

La importancia relativa de la fibra dietética, fitatos y  
taninos en la biodisponibilidad del hierro en frijol  
cocido bajo presión atmosférica  
José Serrano

# UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencia y Humanidades

## **La importancia relativa de la fibra dietética, fitatos y taninos en la biodisponibilidad del hierro en frijol cocido bajo presión atmosférica**


José Serrano Casasola

Trabajo de investigación presentado para optar al grado académico de Master  
en Ciencia y Tecnología de Alimentos


Guatemala  
2002

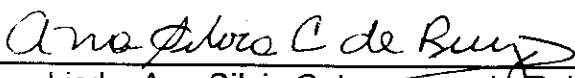
UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIA Y HUMANIDADES  
CENTRO DE INVESTIGACIONES Y REFERENCIAS  
CIENTÍFICAS Y TECNOLÓGICAS

Vo.Bo.:

(f)   
Dr. Ricardo Bressani

Tribunal

(f)   
Licda. Patricia Palacios de Palomo

(f)   
Licda. Ana Silvia Colmenares de Ruiz

(f)   
Dr. Ricardo Bressani

Fecha de aprobación: septiembre del 2002

## INDICE DE CONTENIDOS

	Página
LISTA DE CUADROS.....	XI
LISTA DE GRÁFICAS.....	XIII
RESUMEN.....	XV
CAPITULOS	
I. Introducción.....	1
II. Antecedentes .....	3
A. Prevalencia de anemia en Guatemala.....	3
B. Valor nutritivo del frijol negro ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ).....	6
C. Factores que inhiben la absorción de Hierro.....	10
1. Taninos.....	11
2. Fitatos.....	14
3. Fibra.....	17
4. Proteína.....	18
D. Métodos para determinar biodisponibilidad de Hierro.....	19
III. Justificación.....	25
IV. Objetivos.....	27
A. Objetivo general.....	27
B. Objetivos específicos.....	27
V. Hipótesis.....	29

VI. Materiales y métodos.....	31
VII. Resultados y discusión.....	45
VIII. Conclusiones.....	67
IX. Recomendaciones.....	69
X. Referencia bibliográfica.....	71
Anexo No. 1.....	75

## LISTA DE CUADROS

Cuadro No. 1	Composición nutricional del frijol negro <i>P. Vulgaris</i> por 100 g de frijol crudo	7
Cuadro No. 2	Porcentaje de retención de nutrientes durante la cocción en frijol negro <i>P. Vulgaris</i>	8
Cuadro No. 3	Diferencia porcentual en la composición nutricional entre semillas secas y germinadas de leguminosas	9
Cuadro No. 4	Composición y biodisponibilidad de Hierro en diferentes leguminosas	15
Cuadro No. 5	Métodos para determinar biodisponibilidad de Hierro	17
Cuadro No. 6	Diseño experimental	30
Cuadro No. 7	Identificación de variables	30
Cuadro No. 8	Contenido de Taninos, Fibra Dietética, Fitatos y Hierro Absorbible en muestras de frijol analizadas	43
Cuadro No. 9	Contenido de Fósforo y Fitatos de las muestras analizadas	49
Cuadro No. 10	Respuesta esperada en relación al contenido de Fibra Dietética, Taninos y Fitatos de la Muestra	57
Cuadro No. 11	Coeficientes de regresión para la determinación de Hierro absorbible en frijol	58

## LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica No. 1	Respuesta esperada de Hierro absorbible con relación al contenido de Taninos y Hierro total de la muestra	46
Gráfica No. 2	Gráfica de contorno de la superficie de respuesta al contenido de Taninos y Hierro total de la muestra	46
Gráfica No. 3	Respuesta esperada de Hierro absorbible con relación al contenido de Fibra Dietética y Hierro Total de la muestra	48
Gráfica No. 4	Gráfica de contorno de la superficie de respuesta al contenido de Fibra Dietética y Hierro Total de la muestra	48
Gráfica No. 5	Respuesta esperada de Hierro absorbible con relación al contenido de Fitatos y Hierro Total de la muestra	53
Gráfica No. 6	Gráfica de contorno de la superficie de respuesta al contenido de Fitatos y Hierro Total de la muestra	53
Gráfica No. 7	Gráfica de respuesta esperada con relación al contenido de Fibra Dietética y Taninos de la muestra	54
Gráfica No. 8	Gráfica de respuesta esperada con relación al contenido de Fibra Dietética y Fitatos de la muestra	55
Gráfica No. 9	Gráfica de respuesta esperada con relación al contenido de Taninos y Fitatos de la muestra	56
Gráfica No. 10	Gráfica de respuesta esperada con relación al contenido de Fibra Dietética, Taninos y Fitatos de la muestra	56

## RESUMEN

Las leguminosas constituyen una importante fuente de nutrientes en la alimentación humana y animal. Sin embargo, las semillas de estas plantas poseen ciertos componentes que pueden incidir desfavorablemente en su valor nutritivo. Estos compuestos denominados factores antinutritivos pueden, en algunos casos, afectar la digestión, absorción y metabolismo de los nutrientes y limitar la inclusión de estas semillas en la dieta. De todos los factores presentes en las leguminosas, los fitatos, taninos y fibra dietética son los de mayor incidencia en el aprovechamiento nutritivo.

El objetivo de este estudio ha consistido en la valoración de diferentes factores antinutritivos presentes en la semilla del frijol *Phaseolus vulgaris* y su importancia relativa en la inhibición de la absorción del hierro en el frijol. Para tal efecto se realizaron 16 experimentos con diferencias en el contenido de taninos, fibra dietética y fitatos. Los procesos utilizados para realizar variaciones en el contenido de fitatos, fibra dietética y taninos fueron la germinación, descascarado y remojo respectivamente.

Las muestras que fueron descascaradas contienen 50% menos de taninos y entre 40 y 50% menos de fibra dietética en comparación con las muestras no descascaradas, no germinadas y no remojadas. Con lo cual se considera el mejor tratamiento para disminuir el contenido de taninos y fibra

dietética de la semilla. En relación al contenido de fitatos, las muestras germinadas contenían 95% menos de fitatos en relación a las demás muestras.

El efecto de cada uno de los factores en la inhibición de la absorción del hierro fue determinado por medio de gráficas de superficie de respuesta, en donde la respuesta predecida corresponde al hierro dializable. La fibra dietética no ejerció un efecto significativo en la respuesta de absorción de hierro. Sin embargo, las muestras que fueron remojadas y germinadas tuvieron valores más bajos de absorción de hierro en comparación con las demás muestras. El contenido de taninos y fitatos, si está relacionado con una disminución en la absorción del hierro, siendo el contenido de taninos el que más influye en la baja disponibilidad del hierro en el frijol. La ecuación del comportamiento observado fue la siguiente:

$$\text{Hierro dializable} = 1.46 + 0.29(\text{Hierro Total}) + 0.81(\text{Fibra Dietética}) - 0.67(\text{Taninos}) - 0.04(\text{Fitatos}) - 1.92(\text{Fibra Dietética})^2 + 0.81(\text{Fitatos})^2.$$

A pesar de la eliminación de todos los posibles factores que disminuyen la absorción de hierro, solamente se logró dializar como máximo un 1.68% del contenido total de hierro, por lo que todavía queda la incógnita del efecto de otros factores dentro del frijol.

# I. INTRODUCCIÓN

Los dos grupos de plantas productoras de semillas más importantes como fuente de alimentación humana son las Gramíneas y parte de las que forman el grupo de las leguminosas.

Las leguminosas son apreciados no sólo por su valor energético, sino por la gran cantidad de proteína que suministran. Resulta especialmente valiosa como complemento de los cereales en aquellas regiones donde la población tiene limitado el acceso de la proteína de productos animales. Además, la cantidad de hierro del frijol es una de los mayores encontradas en los productos comestibles de origen vegetal. El consumo per capita de frijoles en Guatemala según la Encuesta Nacional de Consumo aparente de alimentos es de 49.25 g al día, lo cual contribuye con 197 kcal diarias del consumo total de alimentos.

A pesar de la contribución de las leguminosas a la ingesta calórica-proteica de los sectores de bajos recursos, éstas presentan una variedad de factores antinutricionales que causan respuestas fisiológicas y nutricionales adversas en el hombre, como una baja biodisponibilidad del hierro, y una absorción de solamente el 0.84%.

Debido al lugar importante que estos granos ocupan en la dieta de familias nutricionalmente vulnerables, es imprescindible diseñar tecnologías

simples y de bajo costo que contribuyan a mejorar el valor nutritivo de las especies. Entre las principales alternativas se considera aumentar la biodisponibilidad de hierro en el alimento.

El estudio tuvo por objeto determinar la importancia relativa de tres inhibidores del hierro en el frijol; la fibra dietética, los fitatos y taninos después de cocción bajo presión atmosférica. Se obtuvo una ecuación que relacionó cada factor inhibidor bajo una serie de experimentos con modificaciones en el contenido de estos, en relación a la absorción del hierro.

Los resultados de esta investigación, permitirán realizar intervenciones de carácter nutricional educativo a nivel nacional, para implementar las técnicas y procedimiento adecuados para mejorar la biodisponibilidad del hierro en el grano de acuerdo a la importancia relativa de cada inhibidor sobre el hierro.

## **II. ANTECEDENTES**

### **A. Prevalencia de anemia en Guatemala**

La anemia por deficiencia de hierro es el principal problema nutricional en el mundo, y afecta aproximadamente al 30% de la población mundial. La mayor incidencia es entre niños preescolares (43%) y mujeres embarazadas (51%). Esta deficiencia es causada por una dieta inadecuada, mala absorción, un aumento en las necesidades de hierro, infecciones por parásitos, pérdida de sangre o embarazos frecuentes. En infantes y niños pequeños, la anemia por deficiencia de hierro puede traer como resultado un daño irreversible en el desarrollo psicomotor. Niños de edad escolar pueden sufrir de funciones inmunológicas deficientes, fatiga o falta de atención y bajo rendimiento escolar.

En el caso de las mujeres embarazadas, aumentan la morbilidad y mortalidad tanto de la madre como del feto, a la vez que se aumenta el riesgo de neonatos con bajo peso al nacer. Tanto hombres como mujeres con deficiencia de hierro ven disminuida su capacidad de realizar trabajos físicos con la consecuente reducción en la capacidad de ganar dinero, a la vez que se reduce la resistencia a las enfermedades con el costo adicional que esto acarrea a la sociedad.

Las carnes, especialmente las rojas, son la principal fuente de hierro hemínico (Torun et al, 1996). Si bien el hierro presente en las carnes rojas es la forma que se absorbe con más eficiencia, las fuentes animales de hierro son, o muy costosas o simplemente no están disponibles para muchas poblaciones. Las plantas son unas fuentes alternas de hierro; sin embargo su absorción es pobre.

El hierro no hemínico -también llamado inorgánico- se encuentra en leguminosas de grano, cereales, varias verduras y frutas. (Mahan y Arlin, 1995, 120). La absorción de hierro no hemínico o inorgánico varía de menos de 1% a más de 10% en individuos con reservas adecuadas del mineral. Varios componentes de la dieta, principalmente el ácido ascórbico y otros ácidos orgánicos, el hierro hemínico, y los alimentos de origen animal, favorecen esta absorción cuando son ingeridos junto con el hierro inorgánico. El glutamato monosódico o el vinagre agregados a las harinas de trigo y de papa también aumentan la biodisponibilidad de hierro.

Además, hay factores dietéticos que reducen la absorción del hierro no hemínico, como los fitatos, y fibras de los cereales, leguminosas y otros vegetales; los taninos y otros polifenoles del té, café, caldo de frijol negro y otros alimentos vegetales; el fosfato de calcio, y algunas proteínas como la avidina del huevo. El efecto de la ingestión de cantidades moderadas de fibra dietética, fitatos e infusiones diluidas de té y café es importante en la reducción de la absorción, solamente cuando la dieta provee cantidades muy bajas del mineral. Además, el efecto inhibitorio puede ser contrarrestado por la presencia de ácido

ascórbico o alimentos de origen animal en la dieta. Asimismo, la cocción del huevo desnaturaliza la avidina y hace biodisponible el hierro de la yema del huevo.

La ingestión en altas cantidades de otros minerales, como calcio, magnesio, zinc, cobre, cobalto y manganeso, interfieren con la absorción del hierro inorgánico, pues compiten por los mismos mecanismos de absorción intestinal. Los medicamentos antiácidos también reducen la absorción del hierro.

La deficiencia de hierro es muy común en estas áreas a pesar de que el contenido dietético de hierro en los alimentos es el adecuado. Varios estudios realizados sobre biodisponibilidad del hierro han demostrado una baja biodisponibilidad del mismo en la mayoría de cereales con la excepción de la harina de trigo altamente refinada. Las leguminosas contienen mayores cantidades de hierro que los cereales, pero su biodisponibilidad del hierro es más baja que la de los cereales. En un estudio realizado por Lynch et al (1984, 42-47), demostró la baja biodisponibilidad del frijol negro (*Phaseolus vulgaris*) en seres humanos, en donde reportó una absorción del 0.84% del total del hierro en sujetos con un promedio de 20 años de edad con buen estado nutricional

## **B. Valor nutritivo del frijol negro (*Phaseolus vulgaris*)**

En Guatemala, el consumo de frijol negro *Phaseolus vulgaris* es relativamente alto en cualquier clase social de la población. Sin embargo, a

pesar de que el contenido de hierro no hemínico en el frijol es alto, su biodisponibilidad es muy baja. El contenido de hierro no hemínico del frijol por onza es de 2.3 mg (Flores et al, 1971, 8) y su porcentaje de biodisponibilidad es del 0.8% a pesar de que es la leguminosa que mayor cantidad de hierro posee. Esta baja biodisponibilidad es atribuida a varios factores, entre los cuales se pueden mencionar los taninos, fitatos, fibra de la cáscara y fibra interna.

Se han realizado varios estudios en los cuales se ha logrado eliminar cada uno de los factores antinutricionales que inhiben la absorción de hierro en el frijol, y se considera que estos solo contribuyen en un 30 a 40% en la inhibición de la absorción. Lo cual deja un 60% de hierro no hemínico que es inhibido por uno o varios factores desconocidos.

En términos generales, la mayoría de las especies de las leguminosas a excepción de las nueces, garbanzos y soya, pueden ser descritas que contienen aproximadamente 10% de humedad, 21-25% de proteína cruda, 0.8-1.5% de lípidos, 60-65% de carbohidratos y de 2.2 a 4.0% de ceniza; las cuales aportan entre 345 a 350 kcal /100 g. Las especies de *Phaseolus vulgaris* contienen mayores cantidades de ácido linoléico, que otras leguminosas incluyendo la soya, siendo el ácido linoléico el ácido graso más abundante (Matthews, 1989, 187-213)

La composición aproximada de diversas especies de *P. Vulgaris* se muestra en el cuadro No. 1

Sin embargo, el procesamiento del frijol también afecta la distribución de nutrientes dentro del mismo, por ejemplo el enlatado generalmente involucra, un

remojo previo en agua fría, seguido por un blanqueado por agua caliente, llenado de frijol en contenedores sellados, adición de la salmuera y procesado bajo presión a varios tiempos y temperatura; dependiendo de la especie de la leguminosa, la formulación especial de la industria, las temperaturas de llenado, etc. (Matthews, 1989, 187-213)

### Cuadro No. 1

Composición nutricional del frijol negro *P. Vulgaris* por 100 g de frijol crudo

Nutriente	F. Negro
Humedad (g)	10.6
Energía (kcal)	345
Proteína (g)	21.8
Grasa (g)	1.4
Carbohidratos (g)	63.5
Fibra Neutra (g)	13.3
Tiamina (mg %)	0.99
Riboflavina (mg %)	0.201
Niacina (mg %)	1.93
Vit. B6 (mg %)	0.285
Acido Fólico (mg %)	0.447
Pantotenato (mg %)	0.99
B-caroteno (mg %)	-
Fósforo (mg %)	380.3
Potasio (mg %)	1424.3
Sodio (mg %)	5.2
Calcio (mg %)	92.3
Magnesio (mg %)	195.6
Zinc (mg %)	3.96
Manganeso (mg %)	1.17
Cobre (mg %)	0.77
<b>Hierro(mg %)</b>	<b>4.82</b>

Durante el proceso de rehidratación, el contenido de humedad aumenta desde aproximadamente 10% hasta un 60 a 70%. Además, cuando las leguminosas están en contacto con agua caliente o fría, puede existir cierta

lixiviación (especialmente de los nutrientes solubles en agua) de vitaminas y minerales de las leguminosas hacia el agua. Este proceso se ve aumentado en la presencia de semillas rotas y/o cáscaras rotas (Matthews, 1989, 187-213).

El cuadro No. 2 muestra el porcentaje de retención de nutrientes después del procesamiento. Analizando los datos sobre el contenido de hierro en los cuadros No. 1 y No. 2; la cantidad de hierro en el frijol negro crudo es de 4.82 mg / 100 g, el cual disminuye un 17% durante la cocción, dando como resultado 4.00 mg de hierro por cada 100 g de frijol. De los cuales solo el 0.8% es biodisponible, es decir 0.32 mg / 100 g de frijol.

### Cuadro No. 2

Porcentaje de retención de nutrientes durante la cocción en frijol negro *P. vulgaris*

Nutriente	F. Negro
Tiempo (min)	60/75
Proteína	96
Grasa	95
Carbohidratos	93
Fibra Neutra	74
Tiamina	58
Riboflavina	69
Niacina	61
Vit. B6	57
Acido Fólico	79
Pantotenato	63
Fósforo	85
Potasio	69
Sodio	33
Calcio	86
Magnesio	71
Zinc	75
Manganeso	90
Cobre	61
<b>Hierro</b>	<b>83</b>

La germinación de las leguminosas también produce cambios en la composición nutricional del mismo. En el cuadro No. 3 se muestra la diferencia nutricional entre semillas secas y germinadas. En general, se observa un aumento en el contenido de humedad, una disminución en la cantidad de calorías y un aumento en el contenido de proteínas y vitaminas. Además se ha demostrado que las semillas germinadas tienen cierta cantidad de ácido ascórbico, biotina y tocoferol, los cuales son escasos en la semilla seca. El ácido fítico también es hidrolizado en la germinación, y la actividad de los inhibidores de tripsina se ven levemente afectados. (Matthews, 1989, 187-213).

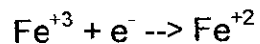
**Cuadro No. 3**

Diferencia porcentual en la composición nutricional entre semillas secas y germinadas de leguminosas

Nutriente	Lenteja		Arveja		Soya	
	Seco	Germinado	Seco	Germinado	Seco	Germinado
Humedad	10.8	90.7	8.2	90.0	7.5	90.6
Energía (Kcal)	383	372	386	369	461	366
Proteína	27.2	50.1	24.0	51.4	39.6	44.0
Grasa	1.1	4.2	1.3	3.4	22.8	3.8
Carbohidratos	68.2	40.0	71.8	39.9	32.6	44.6
Fibra	11.2	22.1	11.2	21.4	13.3	18.2
Ac. ascórbico	-	372.8	-	224.2	-	232.7
Tiamina	0.44	1.09	1.18	1.68	0.56	0.69
Riboflavina	0.31	1.27	0.87	1.45	0.39	1.42
Niacina	2.43	9.90	2.86	9.35	3.34	7.62
Vit. B6	0.64	1.58	0.14	2.20	0.49	1.21
Acido fólico	0.37	0.90	0.39	0.92	0.38	1.21
Pantotenato	1.78	6.45	3.41	11.35	2.12	10.99
Fósforo	553.5	951.9	408.9	943.8	444.4	821.0
Potasio	980	1229	973	1733	1615	2043
Calcio	46.7	58.7	77.5	55.9	243.3	94.3
Magnesio	110.7	159.9	125.1	180.4	229.7	167.6
Zinc	4.79	9.56	2.55	6.29	3.91	7.34
Manganeso	1.39	1.44	1.08	1.12	2.49	1.31
Cobre	1.20	2.36	1.05	1.89	1.46	1.73
<b>Hierro</b>	<b>10.20</b>	<b>11.16</b>	<b>5.75</b>	<b>9.79</b>	<b>10.41</b>	<b>7.56</b>

### C. Factores que inhiben la absorción de Hierro

Existen cinco estados de oxidación del hierro en los alimentos desde  $Fe^{+6}$  a  $Fe^{+2}$ , dependiendo de su ambiente químico, siendo los más predominantes en su estado de oxidación +2 y +3. La forma férrica del hierro es reducida a su estado ferroso en la presencia del ácido clorhídrico y agentes reductores como el ácido ascórbico.



El hierro ferroso y férrico son solubles bajo condiciones ácidas en el estómago. Con el aumento en el pH en el intestino delgado, en donde la mayor parte del hierro es absorbido, los iones férricos no son solubles y por tal razón son menos absorbidos. Durante la digestión, el hierro no hemínico puede cambiar su estado de valencia y formar complejos con otros ligandos dietéticos como el ácido ascórbico, fitatos, taninos y oxalatos. La estabilidad del quelante del hierro aumenta con la concentración del quelante.

A pesar que dentro del estómago, la mayor parte del hierro es liberado por los complejos quelantes (debido al pH ácido), cuando el alimento deja el estómago y entra en el intestino delgado en donde existe un pH entre 7 y 8 se produce una reformación de los complejos con fitatos, taninos, ascorbato, oxalato, etc. En este punto existe una gran competencia de los ligandos por el hierro, de tal forma que la biodisponibilidad del hierro está determinada con la afinidad de cada ligando hacia el hierro, su solubilidad en el intestino y a la cantidad del ligando en el alimento. Por tal razón se describen a continuación algunos de los principales quelantes del hierro en el frijol.

1. Taninos. En el reino vegetal se encuentran un número bastante grande de sustancias fenólicas, en su mayor parte en forma de glicosidos o ésteres. Pueden clasificarse en tres grupos basándose en el número de anillos aromáticos de la molécula:

- Fenoles con un anillo aromático: Ejemplo: ácido gálico que está ampliamente distribuido en plantas.
- Fenoles con dos anillos aromáticos: Este grupo comprende los flavonoides, isoflavonoides y rotenoides
- Compuestos fenólicos poliméricos: Taninos Condensados .

Los taninos son un grupo heterogéneo de compuestos polihidroxifenólicos, cuyos pesos moleculares oscilan entre 600 y 2000. Los taninos han sido clasificados en dos grupos: Taninos hidrolizables y taninos condensados. Los taninos hidrolizables, por hidrólisis dan carbohidratos generalmente glucosa y ácidos fenólicos; por ejemplo ácido gálico. Los taninos condensados es el más ampliamente distribuido en plantas superiores. Los taninos condensables contienen pocos carbohidratos y se convierten en flobafenos amorfos insolubles por la acción de los ácidos minerales. Los taninos condensados son polímeros de leucoantocianinas o de catequinas o polímeros de flavonoides mezclados (Martínez, 1979, 16-21).

Una de las pruebas que demuestran la presencia de taninos en las plantas, es la de producir un color rojo al ser tratado con vainillina y un ácido fuerte.

Los compuestos fenólicos han sido considerados durante mucho tiempo como productos finales del metabolismo y se han discutido mucho su significación fisiológica.

La actividad de muchos sistemas enzimáticos es inhibida por los taninos, debido a la habilidad de formar enlaces con la proteína y otros polímeros, interfiriendo así también la actividad de organelos de la célula. Debido a la inhibición de las enzimas por los taninos, es de esperar que la digestión de la fibra cruda y la proteína de los alimentos que contienen taninos se vea disminuida (Martínez, 1979).

Varios autores han coincidido sobre el efecto negativo de los taninos en la biodisponibilidad del hierro observada cuando se consume té o café en varias dietas (García-López et al, 1990, 760-766). Incluso, se sugieren que los taninos son los responsables de la baja disponibilidad del hierro en las leguminosas. Sin embargo no sucede lo mismo con los frijoles de soya y los mung beans, lo cual hace cuestionable la importancia del efecto inhibitorio de los taninos en la absorción del hierro (Lynch et al, 1984, 42-47).

Los compuestos polifenólicos del frijol, incluyendo los taninos también son responsables de la baja disponibilidad del hierro. García-López y colaboradores demostraron en ratas alimentadas con frijol rojo, la biodisponibilidad del hierro aumento de 73% hasta un 90% después de haber eliminado la cáscara del mismo. La cocción repetida del frijol negro disminuye los niveles de taninos por una desnaturalización de los mismo, sin embargo la biodisponibilidad del hierro

aunque aumentó significativamente, aún fue demasiado baja para la cantidad de hierro en los frijoles negros (Amaya et al, 1991, 222-237).

2. Fitatos. Se han reportado dos cyclitols en las leguminosas, el inositol y el pinitol, que es un derivado metilado del inositol, generalmente de un grupo metil. Estos compuestos pueden estar en forma libre o ligados a otros compuestos. Por ejemplo, puede existir un ester hexafosfato de inositol, comúnmente llamado ácido fítico. Este compuesto ha sido registrado en algunos frijoles de la especie de *P. Vulgaris* en concentraciones tan altas como 2.9% (Matthews, 1989, 339-370) y contribuyen a la acumulación excesiva de fósforo inorgánico durante la maduración de la semilla, actuando como un reservorio de fósforo.

El ácido fítico (mioinositol hexafosfato) representa el 54% al 80% del fósforo total en las leguminosas. Al pH natural de estos alimentos, el ácido fítico forma complejos insolubles con iones di y trivalentes y con las proteínas, reduciendo significativamente la biodisponibilidad de ellas y de los minerales esenciales para la nutrición. (Camacho et al, 1992, 283-289). Alrededor del 75% del ácido fítico está asociado con la fibra soluble de los alimentos.

La enzima fitasa capaz de hidrolizar estos compuestos se encuentra en muy bajas concentraciones en el grano maduro; asimismo el organismo humano carece de esta enzima (Camacho et al, 1992, 283-289).

Manju et al, determinó que después de la adición de 300 mg de fitato a varias fuentes de hierro entre las cuales incluyó la soya, observó una disminución pronunciada en la absorción del 83 a 90% del hierro total. Sin embargo, Schlemmer et al, demostró que es posible propiciar la degradación del

fitato en productos vegetales (entre ellos el frijol negro) por medio de incubación en agua por 16 horas a 22°C, en donde se activa la fitasa, enzima encargada de la degradación del fitato.

Diversos autores han postulado que durante la germinación de las semillas aumenta la concentración de la mayoría de las enzimas que actúan sobre compuestos almacenados y los transforman en energía y en nutrientes esenciales para el desarrollo de la nueva plántula. Durante la germinación ocurre una solubilización de los fitatos, la que probablemente podría estar acompañada de una mayor absorción de los minerales esenciales que estaban secuestrados por esos compuestos fosforados (Camacho et al, 1992, 283-289).

Hirabayashi et al en 1998, demostró que la fermentación de la harina de soya utilizando el *Aspergillus usarii*, aumentó la biodisponibilidad del hierro por una degradación del fitato, aunque no se logró degradar completamente el fitato, por lo que sugirieron la utilización de la enzima fitasa.

Sin embargo, Hurrell (1992, 573-579) demostró que a pesar de la remoción completa de los fitatos en una dieta a base de soya, la absorción del hierro fue la mitad que el control. Y concluyó que a pesar de que el ácido fítico es uno de los mayores contribuyentes a la baja disponibilidad del hierro, existen otros compuestos aún desconocidos que disminuyen la disponibilidad del mismo. Por ejemplo, en un estudio realizado por Simpson et al en 1981 en donde realizaron una degradación del fitato por medio de fitasa endógena, observaron que no disminuyeron los efectos inhibitorios del hierro. Como se puede observar en el cuadro No. 4, en donde se comparan las cantidades de

fitato en varias especies de leguminosas, demostrando que a pesar de que los frijoles negros contienen una menor cantidad de fitato que la soya, la biodisponibilidad del hierro es menor.

#### Cuadro No. 4

Composición y biodisponibilidad del hierro en diferentes leguminosas.

	Soya	Frijoles negros	Lentejas
Fitato (mg/100 g)	2322	617	358
Hierro (mg/100 g)	2.8	2.9	3.3
Biodisponibilidad del hierro (mg/100 g)	0.05	0.02	0.04

Además, también se debe considerar que se ha demostrado que el fitato tiene un efecto protector contra el cáncer en animales, por lo que la disminución extrema del fitato puede tener un impacto carcinogénico que debe ser tomado en cuenta.

3. Fibra. La fibra dietética es el conjunto de lignina, polisacáridos solubles o insolubles y otros compuestos orgánicos que no son hidrolizados por las enzimas del tracto digestivo de los humanos. A pesar de los beneficios para la salud, la fibra dietética puede interferir en la absorción de diversos minerales, lo que puede producir problemas nutricionales cuando la dieta contiene cantidades marginales de hierro, zinc y otros oligoelementos .

Se considera que la fibra de la cáscara contribuye en un 2% a la disminución de la absorción del hierro en el tracto gastrointestinal.

A pesar de que se considera que el contenido de fibra dietética disminuye con la cocción, Acevedo et al en 1994 demostraron un aumento en la cantidad

fibra dietética en los frijoles negros, después de la cocción, licuado y freído; en donde aumentó en 18.1, 21.0 y 22.4% respectivamente.

4. Proteína. Otro de los posibles factores que también pueden afectar la disponibilidad del hierro es la proteína del frijol. Se cree que al desnaturalizar esta proteína la biodisponibilidad del hierro aumenta. Estudios realizados *in vitro* han demostrado que péptidos de alto peso molecular pueden estar involucrados en la inhibición de la absorción del hierro en vegetales (Kane y Miller, 1984, 393-401). Debido a que el frijol negro, es una legumbre con altos contenidos de proteína, se considera que dicha proteína puede contribuir en cierto porcentaje con esta baja biodisponibilidad.

Además, se ha observado que la harina de soya texturizada, el aislado de la proteína de soya y la harina de soya con grasa, disminuyen marcadamente la absorción del hierro, siendo el aislado de proteína de soya el que tiene un mayor efecto inhibitorio (el cual también puede ser atribuido a su contenido de ácido fítico). De cualquier forma, a pesar de haber removido virtualmente todo el ácido fítico, se absorbió solamente la mitad del hierro en comparación con un control a base de huevo (Hurrell et al, 1992, 573-579). Los productos de soya como el miso, en donde los complejos de proteína son hidrolizados durante el procesamiento, tienen significativamente mejor biodisponibilidad *in vitro* del hierro.

Entre otros productos se puede mencionar los lupines, una leguminosa rica en proteína, la cual muestra una baja absorción de hierro a pesar de que su contenido de polifenoles y fitatos es bajo (Macfarlane et al, 1988, 683-687).

La proteína de soya disminuyó la absorción del hierro no hemínico en hamburguesas al ser sustituida por la proteína de res (Lynch et al, 1985, 13-20); en otros estudio similar la disminución en la absorción fue de un 25% a 8.4% en donde también se removieron los fitatos sin observar ningún efecto (Hallberg y Rossander, 1982, 514-520). Kane y colaboradores también determinaron el efecto de diferentes tipos de proteínas en la absorción del hierro, siendo la proteína de soya y gluten la de menor absorción en comparación con la proteína de res y huevo. Se cree que la disminución de la solubilidad del hierro es por la formación de complejos con la proteína no digerida (Kane et al, 1984, 393-401). Además, Cook y colaboradores demostraron que en comparación con la proteína del huevo, la proteína de soya redujo hasta un 0.5% la absorción del hierro no hemínico.

## D. Métodos para determinar biodisponibilidad de Hierro

La mayor parte de la información sobre biodisponibilidad de hierro ha sido obtenida en los últimos 30 a 40 años. Los cuales se pueden dividir en:

**Cuadro No. 5**

Métodos para determinar biodisponibilidad de Hierro

<b>Clasificación</b>	<b>Medición</b>
Absorción aparente	Ingesta - excreción fecal
Retención neta	Ingesta - (excreción fecal + urinaria)
Absorción verdadera	Ingesta - (excreción fecal y urinaria corregida con pérdidas endógenas)
Biodisponibilidad	Fracción de hierro consumido que puede ser utilizado

La absorción aparente y la retención neta de hierro dan resultados similares de la absorción de hierro, debido a que la excreción urinaria de hierro es pequeña. De la misma forma, el valor de la absorción verdadera puede ser similar a la absorción aparente y retención neta si los dos últimos factores no son medidos meticulosamente. De cualquier forma, la determinación de la biodisponibilidad, es la medición clave, debido a que determina en realidad cuando hierro del que es consumido es absorbido y utilizado por el cuerpo. Sin embargo, si existen deficiencias nutricionales de vitamina A, ácido fólico y vitamina B<sub>12</sub>, los resultados de la determinación de la biodisponibilidad pueden resultar alterados. En la práctica, este problema generalmente se ignora, y se asume que la eficiencia en la utilización del hierro absorbido para la formación de hemoglobina es de 80% en individuos sin anemia y de 100% para individuos con deficiencia de hierro.

1. Métodos In Vivo . Estos pueden ser categorizados como isotópicos y no isotópicos, dependiendo si utilizan isótopos de hierro.

a. Métodos no isotópicos

1) Balance químico. Este método determina la absorción de hierro de una dieta a través de un período definido. Está basado en la diferencia entre la ingesta y la excreta de hierro. La dieta prueba es alimentada alrededor de dos semanas con un marcador para confirmar que las dietas anteriores a la prueba haya sido eliminada por el tracto gastrointestinal, luego se mide la ingesta y la excreta por lo menos por seis días. La absorción generalmente se

expresa como absorción aparente, o como retención neta si se miden las pérdidas urinarias.

## 2) Cambio en las concentraciones de Hemoglobina y Ferritina Sérica.

Los cambios en los depósitos de hierro en el cuerpo son reflejados y pueden ser estimados por cambios en las concentraciones de hemoglobina y ferritina sérica. Los cambios en las concentraciones de ferritina sérica en un período de tiempo en donde los individuos consume una dieta estándar de hierro, pueden proveer información como una función indirecta de la cantidad de hierro absorbido. Entre las limitaciones de este método, es que solamente se puede medir una intervención en cada sujeto, y que los cambios en hemoglobina y ferritina deben ser corregidos para tener un nivel de hierro inicial similar. Además la deficiencia de otros micronutrientes puede afectar la respuestas de la hemoglobina y ferritina a la suplementación de hierro.

b. Métodos radioisotópicos. Los isótopos de hierro (generalmente  $^{55}\text{Fe}$  y  $^{59}\text{Fe}$ ), pueden ser utilizados, para marcar el hierro de las comidas como arroz, maíz, trigo, carne, etc., por medio de una incorporación biosintética del hierro radioactivo en las plantas o animales.

Después de que la comida ha sido marcada con un isótopo, se determina la absorción del hierro a partir de la incorporación del isótopo en la sangre y la hemoglobina. Se debe obtener una muestra de sangre antes de la adición del hierro marcado, seguido de la toma de otra muestra 14 días después para determinar la cantidad de hierro marcado en la hemoglobina o sangre. Este método se basa en el hecho de que el hierro absorbido se incorpora en los

glóbulos rojos después de 10 a 14 días de la ingestión, asumiendo que el 80% será absorbido en individuos con buena reserva de hierro y 100% en individuos con bajas reservas de hierro. Debido a que existen dos tipos de isótopos de hierro, pueden ser utilizados en un mismo sujeto en un período de 14 a 16 días. Sin embargo, este método tiene sus limitantes por la utilización radiación.

c. Métodos de isótopos estables. Los métodos que utilizan isótopos estables no exponen a radiación ionizante a los sujetos dentro del estudio, y por tal razón son seguros. Existen pequeñas cantidades de isótopos estables de  $^{54}\text{Fe}$ ,  $^{57}\text{Fe}$  y  $^{58}\text{Fe}$  en forma natural en los alimentos, a los cuales se les agrega cantidades adicionales para enriquecer los alimentos a cantidades mayores que la naturaleza. Pero debido a que los isótopos estables tienen un precio elevado, su aplicación es limitada para estudios con un número pequeño de sujetos.

2. Métodos In Vitro. Los métodos in vitro determinan la biodisponibilidad del hierro determinando la cantidad de hierro disuelta en la comida diluida en ácidos o la cantidad de hierro ionizable extraíble de los agentes quelantes. Métodos más recientes están basados en una simulación de la digestión del alimento, adicionando pepsina, ácido clorhídrico, y algunas veces otras enzimas digestivas, seguido de una determinación del hierro soluble y dializable.

### III. JUSTIFICACIÓN

La anemia por deficiencia de hierro es la principal deficiencia nutricional en el mundo, y afecta aproximadamente al 30% de la población mundial. La mayor incidencia es entre niños preescolares (43%) y mujeres embarazadas (51%), en donde en Guatemala para 1995 el 35% de las mujeres en edad fértil presentaban anemia.

El consumo de frijol negro *Phaseolus vulgaris* en Guatemala es relativamente alto en cualquier clase social de la población, según la encuesta Nacional de Consumo aparente de Alimentos de 1991 contribuye con 197 kcal del consumo energético de la población. A pesar de que el contenido de hierro no hemínico en el frijol es alto, su biodisponibilidad es muy baja. El contenido de hierro no hemínico del frijol por onza es de 2.3 mg (Flores et al, 1971, 8) y su biodisponibilidad es del 0.8%. Esta biodisponibilidad se ve afectada principalmente por los taninos, fitatos y fibra del grano entre otros.. Además, de la inhibición de estos factores durante el proceso de cocción la cantidad de fibra no soluble aumenta en un 100%.

Existen varios estudios que demuestran la inhibición de la absorción del hierro en el frijol en cada uno de estos factores por separado y en conjunto; como Svanberg y Sandberg que observaron la interacción entre los taninos y fitatos y atribuyen la mayor inhibición a los taninos. Entre los más estudiados se encuentra el ácido fítico el cual se ha demostrado que tiene interacción con fibra, proteínas e incluso membranas celulares. También se ha estudiado cierta relación que pueda existir entre los compuestos polifenólicos y la fibra del grano durante el proceso de cocción en donde ésta última tiende a aumentar. Además de los estudios sobre sus efectos en la absorción del hierro se han propuestos varios métodos para destruir cada uno de estos compuestos por separado, como lo son el remojo y la germinación para lograr una disminución del contenido de fitatos principalmente y de fibra total en menor grado.

Se ha realizado poca investigación sobre los efectos químicos de estos componentes por sí solos y en conjunto como suelen ocurrir en los alimentos, sobre la biodisponibilidad del hierro.

Por esta razón se considera necesario determinar el efecto que tiene la cocción del frijol con modificaciones en el contenido de fibra, fitatos y taninos y determinar la influencia en la biodisponibilidad del hierro de estos factores por separado y cuando se encuentran los tres componentes presentes dentro del grano.

## IV. OBJETIVOS

### A. Objetivo general

Determinar la importancia relativa de la fibra dietética, taninos y fitatos del frijol *Phaseolus vulgaris* después de la cocción a presión atmosférica en la biodisponibilidad del hierro.

### B. Objetivos Específicos

1. Identificar los cambios de disponibilidad en el hierro dializable después de realizar modificaciones en contenido de fibra del frijol *Phaseolus vulgaris* por medio del descascarado.
2. Determinar los cambios de disponibilidad en el hierro dializable después de realizar modificaciones en el contenido de fitatos del frijol *Phaseolus vulgaris* por medio de germinación.
3. Identificar los cambios de disponibilidad en el hierro dializable después de realizar modificaciones en el contenido de taninos del frijol *Phaseolus vulgaris* por medio de remojo.
4. Establecer el orden correlativo de importancia en la que estos factores inhiben la absorción de hierro



## V. HIPÓTESIS

Ha: Durante el proceso de cocción del frijol *Phaseolus vulgaris* existe una interacción entre la fibra insoluble, los fitatos y los taninos que inhibe la biodisponibilidad del hierro.

Ho: Durante el proceso de cocción del frijol *Phaseolus vulgaris* no existe una interacción entre la fibra insoluble, los fitatos y los taninos que inhibe la biodisponibilidad del hierro



## **VI. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **A. Materiales y Métodos**

1. Muestra. Para la determinación de la biodisponibilidad del hierro se utilizó como muestra el frijol rojo y frijol blanco (*Phaseolus vulgaris*) debido al alto y bajo contenido de taninos respectivamente.

### **B. Materiales e Instrumentos**

#### 1. Cocción de la muestra

- Esterilizadora de 5 litros de capacidad
- Estufa

#### 2. Determinación de Fibra Dietética

- Balanza analítica
- Potenciómetro
- Termómetro
- Incubadora
- Horno
- Kitasato
- Embudo
- Ácido clorhídrico
- Hidróxido de sodio

- Termamyl
- Pepsina
- Enzimas pancreáticas
- Papel filtro 40-60  $\mu\text{m}$
- Etanol 98% y 78%
- Acetona
- Buffer fosfato pH 6

### 3. Determinación de contenido de taninos

- Espectrofotómetro
- Ácido clorhídrico
- Acido sulfúrico
- Centrifugadora
- Patrón de ácido tánico
- Vanillina
- Metanol

### 4. Determinación del contenido de fitatos

- Beaker 250 mL
- Mezcladora
- Estufa
- Espectrofotómetro
- Centrifugadora
- Ácido clorhídrico
- Ácido fítico

- Solución de biperidina
- Solución estándar de hierro (sulfato ferroso amoniacal)

#### 5. Determinación de hierro dializable in vitro.

- Licuadora
- Ácido clorhídrico
- Bicarbonato de sodio
- Membrana dializable
- Pepsina
- Pancreatina
- Sales Biliares
- Buffer pH 6.3
- Buffer pH 9.8
- Acido tricloroacético
- Hidroxilamina mono hidroclohrídrico
- Solución de biperidina

### **C. Métodos**

#### 1. Metodología

a. Tamaño de la muestra. Se seleccionaron 16 grupos con dos repeticiones cada uno, de 450 g cada repetición, de frijol dividido de la siguiente forma:

No. Exp	Color	Remojo	Germinación	Cáscara	Respuesta biodisponibilidad de hierro
1	-1	-1	-1	-1	Control 1 (sin inhibidores)
2	1	-1	-1	-1	Interacción taninos
3	-1	1	-1	-1	Efecto remojo
4	1	1	-1	-1	Interacción taninos
5	-1	-1	1	-1	Interacción fitatos y remojo
6	1	-1	1	-1	Interacción taninos, fitatos y remojo
7	-1	1	1	-1	Interacción fitatos
8	1	1	1	-1	Interacción taninos y fitatos
9	-1	-1	-1	1	Interacción fibra
10	1	-1	-1	1	Interacción fibra con taninos
11	-1	1	-1	1	Interacción fibra con remojo
12	1	1	-1	1	Interacción fibra y taninos con remojo
13	-1	-1	1	1	Interacción fibra y fitatos con remojo
14	1	-1	1	1	Interacción fibra, taninos y fitatos
15	-1	1	1	1	Interacción fibra y fitatos
16	1	1	1	1	Control 2 (con inhibidores)

En donde

Variable	-1	1
Color	Blanco	Rojo
Remojo	Con remojo	Sin remojo
Incubación	Incubado	Sin incubación
Cáscara	Sin cáscara	Con cáscara

La cocción de los frijoles se realizó mezclando agua hirviendo con semillas limpias de frijol a una relación 3:1 v/w cocinando a presión atmosférica por dos horas.

b. Determinación del contenido de Fibra Dietética (AOAC 45.4.07). Método enzimático gravimétrico

- Se secó la muestra por una noche en un horno al vacío a 70 °C y luego se colocó en la desecadora.

- Se tomó una muestra de 1.0 g de frijol (cocido) luego se incubó con 50 mL buffer pH 6 y 100  $\mu$ L de Termamyl. Se dejó en agitación a 100 °C durante 15 minutos. Se dejó enfriar.
- Cuando alcanzó temperatura ambiente, se ajustó el pH a 7.5 con NaOH. Se agregó pepsina (1 mL 10% v/w o 5 mg de proteasas) y se incubó por media hora a 60°C con agitación continua.
- Después de enfriado se ajustó el pH a 4.0 a 4.6 con HCl y se adicionaron 1 mL de enzimas pancreáticas 10% v/w y se incubó por media hora a 60 °C.
- Se agregó 280 mL de solución de etanol al 95% se calentó a 60 °C por una hora.
- Se filtró la solución con un papel filtro 40-60  $\mu$ m de porosidad y luego se lavó el residuo con agua, luego con etanol al 78% (20 mL) y luego dos lavados de 10 mL cada uno de etanol al 95% y luego con dos porciones de 10 mL cada una de acetona.
- Se secó en un horno con sistema de ventilación a 105 °C durante 12 horas.
- Se pesó la fibra y se calculó a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{Fibra Dietética total} = \text{Peso de residuo} - \text{peso (proteínas + ceniza)}$$

c. Determinación del contenido de taninos . Para la determinación de taninos se utilizó la Reacción de Vanillina

- Se pesaron  $500 \pm 3$  mg de la muestra triturada
- Se extrajo la muestra con rotación continua con 25 mL de metanol con 1% de HCl concentrado en el metanol, por 15 minutos.
- Se centrifugó y se filtró al vacío

- Se tomó 1 mL de filtrado en un tubo de ensaño, y se agregó 5 mL de la solución de ácido sulfúrico vainillina (1% de vainillina en una solución de ácido sulfúrico al 70%)
- Se determinó absorbancia exactamente después de 20 minutos de haber adicionado la solución de vainillina en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 500 nm
- Se corrieron blancos con ácido tánico con las siguientes concentraciones: 0.05 mg/mL, 0.10 mg/mL, 0.25 mg/mL, 0.50 mg/mL, 1.00 mg/mL
- La cantidad de taninos extraídos corresponde al 100% de los blancos de ácido tánico

### **Cálculos**

- Restar absorbancia de blanco a todas las muestras
- Calcular el porcentaje de transmisión según la siguiente fórmula

$$A = \log 1/T$$

- Determinar la densidad óptica

$$D.O. = 2 - \log_{10} T$$

- Determinar curva estándar (densidad óptica vs. concentración de ácido tánico)
- Determinar concentración de taninos a partir de curva estándar
- La cantidad de taninos en la muestra es la siguiente

$$\text{Concentración taninos (mg/g)} = \text{mg/mL de taninos} \times 50$$

$$\text{Equivalentes de catequina} = 5 \times D.O / \text{pendiente curva estándar}$$

d. Determinación de Hierro absorbible

1) Determinación del contenido de hierro total. *Método espectrofotométrico.*

AOAC 944.02

a) Reactivos

- *Solución de o-phenanthrolina:* Se diluyó 0.1 g de o-phenanthrolina en 80 mL de agua a 80°C, se enfrió y diluyó hasta 100 mL
- *Solución de  $\alpha,\alpha$ -dipyridyl:* Se pesaron 0.1 g de  $\alpha,\alpha$ -dipyridyl y se diluyeron en 100 mL de agua
- *Solución de hidroxilamina hidroc্লórica:* Se disolvió 10 g de  $\text{H}_2\text{NOH}\cdot\text{HCl}$  en agua y diluyó hasta 100 mL en agua.
- *Solución de nitrato de magnesio:* Se disolvió 50 g de  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$  en agua, y diluyó hasta 100 mL en agua.
- *Solución buffer de acetato:* Se disolvió 8.3 g de  $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2$  anhidra en agua, y se agregó 12 mL de ácido acético y diluyó a 100 mL en agua.
- *Solución de acetato de sodio (2M):* Se disolvieron 272 gramos de  $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2\cdot 3\text{H}_2\text{O}$  en agua y diluyó hasta 1 L.
- *Solución buffer, pH 3.5:* Se diluyó 6.4 mL de la solución 2 M de  $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2$  y 93.6 mL de solución 2 M  $\text{HC}_2\text{H}_3\text{O}_2$  (120 g/L) a 1 L con agua.
- *Solución estándar de hierro:* La solución estándar de hierro tenía una concentración de 0.01 mg de hierro por mililitro
  - Se disolvió 0.1 g de hierro grado analítico en 20 mL de HCl y 50 mL de agua, se enrasó a 1 litro. Se tomaron 100 mL de esta solución y se diluyeron en 1 L de agua.

- Se disolvió 3.512 g de  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  en agua. Se agregaron 2 gotas de HCl concentrado y diluyó a 500 mL. Se tomaron 10 mL de esta solución y se enrasó a 1 L de agua.

2) Preparación de curva estándar. Se construyó una curva estándar de 10 puntos, además del cero, con soluciones de 2.0, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0, 25.0, 30.0, 35.0, 40.0, y 45.0 mL respectivamente de la solución estándar de hierro, agregando 2 mL de HCl y diluyendo a 100 mL de agua. A 10 mL de cada una de estas soluciones se agregó 1 mL de  $\text{H}_2\text{NOH} \cdot \text{HCl}$ , se dejó reposar por 5 minutos, luego se agregó 5 mL de la solución buffer acetato, y 1 mL de 0-phenantrolina o 2 mL de solución de dypiridyl. Se determinó absorbancia a 510 nm y se calculó la curva estándar.

3) Determinación, método de cenizas

- Se pesaron 5.00 gramos de la muestra
- Se remojaron las cenizas con 1 mL de solución de nitrato de magnesio, y se quemó en un mechero.
- Se enfrió y agregó 5 mL de HCl concentrado (dejándolo caer por la paredes del crisol), luego evaporándolo por medio de un baño de vapor.
- Se agregó nuevamente 2 mL de HCl, y se calentó por 5 minutos en un baño de vapor. Se lavó con agua y diluyó el residuo a 100 mL con agua.
- Se pipeteó 10 mL de la solución, y agregó 1 mL de  $\text{H}_2\text{NOH} \cdot \text{HCl}$ , se dejó reposar por 5 minutos, luego se agregó 5 mL de la solución buffer acetato, y 1 mL de 0-phenantrolina o 2 mL de solución de dypiridyl. Se determinó absorbancia a 510 nm

b. Determinación de hierro dializable. Método de Miller, American Journal of Clinical Nutrition 34 (10), 1981. 2248-2256

### 1) Reactivos

- Pepsina: Se pesaron 4.0 g de pepsina de cerdo y se suspendieron en una solución 0.1 N de HCl, y se llevó a un volumen de 100 mL con 0.1 N de HCl.
- Mezcla pancreatina-bilis: Se pesaron 0.5 gramos de pancreatina y 3.0 g de extracto biliar y se dispersaron en 0.1 N  $\text{NaHCO}_3$ . Se enrasaron a 250 mL con 0.1 N de  $\text{NaHCO}_3$ .
- Solución buffer pH 6.3: (buffer citrato). Se diluyó 21.01 g de ácido cítrico en 1000 mL de agua y 29.41 g de citrato de sodio dihidratado en 1000 mL de agua. Se agregaron 7.2 mL de la solución de ácido cítrico con 42.8 mL de la solución de citrato de sodio y diluyó a 100 mL con agua.
- Solución buffer pH 9.8: (buffer glicina). Se diluyó 15.01 g de glicina en 1000 mL de agua y se preparó una solución 0.2 M de NaOH. A 50 mL de la solución de glicina, se adicionaron 27.2 mL de NaOH y se diluyó a un total de 200 mL.
- Solución proteínica precipitante: Se disolvió 100 g de ácido tricloro acético y 50 g de hidroxilamina mono hidroclorohídrico en agua y 100 mL de HCl concentrado y se llevó a un volumen de 1 L con agua.
- Solución cromogen: Se preparó una solución de 5 mg/mL de ferrozina

### 2) Determinación

- Se pesó una muestra de 10.000 g
- Se agregó HCl 6N hasta un pH de 2

- Se agregó 3.2 mL de solución de pepsina e incubó a 37°C durante dos horas con agitación
  - Se transfirió una alícuota de 20 mL de cada hidrolizado, blanco y control a recipientes de vidrio en triplicado. Y se agregó una bolsa de diálisis que contenía 20 mL de buffer pH 6.3
  - Se incubó por 30 minutos a 37 °C
  - Luego se agregó 5 mL de solución de pancreatina-sales biliares y continuó la incubación por 2 horas más
  - Se removieron las bolsas de diálisis, lavaron con agua y transfirieron el contenido de las bolsas a beakers previamente pesados, luego se centrifugó a 12,500 rpm por 30 minutos.
  - Se agregó 1 mL de la solución protéica precipitante reductora a 2 mL a cada uno del dializado y del retenido. Y se dejó en reposo por 12 horas a temperatura ambiente, luego se centrifugó a 2,575 rpm por 10 min.
  - Se transfirió 1 mL de los sobrenadantes en duplicado en tubos diferentes. Y se adicionó 0.25 mL de solución de ferrocina y 2 mL de buffer pH 9.8
  - Se leyó absorancia a 562 nm después de 1 hora de reposo después de la adición del cromogeno.
- e. Determinación de Contenido de Fitatos (AOAC 14.B). Método de Haug y Lantzsch. J. Sci. Food Agric. 1983, 24, 1423-1426

#### 1) Reactivos

- Solución de fitatos de referencia: Se pesó 0.15 g de fitato de sodio y se diluyó a 100 mL con agua. Se prepararon soluciones de referencia que contengan de 3 a 30  $\mu\text{g/mL}$  de fitato y diluidas en una solución 0.2 N de HCl
- Solución ferrica. Se disolvió 0.2 g de sulfato de hierro y amonio en 100 mL de una solución 2 N de HCl, luego se diluyó hasta 1 L en agua.
- Solución de bipyridina. Se disolvió 10 g de 2,2 bipyridina y 10 mL de ácido tioglicólico en agua destilada y se diluyó hasta 1 L

## 2) Determinación de Fitatos

- Se pesaron 2.0000 g de la muestra y se colocaron en un erlenmeyer de 125 mL.
- Se agregaron 40 mL de solución de HCl 0.2 N y se agitó por 3 horas a temperatura ambiente.
- Se pipeteó 1 mL del extracto en un tubo de ensayo y se agregó 1 mL de la solución de hierro.
- Calentar el tubo de ensayo en baño de maría por 30 minutos.
- Se deja enfriar con hielo 15 minutos para que se ajuste a la temperatura ambiente.
- Luego se centrifuga los tubos por 30 minutos a 3000 g.
- Se transfiere 1 mL del sobrenadante y se agrega 1.5 mL de solución de bipyridina.
- Se mide la Absorbancia a 519 nm
- Se compara el contenido contra curva de calibración de fitatos.

#### f. Germinación del frijol

- Se pesaron 100 g de frijol, limpio y seco
- Se colocó el frijol en remojo por 48 horas a temperatura ambiente con 200 mL de agua
- Las muestras germinadas fueron cocidas junto con el agua de germinación

#### g. Remojo del frijol

- Se pesaron 100 g de frijol, limpio y seco
- Se colocó el frijol en remojo por 12 horas a temperatura ambiente con 200 mL de agua
- Se desechó el agua después del remojo (no se incluye agua de remojo en cocción)

#### h. Descascarado del frijol

- Para las muestras secas, se procedió a descascarar con una cuchilla
- Para las muestras húmedas (remojo, germinado, remojo-germinado) se eliminó la cáscara después del remojo y/o germinado.
- Las muestras germinadas sin cáscara fueron cocidas con el agua de germinación previa al descascarado.

## 2. Análisis de datos

a. Diseño experimental. El estudio está compuesto por 16 grupos experimentales, en los que se determinó por separado los efectos de cada inhibidor dentro del frijol sobre el hierro dializable

b. Análisis estadístico. Se evaluaron los efectos de los inhibidores dentro del frijol en los grupos por medio del Método de Superficie de Respuestas en donde

se obtuvo una ecuación que pueda analizar el comportamiento de cada uno de estos factores por separado.



## VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los procesos utilizados para realizar variaciones en el contenido de fitatos, fibra dietética y taninos fueron la germinación, descascarado y remojo respectivamente.

El contenido de taninos disminuyó marcadamente en las muestras remojadas y en las muestras descascaradas. Se ha reportado una disminución entre un 24 y 50% el contenido del frijol después del remojo (Barroga et al, 1985, 1006-1009), comportamiento similar observado en las muestras preparadas.

Durante el descascarado se observó una disminución casi del 50% del contenido de taninos en el frijol, esto es debido a la localización de estos compuestos polifenólicos en la cáscara del frijol (Desphande et al, 1982, 1846-1850) (Rao y Prabhavathi, 1982, 89-96). No se observó el mismo comportamiento al descascarar el frijol blanco, debido a su poco contenido de taninos. A diferencia de los taninos, el contenido de fitatos aumenta durante el descascarado debido a que estos compuestos están localizados principalmente en el cotiledón (Reddy et al 1982, 1708-1712).

También durante el descascarado se disminuyó considerablemente el contenido de fibra dietética entre un 40 y 50%; debido al alto contenido de polisacáridos celulósicos estructurales y lignina en la cáscara, los cuales van

desde un 58.7 a 65.0% y 1.4 a 1.9% respectivamente (Srisuma et al, 1991, 855-858).

Diversos autores han postulado que durante la germinación de las semillas aumenta la concentración de la mayoría de las enzimas que actúan sobre compuestos almacenados. Incluso existe una relación inversamente proporcional entre el contenido de fitatos y fitasa durante la germinación, siendo mayor el contenido de fitasa y menor de fitatos después de 24 horas de germinación (Schlemmer et al, 1995, 207-210). Durante el proceso de germinación utilizado disminuyó el contenido de fitatos en los frijoles, debido al desarrollo de la enzima fitasa durante la germinación (Camacho et al, 1992, 283-289). También durante la germinación, existe el desarrollo de la polifenol oxidasa la cual pudo disminuir el contenido de taninos.

El ácido ascórbico, producido durante la germinación (Camacho et al, 1992, 283-289), es un compuesto que favorece la absorción del hierro (Hallberg y Rossander, 1984, 514-520). Parece que el efecto es debido a la disminución en el pH, el cual reduce el hierro férrico a hierro ferroso que es mejor absorbido. El contenido de hierro absorbible obtuvo resultados similares a los estudios realizados por Lynch y colaboradores en 1984, en donde observaron una absorción in vivo en humanos por mediciones radioisotópicas de 0.84 mg/mg en frijoles negros.

Los resultados de los análisis efectuados a la muestras se pueden observar en el cuadro No. 8.

Cuadro No. 8

Contenido de taninos, fibra dietética, fitatos y hierro absorbible en muestra de frijol analizadas

Muestra	Concentración de taninos (mg/g)	Fibra dietética (g/100g)	Fitatos (mg/g)	Hierro total (mg/g)	Hierro absorbible (mg/mg de Fe)
Frijol rojo	14.51±0.36	30.67±1.56	13.49±1.80	1.80±0.18	0.69±0.06
Frijol rojo, remojo	12.90±0.94	30.85±0.35	7.05±1.54	2.39±0.12	1.19±0.21
Frijol rojo, germinado	10.80±0.71	39.93±0.24	0.48±0.51	2.19±0.17	1.68±0.05
Frijol rojo, remojo, germinado	9.68±0.83	45.92±1.60	23.56±1.62	2.17±0.21	1.26±0.08
Frijol rojo, sin cáscara	8.74±0.21	18.55±0.51	14.81±1.14	2.21±0.15	0.71±0.09
Frijol rojo, sin cáscara, remojo	7.08±0.33	18.98±0.77	3.35±0.76	2.41±0.16	1.35±0.16
Frijol rojo, sin cáscara, germinado	7.98±0.41	21.32±0.22	0.52±0.32	2.13±0.07	1.63±0.03
Frijol rojo, sin cáscara, remojo, germinado	6.68±0.96	18.11±0.40	14.81±1.86	2.19±0.15	1.20±0.11
Frijol blanco	7.53±0.66	35.33±0.46	17.83±0.78	1.35±0.33	1.39±0.15
Frijol blanco, remojo	6.17±0.78	43.09±1.29	9.30±1.01	2.10±0.08	0.84±0.17
Frijol blanco, germinado	6.93±0.68	41.67±0.93	1.92±0.64	2.06±0.05	1.48±0.21
Frijol blanco, remojo, germinado	6.26±0.25	43.91±0.27	12.30±1.12	2.01±0.09	0.83±0.07
Frijol blanco, sin cáscara	6.53±0.32	18.98±0.39	16.25±0.89	1.81±0.11	0.80±0.05
Frijol blanco, sin cáscara, remojo	6.88±0.58	18.05±0.53	7.73±1.39	2.32±0.16	1.13±0.12
Frijol blanco, sin cáscara, germinado	7.08±0.32	17.23±0.36	2.53±0.67	2.09±0.10	0.90±0.03
Frijol blanco, sin cáscara, remojo, germinado	7.00±0.25	14.89±0.28	25.85±1.45	2.04±0.08	1.18±0.01

Según el análisis de varianza (Anexo No. 1) los datos de contenido de fibra dietética, taninos y fitatos muestran una correlación de 0.99 en relación a la respuesta de hierro absorbible. El análisis de cada uno de estos parámetros se muestra a continuación.

### **A. Contenido de Taninos**

Los taninos son un grupo heterogéneo de compuestos polihidroxifenólicos, cuyos pesos moleculares oscilan entre 600 y 2000. (Martínez, 1979). Se le ha atribuido la formación de compuestos insolubles de tanato de hierro, los cuales son poco absorbibles.

El contenido de Taninos en la muestra de frijol rojo y blanco fue de 14.512 y 7.532 mg/g respectivamente, datos que concuerdan con los estudios de Reddy y otros autores en donde reportan un contenido de taninos de 0.34 a 0.42% en el frijol blanco y de 0.95 a 1.29% en el frijol rojo. El tratamiento de remojo redujo el contenido de taninos en un 11.09% en el frijol rojo y un 18.59% en el frijol blanco. Se observó que el tratamiento más efectivo para la reducción del contenido de taninos fue la remoción de la cáscara, junto con el remojo y la germinación en el frijol rojo, en donde se logró reducir más de un 50% el contenido de taninos. Se observaron los mismos resultados en el frijol blanco, aunque no en la misma magnitud, probablemente por el bajo contenido de taninos en este tipo de frijol.

Con relación al efecto de los taninos en la cantidad de hierro dializable, se puede observar en la Gráfica No. 1 (Gráfica de superficie de respuesta) y Gráfica No.2 (Gráfica de contorno), que a medida que aumenta la concentración de taninos en la muestra existe una disminución en la cantidad de hierro dializable (eje Z) y viceversa. Este comportamiento de inhibición ha sido observado también

por Torrance et al (1982) el cual sugiere que los taninos son los responsables de la baja disponibilidad del hierro en las leguminosas. García-López y colaboradores demostraron en ratas alimentadas con frijol rojo, que la biodisponibilidad del hierro aumento de 73% hasta un 90% después de haber eliminado la cáscara del mismo.

En los datos experimentales se puede demostrar la relación que existe entre la inhibición de la absorción del hierro al comparar las muestras de frijol blanco y frijol rojo, los cuales tienen valores de hierro dializable de 1.39 y 0.69 respectivamente. Probablemente se deba a la formación de compuestos insolubles de tanato de hierro.

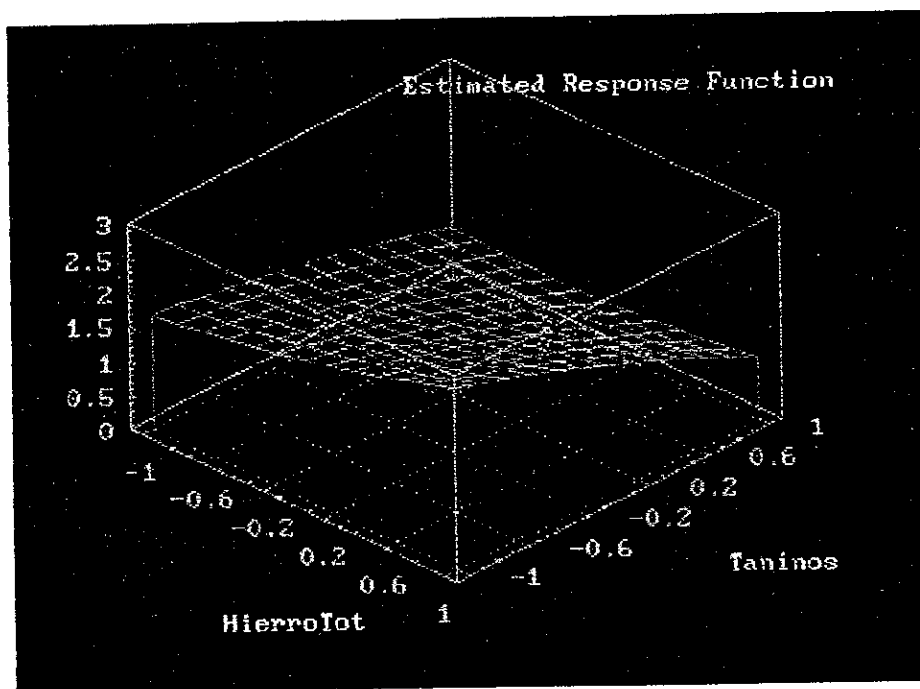
Sin embargo, según el análisis estadístico realizado, el contenido de taninos por si solo, solamente está correlacionado en un 22% con la respuesta en la absorción de hierro.

#### **B. Contenido de fibra dietética**

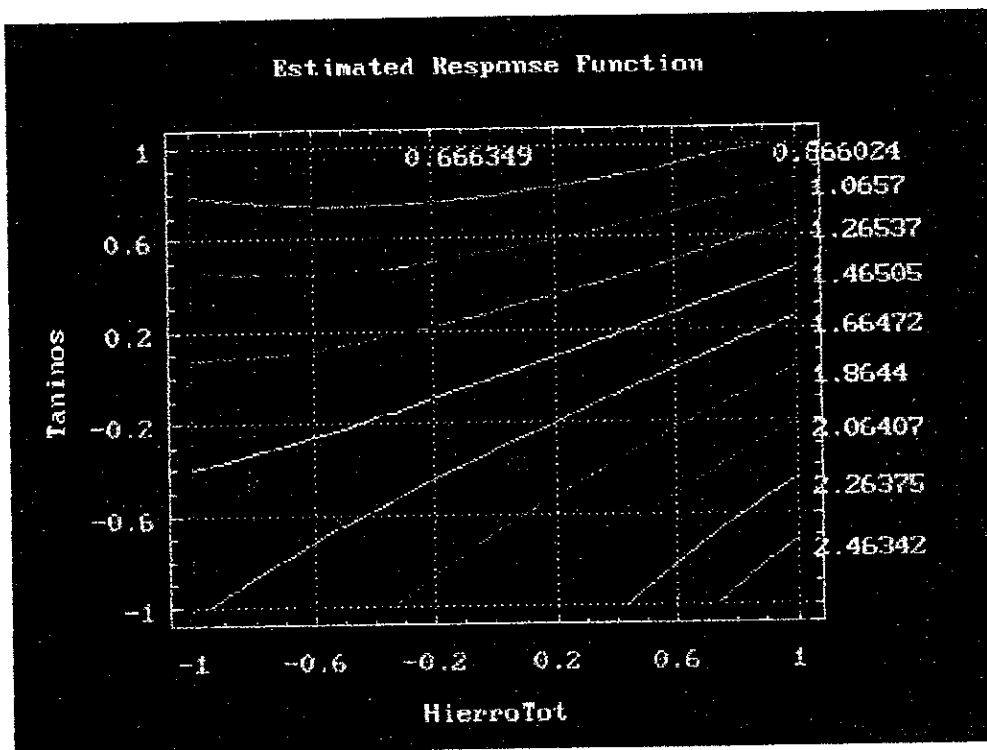
La fibra dietética es el nombre genérico del componente de la dieta que es resistente a la digestión por las secreciones endógenas del tracto gastrointestinal. Incluye celulosa, beta-glucanos, hemicelulosas, pectinas, gomas y ligninas.

A pesar de que se considera que la fibra se destruye con la cocción, Acevedo et al en 1994 demostraron un aumento en la cantidad fibra dietética en los frijoles negros, después de la cocción, licuado y freído; en donde aumentó en 18.1, 21.0 y 22.4% respectivamente. Este comportamiento puede ser atribuido a la formación de compuestos poliméricos debido a la interacción entre los taninos, fitatos y fibra dietética.

Gráfica No. 1 Respuesta esperada de hierro absorbible con relación al contenido de taninos y hierro total de la muestra



Gráfica No. 2 Gráfica de contorno de la superficie de respuesta al contenido de taninos y hierro total de la muestra



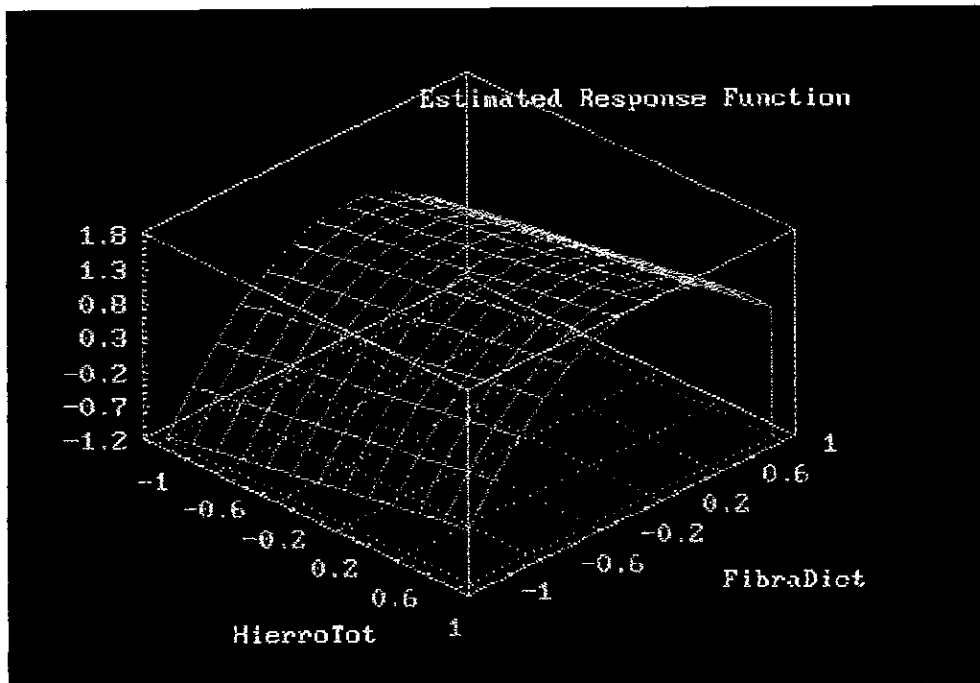
El contenido de fibra dietética aumentó con los tratamientos de remojo y germinación, observándose la mayor cantidad de fibra dietética cuando se realizaba la combinación de estos dos tratamientos. Se considera que el aumento en el contenido de fibra dietética durante el remojo y la germinación se debe a la síntesis de fibras insolubles como celulosa y lignina.

Se observaron diferencias en el contenido de fibra dietética en relación al color del frijol, siendo los frijoles blancos los que obtuvieron una mayor cantidad de fibra dietética. El tratamiento de descascarado del frijol, logró disminuir en un 50% la cantidad de fibra dietética en ambas variedades de frijol.

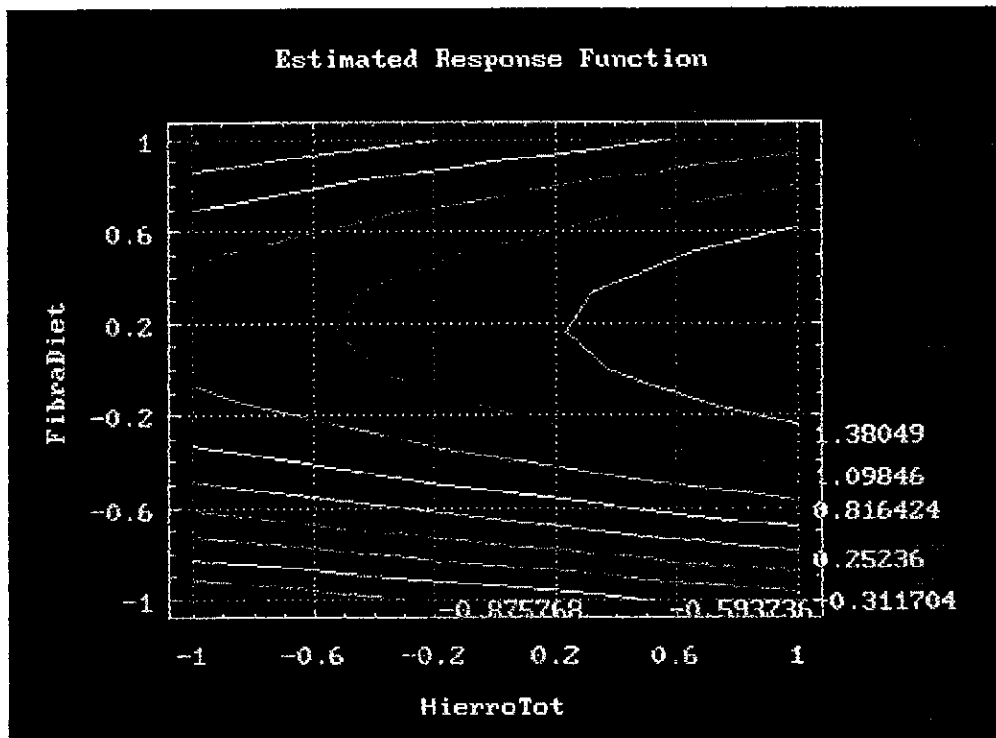
Con relación al efecto del contenido de fibra dietética en la cantidad de hierro absorbible, cuando aumenta la cantidad de fibra dietética se observó una mayor cantidad de hierro absorbible. Como se puede observar en las Gráficas No. 3 y No. 4, las mayores respuestas (hierro absorbible) se obtuvieron a contenidos intermedios de fibra dietética en las muestras. Sin embargo, a medida que se llega a la mayor cantidad de fibra dietética entre las muestras, la cantidad de hierro absorbible disminuye (forma de campana de la gráfica). Se cree que puede ser debido al aumento del contenido de lignina en las muestras favorecidas por la germinación de los frijoles, que ha sido reportada como uno de los factores que también contribuye a la inhibición de la absorción del hierro (Platt y Clydesdale, 1984, 531-535)

De la misma forma que los taninos, el efecto de la fibra dietética por sí sola solamente contribuye con un 20% de la respuesta a la absorción del hierro. Y parece que su efecto es positivo en la absorción de hierro a excepción de las muestras remojo-germinadas.

Gráfica No. 3 Respuesta esperada de hierro absorbible con relación al contenido de fibra dietética y hierro total de la muestra



Gráfica No. 4 Gráfica de contorno de la superficie de respuesta al contenido de fibra dietética y hierro total de la muestra



### C. Contenido de fitatos

Este compuesto ha sido registrado en algunos frijoles de la especie de *P. Vulgaris* en concentraciones tan altas como 2.9% (29 mg/g) (Matthews, 1989) y contribuyen a la acumulación excesiva de fósforo inorgánico durante la maduración de la semilla, actuando como un reservorio de fósforo.

El contenido de fitatos de las muestras de frijol blanco y rojo fue de 17.83 y 13.49  $\mu\text{g/g}$  de frijol respectivamente. Los tratamientos empleados para disminuir el contenido de fitatos en las muestras fue principalmente el de germinación, en donde se observó una disminución en un 96% del contenido de fitatos en el frijol rojo y un 89.23% en el frijol blanco.

Como se puede observar en la Gráfica No. 5, a medida que aumenta el contenido de fitatos disminuye la cantidad de hierro absorbible, comportamiento que se puede observar con mayor claridad en la Gráfica No. 6, que muestra el contorno de la superficie de respuesta de la Gráfica No. 5. Sin embargo, en el tratamiento de remojo-germinado aumentó el contenido de fitatos en la muestra.

Se considera que en estas muestras puede existir otro inhibidor de la absorción de hierro que no fue considerado en este estudio. Probablemente, se le puede atribuir esta disminución en la absorción del hierro al aumento del contenido de ligninas durante la germinación en el frijol, en donde estudios realizados por Mafuleka y colaboradores, encontraron una correlación entre el aumento de la actividad de la fitasa tanto en el frijol blanco como en el rojo con un aumento leve en los niveles de lignina. Otros investigadores como Platt han demostrado cierta inhibición en la absorción de hierro debido a la lignina incluso en mayor proporción que los fitatos. Estos resultados también se encuentran relacionados con el

comportamiento observado por la fibra dietética en este estudio, en donde la muestras remojo-germinadas mostraron mayores cantidades de fibra y estos factores relacionados con una disminución en la absorción de hierro.

También se podría pensar que debido a la formación de la enzima fitasa durante la germinación pueda existir un cambio en la distribución de tri-, tetra-, penta-, y hexafosfatos (fitatos) dentro de la semilla. En donde existe una mayor cantidad de hexafosfatos en las semillas sin germinar (Gustafsson y Sandberg, 1995, 149-152) y se aumenta la cantidad de tri-, y tetra- durante la germinación, por la liberación de fosfatos por la fitasa. Sin embargo, la formación de estos fitatos con menor cantidad de fosfatos han demostrado un menor inhibición de la absorción de hierro in vitro, hasta un 28% mayor que las muestras de hexafosfato (Sandberg et al, 1989, 159-161).

Además, si se compara el contenido de fitatos y fósforo de las muestra, como se puede observar en el cuadro No. 9, se puede comprobar que existe una relación inversamente proporcional en cuanto al contenido de fósforo y fitatos dentro de las muestras. En donde, a mayor cantidad de fitatos existe una menor cantidad de fósforo disponible, esta relación se aprecia muy bien en todas las muestras a excepción de las muestras remojo-germinadas, corroborando lo anteriormente expuesto sobre la duda en relación al contenido de fitatos en las muestras remojo-germinadas.

Existe la posibilidad que debido al tiempo en contacto con el agua de las muestras remojo-germinadas (36 hrs), puede producirse en cierto grado fermentación del frijol que pueda afectar el contenido de fitatos y hierro. Por ejemplo, se han demostrado disminuciones significativas en el contenido de fitatos

durante fermentación natural de maíz (Lopez et al, 1983, 953-954). También se ha observado el efecto de la fermentación en frijoles negros en donde se logró disminuir en un 13.33% el contenido de fitatos, sin embargo no se observaron cambios significativos en relación al contenido de hierro (Reddy y Salunkhe, 1980, 1708-1712).

**Cuadro No.9**  
Contenido de fósforo y fitatos de las muestras analizadas

<b>Muestra</b>	<b>Fósforo (mg/100 g)</b>	<b>Fitatos (µg/g)</b>
Frijol rojo	182.0	13.49
Frijol rojo, remojo	239.0	7.05
Frijol rojo, germinado	222.1	0.48
Frijol rojo, remojo, germinado	220.1	23.56
Frijol rojo, sin cáscara	221.0	14.81
Frijol rojo, sin cáscara, remojo	244.0	3.35
Frijol rojo, sin cáscara, germinado	216.0	0.52
Frijol rojo, sin cáscara, remojo, germinado	222.0	14.81
Frijol blanco	136.7	17.83
Frijol blanco, remojo	231.0	9.30
Frijol blanco, germinado	208.1	1.92
Frijol blanco, remojo, germinado	204.0	12.30
Frijol blanco, sin cáscara	184.1	16.25
Frijol blanco, sin cáscara, remojo	235.0	7.73
Frijol blanco, sin cáscara, germinado	212.0	2.53
Frijol blanco, sin cáscara, remojo, germinado	207.0	25.85

El contenido de taninos inhibe en cierta forma la degradación de fitatos en el proceso de fermentación. Las muestras fermentadas con bajo contenido de taninos muestran una disminución de casi un 50% de la cantidad de fitatos, mientras que las muestras con alto contenido de taninos solo se logra disminuir en un 30%. La fermentación de muestras con alto y bajo contenido de taninos también ejerce efectos en el contenido de hierro disponible, en donde las muestras con alto contenido de taninos no mostraron cambios en la cantidad de hierro disponible antes y después de la fermentación, mientras que las muestras

fermentadas aumentaron en un 2% el contenido de hierro disponible (Svanberg, et al 1993, 408-412).

Aunque la fermentación es un posible factor que pudo afectar este estudio, se considera que su efecto es mínimo debido a que se observaron disminuciones en el contenido de fitatos en las muestras a partir del remojo (12 horas) con un efecto positivo en la cantidad de hierro dializable sin llegar a observarse una fermentación de las muestras. Y este factor de igual forma, no logra explicar el aumento de fitatos en las muestras remojo-germinadas.

Queda la posibilidad de una mayor concentración de estos compuestos inhibidores de la absorción del hierro en los granos remojo-germinados debido al proceso de la respiración común en las semillas. En donde la disminución en el contenido del almidón debido a su degradación pudo concentrar el contenido de fitatos y otros compuestos en el frijol.

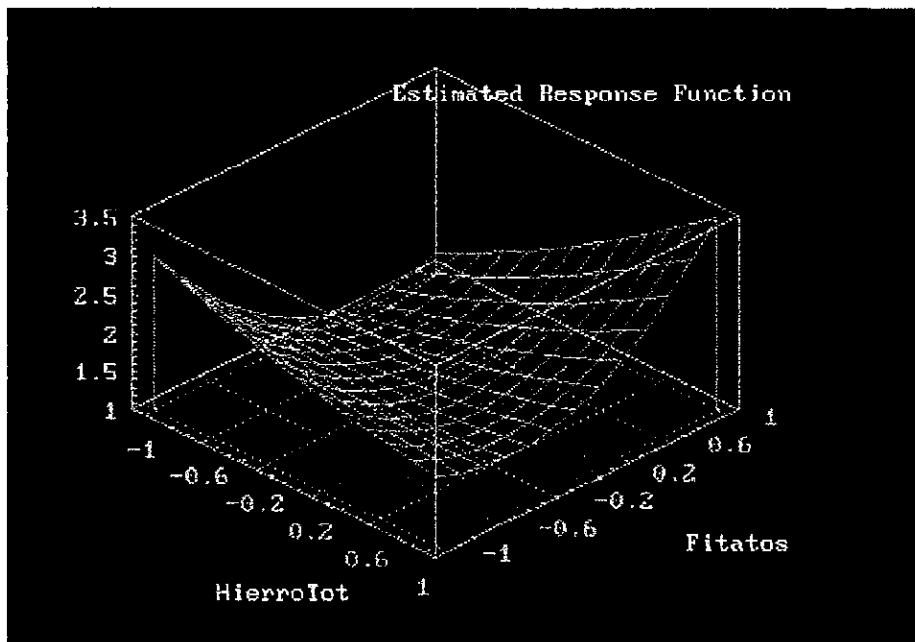
El análisis de varianza realizado correlacionó a los fitatos por si solos en un 32.9% de la respuesta a la cantidad de hierro absorbible, siendo unos de los principales factores que determinan la absorción del hierro.

#### **D. Efecto de la combinación de taninos, fibra dietética y fitatos**

Para observar mejor el efecto de la combinación de estos factores en la absorción del hierro, se presentan las Gráficas No. 7, 8 y 9 en donde se muestra la respuesta esperada en relación a la combinación de dos factores.

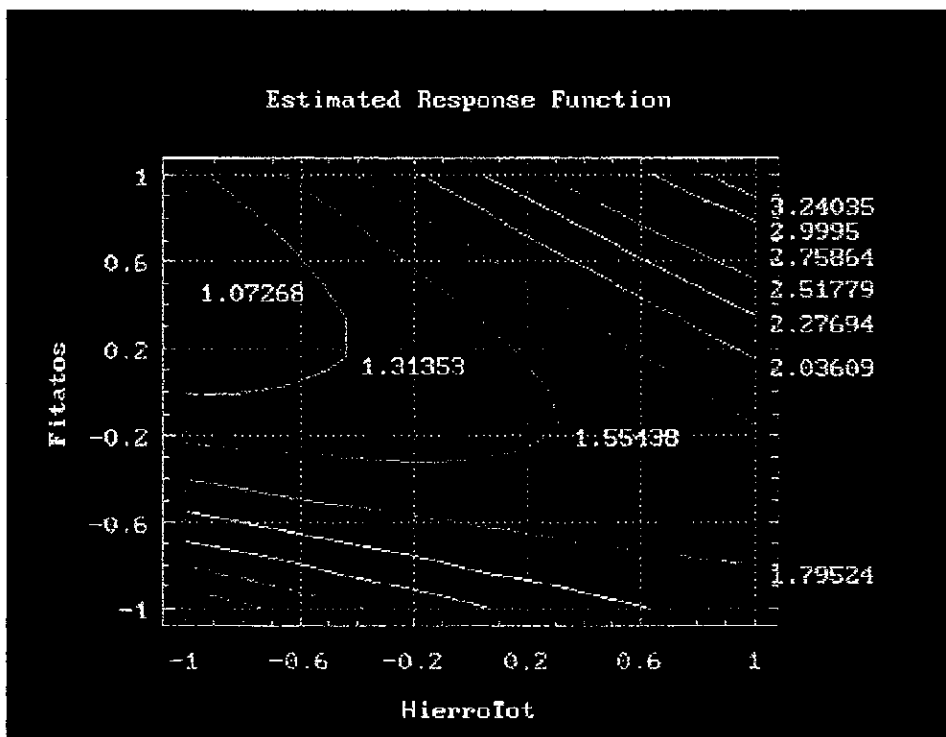
Gráfica No. 5

Respuesta esperada de hierro absorbible con relación al contenido de fitatos y hierro total de la muestra



Gráfica No. 6

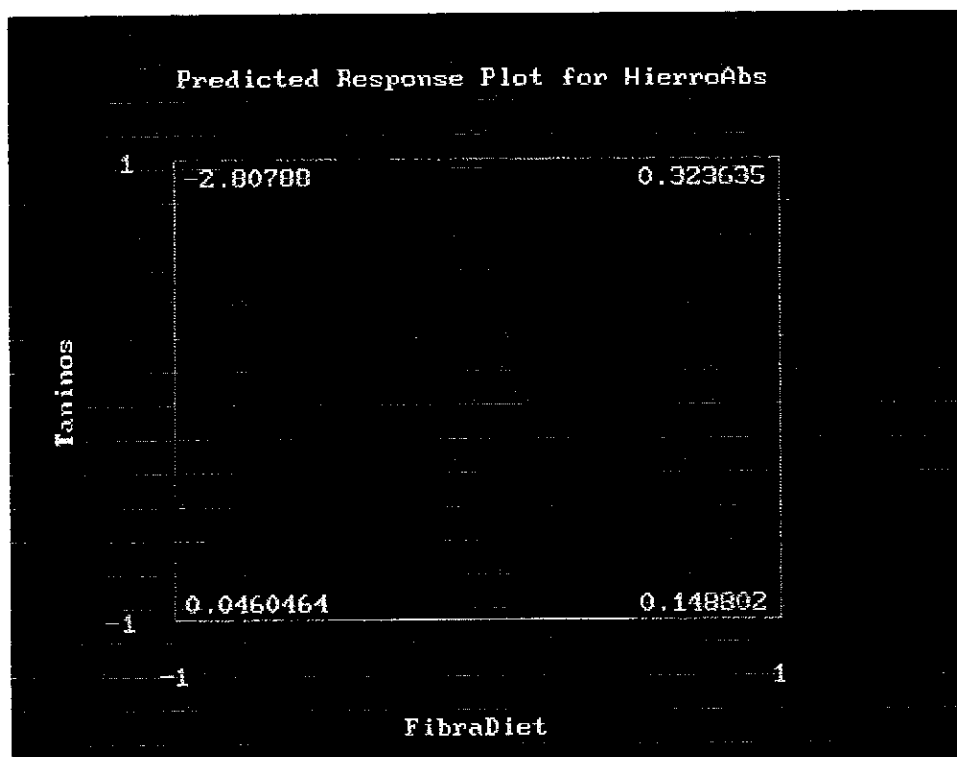
Gráfica de contorno de la superficie de respuesta al contenido de fitatos y hierro total de la muestra



Con relación a la combinación de fibra dietética con taninos se puede observar una disminución en la absorción de hierro al aumentar el contenido de taninos; sin embargo, no se observa un efecto sinérgico de la fibra con los taninos en la disminución de la absorción del hierro. Es decir, las muestras con alto contenido de taninos y alto contenido de fibra probablemente no obtendrán bajos valores de absorción de hierro en comparación con las otras muestras, como se ha reportado en la literatura en donde los taninos tienen a formar compuestos insolubles junto con la fibra durante la cocción.

### Gráfica No. 7

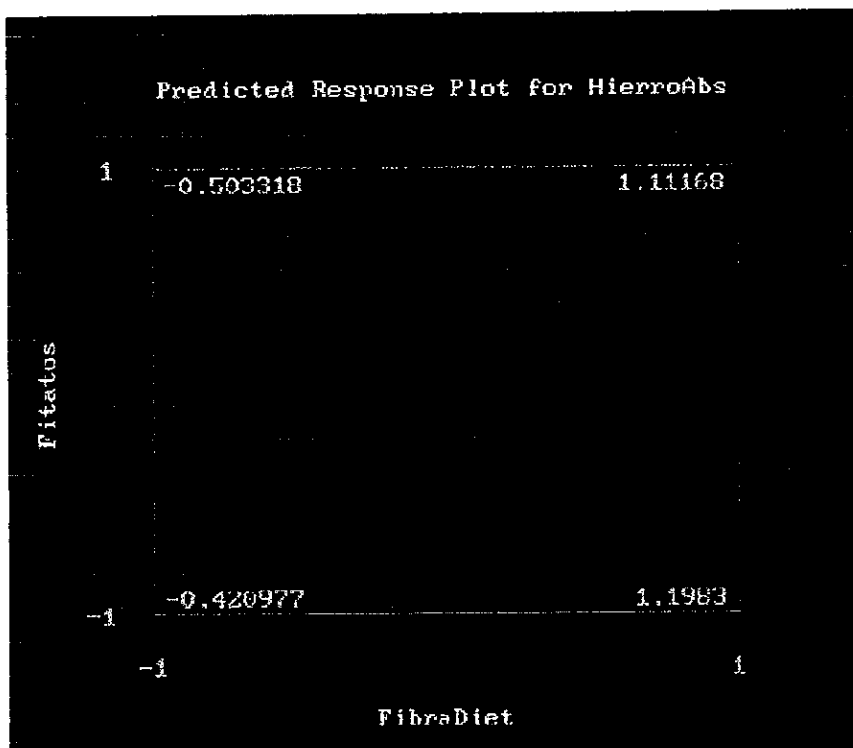
Gráfica de respuesta esperada con relación al contenido de fibra dietética y taninos de la muestra<sup>1</sup>



<sup>1</sup> Para todas las gráficas de respuesta esperada, los valores de -1 y 1 representan los valores más bajos y más altos respectivamente de cada inhibidor dentro del sistema de muestras empleadas. Los valores dentro de los cuadros es la respuesta esperada de absorción de hierro en relación a la combinación de los factores.

La combinación de los factores de fibra dietética y fitatos tampoco mostró relación alguna, como se puede observar en la Gráfica No. 8. A medida que aumenta la cantidad de fitatos existe una disminución marcada en la respuesta de hierro absorbible; comportamiento que se da con bajas y altas cantidades de fibra dietética dentro de las muestras. Lo cual confirma lo anteriormente expuesto sobre la alta correlación de los fitatos en la disminución de la absorción del hierro.

**Gráfica No. 8**  
Gráfica de respuesta esperada con relación al contenido de fibra dietética y fitatos de la muestra

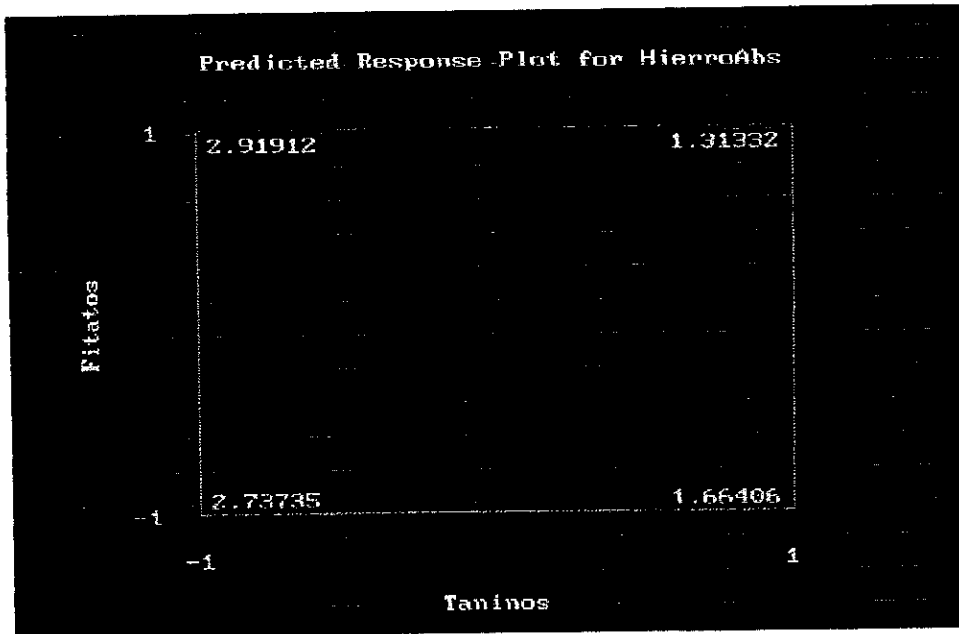


Con relación a la combinación de taninos y fitatos dentro del sistema si ejerce un efecto en la disminución de la absorción de hierro, en donde las muestras con mayor cantidad de taninos y fitatos tendrán una absorción de hierro baja. El factor que más ejerce influencia sobre la absorción en este caso parecen

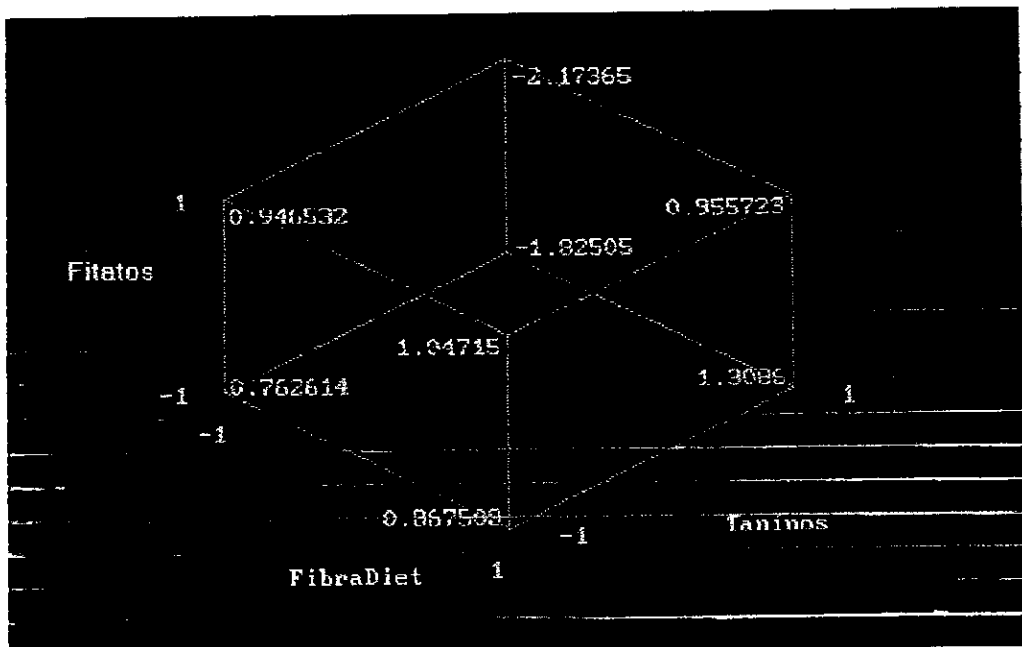
ser lo taninos, se observa una mayor disminución en la absorción al aumentar su contenido en la muestra.

### Gráfica No. 9

Gráfica de respuesta esperada con relación al contenido de taninos y fitatos de la muestra



Gráfica No. 10 Gráfica de respuesta esperada con relación al contenido de fibra dietética, taninos y fitatos de la muestra



## Cuadro No. 10

Respuesta esperada con relación al contenido de fibra dietética, taninos y fitatos de la muestra<sup>2</sup>

Taninos	Fitatos	Fibra dietética	Absorción de hierro
-1	-1	-1	0.76
-1	-1	1	0.87
-1	1	-1	0.95
-1	1	1	1.05
1	-1	-1	-1.83
1	-1	1	1.31
1	1	-1	-2.17
1	1	1	0.96

En este cuadro se observa, que la mayor inhibición de la absorción de hierro (-2.17) se da cuando existen concentraciones elevadas de fitatos y taninos en los frijoles, seguida por las muestras con concentraciones elevadas de taninos y bajas en fitatos y fibra dietética (-1.83). Por otro lado, para obtener una alta absorción de hierro, la muestra con menor cantidad de fitatos y alta de cantidad de fibra, obtendría el valor más alto de absorción (1.31).

### E. Coeficientes de regresión

Uno de los objetivos de este estudio fue la determinación de la importancia relativa de la fibra dietética, taninos y fitatos del frijol *Phaseolus vulgaris* después de la cocción a presión atmosférica en la biodisponibilidad del hierro. Por tal razón a partir del análisis estadístico de superficie de respuestas, se determinaron los coeficientes de regresión, los cuales se muestran en el Cuadro No. 11. Los cuales pueden ser utilizados para predecir la cantidad de hierro dializable en una muestra

<sup>2</sup> Los valores de -1 y 1 representan los valores más bajos y más altos de cada inhibidor dentro del sistema de muestras empleadas

de frijol a partir del contenido de hierro total, fibra dietética, taninos y fitatos con una correlación de 0.99.

Los coeficientes que muestran un signo negativo disminuyen la cantidad de hierro dializable, mientras que los coeficientes con signo positivo aumentan la cantidad de hierro dializable. Entre los factores que disminuyen la cantidad de hierro dializable se encuentra el contenido de taninos y fitatos, mientras que los factores que lo aumentan el contenido de hierro total y la cantidad de fibra dietética.

#### Cuadro No. 11

Coefficientes de regresión para la determinación de hierro absorbible en frijol

Constante	1.460178
A:Contenido de hierro	0.296401 *
B:Fibra dietética	0.808567*
C:Taninos	-0.669773*
D:Fitatos	-0.04224*
AB	-0.336875
AC	-0.208947
AD	0.820295
BC	0.75719
BD	-0.001069
CD	-0.133129
AA	0.138039
BB	-1.922285*
CC	-0.110242
DD	0.808527*

\* Muestran una correlación significativa en la respuesta de hierro dializable

El coeficiente de la variable cuadrática de fibra dietética, obtuvo un signo negativo debido a que se observó cierta disminución en la cantidad de hierro dializable en los valores máximos de fibra dietética.

## VIII. CONCLUSIONES

1. No se observó un aumento en la disponibilidad en el hierro dializable después de realizar una disminución en contenido de fibra dietética del frijol *Phaseolus vulgaris* por medio del descascarado. Por el contrario, se observó que al aumentar la cantidad de fibra dietética existe una mayor cantidad de hierro absorbible. Sin embargo, estadísticamente los efectos de la fibra sobre el contenido de hierro dializable fueron mínimos. Por lo que se considera que los niveles intermedios y bajos de fibra dietética no ejercen ningún efecto en la cantidad de hierro dializable y que los resultados de hierro dializable están más afectados por otros factores incluidos dentro de este estudio.

2. Se observaron cambios de disponibilidad en el hierro dializable después de realizar modificaciones en el contenido de fitatos del frijol *Phaseolus vulgaris* por medio de germinación; en donde a mayores concentraciones de fitatos se observa una disminución en la cantidad de hierro dializable. Sin embargo, algunos datos del análisis del contenido de fitatos pudieron estar afectados por otros inhibidores no tomados en cuenta en este estudio, principalmente en los tratamientos de remojo-germinación.

3. Los cambios de disponibilidad en el hierro dializable son afectados en relación al contenido de taninos del frijol *Phaseolus vulgaris* por medio de modificaciones con remojo. Se observó que en sistemas con mayor cantidad de taninos, existe una baja cantidad de hierro dializable, siendo la concentración de taninos en el frijol la más determinante en la inhibición de la absorción de hierro.

4. Con relación al orden correlativo de importancia en la que estos factores inhiben la absorción de hierro, el contenido de taninos es el principal inhibidor de la absorción de hierro, seguido por el contenido de fitatos y por último el contenido de fibra dietética. Aunque cabe mencionar que el contenido de fitatos mostró la mayor correlación a la respuesta de hierro absorbible en las muestras, seguida por los taninos y por último la fibra dietética.

## **IX. RECOMENDACIONES**

1. Debido a la incertidumbre con relación al contenido de fitatos en las muestras analizadas se sugiere determinar su contenido por medio de cromatografía de gases.
2. Analizar con más detalle el efecto de la germinación del frijol, en relación al contenido de fitatos y otros polisacáridos que pueden afectar la absorción del hierro.
3. Incluir análisis de los efectos de las ligninas, proteína y oxalatos en la absorción del hierro; los cuales también han sido reportados en varios estudios como potenciales inhibidores de la absorción del hierro.
4. Realizar estudios sobre la forma de almacenamiento y distribución del hierro dentro del frijol, de tal manera que se logre determinar con una mayor claridad las consecuencias de la inhibición en su absorción.
5. A pesar de la eliminación de todos los posibles factores que disminuyen la absorción de hierro, solamente se logró dializar como máximo un 1.68% del

contenido total de hierro. se recomienda seguir investigando las causas de la baja disponibilidad del hierro en los frijoles.

## X. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- Acevedo, R., L., Velázquez; y R., Bressani. 1994. **Changes in dietary fiber content and its composition as affected by processing of black beans (*Phaseolus vulgaris*, Tamazula variety).** Plant Foods for Human Nutrition, 46: 139-145.
- Amaya, H., E., Acevedo; R., Bressani. 1991. **Effect of reheating on iron availability and the protein nutritive value of cooked black beans.** Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 41:222-37.
- Aw, T., y Swanson, B. 1985. **Influence of tannin on *Phaseolus vulgaris* protein digestibility and quality.** Journal of Food Science, 50: 67-71
- Barroga, C., Laurena, A., y Mendoza, E. 1985. **Polyphenols in mung bean (*Vigna radiata*) determination and removal.** Journal of Agricultural Food Chemistry. 33:1006-1009.
- Benitez, M.; M., Grijalva y M., Valencia. 1994. **Total and Soluble Iron Content and Effect of Certain Inhibitors Present in Selected Varieties of Tepary Bean (*Phaseolus acutifolius*).** Journal of Agricultural Food Chemistry, 42:1300-1302
- Camacho, L., C., Sierra; R., Campos; E., Guzmán y D., Marcus. 1992. **Cambios Nutricionales inducidos por la germinación de leguminosas de consumo habitual en Chile.** Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 42:283-289
- Chang, R., B., Kennedy; S., Schwimmer. **Effects of autolysis on the Nutritional quality of beans (*Phaseolus vulgaris*).** Journal of Food Science 44:1141-1143
- Cook, JD., TA., Morck; SR., Lynch. 1981. **The inhibitory effect of soy products on non heme iron absorption in man.** American Journal of Clinical Nutrition, 34:2622-2629
- Desphande, S., S., Sathe; D., Salunkhe; y D., Cornforth. 1982. **Effects of Dehulling on phytic acid, polyphenols and enzyme inhibitors of dry beans (*Phaseolus vulgaris*).** Journal of Food Science, 47:1846-1850.

- Flores, M., Menchú, M y Lara, M. 1971. **Valor Nutritivos de los Alimentos para Centro América y Panamá.** INCAP, E-530. Guatemala. 18pp.
- García-Lopez, S., J., Erdman y A., Sherman. 1990. **Iron Retention by Rats from Casein-Legume Test Meals: Effect of Tannin Level and Previous Diet.** Journal of Nutrition, 120:760-766.
- Gustafsson, E., y A., Sandberg. 1995. **Phytate Reduction in Brown Beans (*Phaseolus vulgaris L.*).** Journal of Food Science. 60:149-152.
- Hallberg, L. y L., Rossander. 1982. **Effect of soy protein on non heme iron absorption in man.** American Journal of Clinical Nutrition, 36:514-520
- Hirabayashi, M., T., Matsui y H., Yano. 1998 **Fermentation of Soybean flour with *Aspergillus usami* improves availibilities of zinc and iron in rats.** Journal of Nutritional Science and Vitaminology, 44:877-886
- Hurrell, R., M., Juillerat; M., Reddy; S., Lynch; S., Dassenko y J., Cook. 1992. **Soy Protein, phytate, and iron absorption in humans.** American Journal of Clinical Nutrition, 56:573-579.
- Kane, AP. y DD., Miller. 1984. **In vitro estimation of the effects of selected protein on iron bioavailability.** American Journal of Clinical Nutrition, 39:393-401.
- Lolas, G., y P., Markakis. 1975 **Phytic Acid and Other Phosphorus Compounds of Beans (*Phaseolus vulgaris L.*).** Journal of Agricultural Food Chemistry, 23:13-15.
- Lynch, S., J., Beard; S., Dassenko y J., Cook. 1984. **Iron Absorption from Legumes in Humans.** American Journal of Clinical Nutrition 40: 42-47.
- Lynch, SR., SA., Dasenko; TA., Morck, JL., Beard y JD., Cook. 1985. **Soy Protein products and heme iron absorption in humans.** American Journal of Clinical Nutrition 41:13-20
- Lombardi-Boccia, G., M., Carbonaro; M., Cappelloni y E., Carnovale. 1996 **Relationship between in vitro Fe and Zn dialysability and peptide composition of albumins and globulins extracted from cooked beans (*Phaseolus vulgaris*)** International Journal of Food Science and Nutrition 47:485-92.
- Lombardi-Boccia, G., G., Lullo, T., Carnovale. 1991. **In vitro Iron dialysability from legumes: influence of phytate and extrusion cooking.** Journal of the Science of Food and Agriculture. 55:599-605.

- Lopez, Y., T., Dennis y M., Fields. 1983. **Release of Phosphorus from Phytate by Natural Lactic Acid Fermentation.** Journal of Food Science, 48:953-954,985.
- Macfarlane, B.J., RD., Baynes; TH., Bothwell; U., Schmidh; F., Mayet y BM, Friedman. 1988. **Effect of lupines, a protein rich legume, on iron absorption.** European Journal of Clinical Nutrition,42:683-7.
- Mafuleka, M., D., Oh; G., Hosfield; M., Uebersax. 1993. **The role of phytase and lignin in decorticated dry bean (*Phaseolus vulgaris*) hardening during storage.** Journal of Food Processing and Preservation. 17(1) 1-20
- Mahan, K y Arlin, M. 1995. **Nutrición y Dietoterapia.** 8a. ed. McGraw-Hill, México. 527pp.
- Manju, B., Hurrell, R., Juillerat, M y Cook, J. 1996. **The Influence of different protein sources on phytate inhibition of nonheme iron absorption in humans.** American Journal of Clinical Nutrition, 63:203-7.
- Martinez, E. 1979. **Cuantificación de Taninos en Semillas de Frijol Común (*Phaseolus vulgaris* L.) Durante su desarrollo y maduración.** Tesis USAC, Facultad de Agronomía.
- Matthews, R. 1989. **Legums, Chemistry, Technology and Nutrition.** Marcell Dekker, Inc. USA. 389pp.
- Platt, S., C., Clydesdale. 1984. **Binding of Iron by cellulose, lignin, sodium phytate and beta-glucan, alone and in combination, under simulated gastrointestinal pH conditions.** Journal of Food Science, 49:531-535.
- Price, M.; S., Van Scoyoc y L., Butler. 1978. **A Critical Evaluation of the Vanillin Reaction as an Assay for Tannin in Sorghum Grain.** Journal of Agricultural Food Chemistry, 26:1214-1218
- Rao, B., y T., Prabhavathi. 1982. **Tannin content of foods commonly consumed in India and its influence on ionisable iron.** Journal of the Science of Food and Agriculture, 33:89-96
- Reddy, N., Pierson, M., Sathe, S., y Salunkhe, D. 1985. **Dry Bean Tannins: a review of nutritional implications.** Journal of the American Oil Chemists Society, 62:541-549.
- Reddy, N., Sathe, S., Salunkhe, D. 1982. **Phytates in legumes and cereals.** Advances in Food Research, 28:1-92

- Reddy, N., Salunkhe., D. 1980 **Effects of Fermentation on Phytate Phosphorus and mineral content in Black Gram, Rice and Black Gram and Rice Blends.** *Journal of Food Science*, 45:1708-1712.
- Sandberg, A., N., Carlsson y U., Svanberg. 1989. **Effects of Inositol Tri-, Tetra-, Penta-, and Hexaphosphates on In Vitro Estimation of Iron Availability.** *Journal of Food Science*, 54:159-161
- Schlemmer, U., Müller, H. y Jany, K. 1995. **The degradation of phytic acid in legumes prepared by different methods.** *European Journal of Clinical Nutrition*, Suppl 3: S207-10
- SEGEPLAN. 1991. **Encuesta Nacional de Consumo Aparente de Alimentos.**
- Simpson, K., E., Morris y J., Cook. 1981. **The Inhibitory effect of bran on iron absorption in man.** *American Journal of Clinical Nutrition*, 34:1469-78
- Srisuma, N., Reungsakulrach, S., Uebersax, M., Bennink, M., y Hammerschmidt, R. 1991. **Cell Wall Polysaccharides of Navy Beans (*Phaseolus vulgaris*).** *Journal of Agricultural Food Chemistry*,39:855-858.
- Svanberg, U., y A., Sandberg. 1993. **Lactic Fermentation of Non-Tannin and High-Tannin Cereals: Effects on in vitro Estimation of Iron Availability and Phytate Hydrolysis.** *Journal of Food Science*, 58:408-412
- Torun, B., Menchú, M y Elias, L. 1996. **Recomendaciones Dietéticas Diarias del INCAP.** INCAP ME/057, Guatemala. 137pp.

## Anexo No. 1 Análisis de Varianza

## ANOVA for HierroAbs

Effect	Sum of Squares	DF	Mean Sq.	F-Ratio	P-value
A:HierroTot	0.00775453	1	0.0077545	12.48	0.1732
B:FibraDiet	0.03802173	1	0.0380217	61.20	0.0798
C:Taninos	0.24747563	1	0.2474756	398.33	0.0314
D:Fitatos	0.00006857	1	0.0000686	0.11	0.7986
AB	0.00319161	1	0.0031916	5.14	0.2608
AC	0.00270077	1	0.0027008	4.35	0.2806
AD	0.01186142	1	0.0118614	19.09	0.1413
BC	0.06116815	1	0.0611681	98.46	0.0631
BD	0.00000115	1	0.0000012	0.00	0.9729
CD	0.00131532	1	0.0013153	2.12	0.3775
AA	0.00039172	1	0.0003917	0.63	0.5795
BB	0.22890408	1	0.2289041	368.44	0.0327
CC	0.00471173	1	0.0047117	7.58	0.2186
DD	0.33640424	1	0.3364042	541.47	0.0270
Total error	0.00062128	1	0.0006213		
Total (corr.)	1.52277500	15	R-square	0.999592	