

EVALUACIÓN DE LAS XANTOFILAS EN MOSTAZA, COLIFLOR Y BROCOLI

Myrna L. Medina B. y Rafael J. Carreño D.

Estos resultados forman parte del proyecto Evaluación de materias primas agrícolas para la producción de concentrados proteicos pigmentantes para aves, No. 03-33-2342-90, financiado por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH) de la Universidad Central de Venezuela (UCV). Profesores, Asistente y Titular, respectivamente. UCV Facultad de Ciencias. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA). Apdo. 47097. Los Chaguáramos. Caracas 1041-A. Venezuela.

RECIBIDO: junio 02, 1998.

RESUMEN

Se planteó el objetivo de evaluar la presencia de xantofilas en el material foliar de la mostaza, *Brassica nigra* L. Koch, del brócoli, *Brassica oleracea* L. var. Botrytis L., o var. Italica, Planck y del coliflor, *Brassica oleracea* L. var. Botrytis L., considerada una variedad de repollo, *Brassica oleracea* L. var. Capitata, L. Para ello se fraccionaron los carotenoides en el material foliar de cada una de las especies y variedades señaladas, haciendo uso de la cromatografía descendente en columna abierta de magnesia activada y tierra de diatomeas (1:1); y con sílica gel y tierra de diatomeas (1:1). No se identificó la fracción de xantofilas ni en la muestra de mostaza, ni en la de coliflor con el método descrito. El mayor contenido de carotenos se encontró en el brócoli con la columna de magnesia activada, 545,34 µg de β-caroteno/100 µg de la harina. El contenido de xantofilas monohidroxiladas y dihidroxiladas fue de 887,53 expresados como µg de µcriptoxantina y 304,72 traducidos como µg de luteína/100 g de la harina, respectivamente. Esta última fracción representó el 22,55% de las xantofilas.

Palabras Clave: Carotenos; *Brassica nigra*; *Brassica oleracea*; brócoli; pigmentos; vegetales; xantofilas.

SUMMARY

The carotenoids in brocculi leaf, *Brassica oleracea* L. var. Botrytis L., Schnee, 1984, or *Brassica oleracea* L. var. Italica, Planck., Vélez, 1990, have been fractionated by column chromatography (Adsorptive Magnesia : a Celite Diatomite filter aid, 1:1) and (Silica gel : a Celite Diatomite filter aid 1:1). The major identified pigments were: β-carotene (545,34 µg/100 g), µcryptoxanthin (887,53 µg/100 g) and lutein (304,72 µg/100 g). The xantho-phylls were not identified in mustard leaf *Brassica nigra* L. Koch, neither in cauliflower leaf, *Brassica oleracea* L. var. Botrytis L., Schnee, 1984, or *Brassica oleracea* L. var. Capitata L., "its a variety of white cabbage", Vélez, 1990.

Key Words: Carotenoids; *Brassica nigra*; Brassica olerace; broccoli; pigments; vegetables; xanthophylls.

INTRODUCCIÓN

El interés en el estudio de los carotenoides ha incrementado en salud pública a partir de la década de los 80 porque estudios epidemiológicos han asociado el consumo de vegetales crucíferos, especies y variedades del género Brassica, mostaza, brócoli, col, coliflor, col de Bruselas y nabo, con la disminución de un 30 a un 50% en la incidencia de varios tipos de cáncer (Pepping *et al.*, 1988; Bureau y Bushway, 1986; Philip y Chen, 1988b y Khachick *et al.*, 1992).

Se ha demostrado que el retinol, el β -caroteno, la β -criptoxantina, zeaxantina, luteína, capsorulina, capsantina, el licopeno y el capsantol están involucrados en la protección de la mucosa gástrica a nivel celular (Craft y Soares, 1992). También han sido propuestos como protectores contra los ataques cardíacos e inhibidores de úlceras.

En trabajos similares Bureau y Bushway (1986) destacan varios estudios que han demostrado la inhibición del cáncer en líneas celulares y la regresión de tumores en animales de laboratorio por los carotenoides. Inicialmente se atribuyó a los carotenoides con actividad de vitamina A, principalmente el μ y β -caroteno (Menkes *et al.*, citados por Philip y Chen, 1988a). Sin embargo, varias de estas frutas y vegetales contienen cantidades substanciales de xantofilas, carotenoides sin actividad vitamínica.

Por su parte, Heinonen *et al.* (1989) señalan al brócoli como muy rico en β -caroteno (1 000-7 600 $\mu\text{g}/100\text{ g}$); mientras que Khachik *et al.* (1992), identificaron además neoxantina, violaxantina, luteína-5,6-epóxido, transluteína, cis-luteína y β -caroteno en brócoli fresco, y sometido a tratamientos térmicos al vapor y en microondas.

De igual manera, Micozzi *et al.* (1990), indican que los vegetales verdes y frescos, son moderadamente altos en β -caroteno (0,5-14,6 $\text{mg}/100\text{ g}$) y muy altos en xantofilas, principalmente luteína y sus 2,3 - esteroisómeros (63,0 $\text{g}/100\text{ g}$) y que la cocción reduce diferencialmente el contenido de los mismos.

Con base en las consideraciones planteadas y a que el material foliar del brócoli, *Brassica oleracea* L. var. Botrytis L., según Schnee (1984), o *Brassica oleracea* L. var. Italica, Planck., según Vélez (1990) y del coliflor, *Brassica oleracea* L. var. Botrytis L., según Schnee (1984), mientras Vélez (1990), la describe como una variedad de repollo, *Brassica oleracea* L. var. Capitata, L., constituyen materia de desecho en la mayoría de los casos, y a que los estudios epidemiológicos antes citados relacionados con estos vegetales podrían interpretarse mejor si la información va acompañada por datos cualitativos y cuantitativos de los principales carotenoides presentes en ellos.

Por tal motivo se propuso con este trabajo contribuir al estudio de los carotenoides en algunas especies y variedades del género Brassica, evaluando la presencia de xantofilas en el material foliar de mostaza, *Brassica nigra* L. Koch y en los materiales foliares del coliflor y del brócoli. Para ello se diseñaron las siguientes actividades: 1) Determinar la presencia de xantofilas en el material foliar de la mostaza, brócoli y coliflor. 2) Cuantificar las xantofilas y fraccionarlas. 3) Realizar el análisis próximo y la cuantificación de calcio, fósforo y taninos.

MATERIALES Y MÉTODOS

La materia prima, se obtuvo del material foliar de la mostaza, del brócoli y del coliflor, el cual se adquirió en el mercado local, seleccionando las hojas sanas, intactas y tiernas. El material escogido fue pesado y deshidratado en corriente de aire a 70 °C durante 3 horas, en un desecador de bandeja "National" No. TY2-44864. El material seco fue molido y pasado por un tamiz de 40 mesh. La harina obtenida se empacó en bolsas de polietileno con cierre, para luego proceder a guardarla en ambiente seco y protegido de la luz.

Fraccionamiento de los carotenoides y cuantificación de las fracciones de carotenos y xantofilas. El fraccionamiento de los carotenoides, la cuantificación de las fracciones de carotenos (fracción I) y xantofilas (fracción II) se realizó según el método descrito por Quackenbush *et al.*, citados por De Ritter y Purcell (1981). Para ello se obtuvo el extracto lipídico usando la mezcla de extracción, hexano : acetona : alcohol absoluto : tolueno (10+7+6+7), todos los solventes fueron utilizados en grado analítico.

El extracto lipídico obtenido fue pasado por una columna abierta de vidrio Pyrex de 125 mm x 30 cm, con tubo capilar de 2 mm de diámetro interno y 10 cm de largo, conteniendo el adsorbente II, el cual se preparó mezclando en un homogeneizador mecánico durante 1 ó 2 h en proporción 1+1, p/p, Magnesita Activada Sorb 43 y Tierra de Diatomeas Hyflo Super-Cel, ambos Fisher Scientific Co., que separa los carotenos de las xantofilas. Para eluir la fracción de carotenos fue empleada la mezcla de solventes, hexano : acetona (90+10) y para las xantofilas, hexano : acetona : metanol (80+10+10).

Fraccionamiento y cuantificación de los carotenos y xantofilas. El fraccionamiento de los carotenos y xantofilas, y su cuantificación en la harina obtenida se hizo según el método citado. Para ello fue necesario pasar el extracto lipídico, saponificado, por una columna abierta, igual a la anterior, pero con adsorbente I, el cual se preparó mezclando en un homogeneizador mecánico en proporción 1+1, p/p, durante 1 ó 2 h, Sílica Gel y Tierra de Diatomeas, Hyflo Super Cel (Fisher Scientific Co.).

La fracción de carotenos se eluyó con la mezcla de solventes hexano : acetona (96+4), seguidamente aparece la fracción de xantofilas monohidroxiladas con la mezcla de solventes hexano : acetona (90+10) y luego las xantofilas dihidroxiladas con la mezcla hexano : acetona (80+20). Para la saponificación del extracto lipídico se usó una solución de hidróxido de potasio metanólico al 40%, y dos temperaturas: saponificación en caliente a 56 °C por 20 minutos y saponificación en frío a temperatura ambiente por 16 h en ambiente oscuro.

En ambos casos fue utilizada la metodología descrita por los autores ya citados. El barrido espectrofotométrico de cada una de las fracciones eluidas se realizó con un espectrofotómetro Milton Roy, Spectronic 1 021 conectado a un computador-procesador 80.386, Programa Milton Roy Micro Quant Software versión 2,1; teniendo como patrón suspensión de β -caroteno al 30% en aceite de maní.

Análisis químico. Para la mayoría de las determinaciones se aplicó la metodología oficial de análisis recomendada en "Association of Official Analytical Chemist" de 1990.

Determinación de humedad en estufa a presión atmosférica y 135 °C, método No. 930,15. Determinación de cenizas en estufa a 600 °C, método No. 942,05. Determinación de grasa cruda o extracto etéreo, método gravimétrico No. 954,02. Determinación de fibra cruda, método No. 962,09. Determinación de nitrógeno total, método de MicroKjeldahl, Factor de conversión: 6,25. Calcio en plantas, método permanganométrico, No. 910,01. Fósforo, método espectrofotométrico (Polanco *et al.*, 1983). Taninos, método espectrofotométrico, (Price y Butler, 1977). Vitamina A: se determinó aritméticamente usando la actividad de provitamina A de cada uno de los carotenoides activos según Bauernfeind citado por Cecchi y Rodríguez-Amaya (1981). Un μg de β -caroteno (100% de actividad) igual a 0,5 μg de vitamina A. Un μg de μ caroteno o un μg de criptoxantina corresponde a 0,25 μg de vitamina A (50 % de actividad).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al realizar la cromatografía en columna abierta con el adsorbente I, de cada uno de los extractos lipídicos saponificados en caliente y correspondientes a las muestras de las harinas del material foliar de mostaza, coliflor y brócoli, se identificó en todas la fracción de carotenos; mientras que las xantofilas monohidroxi- y dihidroxiladas solamente fueron reconocidas en la muestra de la harina del material foliar del brócoli, así como una tercera fracción posiblemente de xantofilas polihidroxiladas, aún cuando Khachick *et al.* (1992), señalan que las crucíferas en general poseen un alto contenido en xantofilas.

Esto quizás tenga su explicación en las condiciones de cultivo, que en el caso del coliflor se favorece la forma arrepollada, y en consecuencia las hojas no están expuestas a energía luminosa de intensidad suficiente que favorezca el metabolismo de las xantofilas. Young (1991), se refiere al hecho de que, en las hojas de las plantas adaptadas a la oscuridad, la concentración de violaxantina es alta, mientras que el contenido en anteraxantina y zeaxantina es con frecuencia insignificante. En consecuencia se siguió el trabajo con el material foliar del brócoli y con la saponificación en frío ya que permite una mayor cuantificación de los carotenoides que con la saponificación en caliente.

Cuantificación de las fracciones de carotenos y xantofilas. Adsorbente II.

Carotenos. El espectro de absorción de la fracción de carotenos se presenta en la Figura 1, y sus características espectrales en el Cuadro 1. Se estimó la concentración como μg de β -caroteno/100 g de harina de material foliar del brócoli, equivalentes a 136,33 μg de vitamina A/100 g de la harina.

Xantofilas. El espectro de absorción de la fracción de xantofilas se presenta en la Figura 2, y sus características espectrales en el Cuadro 1. Se estimó la concentración como μg de -criptoxantina/100 g de la harina, equivalentes a 337,82 μg de vitamina A/100 g de la harina.

Fraccionamiento de las xantofilas totales. Adsorbente I. Carotenos. El espectro de absorción de la fracción I (carotenos) se presenta en la Figura 3, y sus características en el Cuadro 2; las cuales son muy similares a las de la fracción correspondiente obtenida con el adsorbente II y a su vez, muy semejantes al espectro del β -caroteno en hexano presentado por Curl citado por De Ritter y Purcell (1981). Se estimó la concentración como μg de β -caroteno/100 g de harina del material foliar del

brócoli, equivalentes a 132,90 µg de vitamina A/100 g de la harina.

La estimación de los carotenos resultó mayor con el adsorbente II. En este sentido, Rodríguez-Amaya y Amaya-Farfán (1992), señalan que el gel de sílice (adsorbente I) no es conveniente para determinar carotenoides, ya que su acidez inherente puede degradarlos o isomerizarlos. Tanaka *et al.* (1981), indican que el β-caroteno es estable sobre la columna de óxido de magnesio, no así sobre la de sílica gel en donde el 0,6% del caroteno es transformado luego de permanecer 30 min. en esa columna, y después de 1 h el espectro se trasladó 25 nm hacia la región del azul.

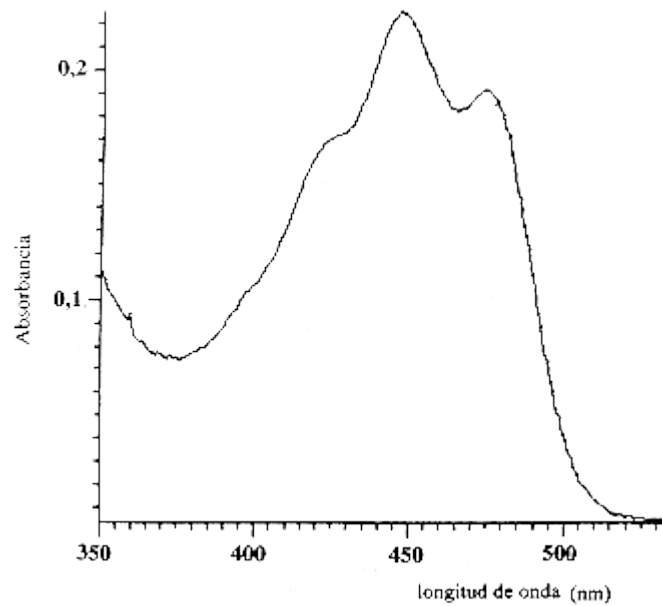


FIGURA 1. Espectro de absorción de la fracción foliar del brócoli, obtenida con magnesia activada.

[**CUADRO 1. Características espectrales de las fracciones de carotenos y xantofilas en el material foliar del brócoli.**](#)

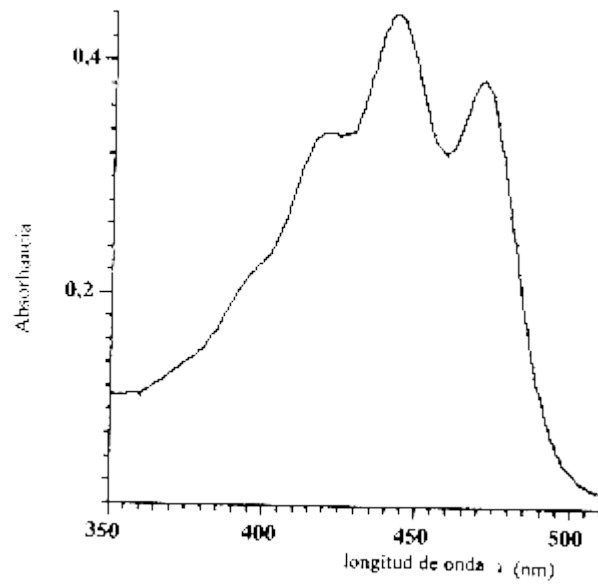


FIGURA 2. Espectro de absorción de la fracción de xantofilas en el material foliar del brócoli, obtenida con magnesia activada.

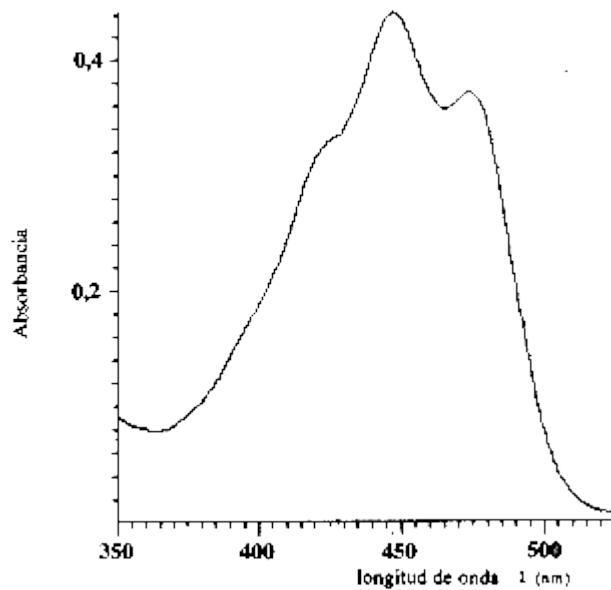


FIGURA 3. Espectro de absorción de la fracción foliar de carotenos en el material foliar del brócoli, obtenida con sílica gel.

CUADRO 2. Características espectrales de las fracciones de carotenos, de las xantofilas monohidroxiladas en el material foliar del brócoli dihidroxiladas en el material foliar del brócoli.

Xantofilas monohidroxiladas. El espectro de absorción de la fracción de xantofilas monohidroxiladas se presenta en la Figura 4, y sus características en el Cuadro 2. Es muy parecido al de la fracción de xantofilas obtenida con el adsorbente II. De hecho coincide con los máximos de la criptoxantina 5,6-epóxido (Curl citado por Davies, 1976). Si se comparan los máximos hallados, con los obtenidos por Davies (1976), para la β -cripto-xantina, (425), 446 y 475, se observa una diferencia para cada uno de los máximos de 5,5; 3 y 3 nm, respectivamente, lo que coincide con la reducción en el valor absoluto de la longitud de onda asociada con el cambio de un anillo β -terminal de la molécula de β -criptoxantina por un 5,6-epóxido, lo que el autor atribuye a la saturación del doble enlace cíclico y al incremento en la coplanaridad del cromóforo. Se estimó la concentración de esta fracción en μg de μ criptoxantina, equivalentes a 221,88 μg de vitamina A/100 g de la harina.

Xantofilas dihidroxiladas. El espectro de absorción de la fracción de xantofilas dihidroxiladas se presenta en la Figura 5, y sus características espectrales en el Cuadro 2. Es posible que esta fracción haya más de una xantofila dihidroxilada, lo que explicaría la poca definición del espectro. Los dos primeros máximos de absorbancia están muy cercanos al del mutacromó en hexano, presentados por El-Tiney y Chichester citados por Davies (1976), y por Klaüi y Bauernfeind (1981) quienes observaron que en paprika, *Capsicum annum*, representa casi el 0,3%.

Craft y Soares (1992) señalaron como posible factor de interferencia, la presencia en la solución de un 6% de zeaxantina, xantofila con una longitud de onda mayor en hexano (Valadon y Mummery citados por Davies, 1976). Estos autores indican para la flavoxantina (luteína 5,8-epóxido) 400, 420 y 447, en el mismo solvente. Es posible que en la fracción de dihidroxiladas haya una combinación de estas tres xantofilas. Por otra parte, Tanaka *et al.* (1981), refieren la estabilidad de la luteína en MgO, no así en sílica gel, en donde es transformada y degradada aún más cuando el tiempo de exposición es prolongado (1-4 h). La zeaxantina también es degradada sobre la columna de sílica gel, presentando desplazamiento del máximo de absorbancia hasta 20 nm en 2 h de exposición. Señalan como producto de transformación de la zeaxantina a la mutatoxantina.

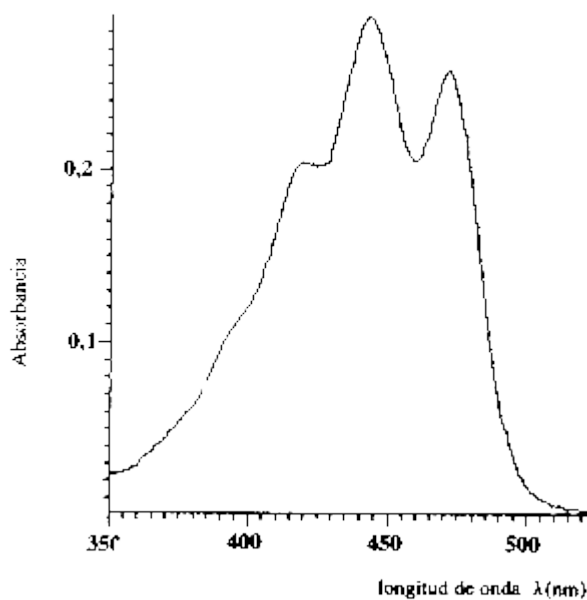


FIGURA 4. Espectro de absorción de la fracción foliar de xantofilas en el material foliar del brócoli, obtenida con sílica gel.

Se estimó la concentración de esta fracción como μg de luteína/100 g de harina de brócoli, lo que representa el 22,5% de las xantofilas.

Craft y Soares (1992) muestran la poca solubilidad de la luteína en hexano (20 mg/l) comparada con la misma en acetona (800 mg/l) y en tetrahidrofurano (THF) que fue de 8 000 mg/l. No obstante, las técnicas de extracción disponibles se basan en la partición de los carotenoides en hexano o en éter de petróleo a partir de un extracto de acetona o de alcohol-acuoso. Estos autores citan a Bieri *et al.*, De Ritter y Purcell y a Simpson *et al.*, quienes destacan que la poca solubilidad de los hidroxipigmentos en hexano conduce a pérdidas, y señalan que aún cuando el THF favorece la formación de peróxido, su uso ha incrementado debido a la alta solubilidad en él de una amplia

variedad de carotenoides polares. También mencionan la falta de información con respecto a la absorptividad de estos compuestos en THF, y sobre su estabilidad y características físicas en los solventes orgánicos.

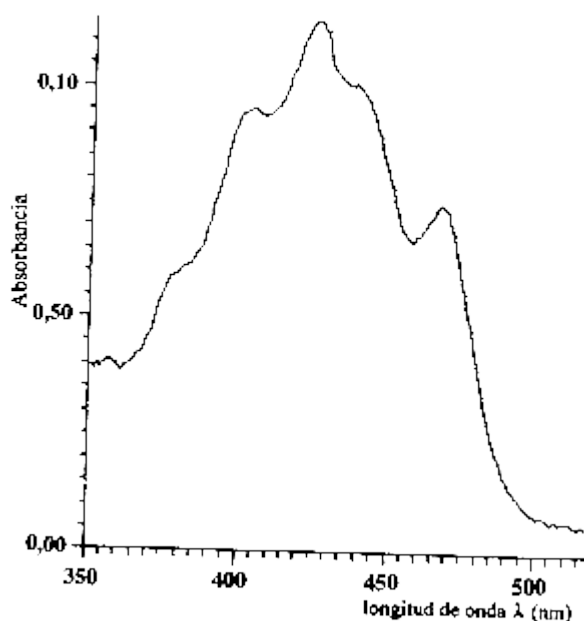


FIGURA 5. Espectro de absorción de la fracción foliar de xantofilas dihidroxiladas en el material foliar del brócoli, obtenida con sílica gel.

Las longitudes de onda de máxima absorción y la absorptividad de los carotenoides cambia con la naturaleza del solvente en el cual se hayan disueltos y con frecuencia para un mismo solvente, el máximo difiere en varios nanómetros dependiendo de la fuente de información. De Ritter y Purcell (1981) y Craft y Soares (1992), citan el ejemplo del β -caroteno, cuya longitud de onda máxima en diferentes solventes se ubica entre 448 y 466 nm y, señalan una longitud de onda máxima en hexano a 448 nm, 4-5 nm menos de lo publicado por Davies (1976), en su revisión; y una solubilidad de 600 mg/l. El espectro visible de este caroteno en etanol tiene poca resolución, con longitudes de onda de máxima absorción a 453 y 480 nm, mientras que en disulfuro de carbono el espectro es mejor, y sus máximos de absorción se ubican entre 484 y 521 nm, pero en una errata subsiguiente al trabajo original se publicó 512 nm, mientras que en varias referencias de origen norteamericano muestran 596 nm.

En tal sentido, De Ritter y Purcell (1981), recomiendan consultar trabajos originales más que revisiones bibliográficas, para evitar los errores repetitivos en los cuales se ha incurrido y obtener la certeza de que los solventes son comparables. Si otro criterio sugiere la identidad apropiada, no rechazar diferencias de 1 a 3 nm entre los máximos observados y los esperados. También influye el método de separación, al respecto

Kachick *et al.* (1992) quienes publicaron para el α -caroteno máximos de absorbancia entre 448-450 nm determinados por cromatografía líquida de alta presión (CLAP), muy distantes a los recopilados en las revisiones del tema.

Es importante destacar que en los diferentes trabajos consultados no hay uniformidad en cuanto a la metodología aplicada para cuantificar los carotenoides en frutas y vegetales; hay diferencias en la solución para extraer la fracción lipídica, en el adsorbente, en los solventes y en las soluciones de elución de las fracciones de carotenoides, por lo cual es difícil establecer comparaciones entre los resultados obtenidos y los expuestos en la literatura.

Xantofilas polihidroxiladas. Se aisló una cuarta fracción de las xantofilas luego de extraídas las fracciones de carotenos, xantofilas monohidroxi- y dihidroxiladas. El espectro se muestra en la Figura 6, y sus características en el Cuadro 2. Los dos máximos de absorbancia están muy próximos a los dos últimos del espectro de la neoxantina presentados por Valadon y Mummery citados por Davies (1976); sin embargo la definición no es buena para el máximo a 415 nm en donde se observa una inflexión. Se estimó la concentración en μg de neoxantina/100 g de la harina.

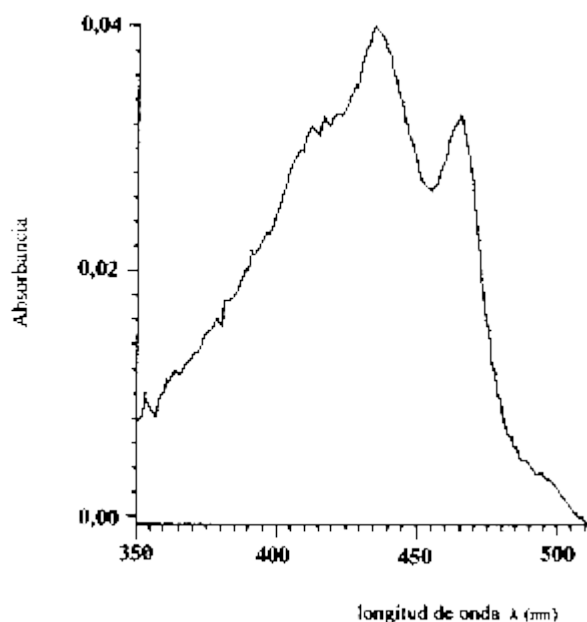


FIGURA 6. Espectro de absorción de la fracción foliar de xantofilas polihidroxiladas en el material foliar del brócoli, obtenida con sílica gel.

Composición química del material foliar del brócoli. Los resultados se presentan en el Cuadro 3. Bureau y Bushway (1986), recomiendan para el brócoli 762,89 μg de β -caroteno/100 g del material, usando CLAP. No mencionan si se trata del producto fresco, ni la parte del vegetal que analizaron. Se supone que se trata del material floral por ser la parte de la planta de consumo frecuente por el hombre, y del producto

fresco como es adquirido en los sitios de expendio. Haciendo el cambio de base respectivo para comparar los datos indicados por ellos con los hallados en esta investigación, se tiene que 762,89 μg de β -caroteno/100 g de materia fresca equivalen a 6 410,84 μg de β -caroteno en base seca, considerando 88,1% de humedad en el brócoli (INN, 1994).

En el caso de la harina del material foliar del brócoli se estimó 545,34 μg de carotenos, expresados como μg de β -caroteno por 100 g de la harina, lo que equivale a 579,28 $\mu\text{g}/100$ g en base seca, inferior a lo sepelado por los autores.

Según los resultados obtenidos la harina en el material foliar del brócoli representa una excelente fuente de proteína, fibra, cenizas, carbohidratos, calcio, fósforo, carotenos y xantofilas. Se recomienda estudiar aún más esta especie y fraccionar los carotenos y xantofilas para identificar los carotenoides más abundantes en esta harina, lo que sería de mucha utilidad en los estudios de las propiedades antioxidantes de estos compuestos, asociadas a su papel preventivo en ciertas enfermedades cardíacas, regresión de tumores y disminución de la incidencia de algunos tipos de cáncer.

CUADRO 3. Composición química de la harina en el material foliar de brócoli.

	Porcentajes
Humedad	5,86
Proteína cruda	25,31
Extracto etéreo	10,13
Fibra cruda	4,40
Cenizas	18,93
Carbohidratos (por diferencia)	35,37
Calcio ¹	332,51
Fósforo ¹	340,58
Vitamina A ²	354,78
Taninos ¹	100
Carotenos ²	545,34
Xantofilas ¹	1,35
Xantofilas dihidroxiladas ²	304,72

(1): expresado en mg/100 g ; (2): expresados en $\mu\text{g}/100$ g.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al Departamento de Botánica del Instituto de Biología Experimental de la Facultad de Ciencias de la UCV, por la identificación del material

biológico. Al Laboratorio de Biofísica del mismo Instituto y al Lic. Carlos Ortiz de la Universidad de Carabobo, por la colaboración prestada en la obtención de los espectros.

BIBLIOGRAFÍA

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST. 1990. Official Methods of Analysis. Vol. 1. Chapters 3 and 4. 15th Edition. Edited by Kenneth Helrich. Virginia 22201.U.S.A. p. 43, 69, 70, 79, 80.
- BUREAU, J. L. and R. J. BUSHWAY. 1986. HPLC Determination of Carotenoids in Fruits and Vegetables in the United States. J. Food Sci. 51(1):128-130.
- CECCHI, H. M. and D. B. RODRIGUEZ-AMAYA. 1981. Carotenoid Composition and Vitamin A Value of Fresh and Pasteurized Cashew-Apple (*Anacardium occidentale* L.) Juice. J. Food Sci. 46:147-149.
- CRAFT, N. E. and J. H. SOARES JR. 1992. Relative Solubility, Stability and Absorptivity of Lutein and β -carotene in Organic Solvents. J. Agric. Food Chem. 40:431-434.
- DAVIES, B. H. 1976. Carotenoids. **In:** Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments. Vol. 2. Chapter 19 Edited by T.W. Goodwin. Second Edition. Academic Press. London. S/N.
- DE RITTER, E. and A. E. PURCELL. 1981. Carotenoid Analytical Methods. In: "Carotenoids as Colorants and Vitamin A Precursors". Technological and Nutritional Applications. Chapter 10. Edited by J. Christopher Bauernfeind. Gainesville, Florida. Academic Press. USA. p. 815-917.
- HEINONEN, M. I., V. OLLILAINEN, E. K. LINKOLA, P. T. VARO and P. E. KOIVISTOINEN. 1989. Carotenoids in Finnish Foods: vegetables, fruits and berries. J. Agr. Food Chem. 37 (3):655-659.
- INSTITUTO NACIONAL DE NUTRICION (INN). 1994. Tabla de Composición de Alimentos para Uso Práctico. Publicación No. 50. Caracas. Venezuela. (Serie Cuadernos Azules. S/N).
- KHACHICK, F., M. B. GOLI, G. R. BEECHER, J. HOLDEN, W. R. LUSBY, M. D. TENORIO and M. R. BARRERA. 1992. Effect of Food Preparation on Qualitative and Quantitative Distribution of Major Carotenoid Constituents of Tomatoes and Several Green Vegetables. J. Agric. Food Chem. 40:390-398.
- KLAÜI, H. and C. BAUERNFEIND. 1981. Carotenoids as Food Colors. **In:** "Carotenoids as Colorants and Vitamin A Precursors". Technological and Nutritional Applications. Chapter 2. Edited by J. Christopher Bauernfeind. Gainesville, Florida. Academic Press. USA. p. 48-292.
- MICOZZI, M. S., G. R. BEECHER, P. R. TAYLOR and F. KHACHIK. 1990. Carotenoid analyses of selected raw and cooked foods associated with a lower risk for cancer. J. Nat. Cancer Inst. 82 (4): 282-285.

- PEPPING, F., C. M. J. VENCKEN and C. E. WEST. 1988. Retinol and Carotene Content of Foods Consumed in East Africa Determined by High Performance Liquid Chromatography. *J. Sc. Food Agric.* 45:359-371.
- PHILIP, T. and T. CHEN. 1988a. Development of a Method for the Quantitative Estimation of Provitamin A Carotenoids in Some Fruits. *J. Food Sci.* 53(6):1 703-1 706.
- PHILIP, T. and T. CHEN. 1988b. Quantitative Analyses of Major Carotenoid Fatty Acid Esters in Fruits by Liquid Chromatography: Persimmon and Papaya. *J. Food Sci.* 53(6):1 720-1 722 y 1 745.
- POLANCO, M., M. V AFANADOR, A. MORA y J. MARDENI. 1983. Determinación del fósforo total en carnes crudas utilizadas como materia prima para la elaboración de embutidos. *Revista del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel".* XVI (1 y 2):27.
- PRICE, M. L. and L. G. BUTLER. 1977. Rapid Visual Estimation and Spectrophotometric Determination of Tannin Content of Sorghum Grain. *J. Agric. Food Chem.* 25(6):1 268-1 273.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. y J. AMAYA-FARFAN. 1992. Estado actual de los métodos analíticos para determinar provitamina A. *Arch. Latinoamer. Nutr.* 42 (2):180-191.
- SCHNEE, L. 1984. *Plantas Comunes de Venezuela. 3ra Edición.* Ediciones Biblioteca Universidad Central de Venezuela. Caracas. Ven. p. 104, 215 y 485.
- TANAKA, Y., T. KATAYAMA, K. L. SIMPSON and C. O. CHICHESTER. 1981. Stability of carotenoids on silica gel and other adsorbents. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 47(6):799-811.
- VELEZ, F. y G. V DE VELEZ. 1990. *Plantas Alimenticias de Venezuela. Autóctonas e Introducidas. 1ra Edición.* Monografía No. 37. Fundación Bigott. Sociedad de Ciencias Naturales La Salle. p. 45, 47,76, 154, 155 y 194.
- YOUNG, A. J. 1991. The photoprotective role of carotenoids in higher plants. *Physiol. Plant.* 83:702-708.