

385

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

**EFFECTO DEL ALMACENAMIENTO Y COCCIÓN EN EL CONTENIDO DE
PROVITAMINA "A" EN EL QUILETE (*Solanum americanum*, Miller)**

INFORME DE TESIS

**PRESENTADO POR:
SARA EMILIA CHAJÓN ALVARADO**

**PARA OPTAR EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO**



GUATEMALA, JULIO DE 1,998

06
7(205)

JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

DECANO: LIC. JORGE RODOLFO PEREZ FOLGAR
SECRETARIO: LIC. OSCAR FEDERICO NAVE HERRERA
VOCAL I: DR. OSCAR MANUEL COBAR PINTO
VOCAL II: LIC. GERARDO LEONEL ARROYO CATALAN
VOCAL III: LIC. RODRIGO HERRERA SAN JOSE
VOCAL IV: BR. HERBERTH RAUL AREVALO ALVARADO
VOCAL V: BR. MANOLA ANLEU FORTUNY

DEDICATORIA

ACTO QUE DEDICO
A DIOS
A LA VIRGEN MARIA

A MIS PADRES:

ANA MARIA Y JOSE ELIAS POR SU APOYO INCONDICIONAL,
PACIENCIA Y AMOR EN TODO MOMENTO DE MI VIDA.

A MIS HERMANOS:

INGRID, NESTOR, PATY, CLAUDIA Y DANIEL

A MIS SOBRINAS:

MARIA JOSE Y TIFFANY CECILIA

A TI, GUSTAVO:

POR TU AMOR, APOYO Y COMPRENSION

AL DR. RUBEN VELAZQUEZ Y LICENCIADA JULIETA DE ARIZA
POR SU CONFIANZA Y APOYO.

AGRADECIMIENTOS

AL DEPARTAMENTO DE BIOQUIMICA DE LA ESCUELA DE QUIMICA
BIOLOGICA.

A LA ESCUELA DE NUTRICION.

AL PERSONAL DOCENTE Y ADMINISTRATIVO DE LA ESCUELA DE
QUIMICA FARMACEUTICA.

AL PERSONAL DOCENTE Y ADMINISTRATIVO DE LA ESCUELA DE
QUIMICA BIOLOGICA.

A LA LICENCIADA JULIETA DE ARIZA Y DOCTOR RUBEN
VELAZQUEZ POR LA ORIENTACION Y ASESORIA BRINDADA PARA LA
REALIZACION DE ESTE TRABAJO.

INDICE

1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCION.....	3
3. ANTECEDENTES.....	5
4. JUSTIFICACION.....	27
5. OBJETIVOS.....	28
6. HIPOTESIS.....	29
7. MATERIALES Y METODOS.....	30
8. RESULTADOS.....	40
9. DISCUSION DE RESULTADOS.....	47
10. CONCLUSIONES.....	52
11. RECOMENDACIONES.....	54
12. REFERENCIAS.....	55
13. ANEXOS.....	61

1. RESUMEN

La hipovitaminosis A es uno de los principales problemas de salud que padece la población guatemalteca, aún cuando existe diversidad de vegetales que contienen precursores de esta vitamina. Dentro de los vegetales de hoja, el quilete es uno de los que mayor contenido de pro vitamina A presenta. Los datos disponibles de su contenido se refieren al vegetal fresco y sin ningún tipo de procesamiento (almacenamiento y/o cocción). El presente estudio se realizó para determinar el efecto del almacenamiento y la cocción sobre el contenido de provitamina A en el quilete (*Solanum americanum*, Miller).

Para el estudio se utilizó quilete cultivado en San Juan Sacatepéquez. Se colectó el mismo día en que se inició el estudio.

Se analizaron muestras para cuantificar el contenido de provitamina A el mismo día de la cosecha y después de su almacenamiento a dos temperaturas: temperatura ambiente y refrigeración, con dos tipos de empaque (bolsa plástica y bolsa de papel). En cada caso se analizó las muestras en crudo y luego de ser sometidas a cocción por el método de hervido.

El Contenido de provitamina A se midió por medio de cromatografía líquida de alta resolución, según el método de Carvalho y colaboradores (2).

Los valores de beta caroteno obtenidos, fueron

convertidos a equivalentes de Retinol (ER) en 100g de quilete.

El quilete fresco, crudo, contenía 673 ER/100 g de quilete. El almacenamiento en refrigeración, tanto con bolsa plástica como con bolsa de papel preserva mejor el contenido de provitamina A (94 por ciento y 82 por ciento, respectivamente), mientras que a temperatura ambiente sufre pérdidas significativas (66 por ciento y 50 por ciento respectivamente). El tipo de empaque que mejor conservó las características de frescura, textura y contenido de provitamina A fue la bolsa plástica.

El quilete fresco y luego cocinado, el mismo día de cosecha contenía 999 ER/100 g quilete. La cocción por hervido, después de su almacenamiento bajo diferentes condiciones, provocó una variación en el contenido de provitamina A entre 54 y 126 por ciento con respecto al contenido del quilete fresco crudo (quilete almacenado a temperatura ambiente con bolsa de papel y quilete almacenado en refrigeración con bolsa plástica, respectivamente).

Estos resultados permiten recomendar el consumo de quilete cocinado por ebullición preferiblemente el mismo día de su obtención. De no ser así, almacenarlo en refrigeración, empacado en bolsa de plástica, y si no se cuenta con refrigeradora almacenarlo a temperatura ambiente, a la sombra en bolsa plástica.

2. INTRODUCCION

En Guatemala la deficiencia de Vitamina A es un problema nutricional que afecta a gran porcentaje de la población; se considera uno de los cuatro principales problemas de salud en el país (1). Existen varias formas de intervención para tratar de resolver la hipovitaminosis A, como: a) Fortificar los alimentos con vitamina A, b) Distribuir periódicamente suplementos vitamínicos y c) Promover el consumo de alimentos con alto contenido de vitamina A. La primera y segunda acción han dado muy buenos resultados, pero necesitan infraestructura y buenos controles para cumplir especificaciones de calidad y alcanzar el objetivo, por lo que la tercera acción es la única medida para alcanzar resultados benéficos a mediano y largo plazo.

Los alimentos con alto contenido de vitamina A son principalmente de origen animal. Estos son poco accesibles para la mayoría de la población. Vegetales de hojas verdes y frutos amarillos son ricos en carotenoides que pueden ser transformados biológicamente en vitamina A. Del 20 al 50 por ciento de los carotenos consumidos, de esta fuentes, puede convertirse en vitamina A, lo que representa un suministro de menor costo, en comparación con el obtenido de fuentes animales. Algunos vegetales de hoja verde, como quilete, chipilín, bledo y verdolaga son consumidos comunmente por la población guatemalteca. En estos se han determinado altos

contenidos de carotenoides provitamina A. Los datos disponibles se refieren a los vegetales crudos, y no se ha investigado los cambios que ocurren en el contenido cuando los vegetales se someten a diferentes tipos de almacenamiento y cocción.

En el presente trabajo se determinó el efecto de la cocción y de distintas condiciones de almacenamiento sobre el contenido de provitamina A en el quilete. Para el estudio se utilizó quilete cultivado en el municipio de San Juan Sacatepéquez. Las determinaciones de carotenoides se realizaron por medio de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) de fase inversa, con detección Ultravioleta/visible (2).

3. ANTECEDENTES

3.1 VITAMINA A

3.1.1 Historia

La vitamina A fue la primera de las vitaminas liposolubles que se conoció. En 1913 dos grupos de investigadores, McCollum y Davis en la Universidad de Wisconsin, y Osborne y Mendel en Yale, demostraron por separado en ratas el factor protector o curativo conocido después como vitamina A o factor antixeroftálmico (3).

3.1.2 Descripción

La actividad vitamínica A se encuentra en una serie de hidrocarburos insaturados de 20 a 40 átomos de carbono, ampliamente distribuidos en los reinos animal y vegetal. En los animales se encuentra como alcohol libre -retinol- (Fig. 3.1), como ácido -ácido retinóico-, como aldehído o bien en alguna forma esterificada. La vitamina A puede encontrarse en varias formas isómeras que dependen de la configuración de los enlaces dobles en la cadena lateral, el todo trans-retinol es el más común y realiza la actividad biológica más completa. En las plantas existen carotenoides que pueden servir como precursores que por vía metabólica se convierten

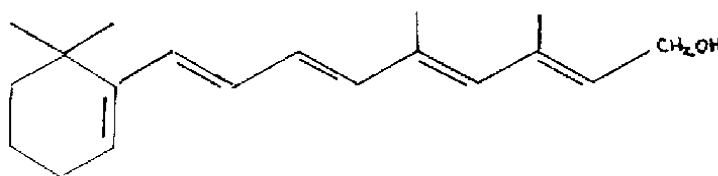


Fig. 3.1 Vitamina A, retinol

en vitamina A después de su absorción. De los carotenos, el beta-caroteno tiene la mayor actividad biológica, y da origen a dos moléculas de vitamina A por molécula. Por ser la estructura de los carotenos predominantemente hidrocarbonada, son compuestos insolubles en agua y acompañan a otras sustancias de origen lipídico (3, 4, 5, 6, 7).

3.1.3 Fuentes alimentarias

3.1.3.1 Alimentos de origen animal: La vitamina A es almacenada principalmente en el hígado de los animales, por lo que éste constituye una fuente importante de la misma. El hígado puede consumirse directamente o ser procesado para la extracción de su aceite (p.e. aceite de hígado de bacalao). La carne posee muy poca cantidad de esta vitamina. Los productos lácteos: mantequilla, crema o queso de leche entera son ricos en vitamina A.

3.1.3.2 Alimentos de origen vegetal: Los tejidos de las plantas proveen esta vitamina en forma de carotenoides. Los vegetales de hoja verde y los amarillos constituyen las principales fuentes.

3.1.3.3 Alimentos enriquecidos con vitamina A: En la actualidad se enriquecen con vitamina A las margarinas, los productos elaborados con leche desnatada en polvo y de poca grasa, los cereales listos para servirse y el azúcar; por eso éstos

representan un aporte considerable de la ingesta total de vitamina A en la dieta de países industrializados y desarrollados (3,4, 5, 6, 8).

3.1.4 Función de la Vitamina A

La función mejor conocida de la vitamina A se relaciona con los mecanismos de la visión. La vitamina A aldehído o retinal se combina con la proteína opsina para formar el complejo fotoreceptor de lipoproteínas activas denominado rodopsina o púrpura visual, en los bastones de la retina, de los que depende la visión escotópica o en la penumbra. Cuando la luz llega a la retina, el complejo rodopsina se rompe para dar origen a la proteína original: opsina y retinal. El retinal es convertido a retinol, y a pesar de que en su mayor parte se reconvierte a retinal para combinarse de nuevo con la opsina, algo del mismo se pierde, y es necesario restituirlo. La adaptación a la luz tenue depende de la integridad del ciclo. Cuando la luz brillante ha causado un blanqueamiento excesivo de la púrpura visual, la capacidad retiniana para regenerar esta sustancia parece guardar relación directa con la concentración disponible de vitamina A. De los conos retinianos depende la visión de la luz brillante (visión fotópica), estos contienen un complejo de vitamina A-proteína sensible a la luz, denominado yodopsina.

La Vitamina A actúa en forma directa en la conservación

del tejido epitelial normal, como el epitelio cilíndrico que recubre el aparato gastrointestinal. Durante su diferenciación en presencia de vitamina A, estas células basales forman células calciformes que secretan moco. No se ha dilucidado el mecanismo de la función de la vitamina A en la modificación de la diferenciación celular, y sin embargo, se ha determinado que la vitamina A es capaz de influir en la síntesis proteínica directa o indirectamente, puesto que origina diferencias observables en muchas de las estructuras finas de las células afectadas.

Los huesos necesitan vitamina A para crecer y desarrollarse normalmente, algunos investigadores piensan que dicha función está relacionada con los cambios celulares que acontecen durante la diferenciación. La necesidad de vitamina A para el crecimiento normal está ligada a la utilización de proteínas, incremento ponderal y mitosis. Se ha estudiado la capacidad de la vitamina A para prevenir cierto tipo de cáncer de origen epitelial. Se piensa que la vitamina A es indispensable para mantener la estructura y función normales de la membrana celular.

La vitamina A es necesaria en la síntesis de mucopolisacáridos, corticoides y ciertas transformaciones de esteroides (3, 6, 9).

Estudios epidemiológicos observacionales han aportado evidencias impresionantes de que las comidas ricas en

vitaminas antioxidantes y beta caroteno juegan un papel importante en la prevención de enfermedades cardiovasculares y la prevención del cáncer (10).

En estudios clínicos se ha evidenciado que la vitamina A produce un efecto protector en niños que padecen neumonía asociada con sarampión, con una reducción de la mortalidad al cincuenta por ciento (11).

3.1.5 Requerimientos de Vitamina A

Los requerimientos diarios para adultos se han establecido en una cuota de 1,000 mcg de ER (microgramos de equivalente de retinol) por día. La necesidad aumenta cuando el organismo está bajo estrés, como durante actividad física intensa o exposición a condiciones climáticas extremas (calor o frío), durante el embarazo o enfermedades. La ración de la mujer adulta se fijó en 800 ug de ER, un 80 por ciento de la ración del hombre porque la mujer es casi siempre más pequeña. Las raciones de lactantes se basa en el contenido de retinol en la leche materna, unos 49 ug por 100 mililitros. El lactante que ingiere 850 mL de leche materna recibe aproximadamente 420 ug de retinol, cifra que se estableció como la ración infantil desde el nacimiento a los seis meses. Se redujo a 400 ug para los que tienen de seis meses a un año edad.

El comité de expertos de la Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación/

Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS) acerca de las necesidades de vitaminas, aceptó la cifra recomendada de 170 ± 15 ug de retinol al día para el adulto normal. No recomendó dar más vitamina A durante el embarazo, siempre que la dieta corriente aportara la ración recomendada para el adulto. La hipervitaminosis A puede causar lesiones graves, que aparecen cuando se recibe exceso de un suplemento de gran potencia, sus síntomas son anorexia, trastornos en la pigmentación cutánea, pérdida del cabello, resequedad cutánea con prurito, dolor en los huesos largos y un aumento en la fragilidad de los huesos (3, 6).

Para cubrir la cantidad de vitamina A necesaria en la secreción láctea, se recomendó durante el amamantamiento dar 1,200 ug (4,000 U.I.) de retinol. El Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP) en sus Recomendaciones Dietéticas Diarias determinó que para mantener niveles adecuados de vitamina A en lactantes (de 0 a 11.9 meses de edad) éstos deben recibir una ración de 350 ug de ER; los niños (de 1 a 9.9 años) una ración de 400 ug de ER; los hombres (de 12 a 65 años y más) una ración diaria de 600 ug de ER; las mujeres, de 10 a 11.9 años una ración diaria de 500 ug de ER, de 12 a 13.9 años una ración diaria de 600 ug de ER y las mujeres de 14 a 65 años y más una ración diaria de 600 ug de ER; durante el embarazo y la lactancia se debe dar un aporte adicional de 100 ug de ER y 350 ug de ER

respectivamente (3, 5, 11).

3.2 DEFICIENCIA DE VITAMINA A

En niños la carencia de vitamina A produce una adaptación deficiente a la obscuridad, xerosis, queratomalacia, dificultad para crecer y en casos extremos la muerte. En adultos: ceguera nocturna y xeroderma (9).

Se ha comprobado que la carencia de Vitamina A produce cambios en las células epiteliales de las membranas que recubren la nariz, garganta, tráquea y otras vías aéreas, el aparato gastrointestinal y el genitourinario. También se ha observado disminución de los umbrales del gusto y el olfato. En la carencia de vitamina A puede aparecer aspereza, resequedad y exfoliación cutánea, especialmente en brazos y muslos, por un aumento de la queratinización. Al parecer estos trastornos tisulares, disminuyen el mecanismo natural de protección contra la invasión bacteriana y el tejido puede infectarse con facilidad. Las observaciones clínicas muestran que las mucosas que revisten las vías nasales y faríngeas, senos y conductos auditivos son las mejores defensas contra la infección, y que concentraciones adecuadas de vitamina A son factor importante para conservar su función normal. En la capa epitelial del ojo se produce un engrosamiento y resequedad de la conjuntiva, se ocluyen los conductos lagrimales, y aparece queratinización con

opacidad de las células epiteliales de la córnea. Puede aparecer ulteriormente infección y ceguera permanente si no se administra vitamina A (3).

La deficiencia subclínica también está asociada con retardo en el desarrollo y con dificultad en el aprovechamiento biológico del hierro (12).

3.2.1 Deficiencia de Vitamina A en Guatemala

En Guatemala la deficiencia de vitamina A es un problema de Salud Pública que requiere atención inmediata. Esto se debe en gran parte a que dicha deficiencia no afecta solamente a los pre escolares, sino también se encuentra bajo riesgo embarazadas y ancianos. En 1,987 estudios efectuados en cuatro comunidades en los departamentos de Alta Verapaz, Escuintla, Retalhuleu e Izabal, demostraron que el 24 por ciento de los niños examinados presentan niveles bajos de retinol en plasma (1).

En un estudio realizado para determinar el estado de vitamina A en mujeres embarazadas de un área periurbana marginal de la ciudad de Guatemala, se observó que sus niveles plasmáticos de vitamina A se encontraban menores al nivel subnormal (<30 ug/dl) (13).

La deficiencia de vitamina A es considerado como un problema de Salud Pública desde 1,955, debido a estudios que señalaban niveles séricos subnormales de vitamina A en la población guatemalteca (14). Más tarde, en los años 1965-

1967, en estudios realizados por el INCAP se demostró que alrededor de un 20 por ciento de la población presentaban niveles séricos subnormales de vitamina A (15).

En un estudio realizado en 1985 por el comité Prociegos y Sordos de Guatemala se encontró que un 0.7 por ciento de 576 pre escolares presentaban xerosis corneal y 1.4 por ciento cicatrices corneales que pueden ser atribuidas a la deficiencia de vitamina A (16).

3.2.2 Estrategias y acciones

Entre las distintas intervenciones posibles para el tratamiento y control de la deficiencia de vitamina A, se hace hincapié en la distribución periódica (a intervalos de 4 a 6 meses) de un suplemento de vitamina A concentrado, generalmente 200,000 U.I. (60,000 ug). Esta intervención es apropiada para el tratamiento de las lesiones oculares y para el control en zonas en las cuales existe una infraestructura que puede asegurar la entrega sistemática de servicios (mediante programas generales o focalizados) a las poblaciones más vulnerables, lo cual ha resultado ser muy difícil en varios países. La fortificación de alimentos comunes con vitamina A, aunque potencialmente atractiva en los casos en que existe una infraestructura adecuada de entrega, no ha podido mantenerse sistemáticamente por razones técnicas o políticas. Están recibiendo una atención renovada los enfoques hortícolas (huertos familiares, comunales o

escolares) dirigidos a aumentar el acceso a alimentos ricos en provitamina A, complementados con enfoques educativos encaminados a aumentar su utilización en la alimentación del destete y de los niños de edad preescolar (1, 17).

Algunas entidades como UNICEF desarrollan programas integrados de atención en salud, como el realizado en un asentamiento marginal en la zona 12 de la ciudad (El Mezquital) que contemplaba la administración de una cápsula semestral de 200,000 UI de vitamina A a niños menores de 6 años. Otra acción aislada de más larga duración en el Programa de distribución de Nutriatol, financiado por AID y Fundación Sight and Life y realizado por el Comité Nacional Prociegos y Sordos de Guatemala en tres municipalidades de Alta Verapaz y una de Chimaltenango.

En 1987 se estableció el programa de fortificación de azúcar. Sin embargo este producto no siempre es consumido por toda la población y, en algunos casos, su fortificación no alcanza el límite legal de 15 microgramos por gramo de azúcar, establecido através del Decreto 56-74 (publicado el 28 de junio de 1974). Lo anterior se puso en evidencia en un estudio realizado por Monroy, F. en 1989, donde determinó que sólo un 8.7 por ciento de las muestras analizadas presentaban trazas de Vitamina A (18, 19).

Díaz, Ch. estableció que durante la fortificación del azúcar la vitamina A (Palmitato de retinol) sufre una pérdida

del 29 por ciento de su potencia durante el proceso de secado, por lo que recomendó ejercer mayor control sobre los ingenios azucareros. Durante el proceso de fortificación del azúcar se debe tomar en cuenta que la pérdida de vitamina A es causada principalmente por la transferencia calórica que ocurre en la secadora. Sin embargo, también existen otros factores que influyen en la pérdida como la humedad del ambiente, la exposición de la premezcla (azúcar + Palmitato de retinol) a la luz y la misma humedad del azúcar (20).

En 1988, se llevó a cabo una Jornada de administración de vitamina. Se distribuyeron 1,164,570 dosis de 200,000 U.I., alcanzándose una cobertura nacional del 68.6 por ciento del grupo de uno a seis años de edad (1, 12, 16, 21).

3.3 CAROTENOS

3.3.1 Descripción

Los carotenos son un grupo de compuestos liposolubles cuya estructura se caracteriza por ocho unidades de isopreno repetidas con sustituyentes metilo, simetría alrededor del centro de la molécula y un sistema de dobles enlaces conjugados, el cual es responsable de su pigmentación, que va desde amarillo a naranja profundo. Se encuentran presentes en las plantas, en donde participan en la captación de energía solar durante la fotosíntesis.

Sólo los carotenos que tienen exactamente la misma estructura

de anillo como el retinol en uno o ambos lados de la molécula, tienen actividad de vitamina A. Estos son referidos como provitamina A (Fig. 3.2). De los carotenos el beta caroteno tiene la mayor actividad biológica de provitamina A. El beta caroteno es un hidrocarburo C_{40} , formado por una cadena insaturada muy ramificada, que contiene estructuras anulares sustituidas idénticas en cada extremo. En los animales representa una de las principales fuentes en forma de vitamina A, la que se genera a partir de éste luego de su rompimiento enzimático simétrico.

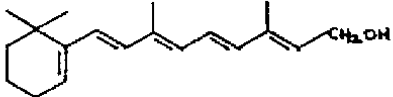
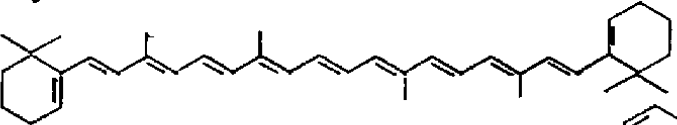
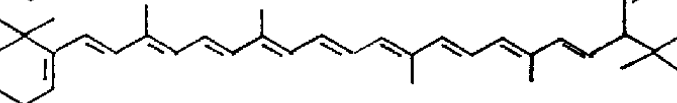
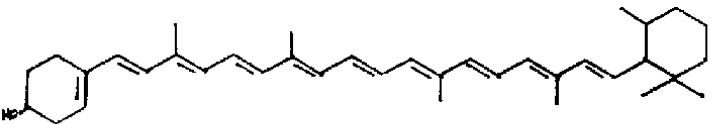
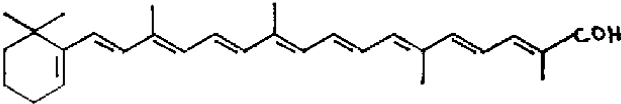
<i>Sustancia</i>	<i>Estructura</i>
Vitamina A, retinol	
Beta caroteno	
Alfa caroteno	
Criptoxantina	
Beta-Apo-8'-carotenal	

Fig. 3.2 Vitamina A y algunos carotenoides que tienen actividad de vitamina A

3.3.2 Carotenos en vegetales

Los tejidos de las plantas proveen vitamina A en forma de carotenoides. Las fuentes vegetales, tales como vegetales con hojas de color verde oscuro y frutas anaranjadas y amarillo intenso tienen el más alto contenido de carotenos. La cantidad de provitamina A depende de su etapa de crecimiento y maduración. Las fuentes de origen vegetal pueden dividirse en tres grupos principales, con base al tipo de carotenoides:

- a) Aquellos en los cuales la vitamina A se debe casi exclusivamente al beta caroteno (verduras foliares, camote, arverjas, brócolí y mango maduro).
- b) Aquellos que contienen alfa y beta carotenos como principales contribuyentes (zanahoria, algunas variedades de calabaza y aceite de palma).
- c) Aquellos en los que la beta criptoxantina y el beta caroteno son los principales carotenoides activos (marañón, melocotón y níspero) (1, 7, 4) (Fig. 3.2).

En la actualidad se ha determinado la actividad provitamínica A de varias plantas de uso tradicional y algunas especies silvestres nativas de la región q'eqchi (13) (Ver anexo No. 1).

3.3.3 Análisis cuantitativo de carotenos en vegetales

El análisis de vegetales en cuanto a su contenido de carotenos pro vitamina A consta de dos etapas fundamentales,

que son: a) la extracción y b) la separación y cuantificación (2).

En la primera fase se extraen los pigmentos de la matriz de los vegetales, utilizando solventes apolares y procurando una mínima destrucción de los carotenos. En la segunda fase se realiza una purificación de los carotenos por medio de una precromatografía abierta, se separan los carotenos de otros pigmentos utilizando solventes con gradientes de polaridad adecuados. Luego de la purificación se realiza la cuantificación de los carotenos provitamina A.

La cuantificación de carotenos se basa en sus propiedades de absorción de la luz a una longitud de onda de 450 nm.

El método de Rodríguez-Amaya, Et. al. utiliza la técnica de cromatografía en columna abierta para la separación de carotenos. Los carotenos son separados con un flujo descendente de solvente, posterior a la separación de fracciones secuenciales, la cantidad de carotenos es determinada por medio de espectrofotometría (22).

Otro método es el que utiliza un sistema de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), ésta se considera como la técnica más avanzada para la separación y análisis de carotenos disponible en la actualidad. Presenta ventajas como rapidez, simplicidad, precisión, exposición mínima al oxígeno y la luz, exactitud, separación eficiente y sensibilidad.

El método de Carvalho, et al, que incluye extracción con solventes, purificación con cromatografía de columna abierta y cuantificación por HPLC, introduce el uso del colorante Sudan I, como estándar interno, con lo que se elimina el uso de patrones puros, que son rápidamente degradables. La estructura del Sudan I no es idéntica a la de los carotenos, sin embargo posee otras propiedades tales como: buena estabilidad, solubilidad similar, máximos de absorción parecidos y diferentes tiempos de retención. Previo a la cuantificación por HPLC es necesaria una precromatografía con MgO:HyfloSupercel para eliminar clorofilas, dihidroxi- y polioxicarotenos, los cuales pueden interferir con la elución del Sudan I (2).

3.3.4 Degradación de carotenos por procesamiento de alimentos

El procesamiento de los alimentos se aplica para mejorar su valor nutritivo, ya sea por un aumento de su digestibilidad, la inactivación de microorganismos dañinos, o para mejorar el sabor y aumentar su vida útil (23, 24, 25). Sin embargo es común que en todos los alimentos procesados ocurra algún tipo de pérdida de nutrientes.

Durante el tratamiento de los vegetales con calor, los carotenoides sufren una degradación térmica por formación de isómeros, reduciendo así su biodisponibilidad (26). Esta destrucción de las provitaminas A en los alimentos puede seguir diversas rutas, dependiendo de las condiciones de

reacción (7) (Ver anexo No.2).

El contenido de Provitamina A en zanahoria cruda, frita y cocida fue analizado por Chew (27) en 1994, encontrando que el promedio de equivalentes de retinol es de 97.43, 81.59 y 99.36 respectivamente. No se encontró beta caroteno en las muestras sometidas a fritura, lo que indica que temperaturas muy altas que se alcanzan con este método de cocción destruye el beta caroteno presente.

El contenido de provitamina A en Guicoy maduro cocido disminuyó a un 20 por ciento de su contenido en crudo, en zanahoria cocida y plátano cocido se observó un aumento en su contenido.

Caballero (28), en 1995, realizó un estudio sobre la variación en el contenido de vitamina A en acelga cruda y cocida (hervido y fritura) almacenada a temperatura ambiente y en refrigeración. Se estableció que la acelga cruda almacenada en refrigeración no modifica su contenido, mientras que a temperatura ambiente se produce una pérdida del 75 por ciento. Se observó que la fritura provocó una pérdida del 71 por ciento de vitamina y el hervido un 32 por ciento.

3.4 QUILETE

3.4.1 Clasificación taxonómica

División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Asteridas
Orden:	Solanales
Familia:	Solanacea
Género:	Solanum
Especie:	<u><i>Solanum americanum</i></u> Miller
Sinónimo:	<i>Solanum nodiflorum</i> Jacq
Nombre común:	hierba mora (Chimaltenango, Jutiapa); macuy (Alta verapaz); quilete (Santa Rosa).

3.4.2 Distribución

En los departamentos de El Petén, Alta Verapaz, Zacapa, Baja Verapaz, Sacatepéquez, Chimaltenango, Huehuetenango, Jutiapa, Santa Rosa, Escuintla, Retalhuleu, San Marcos, Belice, oeste de E.U.A. de México a Costa Rica, Panamá y América del Sur. En Guatemala se le encuentra desde 350 a 1500 metros sobre el nivel del mar, raramente más alto; encontrándose en matorrales húmedos y en bosques, en laderas, campos, es maleza común en campos cultivados.

3.4.3 Descripción

Planta perenne o anual (hierba), erecta o decumbente de 1 metro de alto o menos; los tallos jóvenes son pilosos o

casi glabros, los pelos recurvados. Hojas en pares o solitarias de diferentes tamaños, o similares en forma; enteras o sinuadas, dentadas, de lancioladas a ovales de 3.5 a 14 cm. de largo y de 1.5 a 5.5 cm de ancho; ápice angosto agudo y acuminado, base atenuada, esparcida o densamente pilosa en el haz y en el envés; pecíolo de 5 a 30 mm de largo. Inflorescencias laterales e internodales, subumbeladas o arracimada, pedúnculos de 5 a 25 mm de largo; los pedicelos de 5 a 10 mm de largo. Cáliz de 1 a 2 mm de largo, lobulados hasta la mitad, los lóbulos desde ovalados hasta oblongos, agudos hasta obtusos y reflexos en el fruto.

Corola blanda, limbo de 5 a 7.5 mm de ancho que parten acerca de la base. Lóbulos de 2 a 3 mm de largo extensamente papilados. Los filamentos de 0.3 a 0.5 mm de largo ciliados; anteras de 1.5 a 2 mm de largo, estilo de 2.5 a 3 mm de largo extendiendo a los estambres, la mitad anterior densamente pubescente, ovario glabro; fruto glabroso de 4 a 8 mm de diámetro, negro en su madurez, semillas cerca de 1 mm de largo (29, 30).

3.4.4 Valor Nutritivo

Análisis bromatológico (Ver anexo No. 3)

El quilete es una hortaliza que posee un contenido de proteínas muy por encima del contenido proteínico de otro tipo de hortalizas, también un contenido significativamente mayor en sales minerales (hierro, calcio, fósforo) y un valor

alto en contenido de vitamina A (31, 32).

Zamora evaluó 16 variedades de quilete bajo las condiciones de la Ciudad Capital y Sacatepéquez, determinando que en base seca contenían un 26 por ciento y un 20 por ciento de proteínas, en el quilete de la Capital y de Sacatepéquez, respectivamente (33).

3.5 METODOS DE CONSERVACION Y COCCION DE VEGETALES

3.5.1 Métodos de conservación

Existen varios métodos de conservación de alimentos vegetales, pero el que causa menor alteración es sus características originales es la refrigeración. Esta técnica de almacenamiento permite conservar a los alimentos, manteniendo para ello una temperatura de 7°C o menos. Requieren refrigeración todos los productos sujetos a descomposición y principalmente los potencialmente peligrosos (lácteos, huevos, pescado y mariscos).

En los vegetales la refrigeración retarda los cambios enzimáticos que llevan a su deterioro. Un cambio indeseable posterior a la cosecha en los vegetales, mediado por la acción de las enzimas, es la acumulación de lignina. Los peciolo de la espinaca, los tallos del brócoli y las puntas del esparrago se endurecen y se ponen fibrosos debido a la lignina si no se han almacenado adecuadamente. Tiene la ventaja de no alterar las características originales de los

vegetales. Por mantener una humedad relativa baja tiene la desventaja de que si no se empaacan bien los vegetales, éstos se deshidratan.

3.5.2 Métodos de cocción

Con la cocción de los alimentos se producen dos cambios importantes: suavizar la textura o mejorar el sabor. También se puede utilizar como un método de conservación, ya que con la cocción se destruyen todos los microorganismos.

Existen factores que pueden influir sobre la elección del método de cocción para un vegetal, como la presencia en la verdura de nutrientes hidrosolubles, de pigmentos, ácidos y ciertos constituyentes del sabor; el menú es otro factor importante. Los vegetales comunmente se pueden hervir, cocinar al vapor o bien freír.

2.5.2.1 Hervido

Con este método el material se cocina por la temperatura de ebullición que alcanza el agua dentro de la cual se encuentra totalmente sumergido (22). Los vegetales de hoja verde necesitan de 5 a 7 minutos para suavizarse, perdiendo algo del color verde brillante. La pérdida de nutrientes hidrosolubles puede ser poco mayor cuando se cocinan los vegetales por este método. Cuando los fragmentos crujientes de una verdura cruda se ponen a cocer en agua hirviendo, el calor desnaturaliza el citoplasma y las membranas celulares, provocando que las células pierdan agua por difusión

tornandose flácidas.

Los carotenos presentes en los vegetales al ser sometidos al calor sufren una isomerización, produciendo cambios en la intensidad de su color. El beta caroteno en la forma cis cambia del típico rojo naranja a un amarillo naranja más pálido. Los carotenos solubles en grasas no se pierden hacia el agua de cocimiento, en su lugar se disuelven en los lípidos apareciendo como gotitas cerca de la periferia de la célula. Cuando los carotenos se encuentran formando complejos con proteínas del tejido vegetal son hidrosolubles, por lo tanto pasan al agua de cocimiento. Un calentamiento más prolongado, especialmente el recocimiento, puede dar lugar a cambios cis-trans con cierta pérdida de la intensidad del color. Entre más tiempo se cuece y mayor es la temperatura, mayor es el cambio en el color.

3.5.2.2 Cocción al vapor

Cuando las verduras se cocinan al vapor, la energía se transmite a través del vapor de agua al producto suspendido en un recipiente perforado y arriba de agua hirviendo en forma intensa. La mayoría de los vegetales de hojas o frutos muy tiernos pueden cocerse al vapor, aunque el tiempo de cocimiento es un poco mayor que cuando se hierven. Este método tiene la ventaja que sólo el agua del vapor que se condensa se pone en contacto con la verdura, por lo tanto, las pérdidas de nutrientes por solución son menores.

3.5.2.3 Frito

Este método se puede utilizar para cocinar verduras con hojas y verduras suculentas, que se cortan en tiras finas. Las verduras se cocen en gran medida con el vapor de agua que liberan los tejidos cortados. Este método utiliza una pequeña cantidad de grasa en el fondo del recipiente que evita que la verdura se pegue, hasta que se extraiga suficiente savia celular de la verdura para iniciar el cocimiento y tiene la ventaja de lograr una cocción en una pequeña cantidad de agua y en un menor tiempo de cocción (22, 23, 34).

4. JUSTIFICACION

En Guatemala, se han identificado algunos vegetales verdes que contienen gran cantidad de provitamina A, como el quilete, chipilín y bledo. La información sobre el contenido de provitamina A en vegetales que aparece en las tablas de composición de los alimentos, se limita al estado crudo de los mismos, sin tomar en cuenta que muchos de ellos se consumen cocidos y además que no se consumen el mismo día en que fueron cosechados. Expertos de FAO/OMS han recomendado realizar estudios para conocer el contenido de carotenos en vegetales, luego de ser procesados para su consumo. Se trabajó con quilete porque este vegetal es de amplio consumo dentro de la población guatemalteca y se encuentra disponible en el mercado durante todo el año.

5. OBJETIVOS

5.1 GENERAL

Determinar el efecto que tiene el almacenamiento, empaque y el procesamiento, sobre el contenido de provitamina A en la porción comestible del quilete (*Solanum americanum*, Miller).

5.2 ESPECIFICOS

5.2.1 Cuantificar la provitamina A en quilete fresco crudo y fresco cocido.

5.2.2 Establecer el efecto de dos condiciones de almacenamiento (temperatura ambiente y refrigeración) sobre el contenido de carotenos provitamina A.

5.2.3 Establecer el efecto del tipo de empaque (bolsa de papel y bolsa plástica) sobre el contenido de carotenos provitamina A.

5.2.4 Establecer el efecto de la cocción sobre el contenido de carotenos provitamina A.

6. HIPOTESIS

El almacenamiento de quilete a distintas temperaturas (ambiente y refrigeración), con diferente material de empaque (bolsa plástica y bolsa de papel) y la cocción por hervido, tienen efecto sobre el contenido de carotenos provitamina A.

7. MATERIALES Y METODOS

7.1 POBLACION Y MUESTRA

La población a estudiar fue quilete de la región central del país. La muestra consistió en 20 manojos de quilete obtenidos en una parcela de Loma Alta, San Juan Sacatepéquez, considerando la accesibilidad para recolectar y procesar el mismo día.

7.2 MATERIALES

7.2.1 Equipo

- Balanza analítica electrónica marca OHAUS
- Licuadora vertical (Batimax)
- Sistema de vacío
- Congelador
- Estufa eléctrica
- Evaporador rotatorio
- Horno
- Cromatógrafo líquido de alta resolución MERCK-HITACHI (L-600A/UV/VIS L-4200/D-2500).

7.2.2 Cristalería de laboratorio

7.2.3 Materiales varios

- Tabla de picar
- Cuchillo de acero inoxidable
- Bolsas plásticas
- Bolsas de papel
- Mangueras de hule
- Hules

- Frascos para deshechos
- agujas descartables
- Papel aluminio
- Plástico negro
- Pinzas universales
- Base para ampollas de decantación
- Papel parafilm
- Manómetro (para el tambo de nitrógeno)

7.2.4 Reactivos

- Acetona GR
- Celite GR
- Eter de petróleo GR
- Agua desmineralizada
- 2,4 dinitrofenilhidrazina GR
- Sulfato de sodio anhidro GR
- Oxido de magnesio GR
- Hyflo supercel
- Sudan I
- Hexano GR
- Nitrógeno
- Metanol grado HPLC
- Acetonitrilo grado HPLC
- Tetrahidrofurano grado HPLC
- Estándar Caroteno tipo IV: beta caroteno
- Estándar Caroteno tipo V: alfa caroteno

7.3 METODOS

7.3.1 Para la selección de la muestra

Se aplicó un muestreo sistemático, dentro de una misma plantación de quilete, para evitar que las diferencias encontradas en el contenido de provitamina A, se debieran a la variedad agronómica del vegetal y el tipo de suelo.

7.3.2 Para la recolección de datos

7.3.2.1 Estandarización de condiciones: Se estableció contacto previamente con un productor de quilete en Loma Alta, San Juan Sacatepéquez, el día y la hora, por la mañana, en que se haría la recolección del vegetal.

Las condiciones del método de hervido del quilete tales como: recipiente, graduación de la estufa, volumen de agua a utilizar y tiempo de cocción se estandarizó. De igual forma se estandarizó el método de extracción de carotenos del quilete, así como el método de cromatografía líquida de alta resolución, para la cuantificación de los carotenos extraídos.

7.3.2.2 Obtención y tratamiento de las muestras

Se recolectó 20 manojos de aproximadamente 250 g. cada uno, los cuales fueron transportados al Laboratorio de Alimentos de la Escuela de Nutrición de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

El material vegetal se dividió en 10 porciones de 500

g, cada una de éstas se dividió a su vez en tres porciones, resultando así un total de 30 porciones, que constituyeron las unidades experimentales. De aquí se tomaron las siguientes porciones para someterlas a las diferentes condiciones del estudio:

7.3.2.2.1 Dos porciones fueron procesadas y analizadas por triplicado el mismo día de la colecta: una en crudo y una cocinada por el método de hervido.

7.3.2.2.2 El resto de porcines se almacenó de la siguiente manera:

a) a temperatura ambiente, a la sombra y en lugar fresco; dos porciones en bolsa de papel y dos en bolsa plástica;

b) en refrigeración, dos porciones en bolsa de papel y dos en bolsa plástica, todas empacadas en forma individual.

El día 4 de almacenamiento se tomó las ocho porciones, la mitad se analizó en crudo y la otra mitad cocinada por el método de hervido.

7.3.2.3 Extracción y cuantificación de carotenos en quilete (2): El método para extraer y cuantificar la vitamina A fue el método de Carvalho (2), el que se aplicó a las muestras de quilete fresco y almacenado, tanto en crudo como cocido. Este procedimiento se realizó en

un ambiente con luz amarilla.

FASE I: HOMOGENIZACION Y FILTRACION:

1. Pesar 30 gramos de muestra en balanza semi-analítica con sensibilidad de 0.1 g.
2. Preparar quitazatos con sus respectivas mangueras para vacío, embudo de vidrio fritado y hules, para hacer un empaque entre el embudo y el quitazato.
3. Transferir la muestra a un beaker de 300 mL, agregar 40 ml de acetona y homogenizar con batidora vertical, que no tenga plástico en el vástago o en la base de las cuchillas, hasta homogenización completa. Si las muestras son crudas o muy duras agregar 1 cucharadita de celite antes de empezar a homogenizar.
4. Transferir el sobrenadante al sistema de filtración; volver a homogenizar el residuo con 30 mL de acetona, filtrar y repetir el procedimiento 2 veces más. En la última homogenización transferir el contenido total al sistema de filtración; lavar el beaker con 10 mL de acetona y agregar el lavado al residuo sólido que quedó en el embudo. Hacer un total de cinco lavados.

FASE II: LAVADO DE EXTRACTOS

1. Preparar la base de madera para las ampollas de decantación.

2. Cubrir las ampollas con papel o plástico negro.
3. Colocar 100 mL de éter de petróleo en la ampolla de decantación y agregar el filtrado obtenido en la fase anterior.
4. Agregar 100 mL de agua destilada y dejar reposar 30 minutos.
5. Cubrir la ampolla de la luz directa (verificar que el tapón quede bien ajustado para evita pérdida de la muestra) e invertirla; liberar presión abriendo la llave, agitar haciendo movimientos rotatorios. Regresar a su posición normal, extraer el agua que se encuentra en la fase inferior de la ampolla, agregar 100 mL de agua y repetir el procedimiento de lavados de 15 a 20 veces, hasta que la prueba con 2,4-dinitrofenilhidrazina no presente precipitado.
6. Después de haber eliminado la acetona a través de los lavados, transferir el extracto a un beaker de 300 mL forrado con papel carbón; agregar 1/2 cucharadita de sulfato de sodio anhidro y agitar suavemente, luego transferir a otro beaker forrado, separando el sulfato; lavar éste con pequeña porciones de éter hasta que los lavados sean transparentes. Mezclar todos los lavados con el extracto.

FASE III: CONCENTRACION DEL EXTRACTO

1. Concentrar los extractos en evaporador rotatorio, a temperatura de 45°C en el baño de maría, para que el interior se encuentre alrededor de 35°C. Transferir al balón especial del evaporador rotatorio, cuidando que no esté en contacto con la luz blanca. Concentrar a 25 mL y trasladar al mismo beaker forrado, lavando el balón con pequeñas porciones de éter.
2. Aforar el extracto concentrado a 50 mL en un balón previamente forrado cuidando que el trasvasado sea cuantitativo.

FASE IV: CROMATOGRAFIA EN COLUMNA ABIERTA

1. Mezclar óxido de magnesio y Hyflo Supercel (1:1) en peso y deshidratar en horno a 110°C durante 2 horas.
2. Preparar base, varillas y pinzas, así como columnas cromatográficas debidamente forradas con papel carbón y con fibra de vidrio, tapando el extremo inferior.
3. Empacar 10 cm de la mezcla anterior y 1 cm de sulfato de sodio anhidro. Empacar cuidadosamente para que quede compacto, porque si hay fracturas no habrá buena separación de pigmentos. Para lograrlo, usar un embudo pequeño para agregar

- cucharaditas de fase estacionaria.
4. Prepara erlenmeyer de 25 mL forrados con papel carbón y papel aluminio; además preparar pipetas de 5 y 10 mL, el sistema de vacío hacia el erlenmeyer y la fase móvil (95 por ciento de éter de petróleo y 5 por ciento de acetona).
 5. Del extracto aforado a 50 mL en la fase anterior, tomar 10 mL y colocarlos suavemente en la columna cromatográfica empacada, aplicar vacío y agregar pequeñas porciones de fase móvil para mantener húmeda la fase estacionaria; esperar que eluyan los carotenos (que es el anillo anaranjado-amarillo inferior)

FASE V: SECADO Y RECONSTITUCION DE CAROTENOS

1. Preparar tubos de ensayo lavados y enjuagados tres veces con agua desmineralizada, secar y forrar con papel aluminio.
2. Secar con nitrógeno los carotenos obtenidos a través de la columna cromatográfica.
3. Agregar 0.45 mL de Sudan I y secar suavemente con nitrógeno.
4. Reconstituir el caroteno seco con 5 mL de hexano, tratando de arrastrar todos los residuos adheridos a las paredes del erlenmeyer. Transferir cuantitativamente, filtrando a un tubo de ensayo

preparado y forrado, sellarlo con papel aluminio y parafilm y llevar a -20°C hasta que se inyecte en HPLC.

FASE VI: CROMATOGRAFIA EN HPLC

1. Llevar a cabo la cromatografía bajo las siguientes condiciones:

Solvente: metanol:acetonitrilo:tetrahidro-
furano (56:40:4)

Flujo: 2 mL/minuto

Atenuación: 4

Atenuación DS: 4

Columna: Micropher C18; 3 μm ; S8 (150x4 mm
ID)

Detección Ultravioleta-Visible: 470 nm

Inyección: 10 μL .

2. Llevar a cabo dos inyecciones de 10 μL con 50 μL de volumen total por muestra.

7.3.2.4 Conversión de μg de carotenos a ER

Los resultados cuantitativos obtenidos en HPLC serán convertidos a microgramos de provitamina A (mg de alfa y beta caroteno), luego se convertiran a equivalentes de retinol (ER) por 100 gramos de peso neto de quilete.

7.3.3 Para el análisis de datos

Se utilizó el siguiente diseño estadístico:

7.3.3.1 Unidad experimental:

Cada muestra de quilete.

7.3.3.2 Factores: Se midió el efecto de tres factores

- a) Temperatura de almacenamiento: Refrigeración y temperatura ambiente.
- b) Material de empaque: Bolsa plástica y bolsa de papel.
- c) Procesamiento: Crudo y cocción por el método hervido.

7.3.3.3 Diseño:

Se utilizó un diseño experimental factorial de dos niveles con tres repeticiones. El total de tratamientos fue de diez, haciendo un total de 30 unidades experimentales. Para establecer las diferencias significativas se aplicó el análisis estadístico SAS Versión 6.01.

8. RESULTADOS

En el cuadro No. 1 se presenta la apariencia del quilete después de cuatro días de almacenamiento bajo diferentes condiciones de temperatura y empaque.

Cuadro No.1
APARIENCIA DEL QUILETE BAJO DISTINTAS CONDICIONES
DE ALMACENAMIENTO Y CON DISTINTOS EMPAQUES

CONDICION DE ALMACENAM.		APARIENCIA BUENA MALA		OBSERVACIONES
A M B I E N T E	BOLSA PLASTICA	X		-El color de las hojas no sufrió cambios perceptibles -Deshidratación leve -Algunas hojas empezaban a perder su textura -Se considera que un 95 por ciento del manajo era aprovechable.
	BOLSA DE PAPEL		X	-Amarillamiento y descomposición de hojas -Los tallos mostraban mal olor y ablandamiento -Se encontró en su límite inferior de calidad para consumo humano -Las hojas en mejor estado eran las más tiernas de los extremos. -Se considera que sólo un 20 por ciento del manajo era aprovechable
R E F R I G E R A C I O N	BOLSA PLASTICA	X		-Manajo en perfecto estado -No mostró cambios en color y textura -No sufrió deshidratación -Se considera que el 100 por ciento del manajo era aprovechable
	BOLSA DE PAPEL	X		-El color no sufrió cambios -Deshidratación leve -Ablandamiento de algunas hojas -Se considera que un 90 por ciento del manajo era aprovechable.

El quilete almacenado en refrigeración en bolsa plástica conservó intactas sus características de color, textura y humedad, presentando un aspecto muy similar al quilete el día de la cosecha, lo que hizo considerar que un 100 por ciento del manojo era aprovechable. Por el contrario, el quilete almacenado a temperatura ambiente en bolsa de papel después del período de almacenamiento, se encontró en su límite inferior de calidad para consumo humano, estimándose que sólo un 20 por ciento máximo del manojo era aprovechable.

8.1 CONTENIDO DE PROVITAMINA A EN EL QUILETE

Los resultados de los distintos tratamientos se muestran en la tabla No. 1. El quilete analizado el día de la recolección o quilete fresco, tanto crudo como cocido, presentan los mayores contenidos de provitamina A, 672 y 999 mcg ER/100 g, respectivamente.

Después de cuatro días de almacenamiento el quilete crudo almacenado en refrigeración y bolsa plástica mostró los mayores contenidos de provitamina A, mientras que el almacenado a temperatura ambiente y bolsa de papel los menores, 630 y 340 mcg ER/100 g de muestra, respectivamente.

De las muestras cocidas (hervidas), las de mayor contenido de provitamina A fueron las almacenadas en refrigeración en bolsa de papel, y las de menor contenido las almacenadas a temperatura ambiente en bolsa de papel, 870

y 367 mcg ER/100g de muestra, respectivamente.

Tabla No.1
**CONTENIDO DE PROVITAMINA A (BETA CAROTENO) EN QUILETE FRESCO
 Y ALMACENADO DURANTE CUATRO DIAS BAJO DISTINTAS CONDICIONES**
 Guatemala, septiembre 1,997

TRATAMIENTO DEL QUILETE	EQUIVALENTES DE RETINOL*		
	(X +	DS;	n=3)
Fresco crudo	673	±	468
Fresco cocido	999	±	332
Ambiente B.plástica crudo	445	±	90
Ambiente B.plástica cocido	847	±	128
Ambiente B.papel crudo	340	±	83
Ambiente B.papel cocido	367	±	92
Refrig. B.plástica crudo	631	±	36
Refrig. B.plástica cocido	674	±	287
Refrig. B.papel crudo	549	±	114
Refrig. B.papel cocido	870	±	286

* Valor promedio del triplicado de cada tratamiento (Anexo 4)

8.2 EFECTO DEL ALMACENAMIENTO Y COCCION SOBRE EL CONTENIDO DE PROVITAMINA A (Anexos 5 y 6).

Tomando como base los contenidos de provitamina A del quilete fresco crudo (analizado el día de la recolección) y los resultados del quilete crudo almacenado por cuatro días, se calculó la variación de provitamina A, como porcentaje, causada por el almacenamiento bajo distintas condiciones. La mayor pérdida se dió en las muestras almacenadas a

temperatura ambiente en bolsa de papel, 50 por ciento, mientras que las muestras almacenadas en refrigeración, en bolsa plástica, tuvieron una pérdida de sólo 6 por ciento.

Esta diferencia entre las muestras no es estadísticamente significativa ($p \geq 0.05$).

La variación en el contenido de provitamina A ocasionada por el almacenamiento de los diferentes grupos se puede observar en la tabla No.2.

Tabla No.2:
**VARIACION DE PROVITAMINA A (COMO PORCENTAJE) EN EL QUILETE
 CAUSADA POR EL ALMACENAMIENTO BAJO
 DISTINTAS TEMPERATURAS Y EMPAQUES
 Guatemala, septiembre 1,997**

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO	VARIACION OBSERVADA (%)	
	BOLSA PLASTICA	BOLSA PAPEL
Ambiente	66	50
Refrigeración	94	82

Tomando como referencia el quilete fresco, crudo, se calculó las variaciones en el contenido de las distintas muestras después de someterlas a cocción. La comparación de los resultados de Provitamina A del quilete, antes y después de ser cocido, permitió conocer el efecto del procesamiento sobre las muestras que previamente habían sido almacenadas por cuatro días a diferentes temperaturas y tipos

de empaque, como puede observarse en la tabla No. 3.

Se observó una disminución en el contenido de provitamina A en las muestras cocidas luego de ser almacenadas durante cuatro días a temperatura ambiente en bolsa de papel, 54 por ciento. Las muestras almacenadas previamente en refrigeración, en bolsa de papel, tuvieron un aparente incremento en el contenido de provitamina A, 129 por ciento.

Tabla No.3:
VARIACION DE PROVITAMINA A (COMO PORCENTAJE) EN EL QUILETE
CAUSADO POR LA COCCION LUEGO DE SER
ALMACENADO BAJO DISTINTAS CONDICIONES.
Guatemala, septiembre 1,997

CONDICION DE ALMACENAMIENTO	VARIACION OBSERVADA (%)	
	BOLSA PLASTICA	BOLSA DE PAPEL
Ambiente	126	54
Refrigeración	100	129

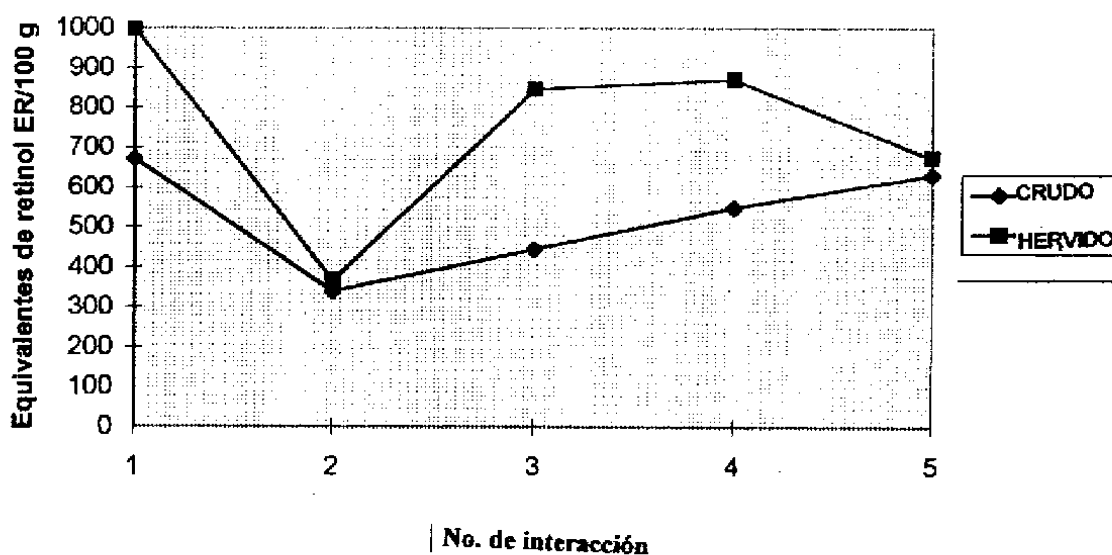
8.5 ANALISIS ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS

La prueba estadística que se aplicó a los resultados fue un análisis factorial. Este análisis permitió establecer que los factores bajo estudio: temperatura de almacenamiento, tipo de empaque y cocción por hervido presentan diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.028$, 0.043 y 0.018 , respectivamente) al ser analizados en forma independiente.

En base al análisis efectuado se elaboró un gráfico con el número de interacción (en el eje "X") versus el contenido promedio de equivalentes de retinol (en el eje "Y"). El coeficiente de correlación obtenido fue 0.6, indicativo de la interacción entre los factores. La gráfica 8.1 muestra que la mejor interacción la presenta el quilete almacenado en refrigeración, empacado en bolsa de papel y luego sometido a cocción, pues tiene el contenido más alto de provitamina A.

Grafica No.8.1

INTERACCION ENTRE LOS FACTORES: TEMPERATURA DE ALMACENAMIENTO, TIPO DE EMPAQUE Y COCCION.



- No. de interacción
1. Día cero
 2. Almacenamiento a temperatura ambiente en bolsa de papel
 3. Almacenamiento a temperatura ambiente en bolsa plástica
 4. Almacenamiento en refrigeración en bolsa de papel
 5. Almacenamiento en refrigeración en bolsa plástica.

9. DISCUSION DE RESULTADOS

Los resultados obtenidos en la cuantificación de beta caroteno en el quilete, demuestran que la temperatura de almacenamiento, el tipo de empaque y la cocción tienen un efecto en su contenido. Como se esperaba, el contenido de beta caroteno del quilete analizado el día de la colecta (día cero), tanto crudo como cocido, presenta los valores más altos. Esto se debe a que la extracción se efectuó pocas horas después de la colecta para limitar los factores ambientales, de manipulación y enzimáticos de degradación, que influyeran en el contenido de beta caroteno.

El someter el quilete a almacenamiento, ocasiona pérdidas en el contenido de beta caroteno. De las dos temperaturas utilizadas se notó que la refrigeración es la que menos pérdidas ocasiona, en comparación con la temperatura ambiente. Esto se debe a que las temperaturas bajas (alrededor de 7°C) retardan los cambios enzimáticos que llevan a la degradación del beta caroteno; mientras que al mantener el quilete a temperatura ambiente éste se ve afectado por la luz y los cambios de temperatura del día, acelerando los procesos enzimáticos de degradación post cosecha. Estos cambios enzimáticos prevalecen sobre el proceso de carotenogénesis que se produce en algunas frutas, como el mango al ser cosechado verde y luego almacenado, y calabazas almacenadas por 70 días a temperatura ambiente (36).

En cuanto al material de empaque, utilizado para el almacenamiento en refrigeración y ambiente, se pueden observar diferencias muy significativas en la apariencia del vegetal. El almacenamiento en bolsa plástica causa menos pérdida de humedad, lo que explica la mejor apariencia de aquellas muestras almacenadas con este empaque. Al considerar los dos factores de almacenamiento: temperatura y tipo de empaque, se puede ver que el quilete almacenado en refrigeración con bolsa plástica presentó menor pérdida en el contenido de beta caroteno (6 por ciento). A temperatura ambiente el almacenamiento con bolsa de papel produjo la mayor pérdida de beta caroteno, también es necesario indicar que el quilete sometido a este tratamiento se encontraba en muy mal estado (inciso 8.1) y fue necesario utilizar, para la extracción, las hojas más tiernas porque la mayoría de las hojas grandes se encontraban en mal estado. De haber utilizado éstas últimas para la extracción, el porcentaje de pérdida resultante habría sido mayor.

Al someter el quilete a cocción, se observó en general, que el contenido de beta caroteno fue más alto que el del quilete en crudo. Esto puede explicarse por el hecho de que los carotenos son más fácilmente extraídos durante el análisis, en aquellas muestras que fueron sometidas a cocción. Existen reportes que indican que los carotenos, en la naturaleza, pueden estar unidos a proteínas u otros

componentes protectores que los hacen más estables y resistentes a la degradación; al someter los alimentos a cocción, éstos componentes protectores se desnaturalizan, además, se suavizan las paredes celulares ocasionando que los carotenos estén más disponibles en el momento de la extracción (36).

Al examinar los resultados del contenido de carotenos de las muestras almacenadas y posteriormente cocidas, se observó que el quilete almacenado en refrigeración y bolsa de papel, presentó los valores mayores, muy cercanos a éstos se encontraron los de las muestras almacenadas a temperatura ambiente en bolsa plástica (870 y 847 ER/100 g, respectivamente).

Al comparar los valores de carotenos de las muestras refrigeradas, se observó que aquellas almacenadas en bolsa de papel presentaban contenidos más altos que las almacenadas en bolsas plásticas (631 y 445 ER/100 g, respectivamente).

Por la apariencia que presentaba el quilete luego de su almacenamiento (ver cuadro No.1), se podría haber esperado que las muestras almacenadas en bolsa plástica presentaran contenidos mayores. Esta aparente contradicción se puede explicar por el hecho que los cálculos se realizaron en base fresca; y el almacenamiento en bolsa de papel permite mayores pérdidas de humedad; es decir que en los 30 gramos de muestra utilizados para el análisis, provenientes del almacenamiento en bolsa de papel, hay menos humedad que en los provenientes

del almacenamiento en bolsa plástica.

Con todo lo anterior se comprueba la hipótesis planteada en el estudio: el almacenamiento a distintas temperaturas, con diferente material de empaque y la cocción, afectan el contenido de beta caroteno en el quilete. Estadísticamente existen diferencias significativas en cada uno de los factores bajo estudio. Los valores de confianza obtenidos son cercanos a 0.05, lo que puede llevar a cometer el error tipo II, ésto debido a la variabilidad relativamente alta entre datos de algunos triplicados (desviaciones estándar entre 36 y 470). Al repetir el análisis estadístico eliminando los datos más alejados (outliners), se obtienen valores de confianza p más bajos y se elimina por ende la posibilidad de cometer dicho error.

Desde el punto de vista nutricional, tomando en cuenta una porción ingerible de vegetales, de 30 g (11) y que el quilete se consume cocido, los resultados indican que el quilete fresco cocido (consumido el mismo día de la cosecha) aporta el 50 por ciento de las recomendaciones dietéticas diarias (RDD) para adulto y el 75 por ciento para niños. Mientras que el quilete almacenado y luego cocinado aporta entre el 18 por ciento (almacenado a temperatura ambiente y bolsa de papel) y el 43 por ciento (almacenado en refrigeración y bolsa de papel) de la recomendaciones dietéticas diarias para adultos (Ver Anexo No.6).

Un alimento se considera fuente de un nutrimento cuando una porción cubre el 50% de las RDD, y rico cuando cubre el 25% de las mismas. En base a ello el quilete se puede considerar como un alimento rico en Provitamina A en forma de beta caroteno, pero no se puede decir que es "fuente" desde el punto de vista que el quilete casi nunca se consume el mismo día de la cosecha o el mismo día que se compra en el mercado (11).

10. CONCLUSIONES

- 10.1 El contenido de Provitamina A en el quilete crudo y cocido, procesados el mismo día de cosecha, presentan los contenidos más altos, con 673 y 999 ER respectivamente.
- 10.2 La temperatura de refrigeración preserva mejor el contenido de beta caroteno en el quilete.
- 10.3 El quilete empacado en bolsa plástica tiene un mejor aspecto y al analizarlo en crudo, presenta menores pérdidas en el contenido de beta caroteno.
- 10.4 El quilete crudo, después de haber sido almacenado en refrigeración con empaque de bolsa plástica, presenta la menor pérdida de beta caroteno.
- 10.5 La cocción del quilete aumenta la disponibilidad del beta caroteno, facilitando su extracción.

10.6 El mejor tratamiento para preservar el contenido de provitamina A, es almacenar el quilete en refrigeración, empacado con bolsa plástica.

10.7 El quilete es un alimento rico en Provitamina A.

11. RECOMENDACIONES

- 11.1 Se recomienda almacenar el quilete, con bolsa plástica, preferentemente en refrigeración.
- 11.2 Realizar más estudios de investigación, sobre el contenido de pro vitamina A, en preparaciones alimenticias a base de vegetales.
- 11.3 En investigaciones posteriores sobre contenido de pro vitamina A en vegetales, sometidos a almacenamiento, hacer las correcciones en relación a masa seca.
- 11.4 Es necesario realizar estudios acerca de la biodisponibilidad del beta caroteno, tanto de vegetales en crudo como en cocido.

12. REFERENCIAS

- 12.1 Bulux J, et al. Avances recientes en Vitamina A en Guatemala. Guatemala: Taller Regional sobre Estrategias para mejorar el estado de Vitamina A en America Latina y el Caribe, 1990. 163p.
- 12.2 Carvalho P, Collins C, Rodríguez-Amaya D. Comparison of Provitamin A Determination by Normal-Phase Gravity Flow Column Chromatography and Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography. J. Chromatogr. 1992; 33:3-4.
- 12.3 Anderson L, et al. Nutrición y dieta de Cooper. 4.ed. México: Nueva Editorial Interamericana, 1987. 730p.
- 12.4 Handbook of vitamins; Nutritional Biochemical Aspects. USA: Lawrence J. Machlin, 1984.
- 12.5 Heimann W. Fundamentals of food Chemistry. England: Ellis Horwood Limited, 1980. 344p.
- 12.6 Coultate T, Davis J. Food, the definitive guide. England: The Royal Society of Chemistry, 1994. 167p.
- 12.7 Fennema O. Química de los alimentos. España: Acribia, 1993. xii+1095p.
- 12.8 Coultate T. Food, the Chemistry of its components. 2.ed. England: The Royal Society of Chemistry, 1989. xi+325p
- 12.9 Murray R, et al. Bioquímica de Harper. 11.ed. México: El Manual Moderno, 1988. 713p.

- 12.10 Seis H, Krinsky N. The Present Status of Antioxidant Vitamins and B-carotene. Am. J. of clin. Nutr. 1985; 62(suppl):1299S-300S.
- 12.11 Torún B. Menchú M, Elias L. Recomendaciones dietéticas diarias el INCAP. 45 aniv.ed. Guatemala: Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá - INCAP-, Organización Panamericana de la Salud -OPS-, 1994. iv+137p.
- 12.12 Underwood B. Estado actual de la Deficiencia de Vitamina A como problema de Salud Pública. Guatemala: Taller Regional sobre Estrategias para mejorar el estado de Vitamina A en América Latina y el Caribe, 1990. 163p.
- 12.13 Bulux J, et al. El estado de Vitamina A en mujeres embarazadas de un área periurbana marginal de la ciudad de Guatemala. Guatemala: Memorias XII Congreso de Nutrición de Centro América y Panamá-V Congreso Nacional, 1990. 177p.
- 12.14 Viteri F. Niveles séricos de Vitamina A en la población guatemalteca. Guatemala: Universidad de San Carlos (tesis de graduación, Facultad de Medicina) 1955. 48p.
- 12.15 Interdepartamental Commission on Nutrition in Defense. The Central American Nutritional Survey: 1965-67 Summary Report. Washington DC: Department of Health,

- Education and Welfare, 1973. 73p.
- 12.16 Unidad Pro-Vita-A. Hablemos de Vitamina A. Guatemala: The International Eye Foundation, Enero-julio 1993; Año 2, No. 1.
- 12.17 Underwood B. Aspectos técnicos de la suplementación con Vitamina A. Brasil: Tercer Taller Regional sobre deficiencias de Vitamina A y otros micronutrientes en America Latina y el Caribe, 1993. 263p.
- 12.18 Arrovave G. et al. Evaluación del Programa Nacional de Fortificación de Azúcar con Vitamina A. Guatemala: INCAP. Pub. Cient. 384. 1979. 35p.
- 12.19 Monroy F. Determinación del nivel de enriquecimiento con Vitamina A del azúcar que se consume en la ciudad de Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 1989. 45p.
- 12.20 Díaz V. Determinación de la Disminución de Potencia que sufre la Vitamina A durante el proceso de secado del azúcar. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 1983. 61p.
- 12.21 Pineda O. Erradicación de la deficiencia de Vitamina A en Guatemala. Guatemala: División de Nutrición y Salud INCAP. Memorias XXII Congreso de Nutrición de Centro América y Panamá, 1990. 177p.

- 12.22 Rodríguez-Amaya D B, et al. Assesment of provitamin A determination by open column chromatography/visible absorption spectrophotometry. J. Chromatogr. 1988; 26: 624-629.
- 12.23 Zacharias R. Effects of domestic and large scale cooking on the quality and nutritiv value of vegetables and fruits; Food Quality and Nutrition Research Priorities for thermal Processing. Germany: W.K Downey, 1977. 698p.
- 12.24 Luh B. Woodroof J. Comercial Vegetable Processing. USA: The AVI Publishing, 1975. 785p.
- 12.25 Mujibur Rahman M, Wahed M, Akbar Ali M. B-carotene Losses during different methods of cooking green leafy vegetables in Bangladesh. J. of Food Composition and Analysis 1990; 3:47-53.
- 12.26 O'Neil C, Schwartz S. Chromatographic analisis of cis/trans carotenoid isomers. J. of Chromatogr. 1992;624: 235-252.
- 12.27 Chew J. Determinación y cuantificación de carotenoides Provitamina A presentes en zanahorias crudas, cocidas y fritas; por cromatografía de columna abierta. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (Informe General de Integración, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 1994. 32p.

- 12.28 Caballero de Chávez L. Variación en el contenido de Vitamina A en acelga cruda y sometida a diferentes tipos de almacenamiento y cocción. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 1995. 77p.
- 12.29 Gentry Junior J, Stanley P. Flora of Guatemala. Chicagp, USA: Field Museum Press. Vol. 24, part.10 No. 1,2, 1994. 151p.
- 12.30 Cronquist A. An integrated system of clasification of flowering plants. USA.: The New York Botanical Garden, 1981. xviii+1243p.
- 12.31 Delgado F. Rendimiento y contenido de proteína en hierba mora (*Solanum* sp) a diferente número de días a cosecha y número de cortes. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (tesis de graduación, Facultad de Agronomía) 1984. 76p.
- 12.32 Spillari M. Composición química de diferentes cultivares de hierba mora (*Solanum* sp), chipilín (*Crotalaria longiros trata*) y amaranto (*Amaranthus* sp). Guatemala: Universidad Rafael Landivar, (tesis de graduación, Instituto de Ciencias Ambientales y Tecnología Agrícola). 1983. 40p.
- 12.33 Zamora I. Evaluación preliminar de 16 variedades de hierba mora (*Solanum* sp) bajo las condiciones de la

- Ciudad Capital y Sacatepéquez. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (tesis de graduación, Facultad de Agronomía). 1987. 42p.
- 12.34 Charley H. Tecnología de alimentos; procesos químicos y físicos en la preparación de alimentos. México: Limusa, 1987. 767p.
- 12.35 Wu Leung W, Flores M. Tablas de composición de Alimentos para uso en América Latina. Guatemala: INCAP/ICNND, 1961. 29p.
- 12.36 Rodríguez-Amaya D. Carotenoids and Food Preparation: The retention of Provitamin A Carotenoids in Prepared, Processed, and Stored Foods. Brazil: Departamento de Ciencias de los alimentos, 1997. vi+88p.



A N E X O S



ANEXO No. 1

Tabla del contenido promedio de Provitamina A (Valor de beta caroteno y equivalentes de retinol) de 28 plantas comestibles de Guatemala.

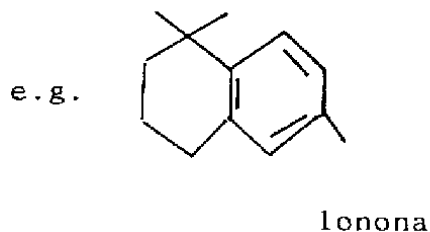
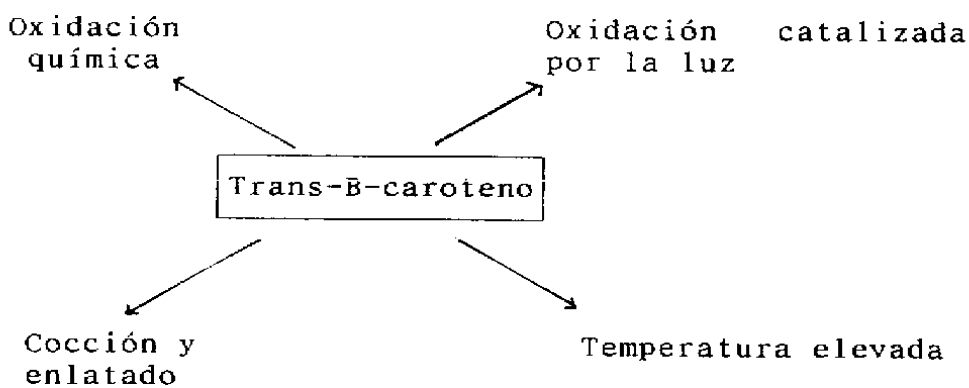
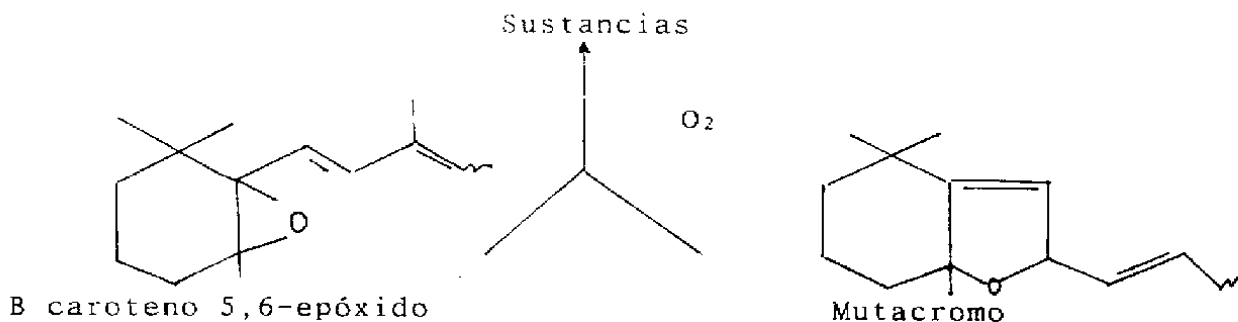
NOMBRE COMUN	NOMBRE BOTANICO	# de muestras	beta caroteno (ug/g)	ER/g
quilete o macuy	<u>Solanum americanum</u>	6	195.1	32.5
zanahoria	<u>Daucus carota sativa</u>	6	118.1	25.4
Chipilín	<u>Crotolaria longirostrata</u>	6	112.2	18.7
hojas de frijol	<u>Phaseolus vulgaris</u>	1	98.2	16.4
hierba buena	<u>Menta citrata</u> L.	7	91.1	15.2
txoloj	<u>Dahlia imperialis</u>	6	90.6	15.1
culantro	<u>Coriandrum sativum</u>	6	87.8	14.6
chomtee	<u>Lycianthes synanthera</u> B.	2	81.3	13.6
hojas de nabo	<u>Brassica rapa</u>	1	74.3	12.4
bledo o tzes	<u>Amaranthus candatus</u> L.	6	67.9	11.3
hoja de remolacha	<u>Beta vulgaris</u>	6	57.3	9.6
perejil	<u>Petroselinum erisoum</u>	6	52.9	8.8
samat	<u>Eringium foetidum</u> L.	6	52.3	8.7
tziton	<u>Tinantia erecta</u> S.	6	50.5	8.4
verdolaga	<u>Portulaca oleracea</u> L.	6	47.9	8.0
roctish	<u>Cnidoscolus chayamansa</u>	6	47.3	7.9
hojas de rábano	<u>Raphanus sativus</u>	6	45.0	7.5
osh	<u>Xanthosoma violacium</u>	6	44.2	7.4
berro	<u>Nasiturtiom officinale</u>	6	31.3	4.6
puntas de guisquil	<u>Sechium edule</u> S.	7	30.0	5.6
camote	<u>Ipomoca batata</u>	6	29.6	5.0
espinaca	<u>Spinacea oleracea</u> L.	6	28.6	4.9
cebollín	<u>Allium schoensprasum</u>	7	22.7	4.8
puntas de ayote	<u>Curcubita ficifolia</u>	6	21.9	4.4
apazote	<u>Chenopodium ambrosoides</u> L.	6	18.0	3.6
acelga	<u>Beta vulgaris var. cicla</u>	6	17.6	3.0
lechuga	<u>Lactuta sativa</u>	6	16.9	2.9
loroco	<u>Fernaldina pandurata</u>	6	5.8	1.0

FUENTE: Referencia No. 13

ANEXO No. 2

Degradación del Beta Caroteno

Polímeros. Sustancias de cadena corta solubles en agua



Neo-B-carotenos B y U
(Formas cis. 35% de actividad Vitamina A)

FUENTE: Referencia No. 3

ANEXO No. 3

Análisis bromatológico del quilete
Valores de 100 gramos de peso neto, en crudo

Porcentaje de desgaste	49.0	%
Agua	84.0	%
Calorías	45.0	
Grasas	0.8	g
Carbohidratos totales	7.3	g
Fibra cruda	1.4	g
Cenizas	1.8	g
Calcio	126.0	mg
Fósforo	74.0	mg
Hierro	12.0	U. I.
Vitamina A	195.0	mg
Tiamina	0.2	mg
Riboflavina	0.35	mg
Tiacina	0.97	mg
Acido ascórbico	90.0	mg

Referencia: 28

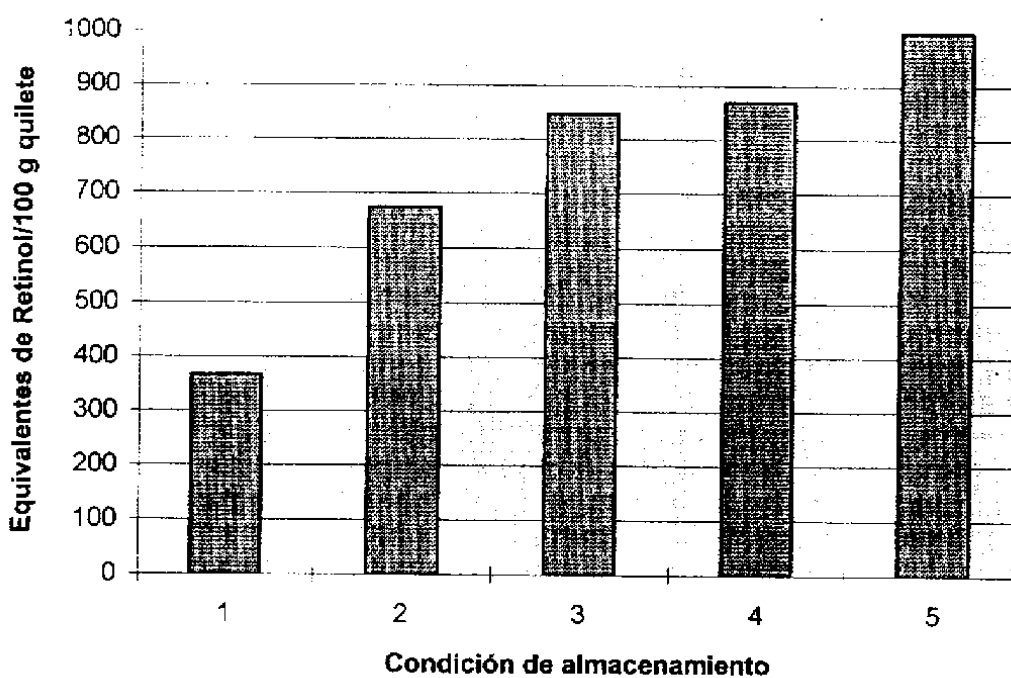
ANEXO No.4

Tabla No. 3: Contenido de beta caroteno en base fresca por 100 gramos de quilete: Valores para cada una de las muestras analizadas.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y PROCESAMIENTO	mcg BETA CAROTENO/100g	EQUIVALENTES DE RETINOL/100g
Fresco crudo (día cero)	2018.36	337.06
	2075.50	346.61
	7989.50	1334.25
Fresco cocido (día cero)	7914.42	1,321.70
	6780.82	1,132.40
	3251.60	543.02
Ambiente B.plástica crudo	3346.15	558.81
	2022.09	337.69
	2620.72	437.66
Ambiente B.plástica cocido	4898.09	817.98
	4256.84	710.89
	6061.07	1,012.20
Ambiente B.papel crudo	1485.08	248.01
	2690.80	449.37
	1929.30	322.20
Ambiente B.papel cocido	2849.80	475.92
	1496.58	249.93
	2242.78	374.54
Refrig. B.plástica crudo	3897.60	650.90
	3479.54	581.09
	3959.23	661.19
Refrig. B.plástica cocido	1742.14	290.94
	5889.95	983.62
	4469.82	746.46
Refrig. B.papel crudo	2673.76	446.52
	2942.48	491.39
	4238.92	707.90
Refrig. B.papel cocido	2990.70	499.45
	7160.86	1,195.86
	5477.80	914.45

ANEXO No. 5:

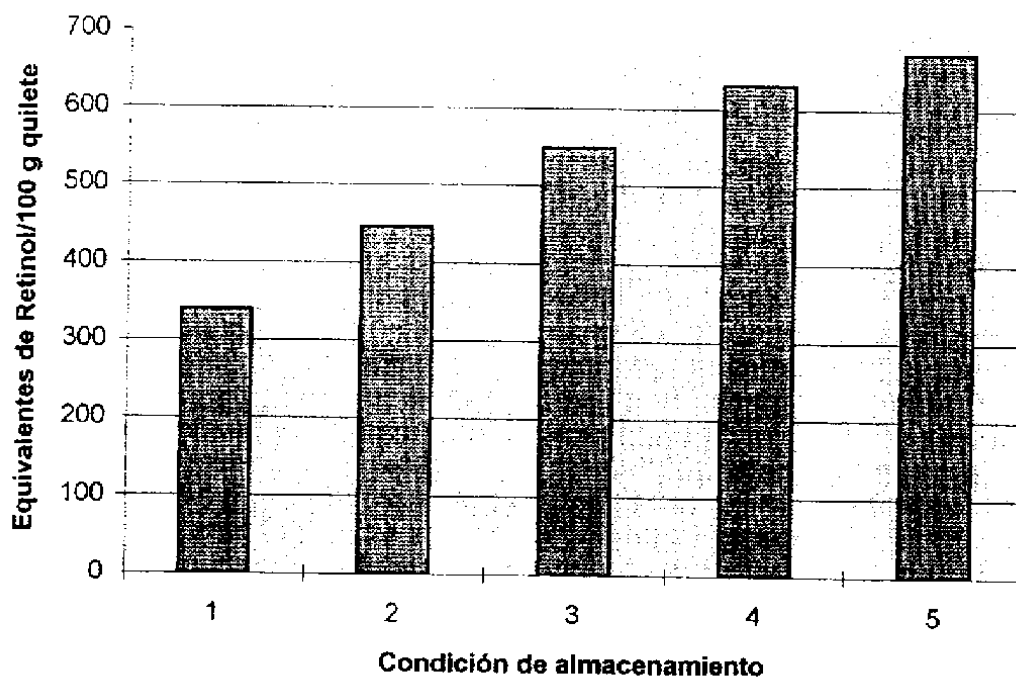
Contenido de Provitamina A (beta caroteno) en muestras de quilete (*Solanum americanum*, Miller) almacenado por cuatro días bajo distintas condiciones y luego sometido a cocción por hervido



1. Ambiente/B. papel
2. Refrigeración/ B.plást.
3. Ambiente/ B.plástica
4. Refrigeración/B.papel
5. Día cero (fresco cocido)

ANEXO No. 6:

Contenido de Provitamina A (beta caroteno) en muestras de quilete (*Solanum americanum*, Miller) almacenado por cuatro días bajo distintas condiciones.



1. Ambiente/B. papel
2. Ambiente / B.plástica
3. Refrigeración/ B.papel
4. Refrigeración/B.plástica
5. Día cero (fresco)

ANEXO #7

Porcentaje de las Recomendaciones Dietéticas Diarias de Vitamina A, que aportan 30 g de quilete almacenado y cocinado.*

CONDICION DEL QUILETE	E D A D						
	NIÑOS	HOMBRES	M U J E R E S				
	0-9.9 400 ER %	12-65 600 ER %	10-12 500ER %	12-14 600ER %	14-65 600ER %	EMBARA 700 %	LACTAN 950 %
DIA CERO	75	50	60	50	50	43	32
Refrig/bol.papel	65	43	52	43	43	37	27
Amb/bol.plástica	64	42	51	42	42	36	27
Refrig/bol.plast	50	34	40	34	34	29	21
Amb/bolsa papel	28	18	22	18	18	16	12

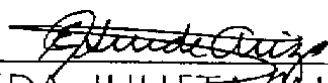
* Recomendaciones Dietéticas Diarias del INCAP.



SARA EMILIA CHAJÓN ALVARADO
AUTORA



DR. RUBÉN DARIEL VELÁSQUEZ MIRANDA
ASESOR



LICDA. JULIETA SALAZAR DE ARIZA
ASESORA



LICDA. BEATRIZ BÂTRES DE JIMÉNEZ
DIRECTORA



LIC. JORGE RODOLFO PÉREZ FOLGAR
DECANO