text{ liver retinol per } 100 \text{ g of rat} = 2.47 + 0.063 (\mu\text{g retinol/g diet})$  ( $r = 0.585$ ). From this equation the bioavailability of carrot carotenoids was established with a value of 21.8% comparable to the FAO/WHO value previously reported.

#### BIBLIOGRAFIA

1. IVACG. **The Symptoms and Signs of Vitamin A Deficiency and their Relationship to Applied Nutrition; a Report of the International Vitamin A Consultative Group (IVACG).** New York, The Nutrition Foundation, Inc., International, 1981.
2. Jaganathan, S. N. & V. N. Patwardhan. Dietary protein in vitamin A metabolism. I. Influence of level of dietary protein on the utilization of orally fed preformed vitamin A and  $\beta$ -carotene in the rat. **Ind. J. Med. Res.**, 48:775-784, 1960.
3. Ruffin, M. P. & L. Arnrich. The effect of different feeding patterns on carotene protein interrelationship. **Fed. Proc.**, 25:546, 1966.
4. Stoecker, B. & L. Arnrich. Patterns of protein feeding and the biosynthesis of vitamin A from carotene in rats. **J. Nutr.**, 103: 1112-1118, 1973.
5. Gronowoska-Senger, A & G. Wolf. Effect of dietary protein on the enzyme from rat and human intestine which converts  $\beta$ -carotene to retinal. **J. Nutr.**, 100: 300-308, 1970.
6. Kamath, S. K. & L. Arnrich. Effect of dietary protein on the intestinal biosynthesis of retinol from 14 C beta-carotene in rats. **J. Nutr.**, 103: 202-206. 1973.
7. Fraps, G. S. & W. W. Meinke. Digestibility by rats of  $\beta$  and neo- $\beta$ -carotenes in vegetables. **Arch. Biochem.**, 6: 323-327, 1945.
8. Medical Research Council Special Report. **Vitamin A Requirement of Human Adults, an Experimental Study of Vitamin A Deprivation in Man. A Report of Vitamin A Sub-committee of the Accessory Food Factors Committee.** London. His Majesty's Stationery Office, 1949, p. 145 (Spe. Rep. Ser. Med. Res. Coun. No. 2641).

9. Sweeney, J. P. & A. C. March. Liver storage of vitamin A by rats fed carrots in various forms. **J. Nutr.**, **104**: 1115-1120, 1974.
10. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC**. 11th ed. William Horwitz (Ed.). Washington, D. C., The Association, 1970, 1094 p.
11. 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.
12. Manna, L. & S. M. Hauge. A possible relationship of vitamin B<sub>13</sub> to orotic acid. **J. Biol. Chem.**, **202**: 91-96, 1953.
13. Bessey, O. A., O. H. Lowry, M. J. Brock, & J. A. Lopez. The determination of vitamin A and carotene in small quantities of blood serum. **J. Biol. Chem.**, **166**: 177-188, 1946.
14. National Research Council, Committee on Animal Nutrition. Nutrient Requirements of Laboratory Animals; 2nd rev. ed. Washington, D. C., National Academy of Science, 1972. (Nutrient Requirements of Domestic Animals, cat, guinea pig, hamster, monkey, mouse, rat, No. 10).
15. MacLaren, D. S. Influence of protein deficiency and sex on the development of ocular lesions and survival time of the vitamin A deficient rat. **Brit. J. Ophthalm.**, **43**: 234-241, 1954.
16. Gopalan, C. & P. S. Venkatachalam. Studies of vitamin A deficiency in children. **Am. J. Clin. Nutr.**, **8**: 833-840, 1960.
17. High, E. G. Studies on absorption, deposition and depletion of vitamin A in rats. **Arch. Biochem.**, **49**: 19-29, 1954.
18. Bressani, R. La calidad proteica del maíz con gen Opaco-2. **Turrialba**, **18**(1): 8-13, 1968.
19. World Health Organization. **Requirements of Vitamin A, Thiamine, Riboflavin and Niacin. Report of a Joint FAO/WHO Expert Group**. Geneva, WHO, 1967 (WHO Tech. Rep. Ser., No. 362).