

## Estudio comparativo de la utilización biológica de $\beta$ -caroteno sintético y de fuentes naturales en ratas

Cesar Mauricio Baracaldo Barrera, Camilo Rozo y Lucía Castro de Navarro

*Instituto Nacional de Salud, Subdirección de Nutrición y Universidad De La Salle, Facultad de Ingeniería de Alimentos.  
Bogotá, Colombia*

**RESUMEN.** El propósito de este estudio fue evaluar el cambio en la concentración de retinol y  $\beta$ -caroteno (BC) en hígado y suero de ratas, después de la suplementación con BC sintético y vegetales comúnmente consumidos ricos en carotenoides (zanahoria y espinaca). Se utilizaron 68 ratas Wistar machos recién destetadas y se asignaron al azar en 4 grupos de 16 ratas cada uno. Los 4 grupos de ratas fueron suplementados de acuerdo al siguiente esquema: 1. Grupo control (GC), 0.2 mL de aceite de maíz; 2. Grupo BC puro (GBC), 60  $\mu$ g RE en 0.2 mL de aceite de maíz; 3. Grupo Zanahoria (GZ), 60  $\mu$ g RE en 0.2 mL de aceite de maíz; 4. Grupo Espinaca (GE), 60  $\mu$ g RE en 0.2 mL de aceite de maíz. Los análisis del contenido de retinol y BC en suero e hígado fueron realizados por HPLC. El análisis de varianza no mostró diferencias significativas ( $\alpha=0.05$ ) en el incremento del peso de los animales ni en el incremento de retinol y BC en suero e hígado en los 4 grupos durante las 4 semanas de suplementación. El análisis de correlación entre los niveles de retinol y BC en suero y en hígado no mostró relación entre estos dos parámetros. El análisis de regresión de los niveles de BC hepático en los 4 tratamientos mostró las siguientes pendientes: GBC: 0.909; GZ: 0.451; GE: 0.444 y GC: 0.203. Estos resultados indican que la mayor absorción se presentó en el grupo GBC, mientras que la absorción de BC en los grupos GZ y GC fue de aproximadamente la mitad.

**Palabras clave:**  $\beta$ -caroteno, retinol, vitamina A, biodisponibilidad y ratas.

**SUMMARY.** Comparative study of the biological utilization of  $\beta$ -carotene from synthetic and natural sources in rats. The purpose of this study was to evaluate the change in concentration of retinol and  $\beta$ -carotene (BC) in blood serum and liver tissue of rats, after supplementation with synthetic BC and commonly consumed carotenoid-rich vegetables (carrot and spinach). Weanling male Wistar rats were randomly assigned in four groups of 16 rats each. The four groups of rats were supplemented according to the following feeding treatments: 1) Control group (OG), 0.2 mL corn oil; 2) Pure BC group (BCG), 60  $\mu$ g RE in 0.2 mL corn oil; 3) Carrot group (CG), 60  $\mu$ g RE in 0.2 mL corn oil; 4) Spinach group (SG), 60  $\mu$ g RE in 0.2 mL corn oil. Analysis of retinol and BC contents in serum and liver was performed by HPLC procedures. The variance analysis showed no significant differences ( $\alpha=0.05$ ) in the increase of weight of the animals and in the increase of retinol and BC levels in serum and in liver of the four treatments during the four weeks of supplementation. The correlation analysis between levels of retinol and BC in serum and in liver showed no relation between these two parameters. A regression analysis of liver BC levels in the four treatments showed the following slopes of the regression lines: BCG, 0.909; CG, 0.451; SG, 0.444, and OG, 0.203. These results indicate that the highest BC absorption was in the BCG treatment, whereas the BC absorption in the CG and SG treatments was approximately one half.

**Key words:**  $\beta$ -carotene, retinol, vitamin A, bioavailability and rats.

### INTRODUCCION

El término de vitamina A se utiliza para designar aquellos compuestos que poseen actividad biológica de todo-trans-retinol y desempeñan funciones importantes en muchos procesos biológicos esenciales. Cada forma de vitamina A ejecuta tareas específicas; por ejemplo, el retinal es activo en la visión y participa en la conversión de retinol a ácido retinoico. La vitamina A se encuentra en alimentos de origen animal como hígado y otros órganos, yema de huevo, grasa de la leche y los extractos de aceite de hígado de algunos peces y mamíferos. Los carotenoides son los pigmentos rojo, anaranjado y amarillo de las plantas como zanahoria, espinaca, brócoli, tomate y papaya entre otras, aunque

también se encuentran en varios alimentos animales tales como el salmón y otros peces, yema de huevo, moluscos, leche y pollo. Solamente ciertos carotenoides ( $\beta$ -caroteno) actúan como precursores o provitaminas, los cuales pueden ser fácilmente convertidos en vitamina A en la pared intestinal (1).

Las principales manifestaciones clínicas de la deficiencia de Vitamina A son la presencia de manchas de Bitot, queratomalacia, xerosis de la córnea en niños y en población joven y adulta, ceguera nocturna y muerte por depleción de los depósitos de vitamina A. Durante más de tres décadas, la deficiencia de vitamina A ha sido reconocida como un problema de salud pública en los países en desarrollo, igualmente el estado marginal o deficiencia subclínica de

vitamina A, el cual se define como un estado donde están ausentes los signos clínicos evidentes en los ojos, pero hay incremento de riesgo de infección severa en niños (2).

Adicionalmente, evidencias epidemiológicas indican que la administración de altas cantidades de  $\beta$ -caroteno presentes en vegetales verdes y amarillos contribuyen a reducir el riesgo de padecer varios tipos de cáncer y algunas enfermedades crónicas (3,4).

El objetivo del presente trabajo fue el de comparar la utilización biológica del  $\beta$ -caroteno sintético frente a fuentes naturales (zanahoria y espinaca), mediante la utilización de un modelo de medida del aumento de  $\beta$ -caroteno en sangre y de la reserva hepática en ratas.

## MATERIALES Y METODOS

Para el presente estudio se utilizó el modelo de medida del aumento de  $\beta$ -caroteno de la reserva hepática en ratas. La biodisponibilidad se definió como la cantidad de  $\beta$ -caroteno de la dieta aprovechado por absorción intacta y aumento de las concentraciones de  $\beta$ -caroteno y retinol en suero e hígado (5).

Para el estudio se seleccionaron la zanahoria y la espinaca, vegetales que son comúnmente consumidos por humanos, ricos en carotenoides pro-vitamina A y aceptados por las ratas. Como patrón de referencia se usó  $\beta$ -caroteno sintético (Lucarotin® 30<sup>a</sup> BASF).

### Suplementos

Se prepararon soluciones acuosas concentradas de espinaca (50 g en 200 mL) y de zanahoria (35g en 200 mL). Ambas soluciones se licuaron y se les agregó 0.2 g de ácido ascórbico como antioxidante (6). Las soluciones se distribuyeron en ampollitas de vidrio para liofilizar (0.3 mL por ampollita) y se mantuvieron a -70°C durante la noche. Luego se liofilizaron siguiendo el manual del equipo VIRTIS, Mod: 10-145, MR-BA. Las ampollas con los liofilizados, se recubrieron con papel aluminio, se sometieron a vacío, se sellaron con llama y se mantuvieron bajo refrigeración de 2 a 8°C hasta su uso durante cuatro semanas.

### Determinación del contenido de $\beta$ -caroteno en los liofilizados de zanahoria y espinaca

La concentración de  $\beta$ -caroteno en los concentrados liofilizados se determinó por HPLC con un equipo marca Waters, mediante un sistema de inyección manual Reodyne 77251, un sistema de suministro de solventes 660E, un detector UV-VIS 400 y una columna C-18 Simetry, utilizando el software Milenium para su manejo. Se pesó 1 g del concentrado a evaluar y se denaturó con 5 mL de etanol absoluto el cual contenía butil hidroxitolueno (BHT: 1,0 g/

L), como antioxidante y 0.5  $\mu$ g/mL de etil- $\beta$ -apo-8-carotenoato (Roche), como estándar interno. La mezcla se extrajo cinco veces con 5 mL de hexano. El hexano separado se evaporó con N<sub>2</sub> gaseoso y el residuo se reconstituyó con 200  $\mu$ L de metanol y una alícuota de 50  $\mu$ L se inyectó al sistema HPLC. Se hicieron tres cromatogramas por cada concentrado a evaluar. La concentración de  $\beta$ -caroteno en zanahoria y espinaca se determinó usando una curva patrón.

### Preparación de los suplementos

El contenido de  $\beta$ -caroteno en los liofilizados de zanahoria y espinaca fue 26.643  $\mu$ g RE y 21.244  $\mu$ g RE/g respectivamente. Con base en estos resultados se prepararon 100 mL de cada uno de los suplementos con una concentración de 300  $\mu$ g RE/mL, utilizando como diluyente aceite de maíz refinado. Adicionalmente se preparó un suplemento de  $\beta$ -caroteno sintético (Lucarotin® 30<sup>a</sup> BASF), en la misma concentración que los anteriores. Los suplementos se almacenaron en frascos ámbar y se mantuvieron en refrigeración (2 a 8°C) hasta el momento de su uso.

### Animales

Se utilizaron 68 ratas Wistar macho de cuatro semanas, suministradas por el Instituto Nacional de Salud (INS). Las ratas tenían pesos entre 60 y 80 g. Los animales se dividieron en 4 grupos de 16 ratas cada uno. Las ratas se colocaron en grupos de 4 en cajas de policarbonato y se alimentaron con alimento comercial para animales de laboratorio (Rodentina® Purina), con un contenido de 500,000 UI/g de palmitato de retinol. Los animales se mantuvieron en el Bioterio del INS bajo condiciones de humedad, luz y temperatura controladas.

### Suplementación

Teniendo en cuenta los requerimientos mínimos de vitamina A de la rata (30  $\mu$ g RE/día) (7) y los resultados de los estudios de Tee ES, Lim CL, Chong YH and Khor SC (8), cada animal se suplementó con 60  $\mu$ g RE/ rata por día, para cada una de las fuentes de  $\beta$ -caroteno a probar. Esta cantidad corresponde al doble de los requerimientos mínimos. En la Tabla 1 se muestra el programa de suplementación de las ratas. Los suplementos y el aceite vegetal se suministraron a los animales oralmente utilizando una jeringa desechable de 1 mL, graduada en 0.01 mL unida a sonda nasogástrica de nelaton calibre 4 o 6. Este sistema se purgó con los suplementos antes de realizar el procedimiento de alimentación forzada.

Las ratas se pesaron diariamente en una balanza electrónica y se suplementaron con 0.2 mL del suplemento o del aceite vegetal. Durante la suplementación la sonda se introdujo por el esófago del animal hasta alcanzar el

estómago. El procedimiento se hizo rápidamente y no produjo ningún malestar en el animal. La sonda y la jeringa se cambiaron diariamente para evitar contaminación de los animales o de los suplementos. Semanalmente se seleccionaron al azar 4 ratas para obtener muestras de sangre y de hígado.

TABLA 1  
Programa de alimentación para la suplementación de las ratas

Grupo	Tratamiento
1	Grupo control 0.2 ml de aceite de maíz
2	$\beta$ -caroteno (60 $\mu$ g RE) en 0.2 ml de aceite de maíz
3	Zanahoria (60 $\mu$ g RE) en 0.2 ml de aceite de maíz
4	Espinaca (60 $\mu$ g RE) en 0.2 ml de aceite de maíz

Al final de la prueba se efectuó la disección completa del intestino delgado y estómago a cada una de las ratas, para evaluar la fisiología de su epitelio y establecer la presencia de posibles úlceras producidas por estrés o por inadecuada manipulación del animal durante el procedimiento de suplementación, evaluando los siguientes criterios: color, presencia o ausencia de hemorragia sangrante, hemorragia equimótica y hemorragia lineal.

Para obtener las muestras de sangre e hígado las ratas se anestesiaron con una mezcla de quetamina y xylasine. Se extrajeron 5 mL de sangre por punción cardíaca con una jeringa desechable. Los hígados de los animales fueron extraídos y lavados con solución salina estéril para remover restos de sangre y colectados en frascos ámbar taparrosca. La sangre se centrifugó a 3000 rpm por 10 min y el suero se separó y almacenó en frascos ámbar junto con los hígados a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta el momento del análisis.

Antes de iniciar la suplementación, se seleccionaron al azar cuatro ratas y se sacrificaron para determinar la línea base de  $\beta$ -caroteno y retinol en sangre e hígado.

#### Determinación simultánea de retinol y $\beta$ -caroteno en sangre e hígado por HPLC

Se pesaron 0.5 g de hígado o se midieron 0.5 mL de suero a evaluar y se denaturaron con 2.5 mL de potasa alcohólica (10 volúmenes de etanol, 1 volumen de hidróxido de potasio 11.0 N y 1,0 g/L de BHT) y se agregaron 0.5  $\mu$ g/mL de etil- $\beta$ -apo-8-carotenoato, como estándar interno. Los tubos se incubaron en baño de agua a  $70^{\circ}\text{C}$  durante 30 minutos y se enfriaron a temperatura ambiente. El suero se denaturó con 0.5 mL de etanol absoluto con BHT (1,0 g/L), como antioxidante y 0.5  $\mu$ g/mL de etil- $\beta$ -apo-8-carotenoato y 0,5  $\mu$ g/mL de acetato de retinol, como estándar interno. La mezcla se extrajo cinco veces con 5 mL de hexano con 0,5  $\mu$ g/dL de acetato de retinol como estándar interno, para el

caso del hígado. El hexano separado se evaporó con  $\text{N}_2$  y el residuo fue reconstituido con 200  $\mu$ L de metanol, una alícuota de 50  $\mu$ L fue inyectada en el sistema HPLC. Se hicieron tres cromatogramas por cada concentrado a evaluar.

#### Métodos estadísticos

Para el análisis estadístico se usó el programa SAS versión 6.12, Institute Inc., Cary, NC, USA, con el cual se hicieron los análisis de varianza para determinar diferencias significativas para cada una de las variables respuesta comparando las diferentes dietas. Se utilizaron las pruebas de Duncan, Tukey y Scheffé para determinar cuáles dietas resultaban estadísticamente iguales o diferentes. Para todos los cálculos se trabajó con una significancia del 5%.

## RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 2 se presentan los resultados promedio de la variación del peso de las ratas durante las cuatro semanas de suplementación. Los datos muestran que el incremento de peso de las ratas fue satisfactorio y no se observó en ninguno de los grupos que el suplemento suministrado ni el procedimiento de suplementación causara efectos adversos en el crecimiento del animal. Además se comprobó la ausencia de úlceras en el estómago y el intestino que hubieran podido aparecer como consecuencia del estrés o en el proceso de suplementación. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Tee ES, Lim CL, Chong YH and Khor SC (8) y Grolier P, Agouda S and Azais-Braesco V (9) quienes utilizando el mismo modelo animal y suministrando los suplementos mediante el sistema de sonda nasogástrica, no encontraron ningún efecto adverso del procedimiento de suplementación al realizar la comparación de la variación del peso con el grupo control no suplementado.

TABLA 2  
Peso de las ratas durante la suplementación con diferentes fuentes de vitamina A

Semana No	Peso de las ratas			
	Aceite vegetal	$\beta$ -caroteno sintético	Espinaca	Zanahoria
0	71.5 $\pm$ 5.04	71.5 $\pm$ 5.04	71.5 $\pm$ 5.04	71.5 $\pm$ 5.04
1	93.53 $\pm$ 3.73	100.33 $\pm$ 6.13	102.03 $\pm$ 5.11	94 $\pm$ 5.64
2	162.45 $\pm$ 3.64	147.03 $\pm$ 11.23	128.65 $\pm$ 1.37	157.28 $\pm$ 7.48
3	172.5 $\pm$ 1.51	185.53 $\pm$ 19.32	167.1 $\pm$ 6.22	183.68 $\pm$ 9.31
4	211.78 $\pm$ 7.27	209.73 $\pm$ 9.42	209.3 $\pm$ 13.61	198.85 $\pm$ 11.92

El análisis estadístico mostró que no existe diferencia significativa entre los pesos de los animales para los diferentes suplementos, excepto en los pesos tomados en la segunda semana en el grupo suplementado con espinaca los cuales

presentaron un peso inferior cuando se compara con el obtenido con los grupos suplementados con  $\beta$ -caroteno sintético y zanahoria. Esto puede deberse a que este grupo disminuyó el consumo de rodentina durante dicho período de tiempo mientras se adaptaba al suplemento. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Tee ES, Lim CL, Chong YH and Khor SC (8), quienes encontraron el mismo comportamiento trabajando con un modelo similar.

El análisis de varianza mostró que la suplementación no tiene un efecto significativo sobre los niveles de retinol en suero. El tiempo de suplementación tiene un efecto significativo sobre la respuesta, puesto que la mayor concentración se obtiene en la semana cuatro seguida de las semanas tres, dos, uno y cero. Este comportamiento está relacionado con el crecimiento y desarrollo del animal.

**TABLA 3**  
Concentración de retinol en sangre durante la suplementación de ratas con diferentes fuentes de vitamina A

Semana No	Concentración de retinol ( $\mu\text{g}/\text{dL}$ )			
	Aceite vegetal	$\beta$ -caroteno sintético	Espinaca	Zanahoria
0	26.62 $\pm$ 5.89	26.62 $\pm$ 5.89	26.62 $\pm$ 5.89	26.62 $\pm$ 5.89
1	36.49 $\pm$ 1.60	35.15 $\pm$ 6.98	34.42 $\pm$ 5.32	33.11 $\pm$ 5.64
2	36.21 $\pm$ 3.18	36.02 $\pm$ 3.12	35.95 $\pm$ 6.80	41.23 $\pm$ 1.78
3	32.75 $\pm$ 4.48	45.49 $\pm$ 2.64	39.07 $\pm$ 11.15	42.21 $\pm$ 4.19
4	42.03 $\pm$ 9.48	44.15 $\pm$ 2.88	38.01 $\pm$ 2.68	40.25 $\pm$ 4.41

El resultado del análisis de varianza de todos los datos mostró que ni la suplementación ni el tiempo tiene un efecto significativo sobre los niveles de  $\beta$ -caroteno en sangre.

Como se muestra en la Tabla 4, los niveles de  $\beta$ -caroteno en sangre son muy bajos con relación a la proporción que recibieron los animales diariamente en la suplementación. Esto se debe probablemente a que un 60% a 70% de  $\beta$  caroteno se rompe por acción enzimática en el intestino (10, 11). Por otra parte van Vliet T, Schreurs WHP, and vanden Berg H (12) realizaron un estudio en ratas suministrando simultáneamente palmitato de retinol en diferentes concentraciones junto con  $\beta$  caroteno, para establecer si la ingesta de retinol disminuía el rompimiento de  $\beta$  caroteno en el intestino, midiendo la actividad enzimática de la deoxigenasa en los tejidos intestinal y hepático. Este trabajo comprobó que el suministro de altas cantidades de retinol a los animales disminuye el rompimiento intestinal de  $\beta$  caroteno. En el presente estudio los animales consumieron en su dieta diaria palmitato de retinol. Probablemente este retinol disminuyó la proporción de rompimiento intestinal de  $\beta$ -caroteno, permitiendo una mayor absorción del compuesto intacto, a diferencia del estudio de Tee ES, Lim

CL, Chong YH and Khor SC (8) quienes suministraron a los animales una dieta libre de retinol, y no encontraron niveles detectables de  $\beta$  caroteno en suero.

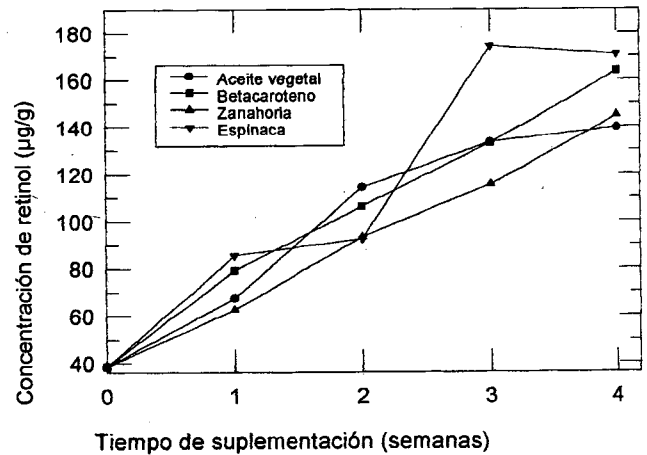
**TABLA 4**  
Concentración de  $\beta$ -caroteno en sangre durante la suplementación de ratas con diferentes fuentes de vitamina A

Semana No	Concentración de $\beta$ -carotenos ( $\mu\text{g}/\text{dL}$ )			
	Aceite vegetal	$\beta$ -caroteno sintético	Espinaca	Zanahoria
0	0.686 $\pm$ 0.33	0.686 $\pm$ 0.33	0.686 $\pm$ 0.33	0.686 $\pm$ 0.33
1	1.661 $\pm$ 0.87	1.201 $\pm$ 0.33	1.432 $\pm$ 0.48	0.521 $\pm$ 0.06
2	1.00 $\pm$ 0.32	1.497 $\pm$ 0.58	1.179 $\pm$ 0.6	0.673 $\pm$ 0.12
3	0.856 $\pm$ 0.35	1.55 $\pm$ 0.58	1.272 $\pm$ 0.73	2.254 $\pm$ 0.88
4	1.13 $\pm$ 0.29	1.271 $\pm$ 0.31	2.486 $\pm$ 1.37	2.141 $\pm$ 0.85

**Concentraciones de retinol y  $\beta$ -caroteno en hígado**

En la Figura 1 se presenta el comportamiento de los niveles de retinol en hígado en los diferentes grupos de experimentación durante las cuatro semanas de suplementación. Se observa un incremento en la concentración a través del tiempo en todos los grupos.

**FIGURA 1**  
Cambios en la concentración de retinol en hígado durante la suplementación con diferentes fuentes de vitamina A



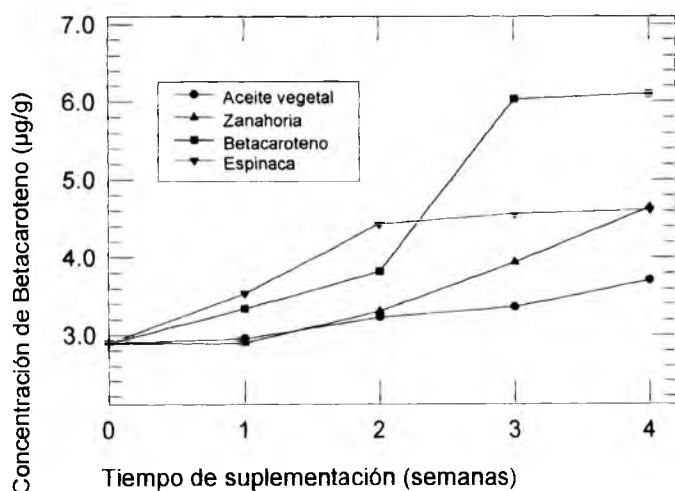
El análisis de varianza mostró que la suplementación no tiene un efecto significativo sobre los niveles de retinol en hígado. El tiempo de suplementación tiene un efecto significativo sobre la respuesta, puesto que la mayor concentración se obtiene en la semana cuatro seguida de las semanas tres, dos, uno y cero.

En la Figura 2 se presentan las concentraciones de  $\beta$ -

caroteno en hígado obtenidas durante las cuatro semanas de suplementación. El grupo suplementado con β-caroteno sintético obtuvo la mayor proporción de β-caroteno almacenado en hígado. Estos resultados concuerdan con los de estudios realizados en humanos por Erdman JW, Bierer TL, and Gugger ET (13), Brown ED, Micozzi MS, Craft NE, Bieri JG, Beecher G, Edwards BK, Rose A, Taylor PR and Smith JC (14) y Micozzi MS, Brown ED, Edwards BK, Bieri JG, Taylor PR, Khachik F, Beecher GR, and Smith Jr JC (15), quienes demostraron que el β-caroteno administrado en cristales es más biodisponible que cuando se administra en alimentos como zanahoria, tomate u otras fuentes de origen vegetal. Por tanto en estudios posteriores realizados por Zhou JR, Gugger ET and Erdman Jr JW, (16) y van Vliet T, Schreurs WHP, and vanden Berg H (12) utilizaron cristales de β-caroteno como grupo control de mayor absorción.

FIGURA 2

Cambios en la concentración de β-caroteno en hígado durante la suplementación con diferentes fuentes de vitamina A



Como se observa en la Figura 2, no hay un aumento considerable en los niveles de β-caroteno en hígado en la última semana de suplementación para el grupo de β-caroteno sintético. Este hecho como lo demostró van Vliet T., van Vlissingen M.F., van Schaik F and van den Berg H., puede deberse al papel que juega el contenido de vitamina A en hígado sobre la actividad enzimática de la β-caroteno 15, 15 dioxigenasa como un mecanismo de regulación del organismo para evitar una excesiva acumulación del compuesto (17).

Hay dos formas de regulación de la actividad enzimática de la β-caroteno 15, 15 dioxigenasa. La primera forma está relacionada con la proporción de retinol presente en el intestino, de tal manera que altas cantidades de retinol en el intestino disminuyen la actividad enzimática intestinal y en este caso el rompimiento de β-caroteno disminuye

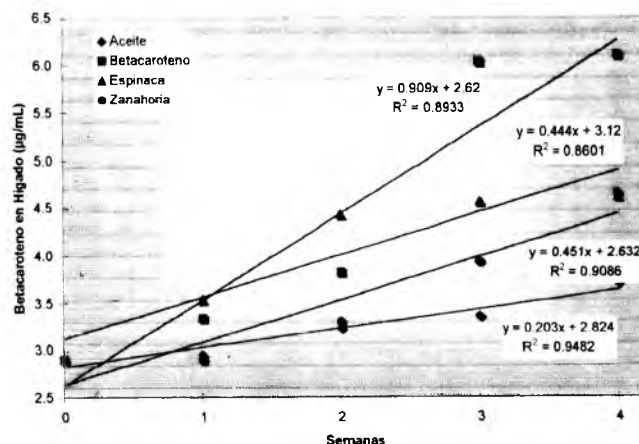
aumentando la absorción del compuesto intacto. Adicionalmente bajas concentraciones de retinol en el intestino conducen a un aumento en la actividad enzimática intestinal y al rompimiento de β-caroteno para compensar los requerimientos de retinol del organismo. La segunda forma se relaciona con la proporción de vitamina A almacenado en el hígado como resultado de un mecanismo de regulación hemostático (17,18). Además de acuerdo a lo encontrado por Olso J.A.(19), del 10 al 40% de vitamina A absorbida y preformada es oxidada y conjugada en el hígado y posteriormente secretada en la bilis.

Los resultados del análisis de varianza muestran que tanto la suplementación como el tiempo tienen un efecto significativo sobre los niveles de β-caroteno en hígado. Los grupos β-caroteno, espinaca y zanahoria no muestran diferencia significativa, pero si hay diferencia significativa de estos con el grupo aceite. Los grupos espinaca, zanahoria aceite tampoco muestran diferencia significativa, pero si hay diferencia de estos con el grupo β-caroteno. Los niveles mas altos se obtienen en el grupo suplementado con β-caroteno sintético, seguido por los grupos de espinaca, zanahoria y aceite.

En la Figura 3 se muestran las regresiones lineales obtenidas de las concentraciones de β-caroteno en hígado de los cuatro grupos. El mayor valor de pendiente (0.909) se encontró para el grupo suplementado con β-caroteno sintético, seguido de los grupos de espinaca (0.444) y zanahoria (0.451) y por último el grupo suplementado con aceite vegetal (0.203). Estos datos indican que durante el periodo de suplementación el β-caroteno sintético es absorbido en mayor proporción, mientras que la absorción de β-caroteno en los grupos suplementados con zanahoria y espinaca fue de aproximadamente la mitad.

FIGURA 3

Regresión lineal de las concentraciones de β-caroteno en hígado obtenidas con los diferentes tratamientos



Estos resultados permiten confirmar lo mencionado anteriormente, en cuanto a que el  $\beta$ -caroteno suministrado en cristales se absorbe en mayor proporción que cuando se administra en un alimento que posea compuestos que puedan interferir su absorción. La proporción de fibra dietaria que tienen la espinaca (3 g) y la zanahoria (3 g) es alta (20), lo que probablemente disminuye la absorción de  $\beta$ -caroteno. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Parker RS (5), quien además indicó otros posibles factores que interfieren en la absorción como la presencia de suficiente cantidad de lípidos, la presencia de compuestos provitamina A y la presencia de sustancias interferentes como la fibra dietaria.

Para establecer la relación entre los niveles de retinol sanguíneo y hepático se realizó un diagrama de dispersión de los datos (Figura 4), de la misma manera se relacionaron las concentraciones de  $\beta$ -caroteno sanguíneo y hepático (Figura 5). El patrón obtenido en el diagrama de dispersión para retinol (Figura 4) sugiere que no hay una relación entre las dos variables. Estos resultados ratifican lo planteado por Tee ES, Lim CL, Chong YH and Khor SC (8), quienes reportaron que las concentraciones de retinol en suero no son un buen indicador de los niveles de retinol almacenados en hígado. Este comportamiento se debe probablemente a que los niveles de retinol en sangre se encuentran homeostáticamente regulados (1).

Debido a que el diagrama de dispersión que relaciona los niveles de  $\beta$ -caroteno sanguíneos y hepáticos (Figura 5) no establece una relación entre las dos variables, se presume que, al igual que el retinol, los niveles sanguíneos de  $\beta$ -caroteno se encuentran homeostáticamente regulados y por lo tanto no son un buen indicador de los niveles en los tejidos.

FIGURA 4  
Comparación entre los niveles de retinol sanguíneos y hepáticos

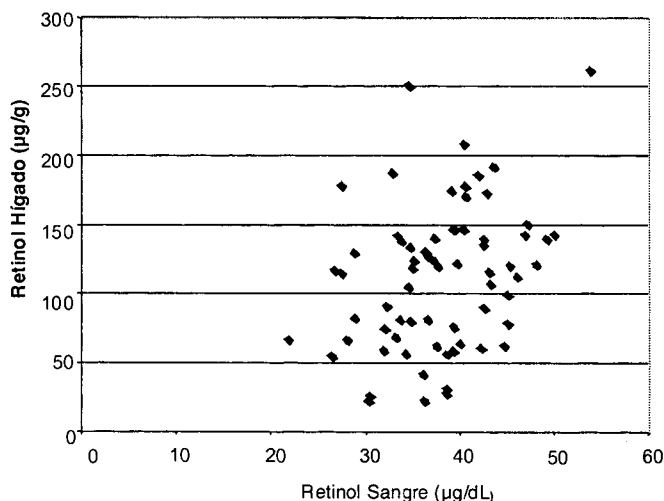
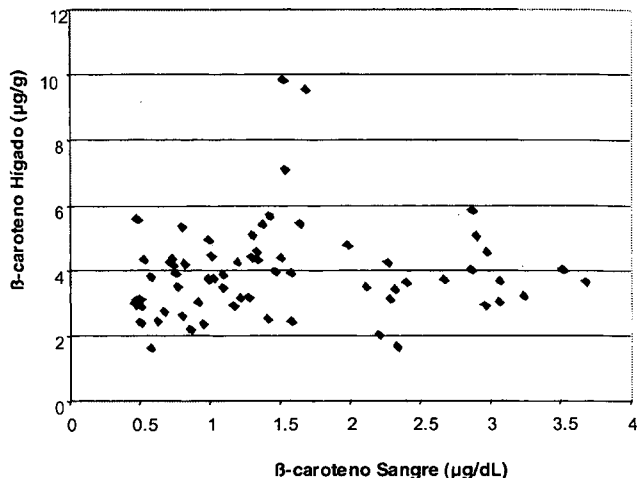


FIGURA 5  
Comparación entre los niveles de  $\beta$ -caroteno sanguíneos y hepáticos



## CONCLUSIONES

La suplementación de animales con  $\beta$ -caroteno sintético aumenta la reserva hepática del compuesto, en niveles superiores a los encontrados en animales suplementados con aceite vegetal, zanahoria y espinaca, siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

Los comportamientos de las concentraciones de  $\beta$ -caroteno en hígado de los grupos suplementados con el compuesto sintético, zanahoria y espinaca se ajustaron a una recta cuya ecuación podría ser una medida de la biodisponibilidad de  $\beta$ -caroteno en los alimentos.

Los niveles sanguíneos de retinol y  $\beta$ -caroteno no son un buen indicador de la reserva hepática de dichos compuestos.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Instituto Nacional de Salud la financiación del proyecto de investigación y su valiosa participación en el apoyo técnico a la Ingeniera Soraya Pinto, Gerente de Nutrición y Salud Humana de Laboratorios de Roche Colombia, a BASF Química Colombiana S.A., al Veterinario Edgar Celi, a la Estadística María Carlina Castillo, a las Bacteriólogas Ivonne Gutiérrez R. y Luz Marina Parra y a la Microbióloga Ana Ligia dueñas del Instituto Nacional de Salud.

## REFERENCIAS

1. Biesalski HK. Bioavailability of vitamin A. *Eur J Clin Nutr.* 1997;51 Suppl: S71-S75.

2. Castro L y Nichols S. Deficiencia de hierro, vitamina A y prevalencia de parasitismo intestinal en la población infantil colombiana. Instituto Nacional de Salud. Bogotá: Colombia, 1998: 38-40.
3. Greenberg ER, Baron JA, Tosteson TD, et al. A clinical trial of antioxidant vitamins to prevent colorectal adenoma. *N Engl J Med.* 1996;331: 141-147.
4. Ziegler RG. Vegetables, fruits and carotenoids and risk of cancer. *Am J Clin Nutr.* 1991;53 Suppl: S251-S259.
5. Parker RS. Bioavailability of vitamin A. *Eur J Clin Nutr.* 1997;51 Suppl: S86-S90.
6. White WS, Peck KM, Ulman EA and Erdman JW. The ferret as a model for evaluation of the bioavailabilities of all-trans- $\beta$ -carotene and its isomers. *J Nutr.* 1993;123: 1129-1139.
7. National Academy of Sciences. Nutrient requirements of the laboratory rat. In *Nutrient Requirements of Laboratory Animals*, 3<sup>rd</sup> edn. National Academy of Sciences, Washington, 1978;pp 7-37
8. Tee ES, Lim CL, Chong YH and Khor SC. A study of the biological utilization of carotenoids of carrot and swamp cabbage in rats. *Food Chemistry.* 1996;56 (1) 21-32.
9. Grolier P, Agouda S and Azais-Braesco V. Comparative bioavailability of diet oil and emulsion-based preparations of vitamin A and  $\beta$ -carotene in rat. *Nutrition Research.* 1995;15 (10):1507-1516.
10. Olson JA and Hayaishi O. The enzymatic cleavage of  $\beta$ -carotene into vitamin A by soluble enzymes of rat liver and intestine. *Proc Natl Acad Sci.* 1965;54: 1364-1370
11. Goodman D, Blomstrand R, Werner B, Huang H and Shiratori T. The intestinal absorption and metabolism of vitamin A and  $\beta$ -carotene in man. *J Clin Invest.* 1966;45:1615-1623.
12. van Vliet T, Schreurs WHP, and vanden Berg H. Intestinal  $\beta$ -carotene absorption and cleavage in men: Response of  $\beta$ -carotene and retinyl esters in the Triglyceride rich lipoprotein fraction after a single oral dose of  $\beta$ -carotene. *Am J Clin Nutr.* 1995; 62:110-116.
13. Erdman JW, Bierer TL, and Gugger ET. Absorption and transport of carotenoids. *Ann NY Acad Sci.* 1993;691: 76-85.
14. Brown ED, Micozzi MS, Craft NE, Bieri JG, Beecher G, Edwards BK, Rose A, Taylor PR and Smith JC. Plasma carotenoids in normal men after a single ingestion of vegetables or purified  $\beta$ -carotene. *Am J Clin Nutr.* 1989;49: 1258-1265.
15. Micozzi MS, Brown ED, Edwards BK, Bieri JG, Taylor PR, Khachik F, Beecher GR, and Smith Jr JC. Plasma carotenoid response to chronic intake of selected foods and  $\beta$ -carotene supplements in men. *Am J Clin Nutr.* 1992;55:1120-1225.
16. Zhou JR, Gugger ET and Erdman Jr JW. The Crystalline form of carotenes and the food matrix in carrot root decrease the relative bioavailability of beta and alpha- carotene in the ferret model. *Journal of the American College of Nutrition.* 1996;15 (1) 84.91
17. van Vliet T, van Vlissingen MF, van Schaik F and van den Berg H.  $\beta$ -carotene absorption and cleavage in rats is affected by the vitamin A concentration of the diet. *J Nutr.* 1996;126: 499-507.
18. Rajan N, Blaner WS, Soprano DR, Suhara A and Goodman DS. Cellular retinol-binding protein messenger RNA levels in normal and retinoid-deficient rats. *J. Cancer.* 29<sup>a</sup>: 1990;1335-1344.
19. Olson JA. Vitamin A, retinoids and carotenoids in: *Modern Nutrition in Health and Disease*, 8 th ed., vol 1, pp 287-307. Lea&Febiger, Philadelphia, PA. 1994.
20. Kunerrh WB. *Handbook of the nutritional value of foods in common units.* United States Department of Agriculture, 1986.

Recibido: 29-03-2001

Aceptado: 28-06-2002