

## Investigación cualitativa de vitamina A y provitamina A en el achiote

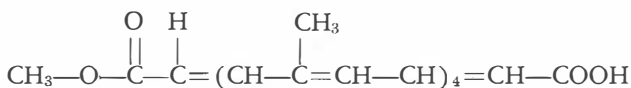
(*Bixa Orellana* L.)\*

por

Martha Ampié H.

(Recibido para su publicación el 2 de mayo de 1956)

La materia oleaginosa que recubre las semillas del achiote (*Bixa Orellana* L.), de color rojizo brillante, es muy usada como condimento en la América Latina. El color se debe a dos sustancias, la bixina y la orellina, y sobre todo a la primera, que es un polvo rojo oscuro insoluble en agua, poco soluble en alcohol, benceno, bisulfuro de carbono, éter, ácido acético; soluble en alcohol caliente y cloroformo, y cuya fórmula (2) es:



Al achiote se le han atribuido muchas propiedades medicinales; pero no parece que se haya estudiado la presencia de vitamina A o la posibilidad de que la bixina u otros carotenoides contenidos en el colorante sean capaces de transformarse en vitamina A in vivo.

En algunos lugares se usan las semillas crudas; pero la forma corriente de preparación para el comercio es en pasta, obtenida por maceración en agua caliente, por lo que cabría la suposición de que, aunque las semillas crudas

\* Trabajo realizado en la Facultad de Farmacia, Universidad de Costa Rica.

tuviesen vitamina A o provitaminas A, estas se perderían durante la preparación debido a las altas temperaturas.

El presente estudio tiene por objeto hacer una investigación cualitativa de la vitamina A y de provitaminas A en el achiote, tanto crudo como en la forma comercial, para establecer si, además de su uso como condimento y sustancia colorante de los alimentos puede representar también una fuente de dicha vitamina.

## MATERIAL Y METODOS

El material usado fue obtenido de semillas de achiote tomadas de plantas cultivadas en Betania de Montes de Oca.

Para el ensayo se hizo una extracción con cloroformo, en frío (achiote crudo) resultando que 100 gm. de semilla dan 11,9 gm. de materia extraída. Para comparar el valor del achiote crudo con el del producto comercial corriente, se preparó pasta, poniendo los granos en agua caliente, en la cual se les removió, dajándoles luego reposar dos días. Al cabo de este tiempo se coló el líquido y se dejó sedimentar, siendo la parte asentada la materia colorante.

Con este material se hizo un ensayo preliminar cualitativo, por el método de Carr-Price (1), que permite distinguir la presencia de vitamina A y de ciertos carotenoides como el  $\beta$ -caroteno. El resultado francamente negativo de esta prueba hizo necesario recurrir a las pruebas biológicas.

Como material de ensayo para estas pruebas se escogieron ratas blancas machos, de línea de descendencia conocida, cuyo peso oscilaba entre 20 y 33 gramos, que corresponde a una edad de 3 a 5 semanas.

Entre los varios métodos conocidos para el ensayo biológico de la vitamina A (3), se escogió la llamada *prueba ponderal*, por ser la más sencilla y permitir comparaciones numéricas en los resultados.

Esta prueba consiste en anotar el aumento de peso en animales sometidos a dieta carente de vitamina A y cuando se administra una cantidad suficiente de ella.

La dieta que se administró a los animales escogidos tiene la siguiente composición (4)

almidón	65-68 %
caseína	18 %
levadura seca triturada	8 %
aceite de coco	2-5 %
mezcla salina	4 %
agua	

La Farmacopea XIII de los Estados Unidos (4) proporciona dos fórmulas para preparar la mezcla salina que constituye un 4 por ciento de esta dieta.

De ellas se escogió la de preparación más cómoda, que tiene la siguiente composición:

cloruro de sodio (FEU)	1,73 gm.
sulfato de magnesio (FEU)	5,45 gm.
bifosfato sódico (FEU)	3,47 gm.
fosfato potásico (FEU reactivo)	9,54 gm.
bifosfato de calcio (Reactivo FEU)	5,40 gm.
citrato férrico (Reactivo FEU)	1,18 gm.
lactato de calcio (FEU)	13,00 gm.

Con esa dieta se trata de suministrar al animal de ensayo todas las sustancias necesarias para su desarrollo normal, inclusive todas las vitaminas necesarias para el metabolismo normal de la rata, como son las del complejo B, en forma de levadura seca y vitamina D, en la proporción de no menos de 3 U. FEU por cada gramo de la dieta.

Es de advertir, asimismo, que esta dieta está privada de vitamina C porque la rata es capaz de sintetizarla.

Los animales seleccionados se pesaron inmediatamente antes de administrarse la dieta y se siguieron pesando a los 8, a los 12, 16 y 20 días, cuando era evidente que su peso permanecía estacionario. Este *período de depleción* tuvo por objeto agotar las reservas de vitamina A en las ratas.

Las pruebas se realizaron con cuatro lotes, de 4 o 5 ratas cada uno.

Durante el *período de ensayo* un lote sirvió de control, pues no se le suministró vitamina en ninguna forma; a un segundo grupo se le dio achiote crudo; al tercero, achiote cocido. En ambos casos la materia obtenida de las semillas disuelta al 4,5 por ciento en aceite de coco, y en dosis diarias de 2 cc., por vía bucal mediante una pipeta que se introduce en la parte posterior de la faringe. Al cuarto grupo se le dio 5 U. I. de vitamina A tres veces por semana.

Una vez iniciado el período de ensayo, se pesó a los animales el 1er. día, a los 8, a los 11 y a los 14 días.

## RESULTADOS

Los resultados obtenidos se tabulan a continuación y se muestran gráficamente en la figura 1.

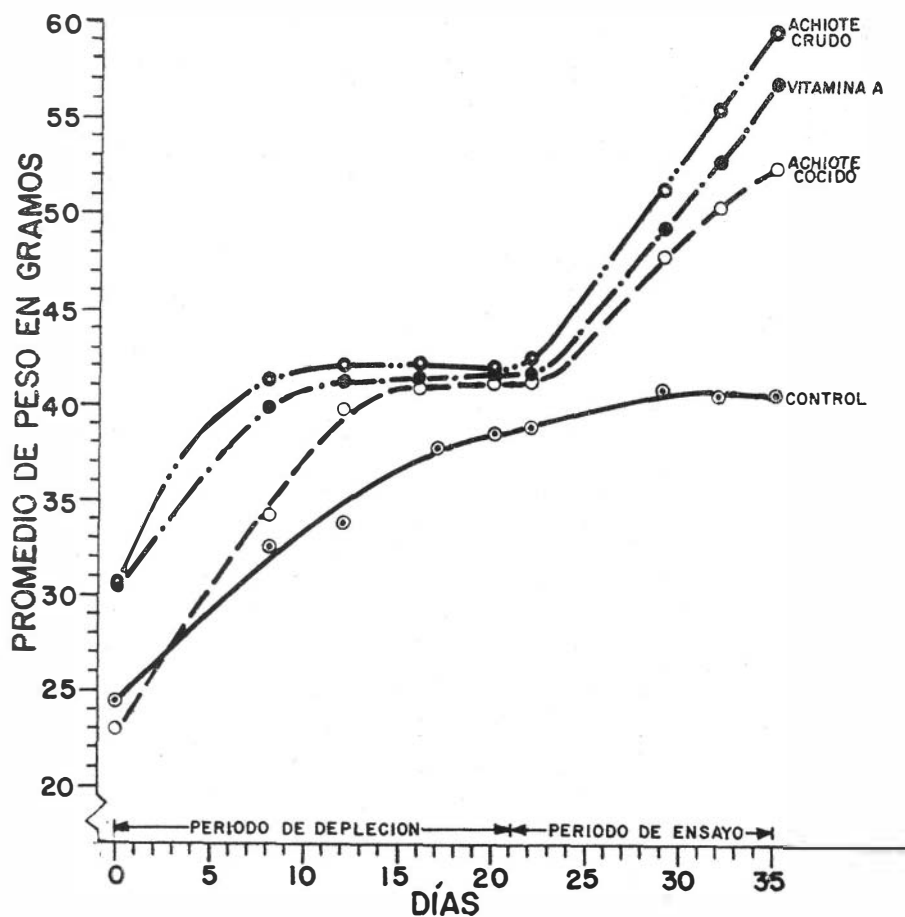


Fig. 1: Desarrollo (promedio de peso) de los cuatro grupos de ratas durante el ensayo.

### CUADRO I

*Lote de control* (Peso en gramos)

Rata N <sup>o</sup>	D I A S								
	Período de depleción					Período de ensayo			
	1	8	12	16	20	22	29	32	35
1	24,0	34,4	35,7	40,0	40,8	41,5	41,5	41,4	41,9
2	26,2	37,5	37,4	38,0	38,5	38,5	38,5	37,5	37,7
3	22,2	29,9	32,3	38,4	38,8	39,0	41,0	41,0	41,5
4	25,0	26,4	29,6	34,9	35,8	36,5	42,5	42,0	42,2
Promedio	24,3	32,5	33,7	37,8	38,5	38,9	40,9	40,4	40,8

Como se ve, el lote de control ganó apenas un promedio de 2,3 gm. o sea 5,9 por ciento sobre el peso al final del período de depleción.

CUADRO 2

*Lote al que se administró achiote crudo*

Rata N°	D I A S								
	Período de depleción					Período de ensayo			
	1	8	12	16	20	22	29	32	35
1	30,9	42,7	43,2	43,3	43,2	45,9	56,5	59,8	63,2
2	29,3	39,7	39,5	39,2	39,1	38,5	48,5	52,3	56,4
3	30,6	39,5	40,2	41,0	40,5	40,5	50,0	55,0	58,9
4	32,0	43,0	44,9	45,2	45,3	45,0	50,0	55,2	59,3
Promedio	30,7	41,2	42,0	42,1	42,0	42,5	51,25	55,6	59,45

El aumento promedio de peso observado durante el período de ensayo fue de 17,45 gm., o sea 41,5 por ciento.

CUADRO 3

*Lote al que se administró achiote cocido*

Rata N°	D I A S								
	Período de depleción					Período de ensayo			
	1	8	12	16	20	22	29	32	35
1	25,3	37,5	42,3	42,2	42,0	42,0	47,5	50,0	52,5
2	24,5	37,0	43,3	47,2	47,0	47,0	56,9	59,8	61,5
3	22,7	32,0	38,0	40,5	40,5	40,5	45,9	48,8	50,5
4	21,6	32,2	38,0	39,7	39,5	39,5	45,9	48,2	50,1
5	20,6	32,5	37,5	36,5	36,7	37,0	43,0	45,2	48,9
Promedio	22,9	34,2	39,8	40,2	41,1	41,2	47,8	50,4	52,3

El aumento promedio de peso observado fue de 11,2 gm., o sea 27,2 por ciento.

## CUADRO 4

*Lote al que se administró vitamina A*

Rata Nº	D I A S								
	Período de depleción					Período de ensayo			
	1	8	12	16	20	22	29	32	35
1	28,8	38,2	40,0	40,1	40,5	41,0	48,0	52,2	55,8
2	31,2	39,9	40,1	40,0	40,5	40,8	47,7	51,9	56,3
3	30,6	38,8	41,3	41,0	41,8	41,5	49,0	53,1	57,5
4	32,0	43,0	44,3	43,9	43,5	43,2	51,9	54,3	58,1
Promedio	30,6	39,9	41,4	41,2	41,6	41,6	49,2	52,9	56,9

El aumento promedio de peso observado durante el período de ensayo fue de 15,3 gm. o sea 36,7 por ciento.

## DISCUSION

El resultado de la prueba de Carr-Price indica, como se hizo notar, la ausencia de vitamina A, o de carotenoides capaces de dar reacción positiva; pero los resultados obtenidos en la prueba ponderal permiten suponer que la bixina suministrada es susceptible de ser transformada, en el organismo de la rata, en vitamina A y aprovechada como tal. Comparando las curvas de crecimiento de los distintos grupos, se nota en los animales a los que se dió achiote cocido una diferencia entre el crecimiento al principio del período de depleción y el obtenido durante el período de ensayo, mientras que en los grupos a los que se dió achiote crudo y vitamina A, el período de ensayo muestra una velocidad de crecimiento similar a la de los primeros ocho días del período de depleción. En términos generales, esto sugiere que ha habido una pérdida parcial, ya sea en la cantidad de sustancia transformable o en la susceptibilidad de la bixina al aprovechamiento en forma de vitamina A, debida a la alta temperatura.

Es conveniente hacer notar que el lote 4, al que se administró 5 U. I. de vitamina A 3 veces por semana, tuvo únicamente un papel de testigo positivo, o lote de referencia, para demostrar que las ratas respondían aumentando de peso en presencia de la vitamina, así como el lote de control tenía un papel de testigo negativo; las condiciones del ensayo no permiten establecer una comparación cuantitativa con la dosis de achiote.

## RESUMEN Y CONCLUSIONES

1. En el presente trabajo se hace una investigación cualitativa de vitamina y provitaminas A en la sustancia colorante que rodea las semillas del achiote (*Bixa Orellana*).

2. Por métodos químicos se demuestra la ausencia de vitamina A preformada en el achiote. Asimismo, se concluye que tampoco son capaces de dar reacción de Carr-Price positiva los carotenoides presentes.
3. Comprobada la ausencia de vitamina A, se hizo necesario recurrir a las pruebas biológicas, para saber si las sustancias colorantes que el achiote contiene son transformables en vitamina A, en el organismo animal, es decir, si pueden considerarse o no como provitaminas A.
4. La prueba ponderal demuestra que las sustancias colorantes del achiote se transforman in vivo en vitamina A, de manera semejante a como se comportan otros carotenoides.
5. Se demuestra, asimismo, como una consecuencia de lo anterior, que el achiote es importante como fuente de vitamina A y no sólo como condimento colorante de los alimentos.

El achiote parece sufrir una pérdida parcial de su contenido en provitaminas A, cuando se prepara la pasta a elevadas temperaturas.

### SUMMARY

A study is reported of vitamin A and provitamin A in the coloring matter of the seeds of *Bixa Orellana* L.

Chemical tests showed the absence of vitamin A and of carotenoids capable of a positive Carr-Price reaction.

Biological tests were made on groups of white rats using "raw" (chloroform), and "cooked" (hot water) extracts of *Bixa* seeds, with a control group and a reference group which was fed 5 I. U. Vitamin A thrice a week.

The results, as presented in tables 1-4 and in graph 1, show the carotenoid substances of *Bixa* seeds to be susceptible of use by the rat's organism as a provitamin, and the usual hot water extraction to diminish apparently the quantity or the value of such a provitamin.

### BIBLIOGRAFIA

1. HAWK, P. B., B. L. OSER, & H. W. SUMMERSON  
1949. *Química fisiológica práctica*. Trad. de la 12ª ed. original. XIV + 1269 pp. Ed. Interamericana S. A., México.
2. JIMÉNEZ, O.  
1947. El achiote (*Bixa Orellana*). *Rev. Inst. Defensa del Café de Costa Rica*. 18:155-158.
3. STEPP, W., J. KUHNAU, & H. SCHROEDER  
1941. *Las vitaminas y su empleo clínico*. Trad. de la 4ª ed. alemana. XIX + 1039 pp. Ed. Labor, Barcelona.
4. THE PHARMACOPOEIA OF THE UNITED STATES OF AMERICA  
1947. XIIth. revision. United States Pharmacopoeial Convention. Mack Publishing Co., Easton, Pa.