

302827

N=26
2 Ej.



UNIVERSIDAD MOTOLINIA A.C.

ESCUELA DE QUIMICA

Con estudios incorporados a la U.N.A.M.

**DETERMINACION DE B-CAROTENO COMO
PRECURSOR DE LA VITAMINA A PARA LA
ACTUALIZACION DE LAS TABLAS DEL
INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICION**

T E S I S

**Que para obtener el Título de
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO**

p r e s e n t a

CLAUDIA TORRES NEGRETE

México, D. F.

1994

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dedico este trabajo con todo mi amor:

A mi papá David, por confiar plenamente en mi; por su apoyo, su consejo, su dulzura y su cuidado siempre silencioso.

A mi mamá Margarita, por el inmenso amor que siempre me dió, por su entereza y su eterna compañía.

A mi abuelita Emilia, por su palabra siempre sabia, su ternura y su honestidad cumpla la promesa que un día le hice.

A ti Luis, por tu amistad eterna, por tu sonrisa, por tu palabra siempre a tiempo, por ser parte de mi vida y porque estoy segura de que sigues junto a mi.

"Su recuerdo los hace vivir y el mismo
es el que me ayuda a seguir"

A mi esposo Beto, por ser un gran hombre que me ha apoyado en todo momento y me ha hecho inmensamente feliz con su amor, su respeto y su comprensión.

A mis hermanas Lupita, Margarita, Marcela y Mariana, por su confianza, su cariño y porque sé que siempre están conmigo.

A mis sobrinos Horacio David, Salhua, Paola, Tania, Berenice, Denisse y César, porque los quiero mucho.

El presente trabajo se realizó en el Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos del Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán bajo la dirección de la M. en C. Josefina Morales de León a quien le agradezco la oportunidad de integrarme a su equipo de investigación.

Doy las gracias a todos los profesores de la Universidad Motolinia por su dedicación y por su apoyo durante mis estudios.

Agradezco de una manera especial al Ingeniero Ernesto Bautista Canela por todo su apoyo durante la realización del presente trabajo; además de ser una persona a quien admiro por su honestidad y su gran calidad humana.

Doy las gracias a mis compañeras Q.F.B. Hortensia Villavicencio A. y Q.F.B. Verónica Pérez M. por su amistad y su apoyo profesional.

I
INDICE GENERAL

PAGINA

CAPITULO I	
INTRODUCCION	1
1.1 Planteamiento del problema	1
1.2 Objetivo	3
1.3 Hipótesis	3
CAPITULO II	
ANTECEDENTES	4
2.1 Vitaminas	4
2.2 Vitamina A	5
2.3 Carotenoides	16
2.4 Beta-caroteno	24
2.5 Verduras, raíces y leguminosas	27
2.6 Tablas del Instituto Nacional de la Nutrición	29
2.7 Cromatografía Líquida de Alta Resolución	31
CAPITULO III	
PARTE EXPERIMENTAL	40
3.1 Diagrama general	40
3.2 Material, reactivos y equipo	41
3.3 Metodología	43
CAPITULO IV	
RESULTADOS Y DISCUSION	61
CAPITULO V	
CONCLUSIONES	77
BIBLIOGRAFIA	81
APENDICE	84

CAPITULO I

I N T R O D U C C I O N

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El único signo inequívoco de deficiencia de vitamina A se presenta en los ojos y se ha establecido que uno de los problemas en la salud pública causado por la insuficiencia en el consumo de dicha vitamina es la ceguera, ya que el ciclo visual es la única función biológica de la vitamina A que ha sido bien establecida desde el punto de vista bioquímico.

Cuando el organismo se enfrenta a exigencias especiales de alimentación como son el embarazo, la lactancia, el crecimiento, las enfermedades infecciosas, la inhibición de la flora intestinal por antibióticos y la convalecencia, se presenta un incremento en los requerimientos de los diferentes componentes de la dieta y en particular de una o varias vitaminas. Por esta razón se deben tomar en cuenta las recomendaciones para su consumo así como la composición de cada alimento. Estos datos se encuentran en las tablas del Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán" (I.N.N.S.Z) que resultan útiles en diferentes campos de la nutrición con distintos fines como el cálculo de formulaciones en la elaboración de nuevos productos y dietas, planificación de programas de alimentación y consultas de investigación entre otros.

Los alimentos de origen animal contienen vitamina A (Retinol) y los alimentos de origen vegetal **NO CONTIENEN VITAMINA A** pero contienen su precursor, **LOS CAROTENOS**, de ellos el **BETA-CAROTENO** es el más importante, ya que posee la actividad vitamínica más alta y es el más abundante en la dieta humana pudiéndose transformar en el organismo en vitamina A en una relación 2:1 .

El Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán desde 1945 ha publicado las tablas de Valor Nutritivo de los Alimentos Mexicanos y recientemente en los laboratorios del Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos de dicho instituto se han actualizado las tablas determinando distintos nutrimentos en diferentes grupos de alimentos.

Por lo anterior es importante y se justifica continuar con la actualización de las tablas del (I.N.N.S.Z) llevando a cabo la determinación de Beta-caroteno en alimentos de origen vegetal con métodos modernos y confiables que brinden rapidez y versatilidad en el análisis para cada tipo de muestras seleccionadas como lo es la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (CLAR / HPLC).

* Cromatografía Líquida de Alta Resolución (CLAR) corresponde a las siglas en inglés HPLC / High Performance Liquid Chromatography.

1.2 OBJETIVO

Determinar el contenido de Beta-caroteno en alimentos de origen vegetal como verduras, leguminosas y raíces seleccionadas de las tablas de Valor Nutritivo de los Alimentos Mexicanos del Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán utilizando la técnica Cromatografía Líquida de Alta Resolución para la actualización del contenido de caroteno en dichos alimentos.

1.3 HIPOTESIS

Si los últimos valores de vitamina A (mcg Eq. de Retinol) en alimentos de origen vegetal informados en las tablas del I.N.N.S.Z. presentan diferencias comparándolos con los valores informados en otras tablas como las originales de CRAVIOTO & MASSIEU, las del Instituto de Centro América y Panamá (I.N.C.A.P) y las del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (U.S.D.A), es posible pensar que estas diferencias se deban al método empleado para su determinación, por lo que es necesario actualizar dichos valores utilizando técnicas confiables, versátiles y modernas como HPLC (High Performance Liquid Chromatography / Cromatografía Líquida de Alta Resolución).

C A P I T U L O I I

A N T E C E D E N T E S

2.1 VITAMINAS

Uno de los logros más meritorios de la bioquímica ha sido el descubrimiento de las vitaminas, así como el análisis de sus propiedades y funciones en el metabolismo. Las vitaminas son compuestos orgánicos absolutamente indispensables para la existencia, las diversas vitaminas difieren por completo desde el punto de vista químico, pero se parecen por el hecho de que no pueden ser sintetizadas por el hombre, por lo tanto, tienen que estar presentes en el régimen alimenticio, incluso en pequeñas cantidades. Hay dos grupos de vitaminas:

- 1.-VITAMINAS LIPOSOLUBLES: A, D, E y K.
- 2.-VITAMINAS HIDROSOLUBLES: C y COMPLEJO B.

En un principio se desconoció la naturaleza de estas sustancias hasta que en 1907, E.V.McCOLLUM (11) aisló una sustancia que encontró presente en la yema de huevo, en el aceite de hígado de pescado y en la mantequilla y la llamó "Compuesto biológicamente activo y soluble en grasa A", a partir de dicho descubrimiento, otros grupos de investigadores se abocaron al estudio de las vitaminas. Al contrario de las sustancias nutritivas que sirven al organismo como materiales de construcción y sustancias de almacenamiento, las vitaminas cumplen funciones catalíticas. Su intervención facilita la formación y la eliminación de las principales sustancias alimenticias y dirige así el metabolismo. Si el organismo dispone de una o varias vitaminas en cantidad insuficiente o no dispone de ellas, conduce a trastornos en el rendimiento, inhibición del crecimiento y enfermedad, trastornos en la reproducción y mayor susceptibilidad a las enfermedades infecciosas y parasitarias. A este cuadro presentado de carencias y trastornos se le llama AVITAMINOSIS.

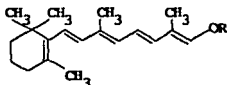
También existe la HIPOVITAMINOSIS, ocasionada por la

administración insuficiente de una sola o varias vitaminas, se manifiesta con síntomas como:

-Alteraciones de la piel, vitalidad reducida y disminución de la resistencia a las enfermedades infecciosas.

Otro problema relacionado con las vitaminas es la **HIPOVITAMINOSIS LATENTE**, o sea, estados en que el individuo en condiciones normales del medio ambiente no presenta síntomas carenciales, pero con una tensión repentina del organismo puede presentar directamente los síntomas. (11,14)

2.2 VITAMINA A



La vitamina A (Retinol), en un sentido estricto es un alcohol aunque en la naturaleza se presenta principalmente como éster de ácido graso. Este alcohol muestra un espectro de absorción ultravioleta muy característico, que consiste en una banda de absorción con un máximo a 325 nm. La vitamina A es un sólido cristalino amarillo pálido, con un punto de fusión de 63 a 64°C, es inestable a la luz, oxígeno y altas temperaturas, es insoluble en agua, soluble en alcohol y muy soluble en éter, cloroformo y acetona así como en grasas y aceites. Debido a su inestabilidad, debe almacenarse en recipientes opacos, herméticamente cerrados en los que el aire haya sido desplazado por un gas inerte. Como formas comerciales se emplean principalmente el acetato y el palmitato de vitamina A. Esta vitamina se encuentra como tal sólo en materiales animales como leche, hígado de cerdo, huevo y en ciertos aceites del hígado de pescado como bacalao, atún y tiburón. (12,14)

2.2.1 METABOLISMO

Los ésteres de vitamina A provenientes de los alimentos son hidrolizados por enzimas pancreáticas o intestinales a retinol y ácidos grasos. Posteriormente son absorbidos a través del lumen del tracto gastrointestinal en forma de micela.

En el epitelio, el retinol es nuevamente esterificado con ácidos de cadena larga y transportado en forma de quilomicrones a la sangre vía linfática. Finalmente se almacena en el hígado principalmente como palmitato de retinol. Cuando la vitamina A se necesita en el organismo para desarrollar alguna función es movilizada y transportada a los tejidos por medio de una proteína transportadora especial llamada RBP.

El complejo RBP-Retinol forma un agregado proteínico con una fracción prealbúmina del plasma, la prealbúmina que rodea una molécula de tirosina. Se ha informado que grandes cantidades de retinil ésteres unidos a lipoproteínas circulantes en la sangre pueden provocar daños en las membranas celulares. Esto explica parcialmente los síntomas de toxicidad que se observan al consumir altas dosis de vitamina A. El complejo RBP funciona como transportador de retinol y al mismo tiempo ejerce un efecto protector sobre las membranas celulares del organismo. Es importante mencionar que si existe deficiencia de esta proteína la relación de vitamina A en el organismo se verá afectada. (12) (Figura 1)

2.2.2 FUNCION DE LA VITAMINA A Y RELACION CON LAS ENFERMEDADES

La vitamina A se encuentra en el tejido animal en tres formas:

- Retinol
- Retinal (Retinaldehído)
- Acido retinoico

La vitamina A tiene diversas funciones como:

-Interviene en la formación de las células del tejido epitelial, el cual cubre toda la superficie expuesta o conectada al exterior del cuerpo, incluyendo el lineamiento del tracto digestivo, tracto urinario, uretra y varios conductos como el ducto pancreático, el ducto biliar y la piel, promoviendo la secreción normal de mucosidad por medio de algunas de estas células. Entonces la barrera que protege el cuerpo de la invasión de bacterias y virus depende de la administración adecuada de vitamina A dentro de la dieta.

-Participa en ciertas transformaciones de la esterina; de aquí que su carencia tenga efecto en el metabolismo de las hormonas sexuales inhibiendo la capacidad de procreación.

-Promueve el crecimiento y desarrollo de los huesos.

-Interacciona con la vitamina E para regular la estabilidad biológica de las membranas.

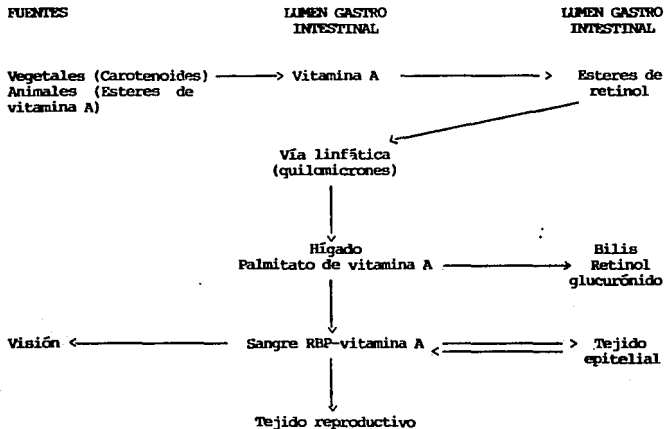
-Interviene en la conservación de la placenta.

-Interacciona con la función de la tiroide.

-Desempeña un papel muy importante en el proceso de la visión:

La vitamina A participa en la formación del púrpura visual (rodospina), que es el receptor de la luz para la visión con poca intensidad de luz. Al llegar la luz a la retina la rodospina se desintegra en la parte exterior de los bastoncillos en sus componentes, opsina (una proteína) y aldehído de vitamina A "todo-trans-retineno". Al combinarse la opsina con el aldehído de neo-b-vitamina A (neo-b-retineno) se regenera la púrpura visual y de este modo la sensibilidad a la luz se renueva constantemente. Dicho de otra forma, detrás del ojo, en la retina, hay miles de estructuras llamadas "bastoncillos" que son responsables de la habilidad para ver en la oscuridad y "conos" que funcionan en la percepción de los colores. Los bastoncillos están envueltos junto con un pigmento visual llamado "rodospina" el cual está compuesto de vitamina A y una proteína (opsina). Cuando la luz llega al

bastoncillo la rodospina se separa en sus componentes generando un impulso al nervio que viaja al centro del sistema visual del cerebro. Mientras más intensa es la luz en el bastoncillo, más intensamente se genera el impulso. Al recibir estos impulsos en el ojo, el cerebro puede acomodarlos dentro de un cuadro visual. (12,14,22) (Figuras 2 y 3)



REP (Proteína transportadora de Retinol)

Figura 1

Principales rutas metabólicas de vitamina A

Fuente: Elias P.A. y Bergardi I. (1981) (12)
Gómez, D. (1984)

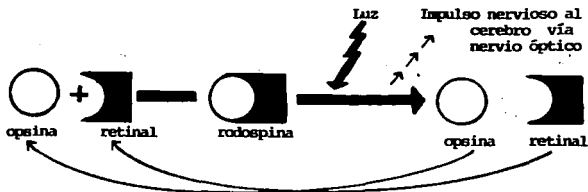


Figura 2

El proceso visual

Fuente: William L. Sheider (1983) (22)

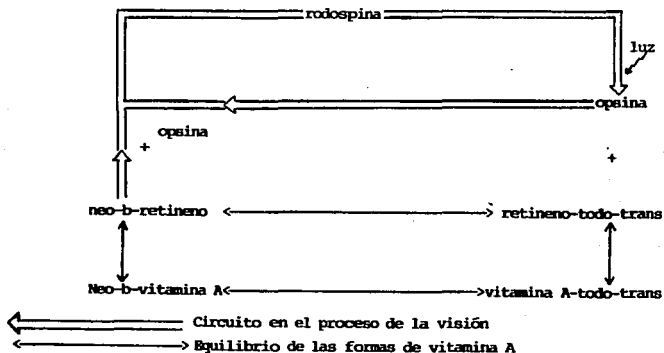


Figura 3

Vitamina A y el proceso de la visión
(Según WALD)

Fuente: F.Hoffman-La Roche & Cia. (1972) (14)

HIPOVITAMINOSIS A, SINTOMAS CARENCIALES

Los síntomas de carencia de vitamina A pueden resumirse en los siguientes grupos:

1.-Síntomas que se deben a un trastorno del proceso normal de la visión, los cuales pueden dividirse en:

A.-EFECTOS EN LA RETINA, la débil adaptación a la obscuridad es el signo más constante. Esto puede relacionarse con el nivel de retinol en la sangre y responde favorablemente a terapias.

B.-XEROFTALMIA, enfermedad degenerativa y secante de la córnea, hay diferentes niveles de gravedad, dependiendo de la edad y otros factores del medio ambiente, existen dos etapas:

-XEROSIS.-Se presenta una enfermedad en la conjuntiva, en los niños aparece como una arruga espesa, esto rara vez responde a terapias y puede extenderse hasta la córnea.

-KERATOMALACIA.-En esta etapa la córnea se ablanda en forma discreta o general, inevitablemente llega hasta el iris presentándose su envolvimiento, seguido por una infección secundaria.

2.-Síntomas que consisten en alteraciones de la piel o mucosas y de su función protectora del epitelio. La queratinización de la piel (piel de sapo) es atribuida a la deficiencia de vitamina A, apareciendo más tarde una deficiencia de algún ácido graso esencial.

3.-Síntomas causados por el crecimiento anómalo de los huesos.

4.-Síntomas causados por un mal aprovechamiento de los alimentos, por ejemplo, crecimiento lento y pérdida de peso. (14,16)

Algunas enfermedades reducen el nivel de vitamina A en el plasma, por ejemplo:

Daños en el hígado, daños en los riñones, mala nutrición y mala absorción.

Los investigadores KORNER & VOLM (16) y más adelante BAUERFEIND encontraron informes de casos relacionados con la vitamina A, en los cuales se presentan signos adversos, los signos usuales son:

-Despellejamiento

-Piel rojiza

-Disturbios en el crecimiento del cabello y pérdida de su brillo

-Pérdida de apetito

La hipovitaminosis A puede aparecer en el caso más sencillo por un tipo de alimentación insuficiente o desequilibrada. Pero en la mayoría de los casos, las causas radican en un aumento de las necesidades normales, como consecuencia de exigencias especiales del organismo, como por ejemplo, el crecimiento, el embarazo y la lactancia, las enfermedades infecciosas, los trastornos de la absorción por enfermedades gastrointestinales, la inhibición de la flora intestinal por antibióticos y la convalecencia. La sustitución se hará en tales casos con ciertas vitaminas especiales o bien con un polivitamínico. (Tabla 1)

Por estas razones existen recomendaciones para el consumo de vitamina A, según la edad, el sexo, el estado físico y nutricional de cada individuo. (Tabla 2) (14)

DEBIDO A	CAUSADO POR
Deficiencia alimenticia primaria	.Pérdidas en el almacenamiento de alimentos .Fallas corporales
Disminución en el consumo de alimentos	.Pobreza .Ignorancia .Disminución del apetito .Apatía .Prohibiciones alimenticias y las creencias .Malestares durante el embarazo .Problemas dentales .Enfermedades crónicas
Incremento de requerimientos	.Actividad física acelerada .Infecciones intestinales .Embarazo .Lactancia .Terapia médica .Desbalance vitamínico .Crecimiento acelerado
Disminución de la absorción	.Enfermedad de absorción defectuosa .Infecciones parasitarias .Enfermedades malignas
Pérdidas incrementadas	.Sudor excesivo .Diuresis .Al alimentar a un lactante

Tabla 1

CAUSAS DE LA INGESTION INADECUADA DE VITAMINAS

Fuente: John, M. (1988) (17)

EDAD meses y años cumplidos	PESO TEORICO (kg) a	RETINOL (mcg Eq) b
NIÑOS AMBOS		
SEXOS		
0 - 3	-	500
4 - 11	-	500
12 - 23	10.6	500
2 - 3	13.9	500
4 - 6	18.2	500
7 - 10	26.2	500
ADOLESCENTE		
MASCULINO		
11 - 13	39.3	1000
14 - 18	57.8	1000
ADOLESCENTE		
FEMENINO		
11 - 18	53.8	1000
HOMBRES		
18 - 34	65.0	1000
35 - 54	65.0	1000
55 y más	65.0	1000
MUJERES		
18 - 34	55.0	1000
35 - 54	55.0	1000
55 y más	55.0	1000
EMBARAZADAS	-	1500
LACTANTES	-	1500

a Pesos para la edad central del período.

b 1 mcg Eq de Retinol es igual a 1 mcg de Retinol, a 9 mcg de caroteno ó 3 Unidades Internacionales (UI) de actividad de Retinol.

Tabla 2

Recomendaciones para el consumo de nutrimentos
(Para individuos normales con la dieta en las
condiciones de México)

Fuente: Bourges H.,Chávez A. (1987) (13)

TOXICIDAD

Mucha gente consume cantidades de vitamina bajo la impresión de que éstas son sustancias esenciales y naturales para el cuerpo, siendo también componentes de los alimentos y por lo tanto no pueden ser tóxicas.

Dos vitaminas en particular A y D son suficientemente tóxicas en grandes dosis, éstas dosis deben ser limitadas para la gente que toma complementos vitamínicos.

Los niveles necesarios para producir efectos adversos varían dependiendo de la edad, tamaño del cuerpo y duración de la sobredosis.

Cuando se presenta una intoxicación por exceso de vitamina A, se manifiestan síntomas como:

-Fatiga, aletargamiento, insomnio, dolor de cabeza, náuseas, vómito, pérdida de apetito y pérdida de peso, en adición con dolor de huesos, coyunturas, pérdida de cabello, resequedad, comezón en la piel, constipación y menstruación irregular.

El exceso de vitamina A a menudo causa un incremento del fluido craneal, llevando con esto a una elevación de la presión intracraneal y síntomas parecidos a los de un tumor craneal.

La sobredosis en los niños produce muchos de estos síntomas y afectan el crecimiento de los huesos así como su desarrollo, en algunos casos una pierna ha sido vista crecer 1 ó 2 pulgadas más que la otra; exceptuando los cambios en los huesos, los síntomas son reversibles una vez que el exceso ingerido comienza a disminuir.

Los carotenoides, precursores de la vitamina A, no son tóxicos ya que el organismo no los puede convertir en vitamina A tan rápido como para causarle daño, sin embargo, se acumulan en el

cuerpo produciéndole una coloración amarillenta en la piel, esta coloración desaparece cuando el exceso de vitamina disminuye.

Debe quedar claro que las vitaminas no poseen propiedades milagrosas y su exceso no trae beneficios, desde que las vitaminas fueron descubiertas han sido prescritas y recetadas para corregir una gran variedad de desórdenes en un margen muy amplio de las enfermedades humanas, siempre con vigilancia médica y por períodos de tiempo determinados. (22)

2.3 CAROTENOIDES

Los carotenoides son un grupo numeroso de pigmentos que han sido asociados a los alimentos de origen vegetal que presentan coloraciones que van desde el amarillo-naranja al púrpura y se conocen como PRECURSORES DE VITAMINA A.

Son insolubles en agua aunque se disuelven en grasas y disolventes orgánicos, se les clasifica, en consecuencia, como pigmentos lipocromos.

Los carotenoides no poseen actividad intrínseca de vitamina A por sí mismos, pero se convierten en vitamina A mediante reacciones enzimáticas en la mucosa intestinal y en el hígado.

Los pigmentos carotenoides son de dos tipos:

1.-CAROTENOS:

Alfa-caroteno

Beta-caroteno

Licopeno

El BETA-CAROTENO es el representante más importante, ya que una molécula de Beta-caroteno forma dos moléculas de vitamina A, el Alfa-caroteno tiene solo la mitad del valor de vitamina A del Beta-caroteno.

2.-XANTOFILAS:

Luteína

Criptoxantina

Zeaxantina

La Criptoxantina forma una molécula de vitamina A mientras que la Zeaxantina y la Luteína NO TIENEN VALOR DE VITAMINA A.

2.3.1 FUENTES

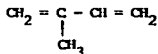
Se encuentran en las hojas de los vegetales superiores, junto con la clorofila, así como en otras partes de las plantas, se les encuentra en la zanahoria Daucus carota (de donde se derivó su nombre), también se encuentran en las frutas

cítricas, cáscaras de plátano, calabaza, pimentón y muchos otros. Constituyen también los pigmentos principales de ciertas flores amarillas, anaranjadas y rojas, así como de numerosos microorganismos como algas rojas y verdes, algunas levaduras, hongos y bacterias fotosintéticas, también se les encuentra en todos los animales, mientras que las plantas y los microorganismos sintetizan sus carotenoides, los que se encuentran presentes en los tejidos de los animales superiores se derivan de fuentes alimenticias. Los productos alimenticios de origen animal, tales como leche, mantequilla, yema de huevo, peces y mariscos, contienen carotenoides dispersos en los componentes lipídicos. (3,4,6)

2.3.2 ESTRUCTURA

El caroteno se extrajo por primera vez de las zanahorias en 1831 por Wackenroder (4) pero Karrer (4) estableció definitivamente su estructura en 1930. Los carotenoides pertenecen a la clase de los "polienos" o sea, que son cadenas largas con dobles ligaduras conjugadas. La presencia de muchas de estas ligaduras conjugadas explica el color intenso de los carotenoides que van desde el amarillo al rojo y al púrpura.

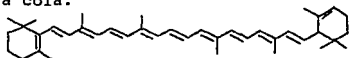
La segunda consideración que debe tomarse en cuenta, es su naturaleza isoprénica lo cual indica que están constituidos en base a unidades de isopreno:



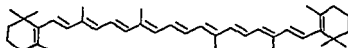
Isopreno

Los carotenoides tienen la característica de poseer un esqueleto bilateralmente simétrico de cuarenta átomos de carbono, cada mitad está constituida por cuatro unidades isoprénicas unidas

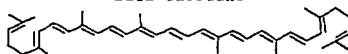
cabeza a cola, estas dos mitades de C_{20} también se hallan unidas cabeza a cola.



alfa-caroteno

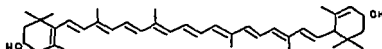


beta-caroteno

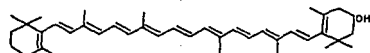


licopeno

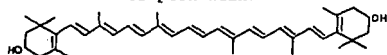
Las xantofilas pueden ser consideradas como derivados oxigenados de los hidrocarburos carotenoides (carotenos):



luteína



criptoxantina

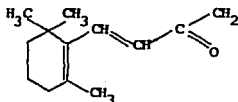


zeaxantina

El estado físico de los carotenoides en la naturaleza varía según la fuente, en las zanahorias y en la mayor parte de las hortalizas de raíz, los carotenoides se hallan en solución de gotitas de aceite, en las hojas se encuentran combinados con proteínas. No se conoce con exactitud la naturaleza de la unión entre la proteína y el pigmento, la coloración del complejo no depende únicamente de la fracción de carotenoide, sino también de la parte proteica y la naturaleza de la unión entre los dos componentes. Sucede así, que pueden observarse colores que no suelen apreciarse en los carotenoides como el azul y el negro.

2.3.3 DEGRADACION

Debido a su naturaleza altamente insaturada, los carotenoides tienen tendencia a oxidarse rápidamente, particularmente en las dobles ligaduras. Existen indicios en cuanto a que la oxidación y subsiguiente desintegración de los carotenoides se inicia en un extremo de la molécula y que no ocurre al azar; el proceso siempre ocurre en el extremo abierto antes que en el anillo terminal de ionona. A medida que se saturan las dobles ligaduras y se rompen, el color de los carotenoides va desapareciendo. Así, la destrucción final de Beta-caroteno resulta en la formación de ionona, una cetona con olor a violetas:



Beta-ionona

Los carotenoides son mucho más estables a la oxidación en su forma natural que en los sistemas puros. El factor individual más importante en la oxidación de los carotenoides es la presencia de oxígeno y reactivos fuertemente oxidantes. La destrucción es más rápida a temperaturas altas pero en ausencia de aire los carotenoides pueden soportar temperaturas relativamente elevadas. (4,8)

2.3.4 FUNCIONES DE LOS CAROTENOIDES

Durante mucho tiempo se consideró a los carotenoides, al igual que muchos otros productos secundarios, como sustancias de

desecho de los vegetales. Los carotenoides son sintetizados continuamente y específicamente incorporados a la estructura del aparato fotosintético.

Recientemente se ha demostrado que en ausencia de pigmentos carotenoides se destruye rápidamente el aparato fotosintético por fotooxidación, catalizada por la clorofila. Una de las funciones principales de los carotenoides parece ser la de fotoprotección es decir, la protección de las células y tejidos contra los efectos dañinos de la luz. Se ha observado este efecto no sólo en plantas verdes sino también en microorganismos, en los animales y en el hombre.

De la gran variedad de colorantes naturales de origen vegetal los carotenoides son sin duda el grupo más importante por su amplia variedad y extensas aplicaciones. Desde que el hombre se ocupa de la elaboración y manipulación de productos alimenticios, se "colorean" los alimentos. El consumidor se acostumbró tanto al aspecto de determinados productos alimenticios coloreados, que algunos ahora ya no se comprarían en su estado natural, sin la adición de colorantes.

Los carotenoides más utilizados en la industria alimentaria son:

Bixina
Beta-caroteno
Luteína
Cantaxantina

Tienen gran aplicación en productos lácteos, mayonesa y aderezos, en sopas deshidratadas y productos de confitería. Tradicionalmente se han utilizado carotenoides de manufactura sintética, idénticos estructuralmente a los naturales; sin embargo, en los últimos años se está recurriendo a su obtención a partir de fuentes naturales con objeto de reducir los costos de los productos, por ejemplo:

BIXINA: Del vegetal Bixa orellana, generalmente conocido como "achiote", la bixina es comunemente llamada "annato", se encuentra cubriendo la semilla en conjunto con otros colorantes como el Beta-caroteno, croptoxantina y xantofilas.

Su estabilidad a la temperatura y a la luz son excelentes al contrario de otros carotenoides.

LUTEINA: Es extraída principalmente de la flor de cempasúchil, en donde se encuentra esterificada con ácidos grasos como el láurico. Su estabilidad es baja por efecto de la temperatura así como por la acción de la luz. Se utiliza como sustituto de los amarillo 5 y 6.

CANTAXANTINA: Es un carotenoide dicetónico que en su forma natural se encuentra en algunos vegetales como el jitomate, su poder tintóreo es muy alto y su color es rojo brillante. Comercialmente se puede obtener el producto sintético, idéntico al natural, sin embargo, su utilización ha decrecido por su alto costo. Su resistencia tanto a la luz como al tratamiento térmico es bastante buena, lo cual la hace ideal para su aplicación en sopas deshidratadas. Debido al tono que imparte, se emplea en la coloración de productos a base de jitomate o para imitar el color de éste en aderezos y bases deshidratadas para ensaladas, por otro lado, también se le utiliza en la coloración de productos cárnicos como embutidos, en concentraciones del 0.001 al 0.02% dependiendo del tipo de aplicación.

CROCETINA: Se obtiene a partir de los estambres y estigmas secos del vegetal Crocus sativus, conocido como "azafrán", se presenta como polvo café rojizo. Es soluble en agua gracias a la presencia de grupos carboxilo, su estabilidad a la luz y a la temperatura es moderada por su cadena insaturada.(3,16,21)

2.3.5 CONSIDERACIONES LEGALES

Muchas compañías multinacionales necesitan colorantes con una gran variedad de tonalidades y propiedades, para cubrir sus diversas necesidades. Es muy importante que su uso esté aprobado por el gobierno del país en donde se utiliza. Los colorantes

alimenticios permitidos varían de un país a otro, por esta razón muchas empresas se enfrentan con problemas al querer introducir sus productos a otro país ya que no están al día en los cambios realizados dentro de los reglamentos correspondientes.

En México, la LEY GENERAL DE SALUD (19) en el título noveno marca: Art. 690.- Se entiende como colorante, la sustancia obtenida de los vegetales, animales o minerales, o por síntesis empleada para impedir o acentuar el color en alimentos y bebidas; comprende los siguientes:

- I. Colorantes orgánicos naturales, los de origen vegetal o animal;
- II. Colorantes orgánicos sintéticos, y
- III. Colorantes minerales.

Art. 691.- No se consideran como colorantes orgánicos naturales, a los alimentos que impartan color propio ya sean solos o mezclados con otros alimentos.

Art. 692.- Los colorantes orgánicos naturales permitidos son los siguientes:

- I. Aceite de zanahoria (*Daucus carota*, L.);
- II. Achiote, annato (extracto de semillas de *Bixa orellana*);
- III. Azafrán (estigmas de *Crocus Sativus* L.);
- IV. Beta-apo-8'-carotenal;
- V. Betabel deshidratado;
- VI. Beta-caroteno;
- VII. Caramelo;
- VIII. Clorofila;
- IX. Cochinilla (extracto de *coccus cacti*, L., o carmín);
- X. Cúrcuma (polvo y óleo resina del rizoma de *Cúrcuma longa*, L.);
- XI. Extracto de turgumento de uva (Enocianina);
- XII. Harina de semilla de algodón, cocida, tostada y prácticamente desgrasada;
- XIII. Jugos de fruta;
- XIV. Jugos de vegetales;
- XV. Pimiento;
- XVI. Pimiento óleo-resina;

XVII. Riboflavina;

XVIII. Xantofilas; flavoxantina, rubixantina, zeaxantina y los productos naturales aprobados que las contengan, y

XIX. Otros que determine la Secretaría.

Art. 695.-Se permite la mezcla de colorantes entre sí, para obtener determinadas tonalidades cromáticas, siempre y cuando no constituyan un riesgo para la salud. (3,19)

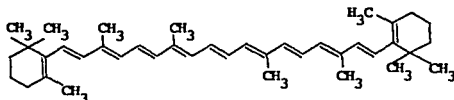
2.3.6 VENTAJAS DEL USO DE CAROTENOIDES COMO COLORANTES EN ALIMENTOS

- 1.-Proporcionan colores y tonalidades muy similares a los naturales.
- 2.-Algunos de ellos pueden actuar como fuente de vitamina A, como el caso del Beta-caroteno.

2.3.7 DESVENTAJAS DEL USO DE CAROTENOIDES COMO COLORANTES EN ALIMENTOS

- 1.-En algunos casos sus costos son más altos que en los colorantes sintéticos.
- 2.-En general son sensibles a la luz, temperatura y oxígeno lo cual limita sus aplicaciones.
- 3.-Al contrario de los colorantes artificiales, requieren almacenarse bajo condiciones de humedad y temperatura controladas. (3)

2.4 BETA - CAROTENO



Fórmula empírica

C₄₀ H₅₆

Peso molecular

536.9

Descripción

Polvo cristalino, pardo rojizo o violeta obscuro.

Solubilidad

Insoluble en agua y glicerina, muy difícilmente soluble en alcohol y aceites (0,05 - 0,8%) difícilmente soluble en éter y acetona, poco soluble en cloroformo.

Punto de fusión

176 - 182 °C

Estabilidad

Sensible a la luz, oxígeno y ácidos. Por lo tanto deben almacenarse en recipientes opacos, de cierre hermético donde el oxígeno haya sido desplazado por un gas inerte (por ejemplo nitrógeno). (14,15)

2.4.1 USOS DEL BETA-CAROTENO

Se utiliza principalmente en aceites, grasas, mantequilla, margarina y otros productos lácteos, en bebidas carbonatadas, helados y productos horneados, así como para sustituir al amarillo 5 y 6 en jugos de fruta mejorando su color e incrementando su turbidez.

También se aplica en pastas, sopas y salsas para mejorar la coloración de la grasa.

En general las dosis de uso varían desde 0.001% hasta 0.1% (4)

2.4.2 OBTENCION

Su obtención puede hacerse a partir de una síntesis química o bien se extrae de una fuente natural como el aceite de palma, en donde se encuentra en una concentración del 63.0%, este segundo método de extracción es menos costoso que su contraparte sintética. En forma comercial se encuentra como:

- Suspensión con un 30.0% de Beta-caroteno.
- Suspensión semisólida con un 24.0% de Beta-caroteno.
- Polvo con una concentración del 10.0% de Beta-caroteno.
- Emulsión con un 3.0% de Beta-caroteno. (4,6)

2.4.3 METODOS DE DETERMINACION

En medios de composición sencilla, puede determinarse por medición de la absorción de la luz en el espectro visible. En medios complejos, naturales (alimentos), está combinado con otros carotenoides, éstos tienen poca o ninguna actividad de vitamina

A, pero suelen presentar un espectro de absorción similar al del Beta-caroteno, de modo que este sólo puede determinarse después de la separación de los demás carotenoides con procedimientos adecuados como la CROMATOGRAFIA. (4)

2.4.4 FUNCIONES FISIOLÓGICAS

El Beta-caroteno actúa como precursor de la vitamina A y para su transformación en dicha vitamina, que se realiza principalmente en la pared del intestino, se discuten hoy en día los posibles caminos:

-Por un lado, la disociación en el centro de la molécula de Beta-caroteno con el cual pueden formarse teóricamente dos moléculas de vitamina A. Por otra parte, la desintegración escalonada del Beta-caroteno desde un final de la molécula pasando por el Beta-apo-8-carotenal (C_{30}) y su ácido como etapas intermediarias. En el hombre el promedio de absorción de carotenos, de diferentes fuentes alimenticias, se estima aproximadamente en 1/3 de la cantidad ingerida. Es importante señalar que la cantidad absorbida de carotenos y su utilización global se reduce a una molécula de retinol correspondiente a una molécula de Beta-caroteno. (14)

2.5 VERDURAS, RAICES Y LEGUMINOSAS

Las verduras son ricas en minerales y **VITAMINAS**; las verduras delgadas y de hojas verde oscuro son ricas en hierro, riboflavina, ácido ascórbico y **CAROTENOS** siendo también una buena fuente de tiamina. El pH de cierto número de verduras fluctúa entre 5.0 y 5.6, las papas y los chícharos tienen un pH más elevado, entre 6.1 y 6.3, las verduras son apreciadas por su textura, su sabor y su color y deben almacenarse de tal forma que conserven estas características.

El Beta-caroteno en las verduras crudas se localiza en los cromoplastos, en las zanahorias el pigmento altamente concentrado se deposita como cristales en una variedad de formas por todo el citoplasma de las células. Una breve exposición al agua hirviendo ocasiona que el Beta-caroteno se disuelva en los lípidos apareciendo como gotitas cerca de la superficie de la célula. En esta forma, un cambio en el estado físico del pigmento explica el cambio inicial del color.

Las leguminosas aportan el 20% de la proteína alimenticia consumida en todo el mundo. Como grupo las leguminosas contienen aproximadamente dos veces más proteína que los cereales, aportan vitamina B₆, ácido pantoténico, biotina y otras vitaminas del complejo B.

El ácido ascórbico está ausente en las leguminosas y el valor de vitamina A es casi nulo, la mayoría de las especies de leguminosas contienen cantidades pequeñas de carotenos. No obstante, existen diferencias entre las especies y dentro de ellas, según el color y la variedad.

Los valores de muchas leguminosas son del orden de 50 a 300 Unidades Internacionales de vitamina A por 100 gramos. Es posible que las leguminosas en fresco, por ejemplo los chícharos de huerta, desarrollen una actividad de vitamina A que exceda

considerablemente de la cifra citada. La piel roja del cacahuete contiene algo de caroteno que es asimilable para el consumidor cuando ésta leguminosa se consume después de haber sido asada entera, pero la semilla descortezada queda privada de caroteno.

Las verduras de hojas verde oscuro y las verduras de color amarillo intenso son sobresalientes por su contenido de caroteno. Cuando el color es pálido son fuentes más pobres, aunque las hojas exteriores de la lechuga pueden contener 30 veces más provitamina A que las hojas pálidas del interior.

2.6 TABLAS DE VALOR NUTRITIVO DE LOS ALIMENTOS MEXICANOS DEL INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICION

Las tablas del I.N.N.S.Z. ofrecen una serie de valores en cuanto a la composición de distintos alimentos, la mayoría de dichos valores fueron obtenidos en los laboratorios del I.N.N.S.Z.

Se tomaron como base los trabajos realizados en los laboratorios del Antiguo Instituto de Nutriología de México, por los investigadores R.CRAVIOTO, G.MASSIEU, J.GUZMAN y otros (9), los que fueron complementados o modificados de acuerdo a nuevos análisis realizados en los laboratorios del I.N.N.S.Z. y a la vez en otras publicaciones.

Los alimentos cuyos valores nutritivos se presentan en las tablas corresponden a los de mayor consumo y por lo tanto los encontrados frecuentemente en las encuestas.

Se han hecho correcciones y ampliaciones, ya que la tabla fué revisada y corregida de acuerdo a las publicaciones internacionales.

2.6.1 TERMINOS Y OBSERVACIONES

La porción comestible de los alimentos es muy variable, las cifras de las tablas son promedios de varias observaciones.

100 gramos de porción comestible del alimento es igual al peso neto.

Las tablas se utilizan solo cuando no se tienen datos del caso específico y se piensa que la variedad y la forma de consumo es semejante a la del resto del país.

Los valores que se presentan son de los alimentos en crudo y es

diferente a los valores de los alimentos cocinados.

Las diferencias se deben a modificaciones en la hidratación, ya que algunos alimentos aumentan de peso con la cocción como es el caso del frijol, que aumenta tres veces su peso y otros reducen su peso como el caso de la carne.

También hay modificaciones por la pérdida de algunas vitaminas por efecto del calor o de la difusión al medio líquido.

Para utilizar las tablas es necesario definir los siguientes términos:

- 1.-Peso bruto: Es el peso del alimento tal como se obtiene en el mercado.
- 2.-Peso neto: Porción del alimento utilizable, libre de partes no comestibles como semillas, huesos, cáscaras, pellejos, etc; según el tipo de alimento.

2.6.2 CALCULO DE LA COMPOSICION DE LOS ALIMENTOS

Convertir a peso neto descontando la porción comestible o multiplicar el peso bruto por el factor anotado en las tablas (porción comestible).

Multiplicar el resultado por el valor de cada nutrimento y dividir entre 100.

Tanto la vitamina A como los carotenos se presentan en microgramos equivalentes de Retinol (mcg Eq.), por lo tanto pueden sumarse entre si.

1 mcg Eq. de Retinol = 1 mcg de Retinol (vitamina A pura) = 3,3 Unidades Internacionales (UI) de vitamina A performada ó a 9 mcg de una mezcla de diversos carotenos. (13)

2.7 CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA RESOLUCION

Cuando los componentes individuales de una muestra se parecen en las propiedades físicas o químicas aumenta la dificultad de separación y la eliminación de interferencias, por esta razón en química y biología es necesario frecuentemente:

Separar, aislar, purificar e identificar los componentes de muestras complejas.

El método más usual para tratar una interferencia consiste en la separación física del componente de interés con técnicas como:

Destilación, disolución, precipitación y cromatografía, ésta última actualmente es muy utilizada pudiendo conseguir así una magnífica separación.

Literalmente la palabra Cromatografía quiere decir "escribir en color" y puede definirse como:

Método utilizado para la separación de los componentes de una muestra, en la cual, los componentes se distribuyen en dos fases, una de las cuales es estacionaria, mientras que la otra se mueve.

La fase estacionaria puede ser un sólido, un líquido retenido sobre un gel o un gel.

La fase móvil puede ser un líquido o un gas.

La separación en Cromatografía no tiene que ver con la coloración de los componentes, sino con la afinidad de adsorción de los componentes hacia la fase estacionaria. Los compuestos que

adsorben más débilmente avanzan con mayor rapidez a lo largo de la columna.

Para que exista la Cromatografía se necesitan tres factores principales:

- 1.-Fase móvil
- 2.-Fase estacionaria
- 3.-Solute

La Cromatografía como tal NO ES UN METODO DE IDENTIFICACION, es un METODO DE SEPARACION FISICO. Separa compuestos orgánicos, inorgánicos, iónicos o covalentes.

La Cromatografía Líquida es en esencia, como todos los métodos cromatográficos, un método separativo. Así, el lugar donde se produce la separación, "LA COLUMNA", puede considerarse el corazón del sistema alrededor del cual se monta un equipo de mayor o menor complejidad.

En el caso más simple, el cromatógrafo de líquidos está constituido por:

- 1.-Reservorio del solvente, que alimenta al sistema con la fase móvil.
- 2.-Inyector, es el sistema que permite la introducción de la muestra.
- 3.-Bomba, es el sistema que permite forzar el paso de la muestra y la fase móvil a través de la columna.
- 4.-Detector, sistema de monitoreo de la solución que emerge de la columna.
- 5.-Sistema de registro, de los datos procedentes del detector.

Como resultado del análisis cromatográfico se obtienen siempre dos productos:

- a.-Cromatograma, gráfico que relaciona la concentración del soluto en función del tiempo de elución.
- b.-Eluido, proveniente de la columna que, de recolectarse en forma secuencial o escalonada, manualmente o con recolector

de fracciones, contiene la fase móvil e, idealmente, los componentes de la muestra separada. (1,10,20)

2.7.1 BASES DE LA SEPARACION

Cuando la muestra y la fase móvil son forzadas a atravesar la fase estacionaria, entran en juego distintos tipos de interacción (hidrofílica, puentes de hidrógeno, dipolares, electrostáticas) entre cada uno de los componentes, estos tipos de interacción son los responsables de la mayor o menor afinidad de cada uno de los componentes de la muestra por la fase móvil o la fase estacionaria. El componente más afín a la fase estacionaria se retiene más y tarda más en eluir (salir) de la columna y el componente más afín a la fase móvil se retiene menos y eluye antes. (20)

2.7.2 SOLVENTES

La fase móvil en HPLC cumple un papel fundamental ya que puede por sí misma modificar completamente la selectividad de las separaciones, por ello, en HPLC es posible lograr un número muy grande de diferentes separaciones con una sola columna, tan solo variando la fase móvil. (20)

PROPIEDADES DE LOS SOLVENTES

No todos los solventes son adecuados para trabajar en HPLC ya que aunque sean líquidos esto no es suficiente para que una sustancia se pueda emplear como fase móvil.

Un solvente apropiado para HPLC debe cumplir con algunos requisitos como:

.ALTO PODER SOLUBILIZANTE DE LAS MUESTRAS, la muestra a inyectar debe estar completamente disuelta, es conveniente que el solvente de disolución de la muestra sea la misma fase móvil, si esto no es posible, debe tenerse en cuenta la miscibilidad

entre los solventes de disolución y la fase móvil, así como la posible precipitación de los componentes de la muestra al estar en contacto con la fase móvil. Otro inconveniente derivado del empleo de un solvente de muestra diferente a la fase móvil está dado por la aparición de picos extraños al cromatograma verdadero, debidos a la señal del mismo solvente o a la elución de impurezas retenidas en la columna.

.REACTIVIDAD, Los solventes con alto grado de reactividad no se utilizan en HPLC, ya que pueden reaccionar con la muestra, con la fase estacionaria o con los componentes del equipo cromatográfico.

.COMPATIBILIDAD CON EL DETECTOR UTILIZADO, como el detector en HPLC más utilizado es el espectrofotométrico, es conveniente elegir solventes transparentes.

.PUNTO DE EBULLICION, se prefieren solventes con punto de ebullición intermedio, si el solvente tiene bajo punto de ebullición su volatilidad es alta y la composición de la fase móvil puede variar durante la jornada de trabajo.

Un alto punto de ebullición se correlaciona, por lo general, con una alta viscosidad, ésto trae como consecuencia una presión elevada y disminuye la eficiencia de la separación.

.VISCOSIDAD, cuando se utilizan solventes viscosos, la eficiencia de la separación es menor ya que el coeficiente de difusión de la muestra se reduce, disminuye la permeabilidad de la columna y la presión será mayor.

.SEGURIDAD, debe evitarse el empleo de solventes que, por sus características (inflamabilidad y toxicidad) representen un serio problema para el operador. Por este motivo se deben tomar precauciones durante la manipulación de los solventes.

.PUREZA, la presencia de impurezas puede inducir modificaciones de la selectividad de la fase móvil y contribuir a una señal de base importante en el detector.

PREPARACION DE LA FASE MOVIL

El trabajar con solventes con alto grado de pureza, implica también el empleo de materiales volumétricos muy limpios. Se debe tomar en cuenta la posible contracción de volumen que se produce al mezclar solventes; Si se mezclan 50 mililitros de cada uno de dos solventes, se obtiene un volumen final de 98 mililitros aproximadamente, no es correcto medir en probeta los 50 mililitros de agua por ejemplo y llevar a volumen con metanol, ya que la relación prevista al inicio será distinta, esto da una alteración en la fase móvil modificando los tiempos de retención. La fase móvil luego de ser preparada debe filtrarse y desgasificarse.

FILTRACION DE LA FASE MOVIL

Puede considerarse como un tratamiento preventivo para cuidar el buen funcionamiento del equipo HPLC. Las partículas presentes en la fase móvil pueden bloquear los filtros y tuberías del instrumento, acelerar el desgaste de sellos y rotores del inyector, afectar el movimiento normal de las válvulas de entrada y salida de las bombas, etc; Por otra parte como el tamaño de las partículas que rellenan las columnas es muy pequeño (entre 3 y 4 Mm) son un filtro perfecto para la retención de todo material en suspensión que se introduzca con los fluidos, ya sea fase móvil o muestra en solución.

La filtración se efectúa por medio de membranas de 0.45 ó 0.22 Mm de porosidad en equipos de filtración adecuados, ésto elimina partículas y bacterias.

Las soluciones a inyectar también deben filtrarse, a través de

membranas semejantes a las empleadas para la fase móvil, la selección de las membranas depende de su compatibilidad con la fase móvil. (Tabla 3) (1,20)

DESGASIFICACION DE LA FASE MOVIL

Los gases disueltos en la fase móvil pueden producir algunos inconvenientes como:

-Liberación de burbujas en el cabezal de las bombas, el caudal es irregular y se producen variaciones en la línea base y en los tiempos de retención, si hay mucho aire, la bomba comenzará a trabajar en vacío.

-Liberación o formación de burbujas en la celda del detector por descomposición de la fase móvil, se producen oscilaciones en la línea base y aparecen picos fantasmas.

La desgasificación por vacío es el método más utilizado y se aplica junto al proceso de filtración.

Si se prepara una fase móvil para más de un día de trabajo, debe filtrarse y desgasificarse como si se tratara de una solución recientemente preparada. (20)

MEMBRANA	TIPO DE SOLVENTE		
	ACUOSO	AC / ORG	ORGANICO
CELULOSA REGENERADA			R
ESTER DE CELULOSA	R	NR	NR
NITRATO DE CELULOSA	R	*	NR
FLUORURO DE POLIVILIDENO	R	R	R
TEFLON	NR	NR	R
POLITETRAFLUORETILENO (PTFE)	NR	NR	R

R= Recomendable

NR= No recomendable

*= Usar máximo 30 % de solvente orgánico

Tabla 3

Compatibilidad de las membranas con los solventes

Fuente: Quattrocchi, O.A. (1992) (20)

2.7.3 CROMATOGRAFIA HPLC Y LOS CAROTENOS

En un principio se utilizaron métodos espectrofotométricos para analizar los carotenoides en el plasma de la sangre y en los alimentos midiendo la absorbancia de un extracto de ellos a 450 nanómetros (nm), pero muchos carotenoides no se apreciaron bien, por esta razón se analizaron individualmente en sangre, tejidos de origen animal, vegetales y frutas. Después de un arduo trabajo se tomó la decisión de analizarlos por medio de Cromatografía Líquida, así STEWART y WHEATON (10) lograron grandes progresos en este tipo de análisis para la determinación de carotenoides.

Actualmente gracias a la Cromatografía HPLC es posible analizar el grupo entero de carotenoides como los polares (neoxantina y violaxantina) así como los hidrocarburos carotenoides (alfa-caroteno y beta-caroteno) en cuestión de minutos.

Aparte de la velocidad, la Cromatografía HPLC tiene otras ventajas sobre otros métodos de análisis como por ejemplo:

- Se necesita una cantidad muy pequeña de extracto de la muestra así como de solvente para realizar la separación cromatográfica.
- La exposición de los carotenoides a la luz y al oxígeno es evitada minimizando la isomerización y su descomposición.
- Dependiendo del tipo de columna y el tipo de mezcla, la resolución puede permanecer bien o excelente después de haberse realizado un gran número de análisis. (10)

2.7.4. VENTAJAS DE LA CROMATOGRAFIA HPLC

- Alta especificidad en el análisis
- Tiempos de separación cortos
- Se obtiene una alta resolución
- Es un sistema de alta sensibilidad
- El equipo es automatizado
- Versatilidad en el análisis
- Se obtienen resultados cuantitativos
- La muestra y el solvente utilizados son mínimos

Con esta técnica, teniendo las condiciones aptas se pueden obtener separaciones en minutos o segundos, para ésto se necesitan columnas con una alta eficiencia y sistema de bombeo de alta presión ya que se requieren flujos rápidos para obtener las separaciones rápidamente en la fase móvil. Por este método se pueden separar muestras muy complejas.

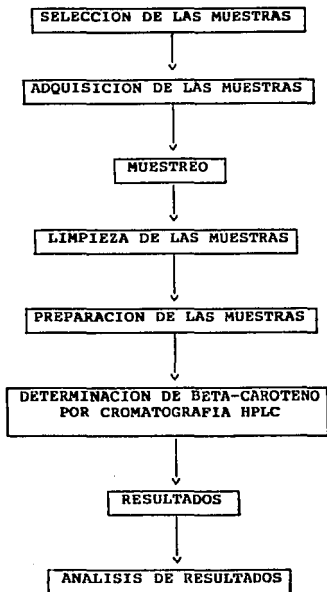
2.7.5 DESVENTAJAS DE LA CROMATOGRAFIA HPLC

- La instrumentación es muy costosa
- Resulta difícil el análisis cualitativo
- El costo de operación es alto
- Se requiere de una gran experiencia para el manejo del equipo
- Se emplea mucho tiempo en el lavado y en la estabilización de la columna.

C A P I T U L O I I I

PARTE EXPERIMENTAL

3.1 DIAGRAMA GENERAL



3.2 MATERIAL, REACTIVOS Y EQUIPO

3.2.1 MATERIAL

- Agitador de vidrio
 - Agitador magnético
 - Celdas para espectrofotómetro de 1 ml, Q-S 282 (Sigma)
 - Embudo de cuello largo
 - Espátula
 - Frascos ámbar con tapón de rosca de 1000 y 500 ml
 - Gradilla para tubos
 - Jeringa de vidrio de 50 microlitros (Hamilton)
 - Manguera
 - Matraz Erlenmeyer de 1000 y 500 ml (Pyrex)
 - Matraz volumétrico de 500 y 100 ml (Pyrex)
 - Matraz volumétrico ámbar de 100,10 y 25 ml (Kimax)
 - Parafilm (American Nat.)
 - Pinzas para sistema de filtración (Millipore)
 - Pipetas Pasteur
 - Pipetas serológicas de 10,5 y 1 ml (Kimax)
 - Probetas de 1000, 500 y 100 ml (Pyrex)
 - Sistema de filtración para 1 litro (Millipore)
 - Soporte universal
 - Tubos de ensaye (Kimax)
 - Tubos Eppendorf de 10 ml (Pyrex)
 - Vasos de precipitado de 1000, 100, 50 y 5 ml (Pyrex)
 - Viales ámbar con tapón de rosca
-
- Cartuchos Sep-pak, C₁₈ 0.002mm (Millipore)
 - Membranas de filtración hidrofílicas, 0.45 um x 47 mm (Durapore)
 - Papel para impresora, 270 x 280 mm (Xerox)

3.2.2 REACTIVOS

- Acetona CH_3COCH_3 , Grado reactivo (Mallinckrodt)
- Acetonitrilo CH_3CN , Grado HPLC (Mallinckrodt)
- Alcohol etílico absoluto $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$, Grado reactivo (Tecsiquim)
- Estándar de Beta-caroteno $\text{C}_{40}\text{H}_{56}$, Cristales, tipo IV (Sigma)
- Hexano CH_6H_{14} , Grado reactivo (Mallinckrodt)
- Hidróxido de Potasio KOH, Grado reactivo (J.T.Backer)
- Metanol CH_3OH , Grado HPLC (Tecsiquim)
- Sulfato de Sodio $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$, Grado reactivo (J.T.Backer)
- Tetrahidrofurano $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$, Grado HPLC (Mallinckrodt)
- Tolueno $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$, Grado reactivo (Mallinckrodt)

3.2.3 EQUIPO

- Balanza analítica 2001 mp2 (Sartorius)
- Balanza granataria (Ohanus)
- Bombas para cromatógrafo 126 (Beckman)
- Columna Nova-pak C_{18} , 3.9 x 150 mm (Waters)
- Cromatógrafo HPLC (Beckman)
- Detector espectrofotométrico 166 (Beckman)
- Disco duro y pantalla color 50z 8512-001 (IBM)
- Espectrofotómetro DU 70 (Beckman)
- Impresora FX 850 (Epson)
- Parrilla de agitación 53166 (Lindberg)
- Picadora (Moulinex)
- Refrigerador Trim-wall (Kelvinator)
- Tanque de Nitrógeno NOM-174-1 (Cryoinfra)

3.3 METODOLOGIA

3.3.1 SELECCION DE LAS MUESTRAS

Para llevar a cabo la selección de las muestras se estableció que: el valor para el contenido de vitamina A (Retinol) registrado en las tablas de Valor Nutritivo de los Alimentos Mexicanos del I.N.N.S.Z., presente una diferencia mayor o igual a 15% con relación a los valores informados en las tablas de CRAVIOTO & MASSIEU (9), I.N.C.A.P. (18) y U.S.D.A. (23) De acuerdo a lo anterior y tomando como base los valores informados en las tablas del I.N.N.S.Z. se seleccionaron 42 alimentos, básicamente de origen vegetal como verduras, raíces y leguminosas. (Apéndice I)

El porcentaje de variación del contenido de Beta-caroteno en cada uno de los alimentos seleccionados se estableció tomando como base los valores informados en las tablas de Valor Nutritivo de los Alimentos Mexicanos del I.N.N.S.Z. (Apéndice II)

3.3.2 SELECCION DE LA TECNICA DE ANALISIS

Para seleccionar la técnica de determinación de Beta-caroteno en alimentos de origen vegetal, se tomaron en cuenta las técnicas realizadas anteriormente dentro de los laboratorios del I.N.N.S.Z. y las técnicas obtenidas de la revisión bibliográfica. Se realizaron pruebas y variaciones sobre las condiciones cromatográficas así como de las técnicas de extracción hasta obtener las condiciones de operación ideales para el análisis de interés, dichas condiciones se fijaron cuando se obtuvo una buena reproducibilidad en los resultados de las pruebas realizadas.

La longitud de onda se seleccionó después de haber corrido un máximo de tres barridos en el espectrofotómetro, obteniendo el máximo de absorbancia del Beta-caroteno. (Figura 4)

La técnica de extracción propuesta para la determinación de Beta-caroteno es la correspondiente a la técnica No.970.64 "Carotenoides y Xantofilas en plantas secas y alimentos variados". (24)

3.3.3. IMPLEMENTACION DE LA TECNICA EN EL CROMATOGRAFO HPLC

La implementación de la técnica en el cromatógrafo HPLC se llevó a cabo introduciendo la información de las condiciones cromatográficas necesarias tanto para el detector como para las bombas en el programa operativo, dichas condiciones son:

PARA LAS BOMBAS:

- Velocidad de flujo
- Porcentaje de la fase móvil, 100% en la bomba B y 0% en la bomba A en caso de trabajar en forma isocrática.
X% en la bomba B y Y% en la bomba A en caso de trabajar con gradientes.
- Tiempo que durará la separación cromatográfica (tiempo de corrida).
- Bomba(s) con la(s) que se va a trabajar.

PARA EL DETECTOR:

- Tiempo que durará la separación cromatográfica (tiempo de corrida).
- Longitud de onda a la que se va a trabajar.
- Indicar si se va a trabajar en el espectro Visible o Ultravioleta.
En el caso de trabajar en el espectro Visible, indicar cambio de filtros a filtros de segundo orden.
- Sensibilidad de detección.

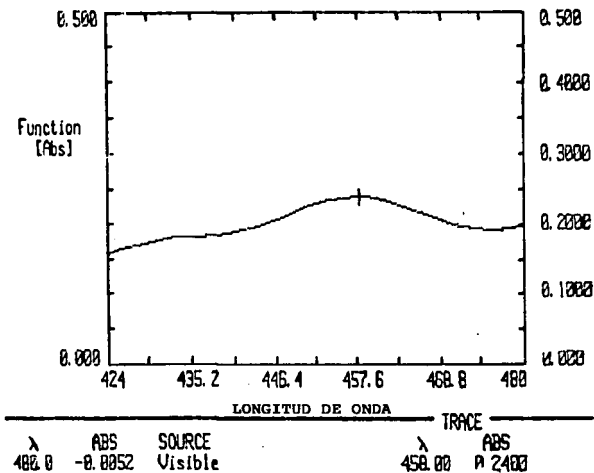


Figura 4

Barrido en el espectrofotómetro
estándar de Beta-caroteno

3.3.4 ESTANDARIZACION DEL METODO

Se prepararon estandares de Beta-caroteno con diferentes concentraciones en partes por millón (ppm) y se analizaron por cromatografía HPLC realizando variaciones en las condiciones cromatográficas hasta obtener reproducibilidad en las características de la integración de un pico como:

Tiempo de retención, área del pico, altura del pico, perfil del estándar y capilaridad del pico. (figura 5)

Estas características son de suma importancia para la estabilización del equipo cromatográfico.

Se prepararon diferentes curvas de calibración con estándar de Beta-caroteno realizando las separaciones cromatográficas de cada una, por triplicado, para obtener tanto la reproducibilidad como los mejores resultados en el tiempo de retención, la altura del pico, el área del pico, el límite de detección, la capilaridad del pico, la linealidad (línea base) y el coeficiente de correlación.

3.3.5 ADQUISICION Y TAMAÑO DE LA MUESTRA

Los alimentos se obtuvieron en el principal centro de recepción y distribución "La Central de Abasto", mercado donde convergen productos de diferentes partes de la República Mexicana.

Las muestras se obtuvieron al azar en los diferentes locales de dicho mercado, obteniendo muestras de 4 kilogramos de cada uno de los alimentos registrando los siguientes datos:

- Origen del alimento
- Precio por kilogramo
- Nombre y/o número de local

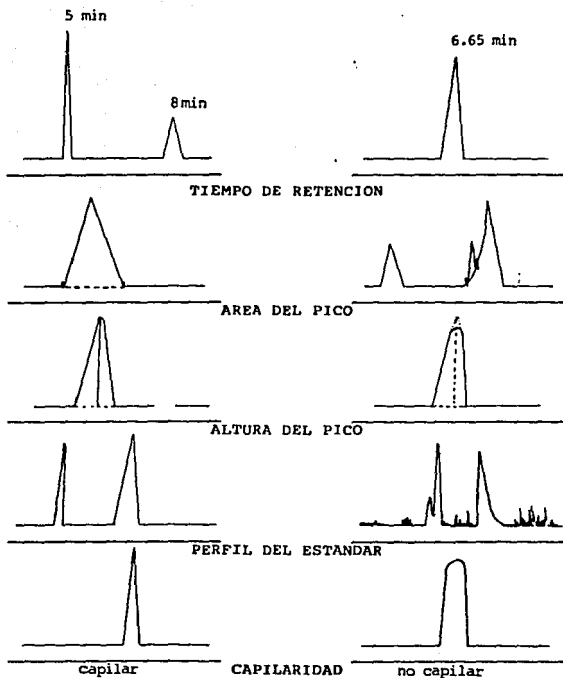


Figura 5

Características en la integración de un pico

3.3.6 MUESTREO Y LIMPIEZA DE LA MUESTRA

Las muestras seleccionadas se transportaron al I.N.N.S.Z, en donde se limpiaron manualmente para eliminar cuerpos extraños como hojas, ramas, piedras y tierra, separando a la vez los alimentos dañados.

Cada muestra de cuatro kilogramos se homogeneizó y se dividió en cuatro partes iguales, tomando dos partes al azar para almacenar en congelación dejando una muestra de dos kilogramos que se homogeneizó y se dividió en cuatro partes iguales, tomando dos partes al azar para almacenar en congelación conservando una muestra de un kilogramo que se homogeneizó y se dividió en cuatro partes iguales, se tomaron dos partes al azar; una muestra de quinientos gramos aproximadamente destinada para el análisis y una submuestra del mismo peso, la cual se almacenó en congelación para utilizarla en caso de ser necesaria.

Este tipo de muestreo se denomina **MUESTREO POR CUARTEO** (Figura 6)

Una vez obtenido el lote de muestras para el análisis, se eliminó la porción no comestible como cáscaras, semillas y tallos según el tipo de alimento, obteniendo así la porción comestible.

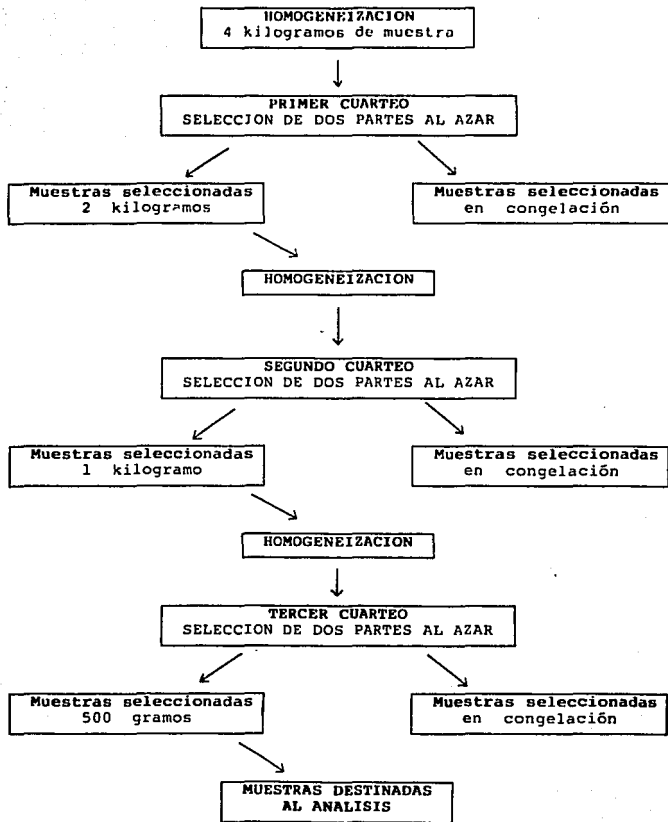


Figura 6

3.3.7 PREPARACION DE LA MUESTRA

Una vez obtenida la muestra destinada para el análisis, libre de cuerpos extraños y de la porción no comestible, se procedió a su preparación, tomando en cuenta los siguientes factores:

***Propiedades físicas y químicas del Beta-caroteno.-** Se deben conocer algunas propiedades fisicoquímicas del Beta-caroteno ya que esto es esencial en el diseño de un método de preparación de las muestras. Es conveniente conocer su estructura química, su peso molecular, su solubilidad y sus propiedades ácido-base (pka) y su respuesta frente al tipo de detector que se utilizará.

***Concentración de Beta-caroteno en la muestra.-** Este factor es muy importante, cuando el compuesto se presenta en altas concentraciones se utilizan preparaciones sencillas como la solubilización y la filtración. Cuando se presenta en concentraciones bajas, se utilizan operaciones para lograr una solución cuya concentración sea "aceptable" para inyectarse en el cromatógrafo.

***Naturaleza de la matriz de la muestra.-** La remoción de los componentes de la matriz puede ser un paso crítico en los casos donde la concentración del compuesto en la muestra se detecta con dificultad o no se detecta, cuando existen sustancias que puedan dañar los instrumentos o la columna cromatográfica.

***Forma en la que se presenta el Beta-caroteno en la muestra.-** El compuesto puede no encontrarse como tal, sino unido a proteínas, metabolizado como éster, amida, éter o enmascarado por pigmentos.

***Compatibilidad de los medios de solubilización y extracción con el sistema cromatográfico.-** En HPLC se requiere que la solución a inyectar sea compatible y miscible con la fase móvil. Se recomienda que el solvente de disolución de la muestra sea la misma fase móvil o, en su defecto, un solvente adecuado.

Si la muestra se disuelve en un solvente fuerte, algunas sustancias pueden precipitar y entrar en contacto con fases

móviles acuosas. Al efectuarse inyecciones posteriores estas sustancias, por la presencia del solvente fuerte, pueden migrar dentro de la columna volviendo a precipitar contaminando el material de relleno de la columna en su totalidad.

Si se inyectan solventes más fuertes que la fase móvil se presentan deformaciones en los picos.

Muchos métodos involucrados en la preparación de muestras involucran la extracción líquido-líquido del compuesto desde un medio acuoso hasta un medio orgánico. En estos casos la muestra final se encuentra disuelta en un solvente como por ejemplo cloroformo, hexano, éter, etc., por lo cual no es bueno inyectarlo en un sistema convencional de fase reversa, que contiene mezclas de solventes orgánicos y agua como fase móvil. En estos casos se puede evaporar el solvente hasta sequedad y disolver el residuo con la fase móvil que se está utilizando.

***Compatibilidad con el detector.-** No es conveniente utilizar solventes como acetona o tolueno si se utiliza un detector ultravioleta, porque poseen una elevada absorción de base y pueden producir picos o señales importantes en el frente del solvente.

La cromatografía HPLC es un método muy utilizado para la determinación de carotenoides en frutas y vegetales, las razones principales por las que se prefirió el método de Cromatografía HPLC fueron:

a) Es un método que se empleó para la determinación de vitamina A en alimentos de origen animal dentro de los laboratorios del departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos del I.N.N.S.Z.

b) Se pueden determinar cantidades muy pequeñas de compuestos presentes en una muestra.

c) La cantidad de muestra necesaria para el análisis se reduce

a solo 20 microlitros por corrida, lo cual indica que con unos pocos mililitros se pueden realizar varios análisis de una sola muestra.

d) Una sola columna en buen estado, sometida al mantenimiento adecuado puede utilizarse repetidamente en un largo periodo de tiempo.

e) Es un método de alta sensibilidad y especificidad para el análisis.

f) El departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos cuenta con el instrumental y el equipo necesario para este tipo de análisis.

g) Analizando con la Cromatografía HPLC se obtienen resultados cuantitativos así como una alta resolución.

La técnica de extracción para la preparación de la muestra propone los siguientes pasos:

---> Pesar 5 gramos de muestra y homogeneizarla bien con ayuda de un mortero o mezcladora.

---> Colocar la muestra en un matraz volumétrico ámbar de 100 mililitros y agregar 30 mililitros de solución extractante; agitar vigorosamente.

---> Agregar 2 mililitros de potasa alcohólica al 40% y agitar aproximadamente 1 minuto para que se efectúe la saponificación.

---> Saturar el matraz con atmósfera de Nitrógeno y dejar en reposo durante 16 horas en la obscuridad.

---> Agregar 30 mililitros de hexano y agitar vigorosamente.

---> Agregar sulfato de sodio al 10% hasta cubrir 3/4 partes de

la capacidad total del matraz, agitar vigorosamente durante 1 minuto.

--->Aforar con la misma solución de sulfato de sodio a 100 mililitros.

--->Saturar el matraz con atmósfera de Nitrógeno y dejar en reposo durante 1 hora en la obscuridad.

--->Tomar una alícuota de 1 a 3 mililitros y llevar a sequedad con Nitrógeno.

--->Resuspender el residuo con 1 a 3 mililitros de fase móvil.

Los mililitros de fase móvil utilizados para resuspender deben ser los mismos tomados como alícuota.

PREPARACION DE LAS SOLUCIONES:

-Solución de potasa alcoholica al 40%. - Disolver 40g de hidróxido de potasio KOH en 100ml de metanol CH_3OH .

Almacenar en frasco ámbar y refrigeración.

-Solución de sulfato de sodio al 10%. - Disolver 10g de sulfato de sodio $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$ en 100ml de agua destilada.

Almacenar en frasco ámbar y refrigeración.

-Solución extractante.- Disolver 333.3ml de hexano C_6H_{14} , 233.3ml de acetona CH_3COCH_3 , 200.0ml de alcohol etílico absoluto $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ y 233.3ml de tolueno $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$

Almacenar en frasco ámbar, evitando la exposición a temperaturas elevadas.

-Fase móvil.- Mezclar 550ml de tetrahidrofurano C_4H_8O con 370ml de acetonitrilo CH_3CN y 80ml de agua desionizada.

Filtrar y desgasificar la mezcla de solventes en un equipo de filtración con vacío y membranas hidrofílicas, agitador magnético y parrilla de agitación.

Guardar en un frasco ámbar con tapón de rosca.

Cada vez que se utiliza la fase móvil debe filtrarse y desgasificarse.

3.3.8 ANALISIS DE LA MUESTRA POR CROMATOGRAFIA HPLC

Una vez resuspendida la muestra con la fase móvil, se tomaron 100 microlitros con una jeringa de vidrio y se colocaron en el puerto de inyección del equipo cromatográfico, el cual cuenta con una capacidad de 20 microlitros, esto indica que ésta es la cantidad en volumen que pasará al sistema en donde se lleva a cabo la separación de los componentes presentes en la muestra problema.

Se pudo apreciar la presencia del Beta-caroteno en el tiempo de retención correspondiente con respecto al estándar de referencia corrido durante la estandarización del método.

Cada muestra se analizó por triplicado para verificar la reproducibilidad del tiempo de retención, área y altura del pico así como se hizo en la técnica de extracción comprobando la eficiencia y reproducibilidad en cuanto a los compuestos extraídos de una misma muestra, los cuales deben ser siempre los mismos en las tres extracciones.

Las condiciones cromatográficas para la determinación de Beta-caroteno se presentan en la tabla 4.

COLUMNA	Nova-Pak C ₁₈ 3.9 x 150 mm
FASE MOVIL	C ₄ H ₈ O/CH ₃ CN/H ₂ O 55 : 37 : 8
VELOCIDAD DE FLUJO	1 ml / min
LONGITUD DE ONDA	460 nm
SENSIBILIDAD	0.0000 AU
ESPECTRO	VISIBLE
FILTROS	SEGUNDO ORDEN

Tabla 4

Condiciones cromatograficas

PREPARACION DE LA CURVA DE CALIBRACION

-La curva de calibración se preparó a partir de la solución madre de Beta-caroteno cuya concentración era de 16 ppm.

-Las diluciones se prepararon tomando 12.5, 6.2, 3.1, 1.5, 0.7, 0.3, 0.1, 0.09 y 0.04 mililitros de la solución madre y se aforaron a 25 mililitros con la fase móvil en matraces aforados ámbar.

-De cada dilución se tomaron 100 microlitros con una jeringa de vidrio para llevar a cabo el análisis cromatográfico.

Cada dilución se analizó por triplicado para verificar la reproducibilidad de las características de un pico indicadas en el punto 3.3.4 de la estandarización del método.

Cabe mencionar que cada vez que se preparó un nuevo lote de muestras, se preparó una curva de calibración por cada día de análisis, partiendo por un lado de la misma concentración y por otro lado de la solución madre, ambos casos medidos en ppm.

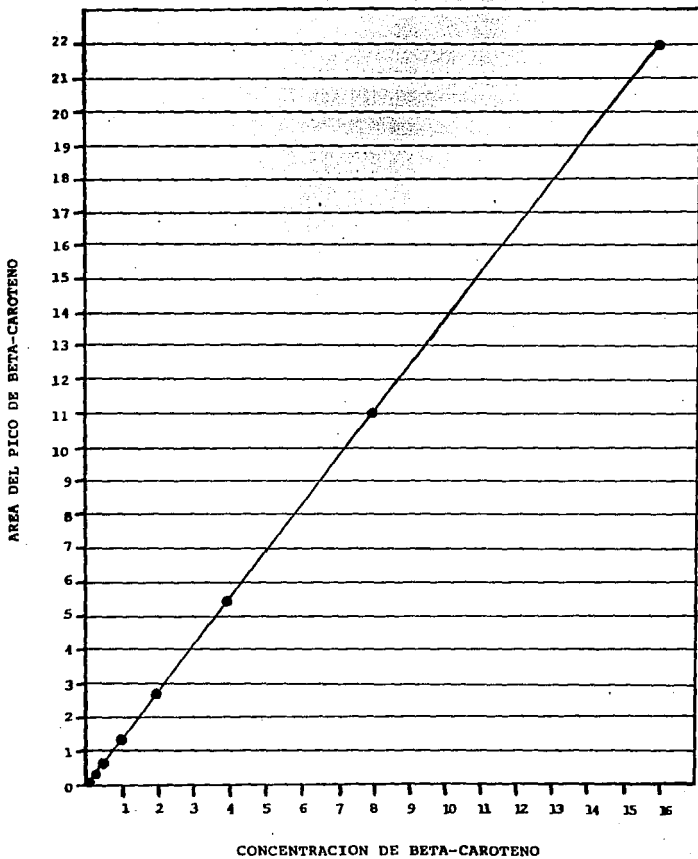
El coeficiente de correlación obtenido para de las curvas de calibración fué en promedio de 0.99994

Con el fin de establecer las condiciones óptimas en la determinación de Beta-caroteno se realizaron varias curvas de calibración (punto 3.3.4) y con base en la reproducibilidad de los datos, el coeficiente de correlación y la intersección se seleccionó una curva de calibración como curva patrón de Beta-caroteno. (figura 7 ,tabla 5).

DILUCION No.	SOLUCION MADRE ml	CONCENTRACION DE BETA-CAROTENO PPM	AREA DEL PICO
	25.0	16.0	22.57640 22.21872 22.59662
1	12.5	8.0	11.85400 11.13772 11.21119
2	6.2	4.0	5.68167 5.67927 5.69252
3	3.1	2.0	2.90384 2.90089 2.93549
4	1.5	1.0	1.41303 1.41248 1.45533
5	0.7	0.5	0.69320 0.69987 0.69505
6	0.3	0.25	0.36309 0.37681 0.38390
7	0.1	0.12	0.14332 0.14004 0.14383
8	0.09	0.06	0.03729 0.03638 0.03739
9	0.04	0.03	0.01871 0.01872 0.01781

Tabla 5

Curva patrón de Beta-caroteno



La concentración de la solución madre de Beta-caroteno se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{ppm} = \text{mg} / \text{L}$$

$$16 = 0.4 \text{ mg} / .025 \text{ L}$$

Donde:

16 ppm = concentración de Beta-caroteno en la solución madre.

0.4 mg = peso del estándar de Beta-caroteno.

0.025 L = volumen de fase móvil en la que se disolvió el estándar de Beta-caroteno, (volumen al que se aforó).

El volumen de alícuota tomada de la solución madre se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$

$$V_1 = C_2 V_2 / C_1$$

Donde:

V_1 = alícuota tomada de la solución madre.

C_1 = Concentración en ppm de la solución madre.

V_2 = Volumen al que se aforará la dilución con fase móvil.

C_2 = Concentración en ppm que se desea obtener.

3.3.9 CONTROL DE CONTAMINACION

Con objeto de evitar la contaminación y la descomposición de las muestras frescas, de las muestras ya extraídas y de los estándares se tomaron las siguientes medidas:

- 1.-Utilizar agua desionizada tanto en la preparación de la fase móvil como en el lavado del material.
- 2.-Lavar todo el material, tanto de vidrio como de plástico con detergente neutro y enjuagarlo con agua corriente.
Lavar por segunda vez con detergente neutro y enjuagarlo con agua destilada y desionizada.
- 3.-Utilizar el material cuando esté totalmente seco.
- 4.-Proteger el material limpio con parafilm y papel aluminio.
- 5.-Los reactivos y los solventes empleados deben tener el mayor grado de pureza posible.
- 6.-Una vez preparada la fase móvil debe filtrarse y desgasificarse, almacenándola en frascos ámbar con tapón de rosca evitando la exposición a temperaturas altas.
- 7.-Utilizar las muestras el mismo día de su adquisición y almacenar la porción que no se utilice en refrigeración.
- 8.-Durante el proceso de extracción, evitar la exposición a la luz y a temperaturas altas. Almacenar las muestras ya extraídas en ausencia de luz y oxígeno bajo refrigeración.
- 9.-Al realizar la resuspensión de la muestra con la fase móvil y al momento del análisis cromatográfico, evitar la exposición a la luz.

C A P I T U L O I V

RESULTADOS Y DISCUSION

En el apéndice III se enlistan los 42 alimentos analizados indicando su procedencia.

Se probó la estabilidad del Beta-caroteno en las muestras ya extraídas, realizando su determinación después de 1, 4, 18, 24, 42, 48, 66 y 72 horas, sin que durante este tiempo se presentara variación en los resultados.

Tanto la fase móvil como la solución extractante permanecieron estables después de dos meses de haberse preparado, almacenándose en frascos ámbar sin exponerlos a temperaturas altas.

La técnica de extracción No.970.64 "Carotenoides y Xantofilas en plantas secas y alimentos variados" resultó ser la más adecuada ya que se pueden analizar una gran variedad de alimentos, es un método oficial con el cual se logró una buena separación de la fase acuosa y de la fase orgánica en la cual se encuentra el compuesto de interés, el Beta-caroteno.

A continuación se discuten los resultados obtenidos durante la determinación de Beta-caroteno.

Para facilitar la discusión de los resultados los alimentos analizados se dividieron en tres grupos:

- 1.-Leguminosas
- 2.-Raíces
- 3.-Verduras

En las tablas del No.6 al No.8 se muestran numéricamente (y gráficamente en las figuras del No.8 al No.19) los valores del contenido de Beta-caroteno en los alimentos analizados, en comparación con los valores registrados en las tablas de Valor

Nutritivo de los Alimentos Mexicanos del Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán".

Se observó que en el primer grupo de alimentos correspondiente a las leguminosas (tabla 6, figura 8), en dos de los cuatro alimentos analizados (frijol amarillo y haba seca) los valores de Beta-caroteno obtenidos fueron iguales a los informados en las tablas del I.N.N.S.Z; para el frijol ayocote y la harina de soya el contenido de Beta-caroteno obtenido fué menor.

En el segundo grupo de alimentos correspondiente a las raíces (tabla 7, figura 9), se observó que en dos casos (camote promedio y camote amarillo) los resultados obtenidos son mayores a los informados en las tablas del I.N.N.S.Z; un alimento, el camote morado, no se encuentra informado en dichas tablas.

En el tercer grupo de alimentos correspondiente a las verduras (tabla 8, figuras No.10 al No.19) se tiene que diez y seis de treinta y cinco alimentos (acelga, aguacate, ajo, alcachofa, berro, calabacitas, cilantro, coliflor, chícharo, chile ancho seco, chile cascabel seco, chile chipotle seco, chile guajillo seco, ejote, jitomate y verdolaga) presentaron valores menores a los informados en las tablas del I.N.N.S.Z; catorce alimentos (apio, col, col morada, chayote s/espinas, chilacayote, espinaca, epazote, flor de calabaza, huauzontle, lechuga orejona, papaloquelite, pepino, pimienta roja y zanahoria) obtuvieron valores más altos a los informados en las tablas; dos alimentos (brócoli y pimienta verde) no se encuentran en las tablas mientras que en tres alimentos (betabel, cebolla morada y elote blanco) se obtuvieron valores iguales a los informados en dichas tablas.

ALIMENTO	Mcg Eq de RETINOL en 100 g de alimento	
	VALOR I.N.N.S.Z.	VALOR OBTENIDO
Frijol amarillo	0	0
Frijol ayocote	8	3
Haba seca	9	9
Harina de soya	9	0

Tabla 6

Valores del contenido de Beta-caroteno (Mcg Eq de Retinol) en leguminosas de las tablas del I.N.N.S.Z. en comparación con los valores obtenidos

ALIMENTO	Mcg Eq de RETINOL en 100 g de alimento	
	VALOR I.N.N.S.Z.	VALOR OBTENIDO
Camote promedio	81	343
Camote amarillo	300	685
Camote morado	NR	tr

Tabla 7

Valores del contenido de Beta-caroteno (Mcg Eq de Retinol) en raíces de las tablas del I.N.N.S.Z. en comparación con los valores obtenidos

NR= Valor no informado.

tr= Traza. Cantidad de nutrimento que por ser tan pequeña no se puede medir con exactitud

ALIMENTO	Mcg Eq de RETINOL en 100 g de alimento	
	VALOR I.N.N.S.Z.	VALOR OBTENIDO
Acelga	404	44
Aguacate	20	18
Ajo	7	tr
Alcachofa	95	78
Apio	10	13
Berro	312	26
Betabel	0	0
Brócoli	NR	17
Calabacitas	27	26
Cebolla morada	0	0
Cilantro	384	374
Col	2	23
Col morada	2	10
Coliflor	6	5
Chayote s/espinas	0	3
Chicharo	52	25
Chilacayote	6	8
Chile ancho seco	3081	2590
Chile cascabel seco	1716	1461
Chile chipotle seco	459	396
Chile guajillo seco	3281	2352
Ejote	47	30
Elote blanco	0	0
Espinaca	323	375
Epazote	158	280
Flor de calabaza	77	125
Huauzontle	252	272
Jitomate	507	99
Lechuga orejona	44	105
Papaloquelite	129	337
Pepino	1	3
Pimiento rojo	8	686
Pimiento verde	NR	27
Verdolaga	192	120
Zanahoria	664	1127

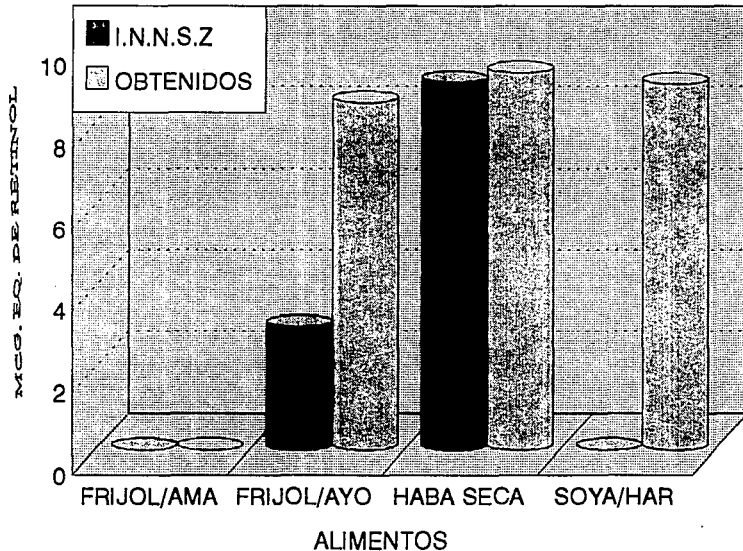
Tabla 8

Valores del contenido de Beta-caroteno (Mcg Eq de Retinol) en vegetales de las tablas del I.N.N.S.Z. en comparación con los valores obtenidos

COMPARACION DE LOS VALORES DE BETA-CAROTENO EN LEGUMINOSAS

DE LAS TABLAS DEL I.N.N.S.Z. CON LOS VALORES OBTENIDOS

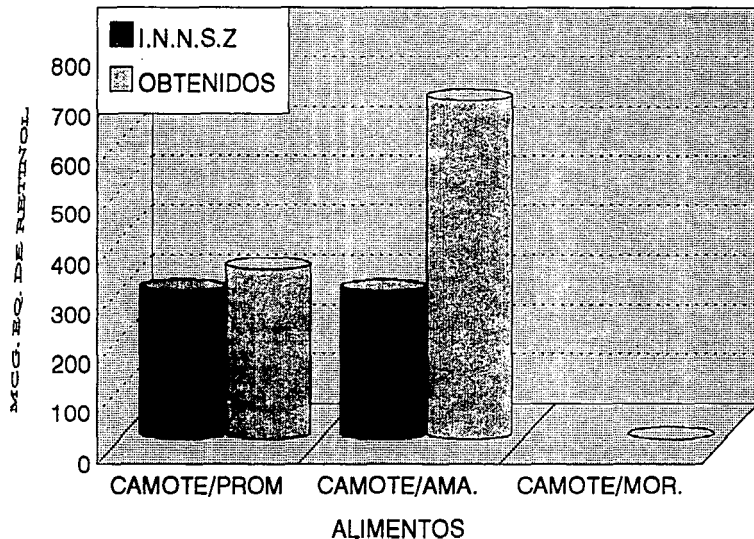
Figura 8



COMPARACION DE LOS VALORES DE BETA-CAROTENO EN RAICES

DE LAS TABLAS DEL I.N.N.S.Z. CON LOS VALORES OBTENIDOS

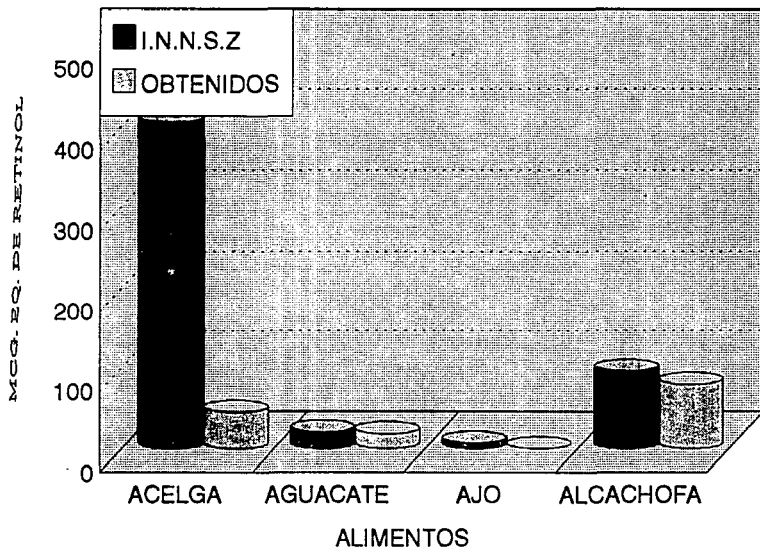
Figura 9



COMPARACION DE LOS VALORES DE BETA-CAROTENO EN VERDURAS

Figura 10

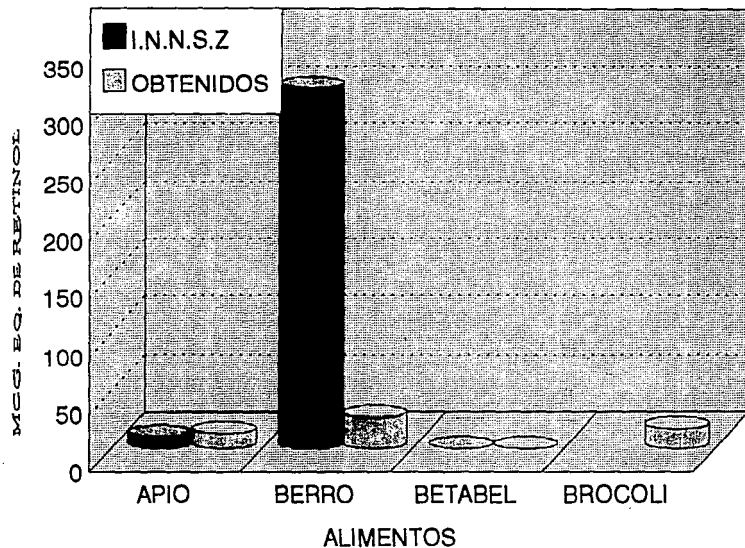
DE LAS TABLAS DEL I.N.N.S.Z Y VALORES OBTENIDOS



COMPARACION DE LOS VALORES DE BETA-CAROTENO EN VERDURAS

Figura 11

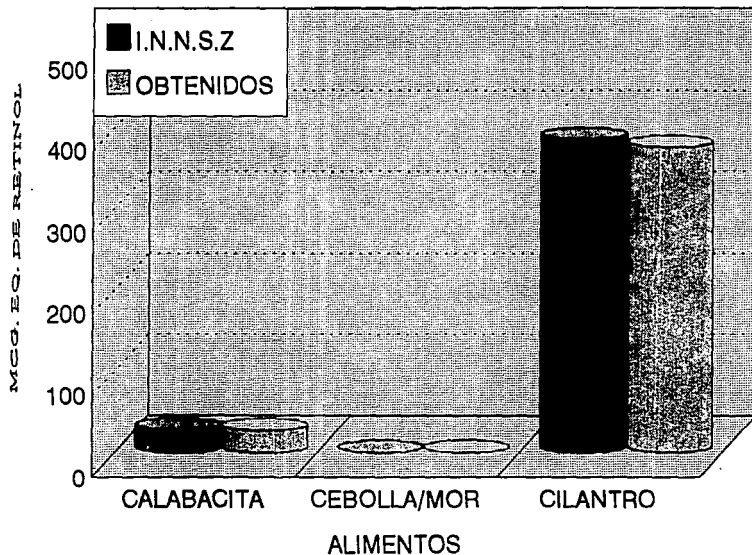
DE LAS TABLAS DEL I.N.N.S.Z CON LOS VALORES OBTENIDOS



COMPARACION DE LOS VALORES DE BETA-CAROTENO EN VERDURAS

Figura 12

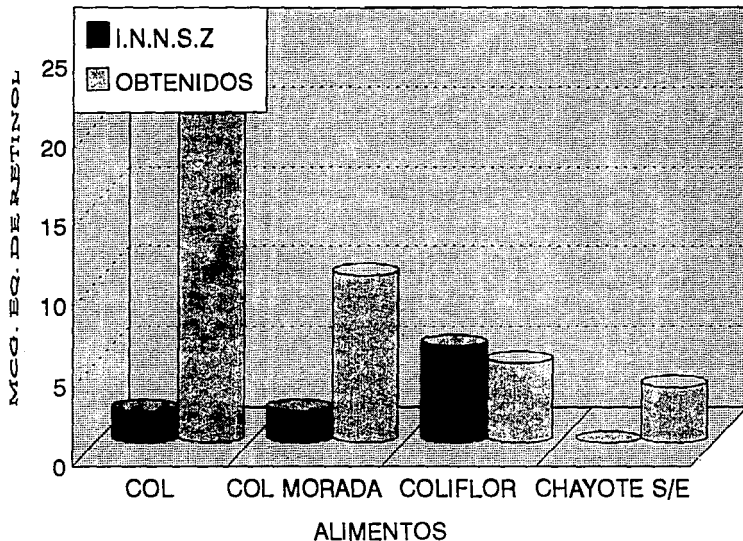
DE LAS TABLAS DEL I.N.N.S.Z CON LOS VALORES OBTENIDOS



COMPARACION DE LOS VALORES DE BETA-CAROTENO EN VERDURAS

Figura 13

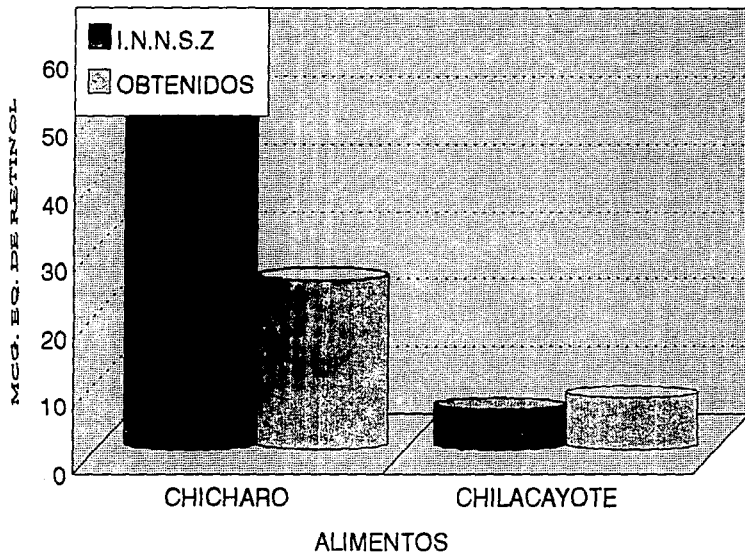
DE LAS TABLAS DEL I.N.N.S.Z CON LOS VALORES OBTENIDOS



COMPARACION DE LOS VALORES DE BETA-CAROTENO EN VERDURAS

Figura 14

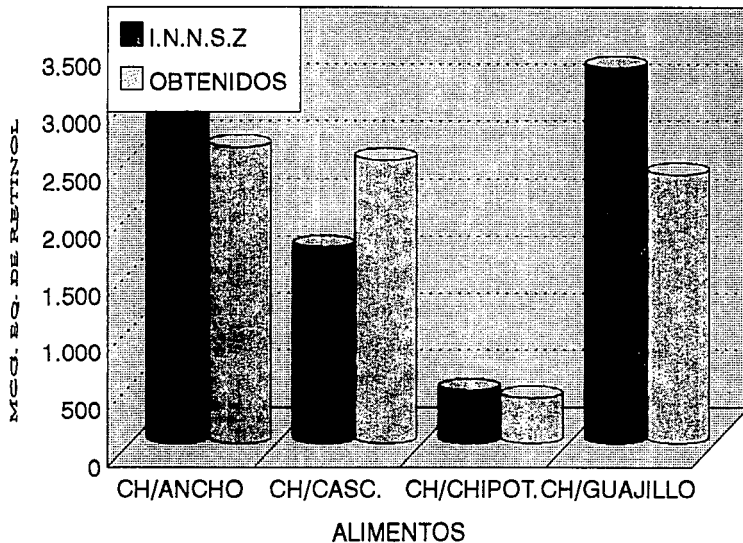
DE LAS TABLAS DEL I.N.N.S.Z CON LOS VALORES OBTENIDOS



COMPARACION DE LOS VALORES DE BETA-CAROTENO EN VERDURAS

DE LAS TABLAS DEL I.N.N.S.Z CON LOS VALORES OBTENIDOS

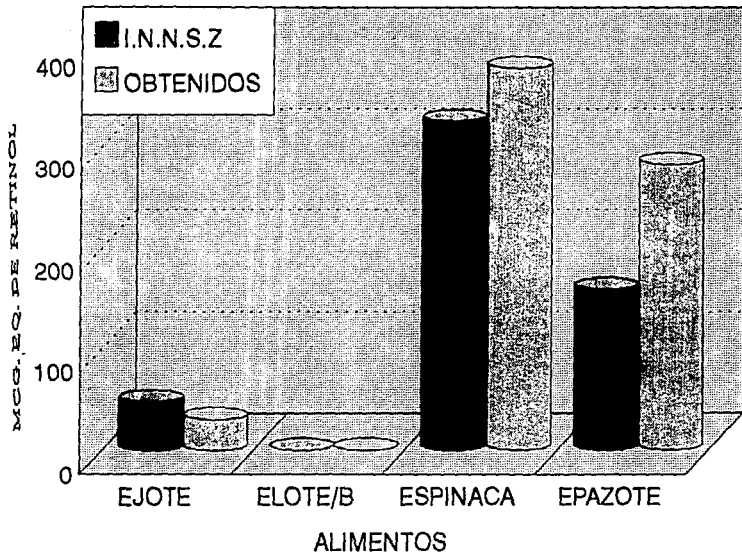
Figura 15



COMPARACION DE LOS VALORES DE BETA-CAROTENO EN VERDURAS

Figura 16

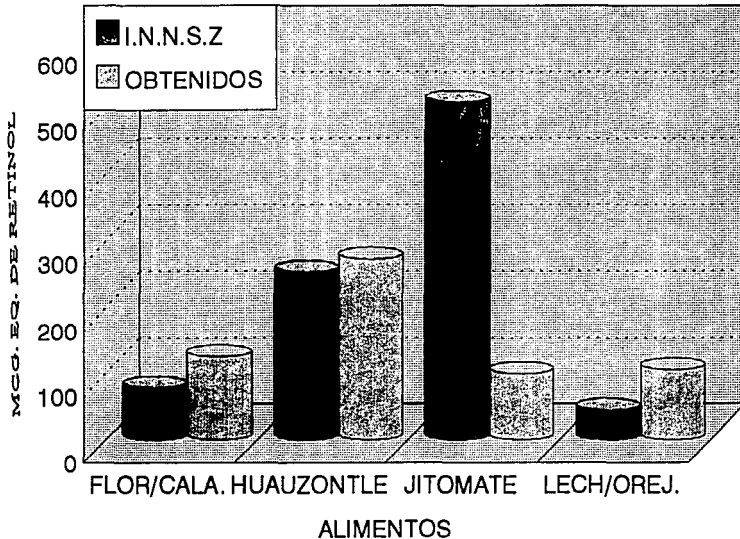
DE LAS TABLAS DEL I.N.N.S.Z CON LOS VALORES OBTENIDOS



COMPARACION DE LOS VALORES DE BETA-CAROTENO EN VERDURAS

DE LAS TABLAS DEL I.N.N.S.Z. CON LOS VALORES OBTENIDOS

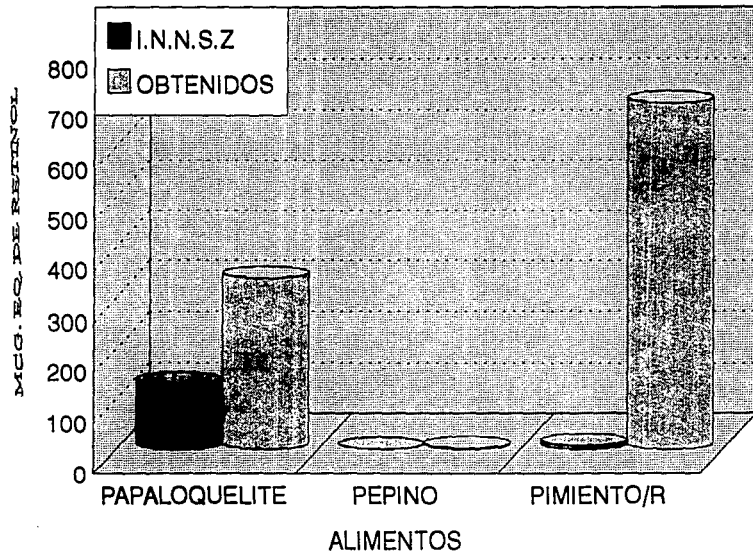
Figura 17



COMPARACION DE LOS VALORES DE BETA-CAROTENO EN VERDURAS

Figura 18

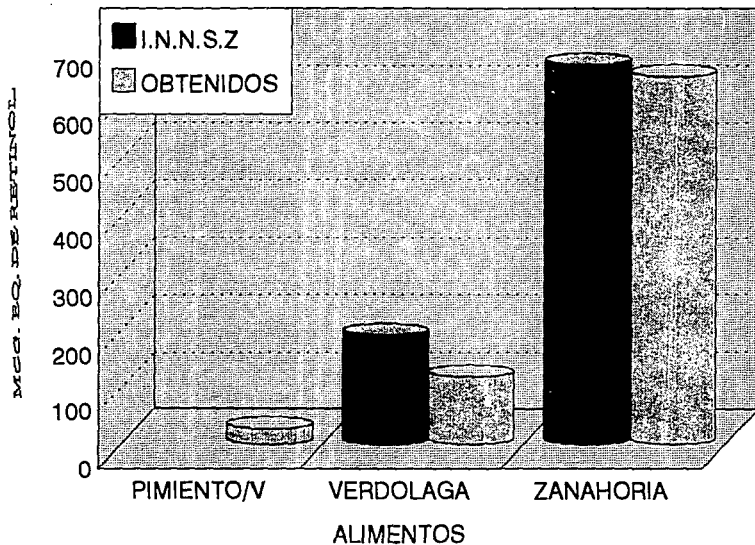
DE LAS TABLAS DEL I.N.N.S.Z. CON LOS VALORES OBTENIDOS



COMPARACION DE LOS VALORES DE BETA-CAROTENO EN VERDURAS

DE LAS TABLAS DEL I.N.N.S.Z. CON LOS VALORES OBTENIDOS

Figura 19



C A P I T U L O V

CONCLUSIONES

Se determinó el contenido de Beta-caroteno en 42 alimentos seleccionados de las tablas de Valor Nutritivo de los Alimentos Mexicanos del Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán" específicamente de origen vegetal como leguminosas, raíces y verduras por medio de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (CLAR/HPLC).

La técnica que se utilizó para realizar la extracción de las muestras es la correspondiente a la técnica No.970.64 "Carotenoides y Xantofilas en plantas secas y alimentos variados" del Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist (AOAC). La muestra de alimento así preparada puede mantenerse estable en refrigeración, en ausencia de luz y de oxígeno por 10 días, para posteriormente realizar la determinación cromatográfica tantas veces sea necesario.

La técnica de Cromatografía Líquida de Alta Resolución puede considerarse un método reproducible y confiable ya que durante la estandarización y las prácticas de prueba mostró reproducibilidad en los datos obtenidos, lo cual se verificó al realizar el análisis de las muestras observando que conforme pasaba el tiempo no había variaciones de importancia en los resultados.

Los valores informados en las tablas anteriores a estas determinaciones presentan diferencias que en algunos casos son significativas, por lo que esto tiene relación:

a) Al alimento en sí, por la variabilidad normal en su contenido real de Beta-caroteno de acuerdo con el lugar de origen,

variedad, época del año, condiciones de almacenamiento así como su grado de madurez.

b)A que las técnicas empleadas para la determinación del nutrimento en algunas de las tablas consultadas fueron diferentes.

Es importante mencionar que se desconocen las técnicas empleadas en las determinaciones realizadas para obtener los resultados informados en las tablas consultadas con excepción de las tablas del I.N.N.S.Z., en las que se menciona haber utilizado métodos colorimétricos.

En general es posible decir que en el 38.09% de los alimentos los valores obtenidos fueron mayores a los resultados informados en las tablas del I.N.N.S.Z., el 42.85% de los alimentos presentaron valores menores; el 7.14% de los alimentos no se encuentran informados en dichas tablas y el 11.9% de los alimentos presentaron valores iguales.

Tomando en cuenta este último porcentaje, podría pensarse que los valores obtenidos anteriormente para las tablas del I.N.N.S.Z. o los valores obtenidos en la presente investigación no son reales, pero debe tomarse en cuenta que las técnicas de análisis han mejorado en comparación con las tradicionales como por ejemplo, las técnicas colorimétricas, las cuales pueden no ser tan precisas como la Cromatografía Líquida de Alta Resolución en la que encontramos una gran versatilidad de aplicaciones, excelente capacidad para el análisis de trazas (en muchos casos partes por billón), rapidez y adaptabilidad al análisis cuantitativo. Otros factores que deben tomarse en cuenta son las condiciones en las que se manejaron los alimentos, en este caso tanto los

alimentos como el material, el equipo y los reactivos se manejaron con las precauciones necesarias para evitar cualquier tipo de contaminación, los alimentos se seleccionaron, muestrearon, limpiaron y se almacenaron bajo las condiciones adecuadas; en el caso de las tablas del I.N.N.S.Z. no se sabe con exactitud cual fué el manejo de las muestras pero se supone fué el adecuado. Otros factores importantes son el lugar de origen de cada una de las muestras, la variedad en cada una de las especies y el grado de madurez en que se encontraban los alimentos en el momento de ser analizados.

Tomando en cuenta lo antes mencionado considero que los resultados en ambos casos son válidos, cada uno en su tiempo, ya que la tecnología agrícola ha evolucionado proporcionando con esto mejoras en los alimentos, logrando hoy en día la actualización de los valores de vitamina A (Microgramos Equivalentes de Retinol) en alimentos básicamente de origen vegetal como leguminosas, raíces y verduras.

Es conveniente continuar con este tipo de investigaciones con el objeto de mantener actualizados los valores informados en las tablas del I.N.N.S.Z., verificándolos o ratificándolos con técnicas que otorguen mayor confiabilidad y precisión en los mismos, ya que dichas tablas resultan útiles en diferentes campos de la nutrición.

Por otro lado es necesario y recomendable proporcionar la mayor cantidad de información posible acerca de las condiciones del alimento, ya que estos están sujetos a un sin número de factores que pueden alterar la concentración de Beta-caroteno, dichos factores son, como se mencionó anteriormente, el tiempo de cosecha, la temporada, los pigmentos presentes en el alimento, la variedad de las especies, el origen, el grado de madurez y las técnicas de almacenamiento; así como también es importante y de

gran utilidad especificar dentro de las tablas el tipo de análisis que se empleó para llevar a cabo las determinaciones de los diferentes nutrimentos.

Contando con los datos necesarios será posible realizar la comparación de valores, determinar las causas de las variaciones en los resultados de un nuevo análisis y establecer el grado de confiabilidad de éstos.

B I B L I O G R A F I A

1. Abbot, D. 1989. Introducción a la Cromatografía. Ed. Alhambra, México, D.F.
2. Aykroyd, W.R. 1977. Las Leguminosas en la Nutrición Humana. FAO, Italia, Roma.
3. Bauerfeind, J.C. 1981. Carotenoids as Carotens and Vitamins a Precursors. Acad. Press, New York.
4. Braverman, J.B. 1980. Bioquímica de los Alimentos. El Manual Moderno, México, D.F.
5. Bureau, L; Bushway, J. 1989. HPLC Determination of Carotenoids in Fruits and Vegetables. Journal of Food Science; 5 (1).
6. Charley, H. 1989. Tecnología de Alimentos. Edutex, México, D.F.
7. Comstok, G. 1990. Carotenoides y el Riesgo de Cáncer. Conference News. La Roche & Co, Basilea, Suiza.
8. Cort, W.M; Bauerfeind, J.C. 1973. Nutrition of Foods with Added Vitamin A. Acad. Press, Miami Beach, Florida.
9. Cravioto, R.O; et al. Composición de Alimentos Mexicanos. Ciencia México, 1951.
10. De Leenher, P.A; Neils, J.H. 1992. Modern Chromatographic Analysis of Vitamins. Marcel Decker, Inc. Vol.60, Chromatographic Science Series, New York.
11. Esquinal, F. 1988. Mc. Collum and Vitamins. Cuadernos de Nutrición. 16 (6):34-35

12. Gómez, D. 1984. Determinación de Estabilidad y Bipotencia de Vitamina A en Aceite de Hígado de Tiburón. Tesis, Universidad La Salle, México, D.F.
13. Hernández, M; Chávez, A; Bourges, H. Valor Nutritivo de los Alimentos Mexicanos. 10ª ed; México:INNSZ; México, 1987.
14. Hoffman, F. 1972. Compendio de Vitaminas. La Roche & Co. Basilea, Suiza.
15. John, M. 1988. A Guide to the Vitamins. La Roche & Co. 3ª ed; Basilea, Suiza.
16. John, M. 1988. Vitamins Safety. Medical and Technical Publishing Co; Lancaster, England.
17. Johnson, A.H; Peterson, M.S. 1974. Encyclopedia of Food Technology; Vol.3; Ed.Avi, USA.
18. Leung, W; Flores, M. Tablas de Composición de Alimentos para uso de América Latina. INCAP. 2ª ed. México, ed Interamericana. 1975.
19. Leyes y Códigos de México. 1992. Ley General de Salud. Porrúa, México, D.F.
20. Quattrocchi, O.A. 1992. Introducción a la HPLC. Merk de México, Argentina.
21. Rodríguez, P. 1990. Los Carotenoides como Colorantes Naturales en Alimentos. Tecnología de Alimentos, ATAM; 25 (1): 17 - 19.
22. Scheider, W.L. 1983. Nutrition. Mc. Graw Hill-Inc.

23. Watt. B.D: Merril, A.L. Composition of Foods. Agricultural Handbook, USDA. No.8-16. Washington D.C. USA.

24. Williams, S. 1990. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Arlington, Virginia.

A P E N D I C E

APENDICE I

VALORES DE VITAMINA A EN ALIMENTOS DE ORIGEN
VEGETAL INFORMADOS EN LAS TABLAS DEL I.N.N.S.Z.
CRAVIOTO Y MASSIEU, I.N.C.A.P. Y U.S.D.A.

LEGUMINOSAS	INNSZ	C & M	INCAP	USDA
	Mcg Eq de Retinol			
Frijol amarillo	0.0	0.0	0.0	6.0
Frijol ayocote	3.0	3.0	5.0	-
Haba seca	9.0	8.0	30.0	NR
Harina de soya	0.0	0.0	0.0	40.0

RAICES	INNSZ	C & M	INCAP	USDA
	Mcg Eq de Retinol			
Camote promedio	81.0	30.0	30.0	2006.0
Camote amarillo	300.0	270.0	1815.0	NR
Camote morado	NR	-	30.0	-

VERDURAS	INNSZ	C & M	INCAP	USDA
	Mcg	Eq	de	Retinol
Acelga	404.0	364.5	875.0	3300.0
Aguacate	20.0	17.0	15.0	NR
Ajo	7.0	6.0	5.0	0.0
Alcachofa	95.0	NR	95.0	2.0
Apio	10.0	NR	10.0	13.0
Berro	312.0	285.6	1105.0	470.0
Betabel	0.0	0.0	NR	NR
Brócoli	NR	NR	560.0	154.0
Calabacita	27.0	24.0	NR	160.0
Cebolla morada	0.0	NR	0.0	NR
Cilantro	384.0	346.5	1600.0	277.0
Col	2.0	7.5	30.0	13.0
Col morada	2.0	1.5	NR	NR
Coliflor	6.0	5.5	10.0	2.0
Chayote s/espinas	0.0	0.0	NR	NR
Chicharo	52.0	47.0	55.0	64.0
Chilacayote	6.0	4.5	10.0	NR
Chile ancho seco	3081.0	3894.0	(2940.0)	NR
Chile cascabel seco	1716.0	1228.0	(6565.0)	NR
Chile chipotle seco	459.0	NR	NR	NR
Chile guajillo seco	3281.0	1467.0	(1355.0)	NR
Ejote	47.0	15.6	110.0	NR

() = Valor imputado. Valor calculado para un alimento a base de los nutrimentos de un alimento similar.

NR = Valor no informado.

Tr = Traza. Cantidad de nutrimento que por ser tan baja no se puede medir con exactitud.

- = No especifica variedad o especie.

VERDURAS	INNSZ	C & M	INCAP	USDA
	Mcg	Eq	de	Retinol
Elote blanco	0.0	0.0	Tr	-
Espinaca	323.0	310.0	630.0	672.0
Epazote	158.0	-	1210.0	-
Flor de calabaza	77.0	NR	200.0	NR
Huauzontle	252.0	227.3	NR	NR
Jitomate	507.0	582.0	180.0	113.0
Lechuga orejona	44.0	40.5	260.0	260.0
Papaloquelite	129.0	116.0	NR	NR
Pepino	1.0	-	5.0	-
Pimiento rojo	8.0	NR	470.0	-
Pimiento verde	NR	NR	-	-
Verdolaga	192.0	251.3	750.0	132.0
Zanahoria	664.0	-	3530.0	-

() = Valor imputado. Valor calculado para un alimento a base de los nutrimentos de un alimento similar.

NR = Valor no informado.

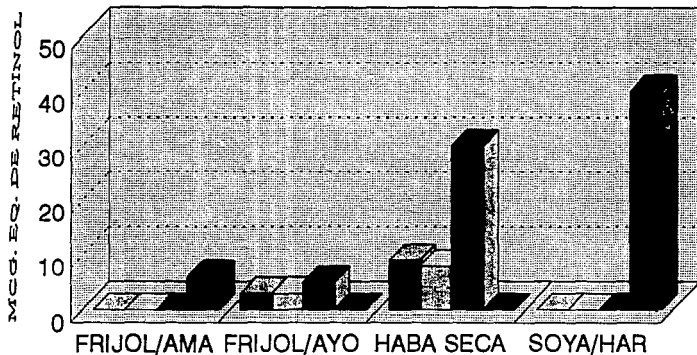
Tr = Traza. Cantidad de nutrimento que por ser tan baja no se puede medir con exactitud.

- = No especifica variedad o especie.

APENDICE II

COMPARACION DE LOS VALORES DE BETA-CAROTENO EN LEGUMINOSAS

DE LAS TABLAS DEL I.N.N.S.Z, C&M, I.N.C.A.P Y U.S.D.A

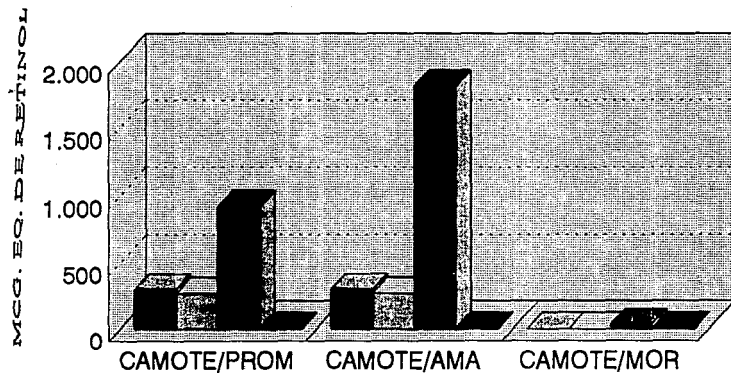


	FRIJOL/AMA	FRIJOL/AYO	HABA SECA	SOYA/HAR
I.N.N.S.Z	0	3	9	0
C M	0	3	8	0
I.N.C.A.P	0	5	30	0
U.S.D.A	6	0	0	40

ALIMENTOS

COMPARACION DE LOS VALORES DE BETA-CAROTENO EN RAICES

DE LAS TABLAS DEL I.N.N.S.Z, C&M, I.N.C.A.P Y U.S.D.A

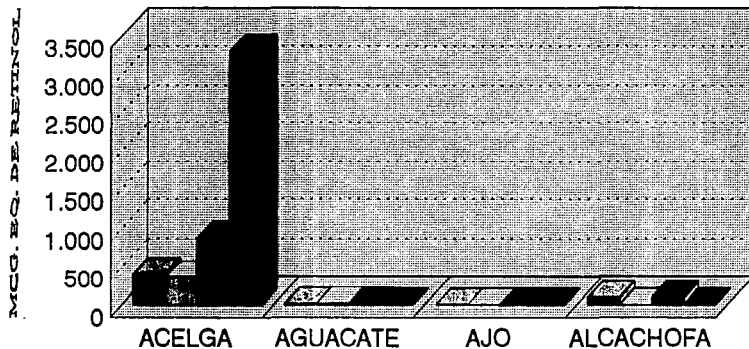


I.N.N.S.Z	300	300	0
C M	270	270	0
I.N.C.A.P	922,5	1.815	30
U.S.D.A	0	0	0

ALIMENTOS

COMPRACION DE LOS VALORES DE BETA-CAROTENO EN VEGETALES

DE LAS TABLAS DEL I.N.N.S.Z, C & M, I.N.C.A.P Y U.S.D.A

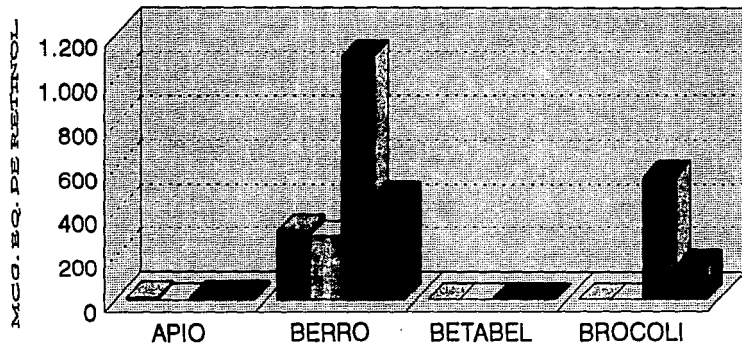


	ACELGA	AGUACATE	AJO	ALCACHOFA
I.N.N.S.Z	404	20	7	95
C M	364,5	17	6	0
I.N.C.A.P	875	15	5	95
U.S.D.A	3.300	0	0	2

ALIMENTOS

COMPRACION DE LOS VALORES DE BETA-CAROTENO EN VEGETALES

DE LAS TABLAS DEL I.N.N.S.Z, C&M, I.N.C.A.P Y U.S.D.A

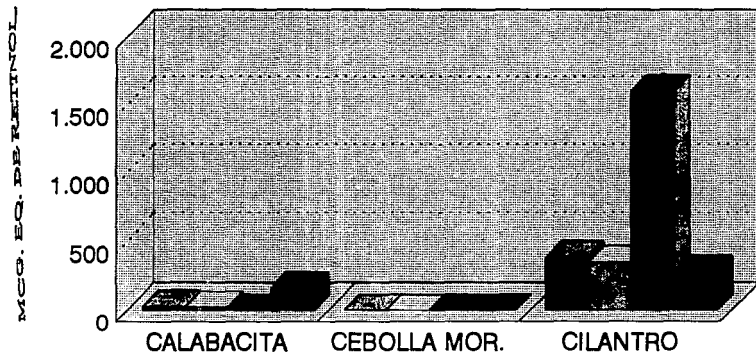


I.N.N.S.Z	10	312	0	0
C M	0	285,6	0	0
I.N.C.A.P	10	1.105	0	560
U.S.D.A	13	470	0	154

ALIMENTOS

COMPARACION DE LOS VALORES DE BETA-CAROTENO EN VEGETALES

DE LAS TABLAS DEL I.N.N.S.Z, C & M, I.N.C.A.P Y U.S.D.A

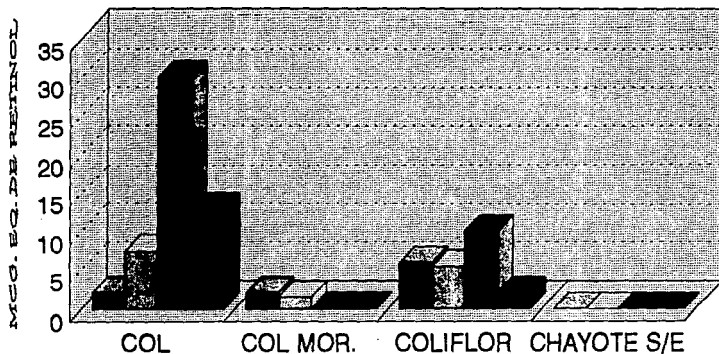


I.N.N.S.Z	27	0	384
C M	24	0	346,5
I.N.C.A.P	0	0	1.600
U.S.D.A	160	0	277

ALIMENTOS

COMPARACION DE LOS VALORES DE BETA-CAROTENO EN VEGETALES

DE LAS TABLAS DEL I.N.N.S.Z, C & M, I.N.C.A.P Y U.S.D.A

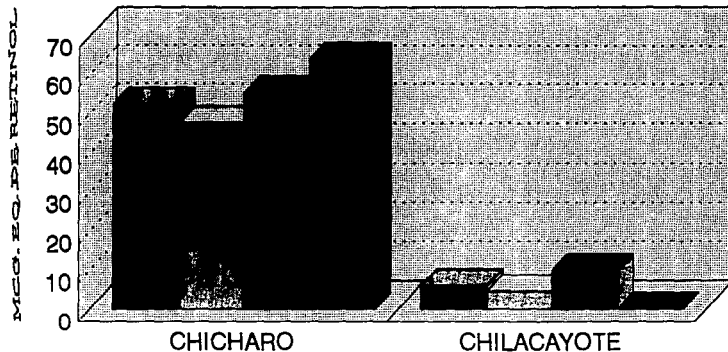


	COL	COL MOR.	COLIFLOR	CHAYOTE S/E
I.N.N.S.Z	2	2	6	0
C M	7,5	1,5	5,5	0
I.N.C.A.P	30	0	10	0
U.S.D.A	13	0	2	0

ALIMENTOS

COMPARACION DE LOS VALORES DE BETA-CAROTENO EN VEGETALES

DE LAS TABLAS DEL I.N.N.S.Z, C & M, I.N.C.A.P Y U.S.D.A

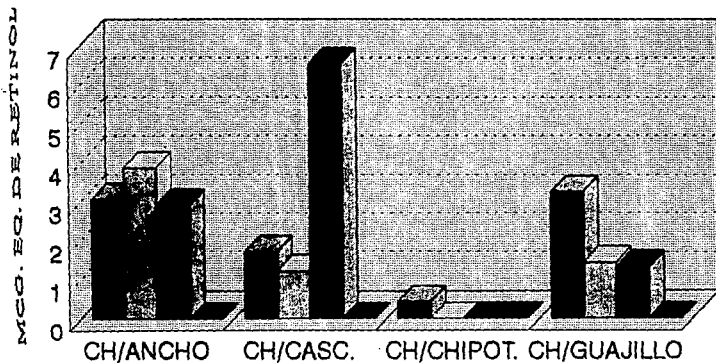






I.N.N.S.Z	52	6
C M	47,3	4,5
I.N.C.A.P	55	10
U.S.D.A	64	0

ALIMENTOS

COMPARACION DE LOS VALORES DE BETA-CAROTENO EN VEGETALES

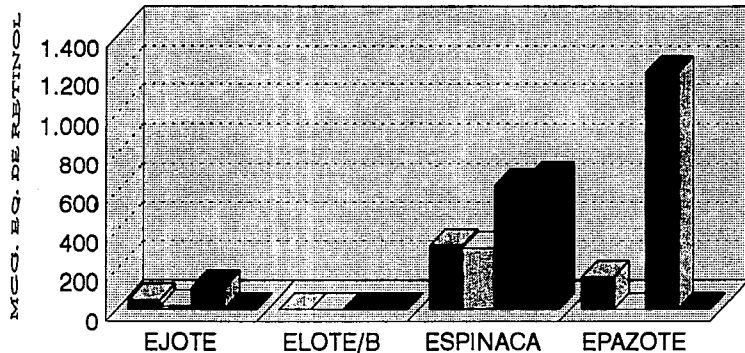
DE LAS TABLAS DEL I.N.N.S.Z, C & M, I.N.C.A.P Y U.S.D.A



I.N.N.S.Z		3,081	1,716	0,459	3,281
C M		3,894	1,228	0	1,467
I.N.C.A.P		2,94	6,565	0	1,355
U.S.D.A		0	0	0	0

ALIMENTOS

COMPARACION DE LOS VALORES DE BETA-CAROTENO EN VEGETALES DE LAS TABLAS DEL I.N.N.S.Z, C & M, I.N.C.A.P Y U.S.D.A

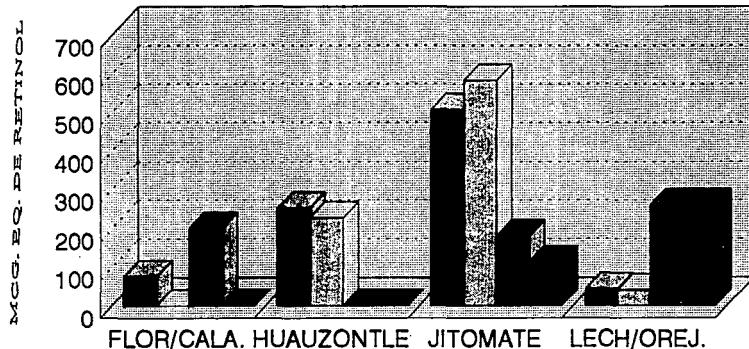






	EJOTE	ELOTE/B	ESPINACA	EPAZOTE
I.N.N.S.Z	47	0	323	158
C M	15	0	310	0
I.N.C.A.P	110	0	630	1.210
U.S.D.A	0	0	672	0

ALIMENTOS

COMPARACION DE LOS VALORES DE BETA-CAROTENO EN VEGETALES

DE LAS TABLAS DEL I.N.N.S.Z, C & M, I.N.C.A.P Y U.S.D.A

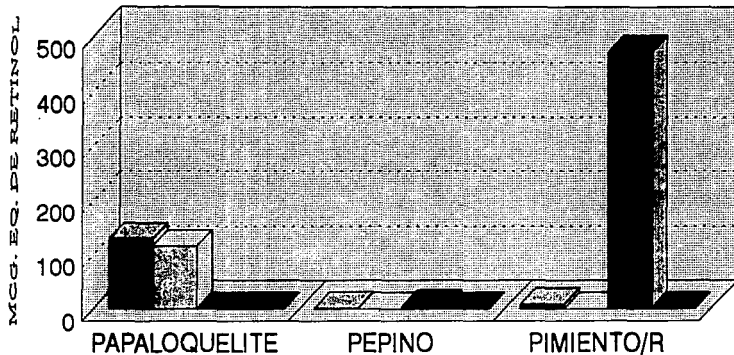


I.N.N.S.Z		77	252	507	44
C M		0	227,3	582	40,5
I.N.C.A.P		200	0	180	260
U.S.D.A		0	0	113	260

ALIMENTOS

COMPARACION DE LOS VALORES DE BETA-CAROTENO EN VEGETALES

DE LAS TABLAS DEL I.N.N.S.Z, C & M, I.N.C.A.P Y U.S.D.A

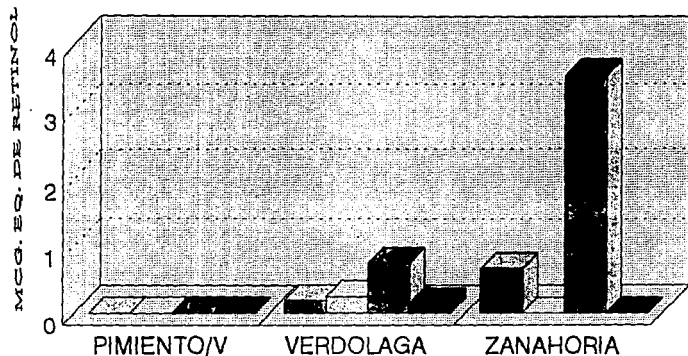


I.N.N.S.Z	129	1	8
C M	116	0	0
I.N.C.A.P	0	5	470
U.S.D.A	0	0	0

ALIMENTOS

COMPARACION DE LOS VALORES DE BETA-CAROTENO EN VEGETALES

DE LAS TABLAS DEL I.N.N.S.Z, C & M, I.N.C.A.P Y U.S.D.A



I.N.N.S.Z		0	0,192	0,664
C M		0	0,2513	0
I.N.C.A.P		0	0,75	3,53
U.S.D.A		0	0,132	0

ALIMENTOS

APENDICE III

PROCEDENCIA DE LOS ALIMENTOS
ANALIZADOS

ALIMENTO	PROCEDENCIA	ALIMENTO	PROCEDENCIA
Acelga	Xochimilco	Ejote	Morelos
Aguacate	Michoacán	Elote blanco	Toluca
Ajo	Toluca	Espinaca	Puebla
Alcachofa	Puebla	Epazote	Xochimilco
Apio	Monterrey	Flor de calabaza	Xochimilco
Berro	Morelos	Huauzontle	Puebla
Betabel	Xochimilco	Jitomate	Sinaloa
Brócoli	Xochimilco	Lechuga orejona	Hidalgo
Calabacitas	Puebla	Papaloquelite	Morelos
Cebolla morada	Guanajuato	Pepino	Puebla
Cilantro	Xochimilco	Pimiento rojo	Baja California
Col	Puebla	Pimiento verde	Baja California
Col morada	Puebla	Verdolaga	Puebla
Coliflor	Puebla	Zanahoria	Guanajuato
Chayote s/espinas	Veracruz	Camote amarillo	Michoacán
Chicharo	Toluca	Camote morado	Michoacán
Chilacayote	-----	Frijol amarillo	Zacatecas
Chile ancho seco	Zacatecas	Frijol Ayocote	Puebla
Chile cascabel	Zacatecas	Haba seca	Puebla
Chile chipotle	Zacatecas	Harina de soya	-----
Chile guajillo	Zacatecas		