

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades
Departamento de Alimentos y Nutrición



**EFFECTO DE LA DISMINUCION DE FITATOS Y
ADICION DE ACIDO ASCORBICO EN LA DISPONIBILIDAD IN
VITRO DE HIERRO EN FRIJOL NEGRO (*Phaseolus vulgaris*)**

ANA LUCRECIA GALINDO DE LEON

Trabajo de graduación presentado para optar
al grado académico de

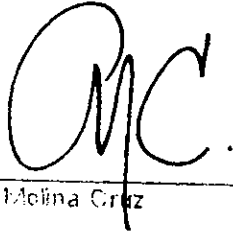
LICENCIADO EN INGENIERIA Y CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS



Guatemala

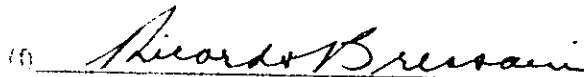
1997

Vs. Bo.

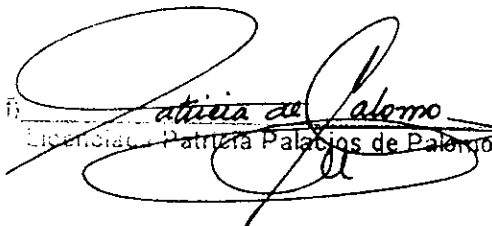


Doctor Alvaro Molina Cruz
Asesor

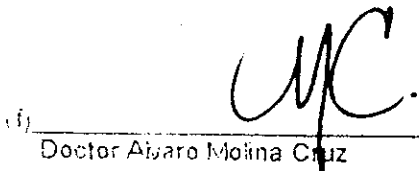
Tribunal



Doctor Ricardo Bressani



Patricia Palacios de Palomo
Escribana Patricia Palacios de Palomo



Doctor Alvaro Molina Cruz

Fecha de aprobación: 30 de octubre de 1987.

**EFFECTO DE LA DISMINUCION DE FITATOS Y
ADICION DE ACIDO ASCORBICO EN LA DISPONIBILIDAD *IN*
VITRO DE HIERRO EN FRIJOL NEGRO (*Phaseolus vulgaris*)**

A mi madre, Moritza de Galindo,
agradeciéndole tantas cosas...

AGRADECIMIENTOS

Muy especialmente al Doctor Alvaro Molina, por todo su tiempo, paciencia, dedicación y apoyo durante la realización de este trabajo, así como al Doctor Ricardo Bressani por sus sugerencias, consejos e ideas, y a todas las personas que colaboraron para la realización de este trabajo.

A mi madre, especialmente por todo su esfuerzo y sacrificio, por darme siempre lo mejor, por apoyarme en todo, alentarme y estar siempre conmigo. ¡Muchas gracias Mami!

A Gabriel por todo lo que ha hecho por mí, por ser quien nunca me falló, por dedicarme su tiempo, tenerme paciencia y darme su apoyo y comprensión.

A mis hermanas Claudia, Eugenia y Lucía por ser las mejores del mundo, y estar allí cuando las necesité.

Y a mis amigas Martha, Mayra y Masha, por su amistad y por todos los momentos inolvidables que compartimos durante la carrera.

RESUMEN

Se determinó la cantidad de hierro total en el frijol negro (6.8-7mg/100g), su disponibilidad (1.54%), y el contenido de fitatos (1.13%) que es uno de los principales inhibidores de la absorción de hierro.

Se estudiaron 2 opciones para aumentar el contenido de hierro disponible en el frijol negro. La primera de ellas fue mediante una incubación en una solución buffer pH = 7, T = 55°C por diferentes períodos de tiempo, logrando disminuir el contenido de fitatos en un 86.15% al incubar el grano por 60 horas, con lo que el hierro disponible aumentó a 4.94%.

La segunda fue adicionando ácido ascórbico después de la cocción sin incubación previa, con lo que se logró obtener 4.22% de hierro disponible, y por último se llevaron a cabo los dos procedimientos al mismo tiempo, con lo que se logró elevar la disponibilidad del hierro a un 7.15%. Lo anterior indicó que tanto reducir el nivel de fitato como adicionar ácido ascórbico tiene un efecto aditivo sobre la disponibilidad del hierro del frijol negro.

Se determinó el contenido de hierro total de la hoja de chaya (8.310 ± 0.203 mg/100g), así como el porcentaje de hierro disponible (4.408 ± 0.152 mg/100g) y el porcentaje de fitato ($0.901\% \pm 0.038$), para evaluar la posibilidad de utilizarla como fuente ácido ascórbico C al agregarla al frijol.

Y por último, para determinar si el procesamiento industrial afecta el contenido de fitato y hierro disponible, se determinó la disponibilidad de hierro en frijol enlatado de 3 diferentes marcas, obteniendo (10.475 - 11.257 g/100mg), y un nivel de fitatos de (0.974 - 1.101 %).

CONTENIDO

Páginas

RESUMEN	
I. INTRODUCCION	1
II. REVISION DE LA LITERATURA	2
A. Deficiencia de hierro	2
B. El frijol y su importancia en la dieta de Latinoamérica	2
C. Procesamiento del frijol	3
D. Absorción de hierro	3
E. Inhibidores de la absorción de hierro dietético	4
1. Acido fítico	4
F. Promotores de la absorción de hierro	6
1. Acido Ascórbico	6
III. OBJETIVOS E HIPOTESIS	7
IV. MATERIALES Y METODOS	8
V. RESULTADOS Y DISCUSIONES	15
VI. CONCLUSIONES	28
VII. BIBLIOGRAFIA	29
APENDICES	
A. Tablas de contenido de fitato, hierro total, ionizable y disponible	31
B. Tablas de curvas de calibraciones	44
C. Tablas de análisis estadístico	46
D. Tabla de porcentaje de grasa en frijol procesado industrialmente	51

LISTA DE TABLAS Y GRAFICAS

Tabla	Página
5.1 Contenido de fitato y de hierro total, ionizable, y disponible <i>in vitro</i> en frijol negro (base seca).	15
5.2 Contenido de fitato en frijol negro después de incubado 17 horas a distinto pH y temperaturas (base seca).	16
5.3 Tiempo de incubación vrs. tiempo de cocción.	19
5.4 Efecto del blanqueo y secado del frijol negro sobre el contenido de fitato (base seca).	20
5.5 Contenido de fitato, hierro total, ionizable y disponible en hoja de chaya (selección Cerinal, sembrada en campos experimentales a 1524msnm) cocinada (base seca).	25
5.6 Contenido de fitato, hierro total, ionizable y disponible en frijol procesado (base seca).	26
5.7 Efecto de agregar ácido ascórbico sobre la disponibilidad de hierro en frijol procesado y enlatado industrialmente (base seca).	26
5.8 Efecto de extraer la grasa en una muestra de frijol procesado y enlatado industrialmente sobre la disponibilidad de hierro (base seca).	27
 GRAFICA	
5.1 Tiempo de incubación vrs. porcentaje de fitato	18
5.2 Tiempo de incubación vrs. porcentaje de hierro disponible.	21
5.3 Contenido de fitato vrs. porcentaje de hierro disponible.	22
5.4 Acido ascórbico agregado vrs. porcentaje de hierro disponible.	24

I. INTRODUCCION

Varios estudios revelan la importancia que tiene el frijol al formar parte de la dieta en países como Guatemala. Esto se debe principalmente a su alto consumo, y a su valor nutricional como fuente de proteína y carbohidrato.

El frijol es un alimento rico en hierro (5 a 6.5mg/100g aprox.), pero lastimosamente este tiene una baja biodisponibilidad debido a la interacción con otros componentes del alimento que no le permiten poder ser absorbido. La deficiencia de este elemento es uno de los desórdenes nutricionales más comunes en el mundo y en Latinoamérica el 20% de la población padece una de sus más serias manifestaciones: la anemia, debido a la ingesta de una dieta en la que el hierro es poco disponible.

Con este proyecto se pretende sugerir un tratamiento previo a la cocción del frijol, para que el hierro pueda absorberse mejor y con ello reducir la incidencia de desórdenes nutricionales ocasionados por su deficiencia. Para ello se determinaron las condiciones de incubación para reducir el nivel de fitato en el frijol entero, y se evaluó si aumentó el contenido de hierro disponible. También se evaluó el efecto promotor de la vitamina C sobre la disponibilidad del hierro al añadir vitamina C sintética, y la posible utilización de hojas de chaya (*Cindoscolus aconitifolius*) como fuente natural de vitamina C. Por último se estudió el efecto del procesamiento y enlatado industrial de frijol negro sobre la disponibilidad de hierro.

II. REVISION DE LA LITERATURA

A. DEFICIENCIA DE HIERRO:

Según Skikne (1988), la deficiencia de hierro es uno de los desórdenes nutricionales más comunes en el mundo, y la anemia es una de sus más frecuentes manifestaciones. De acuerdo a estadísticas realizadas por World Health Quaterly en 1985, se estima que el 30% de la población mundial, padece alguna forma de anemia y se observa que su incidencia es mayor en países subdesarrollados (36%) que en los desarrollados (8%), debido a la ingesta de una dieta en la que el hierro es escasamente disponible.

La mayoría del hierro ingerido proviene de recursos vegetales, y este hierro no hemínico no está disponible para poder ser absorbido, mientras que el hierro hemínico que proviene de recursos animales se absorbe con facilidad. La diferencia de absorción según Skikne (1988) se debe al diseño genético de la mucosa intestinal, ya que primitivamente el hombre era carnívoro y con el paso del tiempo y el desarrollo de las técnicas de cultivo, su dieta cambió gradualmente al empezar a incluir los cereales en ella.

B. EL FRIJOL Y SU IMPORTANCIA EN LA DIETA DE LATINOAMERICA:

Según Bressani (1973) la importancia del frijol en la dieta de las poblaciones de América Latina está bien documentada. Existen varias formas de consumo, siendo la más común el frijol cocinado con agua, con o sin aditivos, durante tiempos que dependen de la naturaleza del grano, y luego colado, frito, o entero con su caldo. El frijol es una buena fuente de hierro (5 a 6.5mg/100g), pero su importancia cualitativa es menor, pues sólo se absorbe alrededor del 10%.

Bressani(1991) indica que la ingesta promedio de frijol en Guatemala es de 50g/día, cantidad que aporta teóricamente de 2.5 a 3.5 mg de hierro/día, pero su disponibilidad en frijol crudo y cocido es baja y podría reducirse más, debido a su interacción con otros componentes del alimento, principalmente taninos, fitatos y fibra dietética.

El frijol es una buena fuente de proteína y contiene un alto nivel de lisina, lo que lo hace ser un excelente suplemento protéico para dietas que incluyen cereales. Según Bressani (1991), la cantidad de proteína en las leguminosas, incluyendo frijol, varía entre 17 y 34% de proteína cruda; y el contenido de nitrógeno no proteico es de 8.3% y 14.5% del nitrógeno total. Entre las proteínas más abundantes en el frijol (*Phaseolus vulgaris*) se encuentran las albúminas, las globulinas, las prolaminas y las glutelinas.

C. PROCESAMIENTO DEL FRIJOL:

De acuerdo a Bressani(1993), el método más común para prepararlo para su consumo, es la cocción con un exceso de agua a presión atmosférica o reduciendo la presión en una olla de presión, usando el grano entero o sin cáscara, con remojo o sin remojo previo al cocinado. En Guatemala, los estudios revelan que sólo del 7 al 17% de las amas de casa utilizan un remojo como tratamiento previo para hacer el grano más suave. Esta hidratación es importante porque el agua participa en muchas reacciones químicas y de transferencia de calor, así como transformaciones químicas, como la desnaturalización de proteína y la gelatinización del almidón. Según Bressanni (1993) muchos investigadores han encontrado que el tiempo de hidratación del frijol varía según el tipo de frijol, Y que el calentamiento aumenta la rapidez de esta hidratación.

D. ABSORCION DE HIERRO:

De acuerdo a Skikne(1988), el hierro es normalmente absorbido principalmente en dos formas:

La primera es como hierro no hemínico que está comúnmente presente en alimentos derivados de plantas en forma férrica, y éste ion férrico es reducido en el estómago por los jugos gástricos a ion ferroso. Una vez el hierro entra al duodeno, donde se absorbe principalmente el hierro, encuentra ciertos ligandos que lo mantienen en solución, pero como el pH es mayor en esta región, el hierro tiende a precipitarse formando hidróxidos de hierro que no pueden ser absorbidos. Los ligandos que son responsables de mantener el hierro en solución, no están bien caracterizados, pero incluyen la vitamina C. La absorción de esta forma de hierro también se encuentra influenciada por la presencia de inhibidores que no permiten su absorción.

La segunda es como hierro hemínico que se encuentra principalmente en productos de origen animal como la carne y hemoglobina y en pequeñas cantidades en recursos vegetales.

La molécula de hierro hemínico parece ser absorbida, en la mucosa celular y su absorción no se encuentra influenciada por el contenido ácido del estómago ni por el pH del duodeno. Por ello la proporción de hierro hemínico que es absorbida es mayor que la de hierro no hemínico, pero la mayoría del hierro de la dieta se encuentra como hierro no hemínico que es menos disponible. Este es el caso de la dieta de los países subdesarrollados en los que la carne y otras proteínas animales no se consumen debido a factores económicos.

Para predecir la disponibilidad del hierro, se han propuesto una serie de métodos, pero los métodos in vitro tienen la ventaja de ser más rápidos y prácticos. Narasinga y Prabhavathi (1978) propusieron un método que se basa en la liberación de hierro ionizable del alimento sometido a un tratamiento con pepsina-HCl a un pH de 1.35, seguido de un ajuste de pH a 7.5, simulando así las condiciones que prevalecen en el intestino y estómago respectivamente. Este método resultó muy útil ya que demostró que el hierro ionizable puede usarse como medida para predecir el hierro biodisponible.

E. INHIBIDORES DE LA ABSORCIÓN DE HIERRO DIETÉTICO:

Skikne (1988) indica que existe un gran número de inhibidores de la absorción de hierro presente en diferentes alimentos que tienden a afectar el componente no hemínico del mismo. Entre estos inhibidores se encuentran los fitatos, los fosfatos de calcio y los taninos.

Según un estudio realizado por Hallberg(1987) la causa del efecto inhibitorio fue atribuida en parte a la presencia de fitatos endógenos contenidas en la fibra. La disminución de estos fitatos mediante distintos tratamientos logró aumentar la absorción de hierro aproximadamente 3.5 veces.

1. ACIDO FITICO:

Los fitatos representan una clase compleja de compuestos que ocurren naturalmente. Su rol no se ha entendido por completo y por lo tanto se mantiene una investigación continua

alrededor de éste, ya que el mismo puede influir en las propiedades funcionales y nutritivas de los alimentos.

Existen numerosos inositoles polifosforilados que según la forma compleja que posean, se presentan como ácido fítico, fitina o bien como fitato.

El ácido fítico se llama comúnmente ácido myonositol hexafosfato y su contenido en el grano de frijol varía de 0.74% a 2.1 % según Bressani (1993). De acuerdo a Sandberg y Gustafsson (1995) la molécula de fitato está negativamente cargada y quela a diferentes elementos minerales incluyendo al hierro, zinc, magnesio y al calcio, formando con ellos complejos insolubles que lo hacen no disponible.

De acuerdo a Bressani (1993) el fitato se considera estable al calor, y la cocción en agua sin tratamiento previo de incubación no lo hace disminuir significativamente.

Según Chang (1977) se ha encontrado que existen tratamientos para reducir el contenido de ácido fítico en el frijol. Para ello se necesita cierto grado de autólisis que puede lograrse mediante la adición de fitasa, y procesos como germinación, fermentación e incubación.

Según Chang, el valor nutricional del frijol aumenta al hidrolizar el fitato porque es una fuente de fosfatos inorgánicos y de inositol. Otros estudios conducidos por Sathe y Salunkeh (1984) indican que la incubación y cocción pueden remover de 50% a 80% o más del fitato endógeno en el grano de frijol.

En un experimento conducido por Gustafsson y Sandberg en 1995, se utilizó frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) para evaluar los efectos del pH y de la temperatura en la degradación del fitato. Para ello se efectuaron incubaciones a diferentes temperaturas y pH por diferentes períodos de tiempo, encontrándose que las condiciones óptimas de incubación para este tipo de frijol se dan a pH 7 y a una temperatura de 55°C por un tiempo de 17 horas.

Sandberg y Svanberg (1991) estudiaron el efecto de la hidrólisis del fitato por fitasas endógenas y exógenas en la disponibilidad del hierro en algunos cereales. Realizaron incubaciones a las condiciones óptimas para la actividad de la fitasa (pH 5 y 55°C), y

encontraron que pequeñas cantidades de fitato ($<1\mu\text{mol/g}$) tienen un efecto negativo en la solubilidad del hierro, y al hidrolizarlo la solubilidad aumenta de 3 a 53% en el trigo por ejemplo.

F. PROMOTORES DE LA ABSORCIÓN DEL HIERRO:

Skikne (1988) indica que la carne y otras proteínas animales ejercen un efecto promotor en la absorción de hierro, ya que no sólo su contenido de hierro hemínico es alto y altamente disponible, sino que aparentemente hay algún otro componente en ella que favorece la absorción de hierro no hemínico de origen vegetal.

Skikne también señala que se ha demostrado que el ácido ascórbico aumenta la absorción del hierro no hemínico en dosis de hasta 1000mg, y que es importante considerar el resto de los componentes de la dieta, ya que la absorción de hierro no hemínico, depende del tipo de alimento ingerido y de la mezcla de los componentes inhibidores y promotores de la absorción de hierro.

1. ACIDO ASCORBICO:

De acuerdo a un estudio realizado por Davidsson et al. (1994) la vitamina C aumenta la disponibilidad del hierro y contrarresta el efecto inhibitorio ocasionado por la presencia del ácido fítico.

Según Badui(1994), la vitamina C ayuda a la absorción de hierro (distinto al grupo hemo de la mioglobina), por lo que es fundamental en la dieta de los pueblos que basan su alimentación en granos y semillas. Debido a esto, comercialmente ya se han desarrollado complejos hierro-ácido ascórbico, estables a pH ácidos, que se adicionan a las harinas de trigo.

De acuerdo a Hallberg et al. (1989) la marcada inhibición en la absorción del hierro por parte de los fitatos y el efecto que ocasiona el ácido ascórbico contrarrestándolo, tiene una amplia aplicación nutricional.

III. OBJETIVOS E HIPOTESIS

A. Objetivo General:

Estudiar métodos de procesamiento que podrían aumentar la disponibilidad del hierro del frijol negro (*Phaseolus vulgaris*).

B. Objetivos Específicos:

1. Determinar las condiciones de incubación del grano de frijol negro entero (*Phaseolus vulgaris*) que reducen el contenido de fitatos.
2. Determinar la disponibilidad in vitro del hierro a diferentes niveles de fitato en el frijol.
3. Evaluar el efecto de la adición de vitamina C sintética sobre la disponibilidad del hierro del frijol a diferentes niveles de fitato.
4. Evaluar la posibilidad de usar chaya (*Cindoscolus aconitifolius*) como fuente natural de vitamina C para aumentar la disponibilidad in vitro del hierro del frijol.
5. Evaluar si se da un efecto sinérgico al agregar vitamina C y reducir el nivel de fitatos en la disponibilidad in vitro de hierro del frijol.
6. Determinar el contenido de fitato y la disponibilidad in vitro del hierro del frijol procesado y enlatado industrialmente.

C. Hipótesis:

- El contenido de fitato en el frijol, puede ser disminuido al incubar el grano entero a pH y temperatura controlados.
- La disponibilidad de hierro del frijol negro (*Phaseolus vulgaris*) aumenta al reducir el nivel de fitato y adicionar vitamina C.
- El porcentaje de hierro disponible en frijol procesado y enlatado industrialmente, es similar al de frijol cocinado.

IV. MATERIALES Y METODOS

A. Materiales :

- 15 libras de frijol negro, marca comercial La campana
- 7 beakers pyrex de 100ml + 5% No. 1000
- 3 beakers de pyrex de 250ml + 5% No. 1000
- 2 beakers de pyrex de 1000ml + 5% No. 1000
- 7 embudos pyrex de vidrio.
- 7 erlenmeyers pyrex de 125ml + 5% No. 4980, stopper No.5
- 7 erlenmeyers pyrex de 50ml + 5% No. 4980, stopper No. 1
- 10 erlenmeyers pyrex de 250ml + 5% No.4980, stopper No. 6
- 1 probeta Kimax USA. de 25ml TD (20°C) No.20024
- 1 probeta Kimax USA. de 100ml TD (20°C) No. 20025-H
- 1 probeta Kimax USA. de 1000ml TD (20°C) No. 20024
- 3 pipetas volumétricas Fisher de 1ml + 0.006ml No. 13.650.2b
- 3 pipetas volumétricas Fisher de 2ml + 0.006ml No. 13.650-2C
- 3 pipetas Kimax-51 de 10ml TD (20°C) No. 37020
- 2 pipetas Kimble USA. de 1ml TD (20°C)
- 2 Pipetas pasteur
- 7 balones volumétricos pyrex de 100ml + 0.8ml TC(20°C) No. 5642
- 1 balón volumétrico pyrex de 50ml + 0.05ml TC(20°C) No.25642
- 1 balón volumétrico pyrex de 5ml TC(20°C) No.5640
- 1 balón volumétrico Kimax de 1000ml + 0.30ml TC(20°C)No.28013
- Papel filtro Whatmann #1, #4 y #44 de 110mm diámetro
- 1 Pizeta Fisher USA. No.03-409-220
- 12 tubos Corex USA. de vidrio de 30ml No. 8445
- 24 tubos de ensayo pyrex No.9826
- 4 agitadores magnéticos
- 1 tabla de asbesto
- 1 Pinzas
- 1 Bulbo Labcraft Cat No. 374-983

- papel parafilm M, American National Can. Sigma USA., p-7793
- 3 espátulas
- 20 crisoles de porcelana
- 12 Cajas de humedad
- 2 estufas Hot Plate-Stirrer Sigma USA. H3770; lote No. 050H0070 serie No. 8720C
- 1 minichopper Black and Decker 13B9; Hong Kong
- 1 deshidratador American Harvest Snackmaster modelo FD50/30; serie No. 2940018783
- Horno BS Gallenkamp Size One
- 1 Centrifuga Clínica; IEC USA.; modelo 120; serie No. 428316099
- 1 pHmetro Accumet Fisher USA.; modelo 930; serie No. 2285
- 1 Baño térmico Blue M. USA.; Dual Microtrol No. 2.813.189
- 1 espectrofómeto UV-VIS Perkin Elmer Lambda 5
- 1 balanza analítica Metler; modelo AT 2000
- 1 balanza OHAUS Portable Standard LS200; Suiza;
- 1 molino UDY Cyclone Sample; modelo 3010-030

B. Reactivos:

- Trizma-HCl, Sigma.
- Hidróxido de sodio, J.L. Baker.
- Acetato de Sodio anhidro, Merck.
- Acido Ascórbico, Merck.
- Acido Clorhídrico 36%, EM Science.
- Sulfato de sodio anhidro, Merck.
- Cloruro Férrico, anhidro Fisher scientific
- Acido sulfúrico, EM Science.
- Molibdato de Amonio, Sigma.
- Bisulfito de sodio anhidro, Sigma.
- Sulfito de sodio anhidro, Sigma.
- 1-amino-2hidroxi-4naftaleno ácido sulfonílico, Merck.

- Peróxido de hidrógeno al 30%, Baker.
- Pepsina, Sigma.
- 2,2 bipyridin, Merck.
- Solución de hierro estándar
- Cloruro de hidroxilamina, Merck.
- Nitrato de Magnesio, Merck.
- Acido Nítrico, Merck.
- Acido Fítico, Sigma.
- Fosfato dibásico de sodio heptahidratado, Sigma.

C. Metodología:

1. Determinación de las condiciones óptimas de incubación para disminuir el contenido de fitatos en frijol negro entero:

Se incubó frijol negro entero bajo distintas condiciones de temperatura (50,55 y 60°C), pH (6,7, y 8) y tiempo (0,4,8,17 y 24 horas), se secó por 8 horas en un horno de bandejas a 52°F, se molió y se midió el contenido de fitatos después de cada incubación por triplicado.

2. Determinación del efecto de distintos niveles de fitato del frijol negro en la disponibilidad del hierro:

Se incubó frijol negro entero bajo las condiciones óptimas determinadas en (1.) a distintos tiempos para obtener distintos niveles de fitato y se midió la disponibilidad de hierro in vitro en las muestras a diferentes niveles de fitato por triplicado.

3. Determinación del efecto de vitamina C comercial sobre la disponibilidad in vitro del hierro del frijol:

Se agregaron distintas cantidades de vitamina C (1,3 y 6 mol vitamina C/mol Fe) a las muestras tanto de frijol cocinado, y se midió la disponibilidad in vitro de hierro por triplicado para evaluar su efecto y el efecto de agregar las diferentes cantidades de vitamina C.

4. Determinación de la disponibilidad de hierro y contenido de fitatos de la hoja de chaya y evaluación de la posibilidad de utilizarla como fuente de vitamina C.

Se cocinaron hojas de chaya en agua hirviendo por 15 minutos, luego se licuaron, se secaron las muestras 8 horas a 52°C y se determinó la disponibilidad de hierro, y el contenido de fitato presente en la chaya. El contenido de vitamina C de las hojas de chaya se obtuvo de experimentos realizados por Luisa Curley(1996) con el método 43.064 de determinación de vitamina C del AOAC (1984). Con estos datos y los obtenidos en (3.) se evaluó la posibilidad de utilizar la chaya como fuente de vitamina C para agregarla al frijol.

5. Determinación del efecto de reducir el contenido de fitatos mediante incubaciones y agregar vitamina C en la disponibilidad in vitro del hierro en el frijol:

Se incubó frijol negro bajo las condiciones óptimas determinadas en (1.) y se agregó la cantidad de vitamina C según los resultados en (4.) para evaluar si se da un aumento en la disponibilidad in vitro del hierro del frijol.

6. Determinación del contenido de fitato y de hierro biodisponible en frijol procesado y enlatado industrialmente:

Se analizó frijol enlatado de 3 diferentes marcas comerciales. De las marcas Ducal y Lozano se obtuvieron 3 latas de 1 libra de lotes diferentes, y se analizó cada lata por separado, de la marca Malher se analizó sólo una lata en triplicado. Se homogenizó el contenido de cada lata y se tomó aproximadamente 0.5 libras para ser secadas por 8 horas a 52°C, y luego ser molidas. En la harina resultante, se determinó el contenido de fitato, hierro total, ionizable y disponible in vitro. Para evaluar el efecto de agregar vitamina C, se tomó harina de una de las muestras y se le agregó vitamina C (1,3 y 6 mol Vitamina C/mol Fe) y se midió el hierro disponible. Por último se desgrasó una de las muestras de harina y se determinó el contenido de hierro total, ionizable y disponible para determinar si la grasa del frijol afecta las determinaciones.

D. Métodos:

I. Preparación de muestras:

Muestra control:

Se almacenó frijol negro entero a 4°C, se limpió y seleccionó. Se preparó una harina moliendo el grano en un molino UDY Cyclone Sample, la harina resultante se almacenó de nuevo a 4°C hasta ser analizado.

Muestras:

Se almacenó frijol negro entero a 4°C, se limpiaron y seleccionaron los granos. Se incubó el frijol en una solución buffer trizma-HCl (pH=7) a 55°C por 8, 17, 24, 36, 48 y 60 horas. Después de la incubación se trituraron los granos, se secaron en un horno por 8 horas a 52°C y se molieron en un molino UDY Cyclone Sample. Las muestras de la harina resultante se almacenaron a 4°C hasta ser utilizadas.

2. Determinación de Humedad de la Muestra (según método descrito por AOAC en 1925)

Se colocan 2g de harina en una caja de humedad previamente tarada y llevada a peso constante calentando el horno a 130°C + 3°C, y se introduce en horno a la misma temperatura por una hora.

Luego se tapa la caja dentro del horno, y se transfiere a un desecador, se pesa cuando alcance temperatura ambiente.

La humedad se reporta como el porcentaje de la pérdida de agua que tuvo la muestra.

3. Determinación de Acido Fítico: (Según método del Sobrenadante descrito por Thompson en 1982)

Se Toman 2 gramos de muestra y se agregan 100ml de 1.2% HCl y 10% de Na_2SO_4 . Se agita mecánicamente por 2 horas y luego se filtra (whatman #4). Se Transfieren 10 ml de filtrado a un tubo de centrifuga de 50ml y se agrega 10 ml de agua desionizada y 12 ml de una solución de FeCl_3 (2g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ + 16.3ml HCl concentrado/l).

Se colocan los tubos en baño maría y se calientan a ebullición por 75 minutos. Se enfría una hora a temperatura ambiente tapando los tubos, y se centrifuga por 15 minutos a 1000xg. Se filtra el sobrenadante (Whatman # 1) lavando el papel con agua desionizada, y se afora a 50ml. Se toman 2 ml de filtrado para analizar por el método de Bartlett (1959) el fosfato. Se toma 1 ml de muestra del extracto inicial, se afora a 100ml con agua desionizada y de esta solución, se toman 2 mililitros para analizar por el método de Bartlett (1959).

4. Análisis de Fosfato (método descrito por Bartlett, 1958)

Se toma una alícuota de dos mililitros y se agregan 0.5 ml de H_2SO_4 10N en un tubo de ensayo, luego se agregan 2 gotas de H_2O_2 al 30% y se pone de nuevo en el horno 1 hora y media para que se descomponga el peróxido. Se agregan 4.6 ml de solución de molibdato al 0.22% , y 0.2 ml de reactivo Fiske-SubbaRow (0.5 g de 1-amino-2-naftol-4-ácido sulfónico a 200 ml de una solución 15% Bisulfito de sodio con 1g de sulfito de sodio anhidro).

Se agita y calienta por 7 minutos en baño térmico cubriendo el tubo. Se determina la absorbancia a 830nm con un espectrofotómetro.

Curva de Calibración:

Se prepara una solución con una concentración conocida de fosfato, y se ponen 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 ml de ella en diferentes tubos de ensayo, se lleva a un volumen de 4.1ml con agua, se agrega 0.5ml de ácido sulfúrico 10N y 0.2ml del reactivo Fiske-Subbarow. Se agitan los tubos, se calientan 7 minutos en baño maría y se mide la absorbancia a 830nm con un espectrofotómetro. Los gramos de fitato se calculan a partir de los gramos de fosfato que se obtienen por diferencia entre el extracto inicial y final a partir de las absorbancias en relación a la curva de calibración.

5. Determinación de Hierro Total (según AOAC 1984, No. 14.011, JAOAC. 27, 86,396(1944); 28,77(1945))

Para poder determinarlo, primero se hacen cenizas húmedas (AOAC 923.03):

Se toman 2 g de muestra y se ponen en un crisol que ha sido llevado a ignición, secado en un desecador y pesado al alcanzar la temperatura ambiente. Se introduce en el horno y se lleva a ignición a 550°C (rojo fuerte) hasta que se obtenga una ceniza blanca o grisácea.

Solución de cenizas:

Se agregan 5 ml de HCl 6 N, dejando que el ácido escurra por las paredes del crisol, y se evapora a sequedad calentando en una estufa.

Se disuelve el residuo agregando 4 ml de HCl 6 N, y se calienta 5 minutos en baño María con un vidrio de reloj sobre el crisol. Se lava el vidrio de reloj con agua desionizada, y se filtra a un balón de 25 ml donde se lleva a volumen.

Análisis de Hierro:

Se identifican tubos de 10 ml para los patrones (0, 0.5, 1.0, 3.0, 5.0, 7.0, y 10.0 ppm según el caso), para el harina control, y para las muestras.

Se agrega a cada tubo 1 ml de los patrones o 1 ml de la solución de cenizas a los tubos de muestras, se agrega 100 µl de cloruro de hidroxilamina al 10% y 750 µl de dipiridilo 0.025% en acetato de sodio a cada tubo, y se agita en vortex, dejándolo reposar por 20 minutos. Se leen los tubos en espectrofotómetro con lámpara visible ajustada a una longitud de onda de 521nm, ajustando el 0 con agua destilada. La cantidad de hierro se calcula a partir de la curva de calibración de hierro estándar según las absorbancias obtenidas, y se reporta como mg/100g de muestra.

6. Extracción de Hierro Ionizable: (Según método descrito por Narasinga Rao & Prabhavathi, 1978)

Se toman 2g de muestra y se incuban con 25ml de una solución de pepsina-HCl (0.5% de pepsina en HCl 0.1N). Se ajusta el pH a 1.35 con HCl y se incuba a 37°C en un baño térmico por 90 minutos, luego se centrifuga a 3000rpm por 45 minutos y se filtra el sobrenadante a través de papel filtro #44 usando vacío. Luego se ajusta el pH a 7.5 con NaOH y se centrifuga a 3000rpm y se filtra nuevamente el sobrenadante. Se toman 6 ml de este filtrado y se lleva a volumen en un balón aforado de 10 ml. Se toma 1 ml de esta solución para hacer el análisis de hierro.

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

El frijol negro (*Phaseolus vulgaris*) analizado presentó el contenido de fitato, hierro total, ionizable, y disponible *in vitro* (Narasinga y Prabhavathi, 1978) que se muestra en la tabla 5.1.

Tabla 5.1

**Contenido de fitato y de hierro total, ionizable, y disponible *in vitro*
en frijol negro (base seca)**

Muestra	Fitato* (g/100g)	FeTotal* (mg/100g)	Fe Ionizable* (mg/100g)	% Fe* Disponible
Frijol Crudo	1.127 ± 0.010	6.695 ± 0.275	0.034 ± 0.059	0.731 ± 0.431
Frijol Cocinado	1.130 ± 0.096	6.813 ± 0.156	0.154 ± 0.040	1.547 ± 0.258

* Media ± desviación estándar, n=3.

En la tabla 5.1 se observa que el contenido de fitato y hierro total fue similar en frijol crudo y cocinado, mientras que el contenido de hierro ionizable y disponible *in vitro* aumentó al cocinarse el frijol. Este aumento podría deberse a que las muestras de harina de frijol cocinado se solubilizaron con mayor facilidad y a que sus inhibidores de enzimas proteolíticas seguramente fueron inactivados durante la cocción. Todos los análisis subsiguientes de disponibilidad *in vitro* se realizaron con muestras de frijol cocinado.

El contenido de fitato encontrado en el frijol, se encuentra entre el rango esperado (0.74 a 2.10%) según Bressani (1993), y el contenido de hierro total concuerda con el expresado en la Tabla de composición de alimentos para uso en América Latina (Wu Leung, 1961).

El porcentaje de hierro disponible *in vitro* en frijol cocinado, resultó similar al hierro biodisponible del frijol negro medido en humanos, que reportó Lynch en 1984 (1.419%). Según la prueba t de student realizada (ver apéndice C, tabla C.1 y C.2 (pág.47)), no hay diferencia significativa entre los resultados obtenidos por el método *in vitro* (Narasinga Rao y Prabhavathi, 1978) y los obtenidos con métodos *in vivo* en humanos, lo que sugiere que la metodología utilizada es adecuada para estimar la biodisponibilidad de hierro del frijol en humanos.

En la tabla 5.1 se observa que el porcentaje de hierro disponible en el frijol, es bastante bajo (1.547%). Esto parece deberse principalmente a la presencia de inhibidores como el fitato, la fibra, y los taninos (Bressani, 1993).

Se incubó frijol negro entero a diferentes pH y temperaturas para intentar disminuir la cantidad de fitato por la acción de fitasas endógenas. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 5.2.

Tabla 5.2

Contenido de fitato en frijol negro después de incubado 17 horas a distintos pH y temperaturas (base seca)

Temperatura (°C)	pH	Fitato* (g/100g)
55°C	6	0.467 ± 0.012
50°C	7	0.530 ± 0.089
55°C	7	0.487 ± 0.023
60°C	7	0.587 ± 0.104
55°C	8	0.557 ± 0.049

* Media ± desviación estándar, n=3.

Se encontró que al incubar el frijol 17 horas, a una temperatura de 55°C y pH de 7, el contenido de fitato inicial disminuyó aproximadamente a la mitad. Utilizando estas mismas condiciones para incubar harina de frijol Gustafsson y Sandverg (1995) lograron disminuir el contenido de fitato en un 98%. Es probable que estos autores hayan logrado disminuir más el contenido de fitato ya que en la harina la fitasa y el fitato, están más expuestos para interactuar. Es también interesante notar que estos autores obtuvieron distinta disminución de fitato al incubar harina de frijol a distintos pH y temperatura, mientras que al incubar frijol entero no se obtuvo mayor efecto al cambiar pH o temperatura en los rangos estudiados (pH 6,7, y 8; temperatura 50,55 y 60°C). Probablemente el pH interno del grano, no cambia significativamente al cambiar el pH del medio entre 6 y 8. Entre incubaciones a pH 6 y pH 8 se encontró diferencia significativa en el contenido de fitato (ver apéndice C, tabla C.3 (pág.48)),

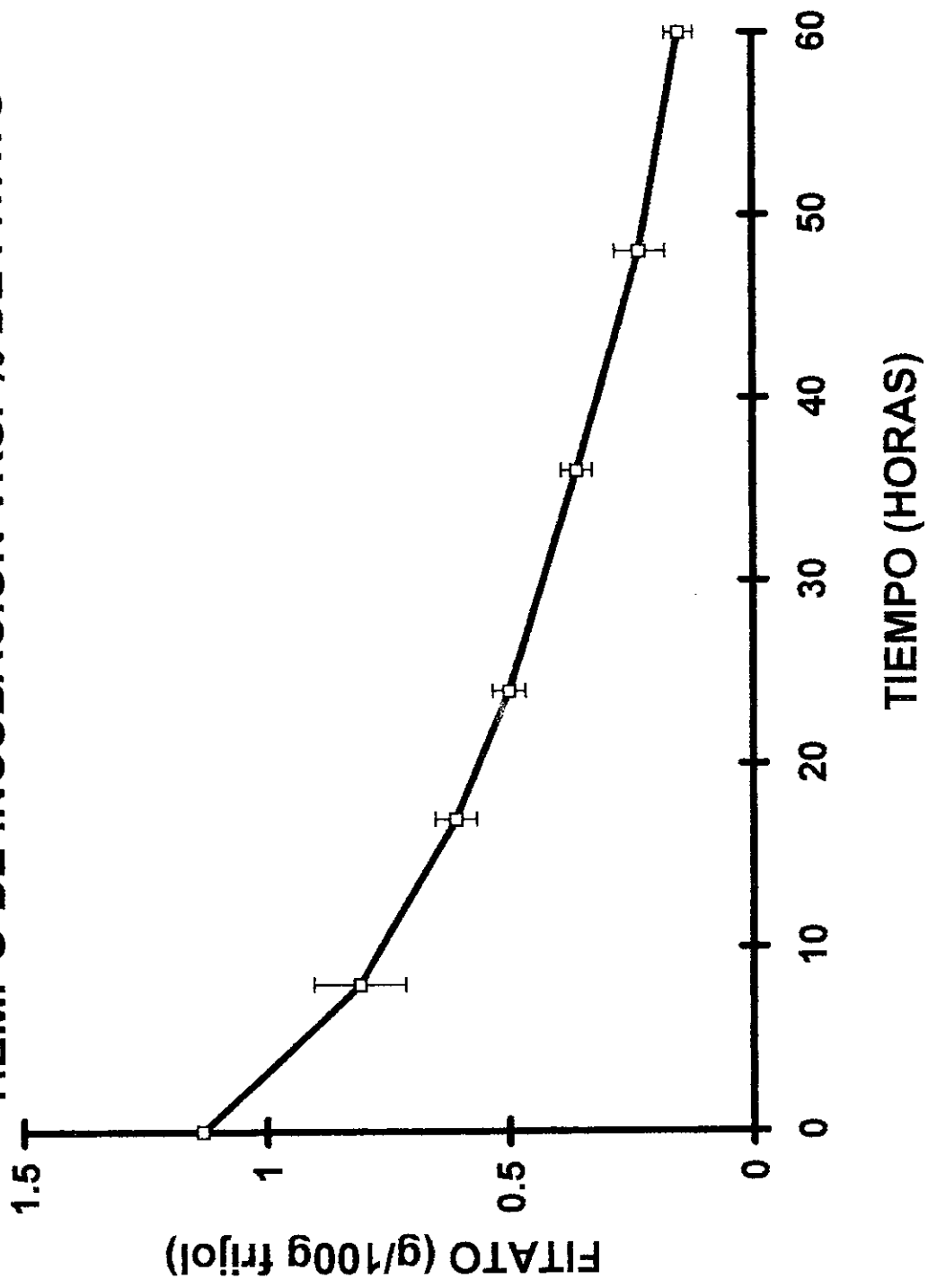
pero al analizar entre el contenido de fitato a pH=6 y 7, el análisis de varianza (ver apéndice C, tabla C.4 (pág.48)) mostró que entre estos valores no existe diferencia significativa.

Entre temperaturas 50, 55 y 60° C el análisis de varianza (ver apéndice C, tabla C.7(pág.50)) mostró que no hay diferencia significativa en el contenido de fitato.

En los experimentos siguientes, se utilizaron las condiciones de pH y temperatura de incubación sugeridas por Gustaffson y Sandverg en 1995 (pH=7, T=55° C) en harina, para determinar si al incubar granos de frijol entero, se disminuye el contenido de fitato .

Se incubó frijol negro por distintos tiempos a pH=7 y T=55°C, para lograr obtener diferentes concentraciones de fitato, y así medir su efecto sobre disponibilidad *in vitro* del hierro. Los resultados se muestran en la gráfica 5.1, donde se observa que la disminución del contenido de fitato fue más rápida durante las primeras horas de incubación, llegándose a alcanzar una disminución de alrededor de 53.7% a las 24 horas de incubación, y una disminución máxima de 86.11% a las 60 horas de incubación. El comportamiento de esta disminución, es similar al obtenido por Gustaffson y Sandverg (1995), con la disminución del contenido de fitato en el frijol más rápida durante las primeras horas de incubación.

Gráfica 5.1
TIEMPO DE INCUBACION VRS. % DE FITATO



En la tabla 5.3 se muestra que al realizar estas incubaciones del grano de frijol, también se logra disminuir su tiempo de cocción. La incubación del frijol a 55°C por 8 horas, disminuye el tiempo de cocción un 26% e incubando 17 horas se disminuye un 37%. La disminución del tiempo de cocción representa un ahorro energético para la cocción.

Tabla 5.3
Tiempo de Incubación vrs. Tiempo de Cocción

Tiempo de Incubación (horas)	Tiempo de Cocción (minutos)
0	95
8	70
17	60
24	55
36	45
48	45
60	43

Como las determinaciones de fitato se realizaron después de haber molido y secado la muestra por 8 horas a 52°C, se hizo un experimento control para determinar si el secado contribuyó también a la disminución de fitato. Para ello se midió el contenido de fitato en una muestra de frijol que se molió directamente, en otra que se incubó 1 hora a temperatura ambiente (25°C), se secó 8 horas (52°C) y se molió, y en otra que luego de ser incubada 1 hora a temperatura ambiente (25°C) se sumergió en agua hirviendo por 10 minutos para inactivar las fitasas, y se secó y molió de igual forma. Estos resultados se muestran en la tabla 5.4.

Tabla 5.4

Efecto del blanqueo y secado del frijol negro sobre el contenido de fitato (base seca)

Muestra	Fitato* (g/100g)
- Control sin incubar y sin secar.	1.103 \pm 0.100
- Incubada 1 hr. a 25°C y secada 8 hr. a 52°C.	1.017 \pm 0.065
- Incubada 1 hr. a 25°C, sumergida en agua hirviendo, y secada 8 hr. a 52°C.	1.100 \pm 0.181

* Media \pm desviación estándar, n=3.

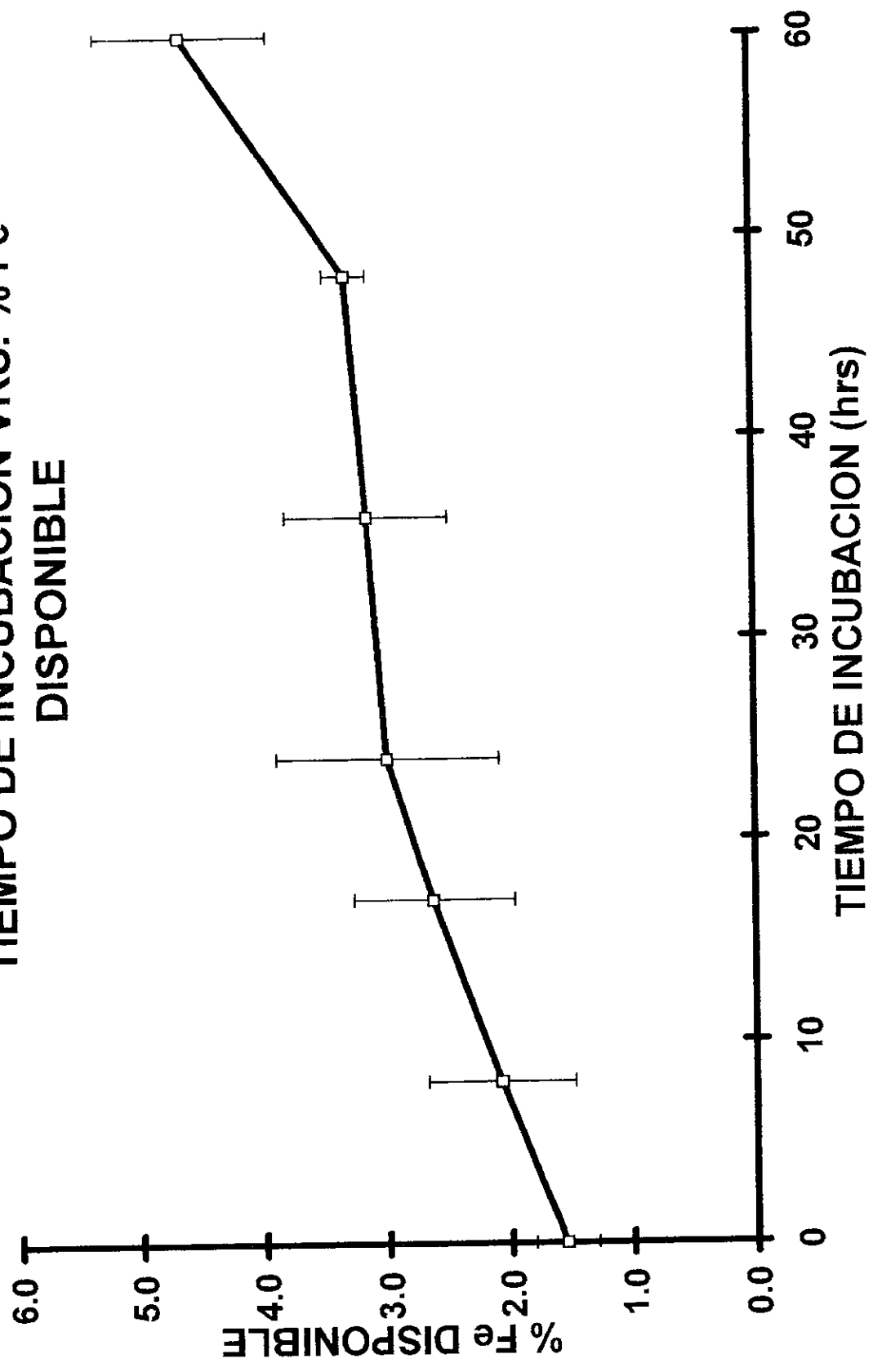
El análisis de varianza (ver apéndice C, tabla C.8 (pág.50)) muestra que el secado del frijol no afecta el contenido de fitato, por lo tanto el fitato está disminuyendo únicamente durante las incubaciones.

En las mismas muestras en que se determinó el contenido de fitato a diferentes tiempos de incubación, se determinó la disponibilidad *in vitro* de hierro. Estos resultados se muestran en la gráfica 5.2, donde se observa que el hierro disponible aumenta significativamente conforme aumenta el tiempo de incubación. Después de 24 horas de incubación, se logró aumentar el hierro disponible de 1.549% a 2.995%, y a las 60 horas se obtuvo un 4.664%, lográndose aumentar el contenido de hierro biodisponible 3.2 veces.

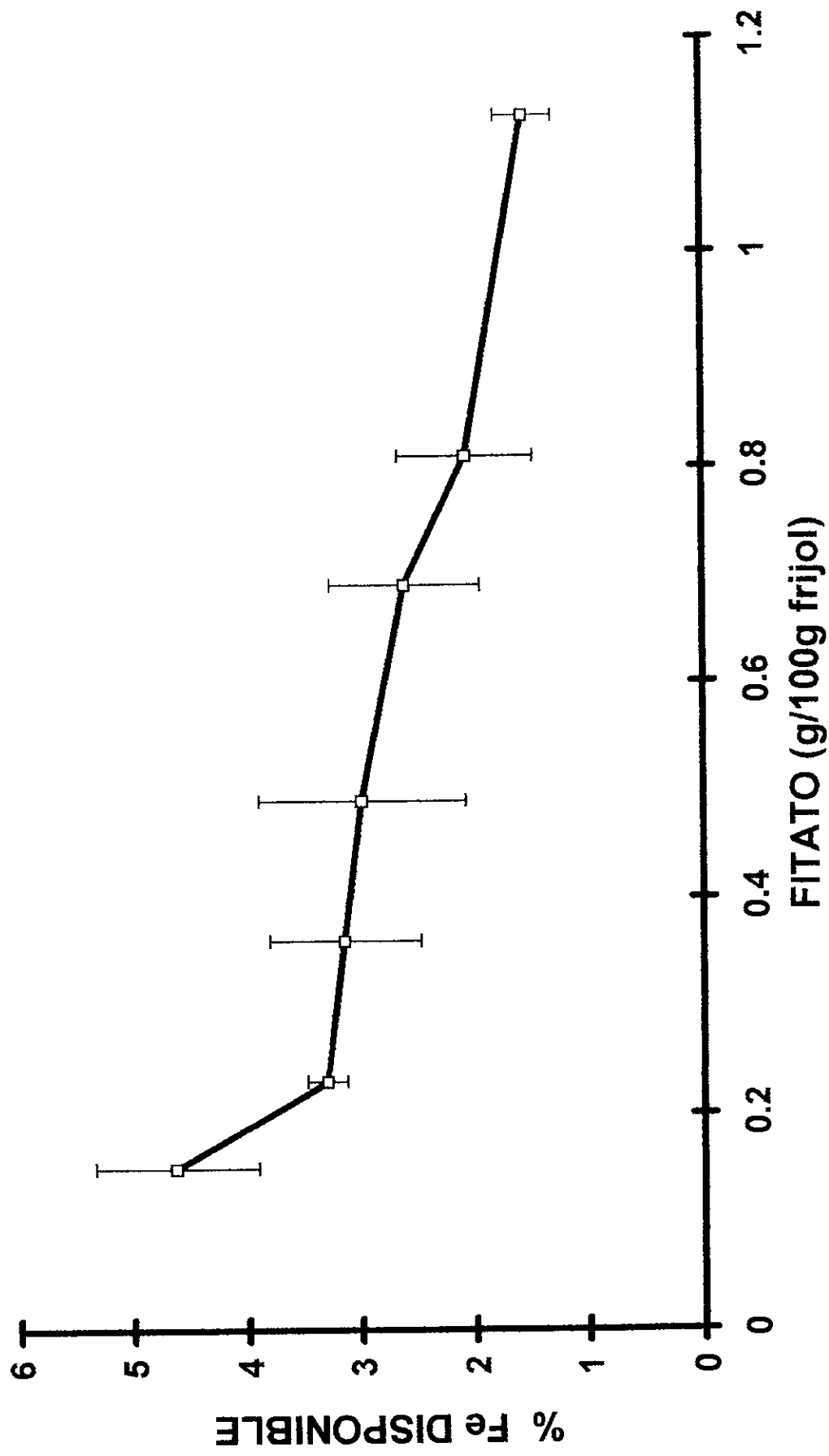
En la gráfica 5.3 se muestra la relación inversa que hay entre la disminución del porcentaje de fitato y el aumento de la disponibilidad del hierro. La distribución de Pearson (ver apéndice C, tabla C.9 (pág.51)) dio una correlación inversa estadísticamente significativa, que sugiere que el hierro disponible aumenta debido a la disminución del contenido de fitato.

Aparentemente la disponibilidad de hierro aumenta en mayor grado cuando el contenido de fitato es considerablemente bajo (menor que 0.2g/100g). Esto concuerda con que la absorción de hierro en humanos mejora significativamente cuando se logra disminuir el fitato a niveles bastante bajos, Larsson *et al.* (1996), donde se obtuvo un aumento de 4.4% a 6.0% en la disponibilidad del hierro al reducir el contenido de fitato de 437 μ mol a 107 μ mol.

Gráfica 5.2
TIEMPO DE INCUBACION VRS. % Fe
DISPONIBLE



Gráfica 5.3
CONTENIDO DE FITATO VRS. % Fe DISPONIBLE

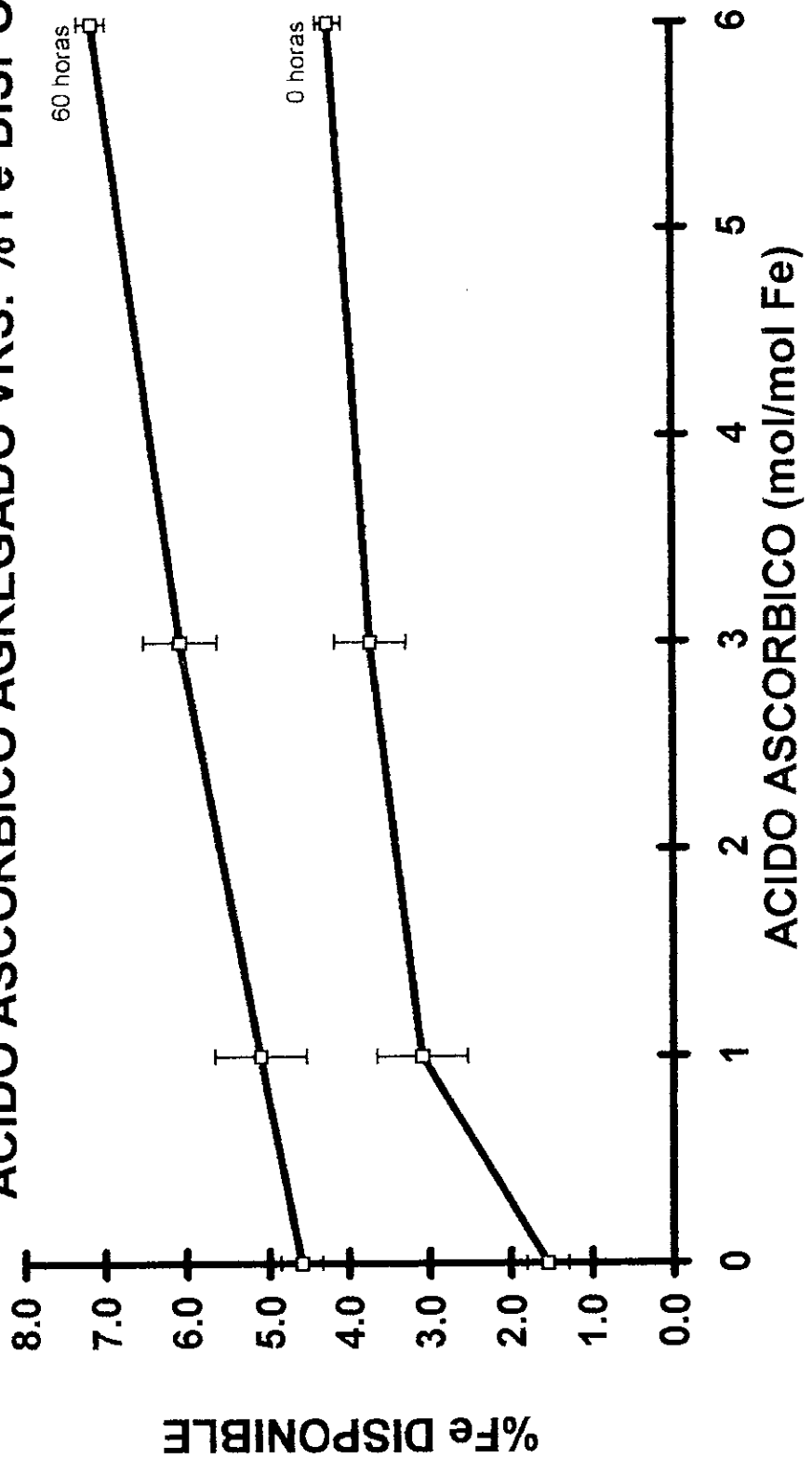


Para evaluar el efecto de agregar vitamina C sobre la disponibilidad del hierro, se tomaron las harinas de la muestra cocinada control y la muestra que fue incubada 60 horas y después cocinada, y a ambas se les agregó vitamina C en diferentes cantidades (1,3 y 6 mol vitamina C / 1mol Fe) y se midió la disponibilidad de hierro. Estos resultados se muestran en la gráfica 5.4.

Al agregar 6 mol vit C/mol Fe a la muestra control, se dio un aumento en la disponibilidad del hierro de 1.547% a 4.227% , y en la muestra incubada 60 horas y cocinada de 4.630% a 7.149% . Los resultados sugieren que disminuir el contenido de fitato y agregar vitamina C tiene un efecto aditivo en aumentar la disponibilidad del hierro del frijol.

Los resultados de sólo agregar vitamina C, dieron un aumento de 2.73 veces en la disponibilidad de hierro y son similares a los obtenidos en humanos por Hallberg (1984), que al agregar vitamina C al frijol negro antes de comerse con tortilla y arroz, logró un aumento de 2.4 veces en la disponibilidad de hierro. Lo anterior sugiere nuevamente que el método de disponibilidad *in vitro* utilizado, proporciona resultados muy similares a los métodos *in vivo*.

Gráfica 5.4
ACIDO ASCORBICO AGREGADO VRS. % Fe DISPONIBLE



Con el objeto de determinar si agregar chaya (*Cindoscolus aconitifolius*), una verdura mesoamericana subutilizada con un alto contenido de vitamina C (350mg/100g de hoja fresca, según Molina *et al.* (1997)) podría afectar la disponibilidad de hierro del frijol además de contribuir con vitamina C, se determinó su contenido de fitato y de hierro ionizable, total y disponible. Estos resultados se muestran en la tabla 5.5.

Tabla 5.5

Contenido de fitato, hierro total, ionizable y disponible en hoja de chaya (selección Cerinal, sembrada en campos experimentales a 1524msnm) cocinada (base seca)

Fitato*	Fe Ionizable*	Fe Total*	%Fe Disponible*
(g/100g)	(mg/100g)	(mg/100g)	
0.901 ± 0.038	0.698 ± 0.047	8.310 ± 0.203	4.408 ± 0.152

* Media ± desviación estándar, n=3.

La hoja de chaya presentó un contenido de fitato similar al del frijol. El hierro disponible de la chaya parece ser más alto comparado con el de la espinaca (2.6%) y el amaranto (2.8%), según Narasinga y Prabhavathi (1978), con lo que la chaya además de contribuir con vitamina C podría proporcionar hierro a la dieta.

La disponibilidad de hierro de la chaya, fue mayor que la del frijol, por lo tanto se esperaría que el fitato y otros inhibidores de la absorción de hierro de la chaya, no afecten negativamente la disponibilidad de hierro al agregar chaya al frijol. Similarmente, Hallberg (1984) utilizó la coliflor como fuente natural de vitamina C, y con ello logró un aumento de 3.2 veces la disponibilidad del hierro al agregarla a frijol negro.

Con el objeto de determinar si el procesamiento industrial del frijol tiene algún efecto sobre la disponibilidad del hierro, se realizaron mediciones del contenido de fitato, hierro total y disponible en latas de frijol negro de 3 marcas comerciales (Malher, Ducal y Lozano). Estos resultados se muestran en la tabla 5.6.

Tabla 5.6

Contenido de fitato, hierro ionizable, total y disponible en frijol procesado (base seca)

Marca	Fitato* (g/100g)	Fe Ionizable* (mg/100g)	Fe Total* (mg/100g)	% Fe Disponible*
Malher	0.974 ± 0.074	2.092 ± 0.149	9.922 ± 0.857	10.475 ± 1.570
Ducal	1.062 ± 0.142	1.923 ± 0.211	8.992 ± 2.603	10.949 ± 2.132
Lozano	1.101 ± 0.052	4.974 ± 0.207	22.753 ± 5.832	11.257 ± 2.886

* Media ± desviación estándar, n=3.

Sorprendentemente se encontró un contenido bastante alto de hierro disponible, comparado con el obtenido en el resto de experimentos, al disminuir el contenido de fitato y agregar vitamina C, y también se obtuvo un nivel más alto de hierro total, lo que puede deberse a alguna contaminación con hierro metálico durante el procesamiento. Aparentemente el procesamiento industrial no disminuye significativamente el contenido de fitato en frijol negro procesado y enlatado industrialmente. Esto sugiere que la alta disponibilidad del hierro podría deberse a algún cambio en alguno de los otros inhibidores principales: la fibra o los taninos.

Se agregó vitamina C a una de las muestras de frijol procesado y enlatado industrialmente para evaluar su efecto en la disponibilidad de hierro, los resultados se muestran en la tabla 5.7

Tabla 5.7

Efecto de agregar vitamina C sobre la disponibilidad de hierro en frijol procesado y enlatado industrialmente(base seca)

Vit C/Fe (mol/mol)	% Fe Disponible* (media) ± d.s
0/1	9.883 ± 0.534
1/1	12.745 ± 1.044
3/1	10.687 ± 1.160
6/1	12.848 ± 1.173

* Media ± desviación estándar, n=3

En el análisis de varianza (ver apéndice C, tabla C.10 (pág.51)) se muestra que no hay diferencia significativa al agregar 1,3. y 6 mol vitamina C/mol Fe sobre la disponibilidad del hierro. Aparentemente el hierro de frijol procesado presenta un estado cuya disponibilidad no es afectada por la vitamina C.

Debido a que las muestras de frijol procesado y enlatado industrialmente tienen 10.2% de grasa (ver apéndice, tabla G.1) en su composición, se desgrasó una muestra y se midió su contenido de hierro ionizable, total y disponible para determinar si el contenido de grasa afectó las determinaciones. Estos resultados se muestran en la tabla 5.8.

Tabla 5.8

Efecto de extraer la grasa en una muestra de frijol procesada y enlatada industrialmente sobre la disponibilidad de hierro (base seca)

Muestra No.	Fe Ionizable * (mg/100g)	Fe Total * (mg/100g)	% Fe Disponible*
Ducal	2.231 ± 0.212	11.302 ±	9.765 ± 0.681
E2077		0.266	

* Media ± d.s, n=2

Al comparar el porcentaje de hierro disponible medio de la muestra sin desgrasar (tabla 5.6) con el porcentaje de hierro disponible medio de la misma muestra desgrasada, se encuentra que el contenido de grasa de la muestra no afecta la disponibilidad de hierro.

VI. CONCLUSIONES

- A. La incubación del grano de frijol bajo las condiciones adecuadas de temperatura y pH, previa al cocinado, puede disminuir significativamente el contenido de fitato y el tiempo de cocción del grano.
- B. La disminución del contenido de fitato aumentó significativamente la disponibilidad *in vitro* de hierro.
- C. Los resultados obtenidos con el método de disponibilidad *in vitro* de hierro utilizado, son muy similares a los obtenidos con métodos *in vivo* en humanos, por lo que este método *in vitro* parece adecuado para predecir biodisponibilidad de hierro del frijol en humanos.
- D. La adición de vitamina C al frijol, aumentó significativamente el hierro disponible.
- E. La disminución del contenido de fitato y la adición de vitamina C al frijol negro, presentaron un efecto aditivo sobre la disponibilidad del hierro.
- F. Aparentemente el frijol procesado y enlatado industrialmente, presentó un porcentaje de hierro disponible mayor al obtenido en frijol cocinado en agua hirviendo con la metodología utilizada.

VII. BIBLIOGRAFIA

Allen, L.; Namanjeet, A. 1997. Improving Iron Status through Diet. OMNI.83 pp.

Amaya, H.; E. Acebedo, y R. Bressani.1991. Efecto del Recalentamiento sobre la Disponibilidad de hierro Y el Valor Nutritivo de la Proteína del Frijol Negro (Phaseolus vulgaris) Cocido. ALAN 41(2):22-237.

Badui, S. 1994. Química de los Alimentos. Alhambra Mexicana, 3era edición. México.648pp.

Bartlett, G. 1959. Phosphorus Assay in Column Chromatography. J.Biol.Chem. 234:466-468.

Bressani, R. 1993. Grain Quality of Common Beans. Food Reviews International, 92(2).237-297.

Chang, R. 1977. Phytate Removal From Whole Dry Beans By Enzymatic Hydrolysis And Diffusion. J.Food Sci. 42:1098-1101.

Davidson, L., P.Galan, P. Kastenmayer, F. Cherouvrier, M. Juillerat, S. Hercberg, y R. Hurrell. 1994. Iron Bioavailability Studied in Infants: The Influence of Phytic Acid and Ascorbic Acid in Infant Formulas Based on Soy Isolate. Pediatr. Res. 36:816-822.

Forbes, A., C. Adams, M. Arnaud, C. Chichester, J. Cook, B. Harrison, R. Hurrell, S. Kahn, E. Morris, J. Tanner y P. Whittaker. 1989. Comparison of In Vitro, Animal, and Clinical Determinations of Iron Bioavailability; International Nutritional Anemia Consultative Group Task Force Report on Iron Bioavailability. Am.J.Clin.Nutr. 49:225-238

Gustafsson, E., A. Sandberg. 1995. Phytate Reduction in Brown Beans (Phaseolus vulgaris L.) J.Food Sci. 60:149-156.

Hallberg, L., M. Brune, y L. Rossander. 1989. Iron Absorption in Man: Ascorbic Acid and Dose - dependent Inhibition by Phytate. Am.J.Clin.Nutr. 49:140-144.

Hurrell, R., S. Lynch, T. Trinidad, S. Dassenko y J. Cook. 1988. Iron Absorption in Humans: bovine serum albumin compared with beef muscle and egg white. Am J Clin Nutr, 47:102-7.

Lombardi-Boccia, G., N. De Santis, y E. Carnovale. 1995. Impact Of Processing on Fe dialysability from bean (Phaseolus vulgaris L.) Food Chem. 53:191-195.

Lynch, S., J. Beard, S. Dassenko, y J. Cook. 1984. Iron Absorption from Legumes in Humans. Am.J.Clin.Nutr. 40:42-47.

Miller, D., B. Schrieker, R. Rasmussen, y D. Van Campen. 1981. An In Vitro Method for Estimation of Iron Availability from Meals. Am.J.Clin.Nutr. 34:2248-2256.

Narasinga, B., B. Hon, y T Prabhavathi. 1978. An In Vitro Method for Predicting the Bioavailability of Iron from Foods. Am.J.Clin.Nutr. 31:169-175.

Sandberg, A., N. Carlsson, y U. Svanberg. 1989. Effects of Inositol Tri-, Tetra-, Penta-, and Hexaphosphates on In Vitro Estimation of Iron Availability. J.Food Sci. 54: 159-161.

Sandberg, A. y U. Svanberg. 1991. Phytate Hydrolysis by Phytase in Cereals; Effects on In Vitro Estimation of Iron Availability. J.Food Sci. 56:1330-1333.

Sandberg,A., N. Carlsson, y U. Svanberg.1989. Effects of Inositol tri-, Tetra-, Penta-, and Hexaphosphates on In Vitro Estimation of Iron Availability. J. Food Sci. 54:154-161.

Skikne,B. 1988. Current Concepts In Iron Deficiency Anemia. Food Reviews International 4(2):137-173.

Thompson, D.,J. Erdman.1982. Phytic Acid Determination in Soybeans. J.Food Sci. 47:513-517.

APENDICE A

Tablas de resultados (base seca)

Tabla A 5.1

Contenido de fitato en frijol negro

Muestra	Peso	Abs a	Abs d	g PO ₄	g fitato	Fitato (g/100g)	Fitato (media) ± d.s (g/100g)
Frijol crudo	1.835	0.273	0.739	0.018	0.020	1.116	1.127 ± 0.010
	1.850	0.277	0.732	0.018	0.021	1.130	
	1.814	0.274	0.731	0.018	0.021	1.136	
Frijol cocinado	1.976	0.279	0.589	0.021	0.024	1.230	1.130 ± 0.096
	1.989	0.260	0.603	0.020	0.022	1.124	
	1.959	0.245	0.716	0.018	0.020	1.037	

Tabla A 5.2

Contenido de hierro total en frijol negro

Muestra	Peso (g)	Abs 1	Abs 2	Fe Total (mg1/100g)	Fe Total (mg2/100g)	Fe Total(media) ± d.s (mg/100g)	Fe Total(media) ± d.s (mg/100g)	
Frijol Crudo	1.813	0.430	0.430	6.889	6.889	6.889 ± 0.000	6.695 ± 0.275	
	1.815	0.401	0.413	6.400	6.600			6.500 ± 0.141
Frijol Cocinado	1.956	0.456	0.458	6.789	6.820	6.804 ± 0.022	6.813 ± 0.156	
	1.954	0.467	0.468	6.965	6.981			6.973 ± 0.011
	1.950	0.448	0.445	6.686	6.639			6.662 ± 0.033

Tabla A 5.3

Contenido de hierro ionizable en frijol negro

Muestra	Peso (g)	Abs 1	Abs 2	Blanco	Fe ionizable (mg1/100g)	Fe ionizable (mg2/100g)	Fe ioniz.(media) \pm d.s (mg/100g)	Fe ioniz.(media) \pm d.s (mg/100g)
Frijol Crudo	1.8138	0.1370	0.1310	0.1250	0.000	0.000	0.000 ± 0.000	0.034 ± 0.059
	1.8105	0.0640	0.0740	0.0500	0.000	0.205	0.103 ± 0.000	
	1.8134	0.0770	0.0770	0.0620	0.000	0.000	0.000 ± 0.000	
Frijol Cocinado	1.953	0.186	0.185	0.068	0.168	0.146	0.157 ± 0.016	0.154 ± 0.040
	1.954	0.117	0.120	0.115	0.179	0.246	0.212 ± 0.047	
	1.950	0.161	0.160	0.068	0.168	0.146	0.157 ± 0.016	
	1.950	0.291	0.294	0.110	0.101	0.141	0.121 ± 0.028	
	1.951	0.137	0.140	0.100	0.146	0.213	0.179 ± 0.047	
	1.950	0.197	0.199	0.058	0.079	0.123	0.101 ± 0.032	

Tabla A 5.4

Porcentaje de hierro disponible en frijol negro

Muestra	Fe Ionizable (media) \pm d.s (mg/100g)	Fe Total (media) \pm d.s (mg/100g)	% Fe Ionizable	% Fe Disponible	%Fe disponible (media) \pm d.s
Frijol Crudo	0.000 ± 0.000	6.889 ± 0.000	0.000	0.483	0.731 ± 0.431
	0.103 ± 0.000	6.500 ± 0.141	1.585	1.229	
	0.000 ± 0.000	4.992 ± 0.012	0.000	0.483	
Frijol Cocinado	0.157 ± 0.016	6.804 ± 0.022	2.307	1.569	1.547 ± 0.258
	0.212 ± 0.047	6.973 ± 0.011	3.040	1.914	
	0.157 ± 0.016	6.662 ± 0.033	2.357	1.592	
	0.121 ± 0.028	6.804 ± 0.022	1.778	1.320	
	0.179 ± 0.047	6.973 ± 0.011	2.567	1.691	
	0.101 ± 0.032	6.662 ± 0.033	1.516	1.196	

Tabla A 5.5

Contenido de fitato en frijol negro después de incubado 17 horas a distinto pH y temperatura (base seca)

Temperatura (°C)	pH	Peso (g)	Abs. a	Abs. d	Fitato (g/100g)	Fitato(media) ± d.s (g/100g)
50°C	7	1.921	0.215	0.878	0.630	0.530 ± 0.089
		1.919	0.187	0.801	0.500	
		1.775	0.173	0.795	0.460	
55°C	7	1.942	0.179	0.968	0.500	0.487 ± 0.023
		1.977	0.188	1.089	0.500	
		1.998	0.179	1.061	0.460	
60°C	7	1.875	0.662	0.140	0.470	0.587 ± 0.104
		1.879	0.650	0.175	0.670	
		1.889	0.629	0.125	0.620	
55°C	6	1.933	0.180	1.185	0.460	0.467 ± 0.012
		1.920	0.184	1.159	0.480	
		1.939	0.181	1.135	0.460	
55°C	8	1.890	0.181	0.777	0.580	0.557 ± 0.049
		1.907	0.165	0.721	0.500	
		1.966	0.187	0.781	0.590	

Tabla A 5.6

Contenido de fitato en frijol negro al evaluar el efecto del secado

Muestra	Peso (g)	Abs. a	Abs. d	Fitato (g/100g)	Fitato(media) ± d.s (g/100g)
Control	1.884	0.279	0.589	1.200	1.103 ± 0.100
	1.846	0.260	0.603	1.110	
	1.819	0.245	0.716	1.000	
- Incubado 1 hora (25°C)	1.931	0.280	0.710	1.020	1.017 ± 0.065
- Secado 8 horas (52°C)	1.933	0.264	0.684	0.950	
	1.976	0.296	0.696	1.080	
- Incubado 1 hora (25°C)	1.921	0.322	0.597	1.270	1.100 ± 0.181
- Sumergido en agua hirviendo 10 min	1.918	0.252	0.600	0.910	
- Secado 8 horas (52°)	1.892	0.288	0.582	1.120	

Tabla A 5.7

Contenido de fitato en frijol negro incubado diferentes tiempos en una solución buffer pH =7 a una temperatura de 55°C

Tiempo (horas)	Peso (g)	Abs a	Abs d	g PO4	g fitato	Fitato (g/100g)	Fitato(media) \pm d.s (g/100g)
0	1.835	0.273	0.739	0.018	0.020	1.116	1.127 \pm 0.010
	1.850	0.277	0.732		0.021	1.130	
	1.814	0.274	0.731	0.018	0.021	1.136	
8	1.953	0.199	1.155	0.012	0.014	0.702	0.806 \pm 0.096
	1.937	0.217	1.049	0.014	0.016	0.824	
	1.935	0.230	1.045	0.015	0.017	0.891	
17	1.857	0.176	1.102	0.010	0.012	0.625	0.614 \pm 0.043
	1.855	0.183	1.151	0.011	0.012	0.650	
	1.875	0.167	1.124	0.009	0.011	0.566	
24	1.877	0.192	1.763	0.009	0.010	0.529	0.499 \pm 0.034
	1.917	0.176	1.661	0.008	0.009	0.462	
	1.917	0.188	1.736	0.009	0.010	0.504	
36	1.907	0.159	1.678	0.006	0.007	0.372	0.359 \pm 0.031
	1.909	0.148	1.642	0.005	0.006	0.324	
	1.902	0.154	1.547	0.006	0.007	0.381	
48	1.854	0.137	1.614	0.005	0.005	0.283	0.229 \pm 0.051
	1.874	0.117	1.585	0.003	0.003	0.182	
	1.851	0.128	1.667	0.004	0.004	0.221	
60	1.924	0.104	1.562	0.002	0.002	0.117	0.146 \pm 0.028
	1.914	0.107	1.405	0.003	0.003	0.173	
	1.923	0.111	1.587	0.002	0.003	0.146	

Tabla A 5.8

Contenido de hierro total en frijol negro incubado diferentes tiempos en una solución buffer pH =7 a una temperatura de 55°C

Tiempo (horas)	Peso (g)	Abs 1	Abs 2	Fe Total (mg1/100g)	Fe Total (mg2/100g)	Fe Total (media) ± d.s (mg/100g)	Fe Total (media) ± d.s (mg/100g)
0	1.956	0.456	0.458	6.789	6.820	6.804 ± 0.022	6.813 ± 0.156
	1.954	0.467	0.468	6.965	6.981	6.973 ± 0.011	
	1.950	0.448	0.445	6.686	6.639	6.662 ± 0.033	
8	1.939	0.426	0.426	6.364	6.364	6.379 ± 0.000	6.808 ± 0.444
	1.930	0.488	0.473	7.343	7.109	7.265 ± 0.166	
	1.958	0.455	0.457	6.817	6.848	6.780 ± 0.022	
17	1.945	0.460	0.463	6.886	6.933	6.911 ± 0.033	6.927 ± 0.054
	1.941	0.465	0.466	6.982	6.998	6.988 ± 0.011	
	1.934	0.456	0.458	6.869	6.901	6.882 ± 0.022	
24	1.938	0.444	0.443	6.666	6.651	6.656 ± 0.011	6.905 ± 0.445
	1.934	0.440	0.443	6.615	6.662	6.640 ± 0.033	
	1.935	0.490	0.493	7.393	7.440	7.419 ± 0.033	
36	1.956	0.468	0.476	6.974	7.098	7.036 ± 0.088	6.907 ± 0.134
	1.902	0.452	0.452	6.916	6.916	6.916 ± 0.000	
	1.814	0.423	0.423	6.769	6.769	6.769 ± 0.000	
48	1.900	0.443	0.442	6.667	6.661	6.773 ± 0.011	6.933 ± 0.227
	1.947	0.472	0.475	7.121	7.168	7.093 ± 0.033	
60	1.881	0.470	0.471	7.284	7.300	7.292 ± 0.011	7.077 ± 0.190
	1.899	0.457	0.457	7.008	7.008	7.008 ± 0.000	
	1.927	0.459	0.458	6.939	6.923	6.931 ± 0.011	

Tabla A 5.9

Contenido de hierro ionizable en frijol negro incubado diferentes tiempos en una solución buffer pH=7, a una temperatura de 55°C

Tiempo (horas)	Peso (g)	Abs 1	Abs 2	Blanco	Fe ionizable (mg/100g)	Fe ionizable (mg2/100g)	Fe ioniz.(media) ± d.s. (mg/100g)	Fe ioniz.(media) ± d.s (mg/100g Fe)
0	1.953	0.186	0.185	0.163	0.168	0.146	0.157 ± 0.016	0.154 ± 0.040
	1.954	0.117	0.120	0.094	0.179	0.246	0.212 ± 0.047	
	1.950	0.161	0.160	0.138	0.168	0.146	0.157 ± 0.016	
	1.950	0.291	0.294	0.268	0.101	0.141	0.121 ± 0.028	
	1.951	0.137	0.140	0.115	0.146	0.213	0.179 ± 0.047	
	1.950	0.197	0.199	0.178	0.079	0.123	0.101 ± 0.032	
8	1.941	0.116	0.114	0.094	0.158	0.113	0.135 ± 0.032	0.232 ± 0.095
	1.931	0.144	0.142	0.114	0.339	0.294	0.316 ± 0.032	
	1.962	0.102	0.102	0.082	0.100	0.100	0.100 ± 0.000	
	1.943	0.113	0.111	0.087	0.247	0.202	0.225 ± 0.032	
	1.930	0.217	0.218	0.189	0.294	0.316	0.305 ± 0.016	
	1.958	0.233	0.226	0.200	0.389	0.234	0.312 ± 0.110	
17	1.941	0.295	0.298	0.272	0.169	0.236	0.202 ± 0.048	0.314 ± 0.097
	1.943	0.185	0.187	0.158	0.269	0.314	0.292 ± 0.032	
	1.944	0.273	0.272	0.238	0.448	0.426	0.437 ± 0.016	
	1.945	0.236	0.237	0.207	0.314	0.336	0.325 ± 0.016	
24	1.935	0.221	0.222	0.188	0.394	0.417	0.405 ± 0.016	0.369 ± 0.117
	1.936	0.171	0.172	0.134	0.484	0.506	0.495 ± 0.016	
	1.935	0.143	0.145	0.119	0.192	0.237	0.214 ± 0.032	
	1.933	0.289	0.287	0.257	0.383	0.338	0.361 ± 0.000	
36	1.808	0.184	0.180	0.148	0.506	0.410	0.458 ± 0.068	0.388 ± 0.091
	1.959	0.167	0.167	0.134	0.389	0.389	0.389 ± 0.000	
	1.904	0.142	0.141	0.114	0.298	0.275	0.286 ± 0.016	
	1.812	0.192	0.191	0.158	0.457	0.433	0.445 ± 0.017	
	1.958	0.142	0.143	0.115	0.256	0.278	0.267 ± 0.016	
	1.809	0.238	0.240	0.204	0.458	0.506	0.482 ± 0.034	
48	1.903	0.249	0.249	0.217	0.389	0.389	0.389 ± 0.000	0.417 ± 0.029
	1.942	0.220	0.219	0.186	0.426	0.404	0.415 ± 0.016	
	1.948	0.295	0.293	0.259	0.470	0.425	0.447 ± 0.032	
60	1.881	0.445	0.442	0.394	0.822	0.752	0.787 ± 0.049	0.629 ± 0.115
	1.885	0.246	0.243	0.205	0.589	0.520	0.555 ± 0.049	
	1.899	0.420	0.425	0.379	0.585	0.700	0.642 ± 0.081	
	1.924	0.416	0.420	0.379	0.487	0.577	0.532 ± 0.064	

Tabla A 5.10

Porcentaje de hierro disponible en frijol negro incubado diferentes tiempos en una solución buffer pH=7 a una temperatura de 55 °C y cocinado

Tiempo (horas)	Fe Ionizable (media) \pm d.s (mg/100g)	Fe Total (media) \pm d.s (mg/100g)	% Fe Ionizable	% Fe Disponible	% Fe Disponible (media) \pm d.s
0	0.157 \pm 0.016	6.804 \pm 0.022	2.307	1.569	1.547 \pm 0.258
	0.212 \pm 0.047	6.973 \pm 0.011	3.040	1.914	
	0.157 \pm 0.016	6.662 \pm 0.033	2.357	1.592	
	0.121 \pm 0.028	6.804 \pm 0.022	1.778	1.320	
	0.179 \pm 0.047	6.973 \pm 0.011	2.567	1.691	
8	0.101 \pm 0.032	6.662 \pm 0.033	1.516	1.196	2.070 \pm 0.597
	0.135 \pm 0.032	6.379 \pm 0.000	2.116	1.479	
	0.316 \pm 0.032	7.265 \pm 0.166	4.350	2.530	
	0.101 \pm 0.000	6.780 \pm 0.022	1.490	1.184	
	0.224 \pm 0.032	6.379 \pm 0.000	3.512	2.136	
17	0.303 \pm 0.016	7.265 \pm 0.166	4.171	2.446	2.610 \pm 0.662
	0.312 \pm 0.110	6.780 \pm 0.022	4.602	2.649	
	0.202 \pm 0.048	6.911 \pm 0.033	2.923	1.858	
	0.292 \pm 0.032	6.988 \pm 0.011	4.179	2.450	
24	0.437 \pm 0.016	6.911 \pm 0.011	6.323	3.459	2.988 \pm 0.913
	0.325 \pm 0.016	6.988 \pm 0.011	4.651	2.672	
	0.405 \pm 0.016	6.656 \pm 0.011	6.085	3.347	
	0.495 \pm 0.016	6.640 \pm 0.033	7.455	3.992	
36	0.214 \pm 0.032	7.419 \pm 0.033	2.884	1.840	3.144 \pm 0.666
	0.361 \pm 0.032	7.419 \pm 0.033	4.866	2.773	
	0.458 \pm 0.068	6.769 \pm 0.000	6.766	3.668	
	0.389 \pm 0.000	7.036 \pm 0.088	5.529	3.085	
	0.286 \pm 0.016	6.916 \pm 0.000	4.135	2.429	
48	0.445 \pm 0.017	6.769 \pm 0.000	6.574	3.577	3.313 \pm 0.179
	0.267 \pm 0.016	7.036 \pm 0.088	3.795	2.269	
	0.482 \pm 0.034	6.769 \pm 0.000	7.121	3.834	
	0.389 \pm 0.000	6.773 \pm 0.011	5.743	3.186	
60	0.415 \pm 0.016	7.093 \pm 0.033	5.851	3.237	4.630 \pm 0.708
	0.447 \pm 0.032	6.933 \pm 0.227	6.447	3.518	
	0.787 \pm 0.049	7.292 \pm 0.011	10.793	5.563	
	0.555 \pm 0.049	7.292 \pm 0.011	7.611	4.065	
	0.642 \pm 0.081	7.008 \pm 0.000	9.161	4.795	
	0.532 \pm 0.064	6.931 \pm 0.011	7.676	4.096	

Tabla A 5.11

Efecto de agregar Acido ascórbico en el contenido de hierro ionizable en frijol negro cocinado

Fe/Vit C (mol/mol)	Peso (g)	Abs 1	Abs 2	Blanco	Fe ionizable (mg1/100g)	Fe ionizable (mg2/100g)	Fe ioniz.(media) ± d.s (mg/100g)	Fe ioniz.(media) ± d.s (mg/100g)
1/0	1.953	0.186	0.185	0.163	0.168	0.146	0.157 ± 0.016	0.155 ± 0.040
	1.954	0.117	0.120	0.094	0.179	0.245	0.212 ± 0.047	
	1.950	0.161	0.160	0.138	0.168	0.146	0.157 ± 0.016	
	1.950	0.291	0.294	0.268	0.101	0.141	0.121 ± 0.028	
	1.951	0.137	0.140	0.115	0.146	0.213	0.179 ± 0.047	
	1.950	0.197	0.199	0.178	0.079	0.123	0.101 ± 0.032	
1/1	1.953	0.221	0.220	0.187	0.424	0.402	0.413 ± 0.016	0.376 ± 0.074
	1.949	0.184	0.186	0.157	0.269	0.313	0.291 ± 0.032	
	1.896	0.218	0.217	0.184	0.437	0.414	0.425 ± 0.016	
1/3	1.962	0.175	0.183	0.140	0.433	0.610	0.522 ± 0.125	0.470 ± 0.071
	1.960	0.220	0.220	0.182	0.500	0.500	0.500 ± 0.000	
	1.963	0.166	0.166	0.133	0.389	0.389	0.389 ± 0.000	
1/6	1.953	0.169	0.167	0.130	0.535	0.491	0.513 ± 0.032	0.542 ± 0.028
	1.950	0.181	0.181	0.140	0.569	0.569	0.569 ± 0.000	
	1.962	0.162	0.164	0.123	0.522	0.566	0.544 ± 0.031	

Tabla A 5.12

Efecto de agregar Acido ascórbico C sobre el porcentaje de hierro disponible de frijol negro cocinado

Fe/Vit C (mol/mol)	Fe ionizable (media) ± d.s (mg/100g)	Fe Total (media) ± d.s (mg/100g)	% Fe ionizable	% Fe Disponible	% Fe Disponible (media) ± d.s
1/0	0.157 ± 0.016	6.804 ± 0.022	2.307	1.569	1.547 ± 0.258
	0.212 ± 0.047	6.973 ± 0.011	3.040	1.914	
	0.157 ± 0.016	6.662 ± 0.033	2.357	1.592	
	0.121 ± 0.028	6.804 ± 0.022	1.778	1.320	
	0.179 ± 0.047	6.973 ± 0.011	2.567	1.691	
	0.101 ± 0.032	6.662 ± 0.033	1.516	1.196	
1/1	0.413 ± 0.016	6.804 ± 0.022	6.070	3.340	3.091 ± 0.562
	0.291 ± 0.032	6.973 ± 0.011	4.173	2.447	
	0.425 ± 0.016	6.662 ± 0.033	6.379	3.486	
1/3	0.522 ± 0.125	6.804 ± 0.022	7.672	4.094	3.728 ± 0.446
	0.500 ± 0.000	6.973 ± 0.011	7.171	3.858	
	0.389 ± 0.000	6.662 ± 0.033	5.839	3.231	
1/6	0.513 ± 0.032	6.804 ± 0.022	7.540	4.032	4.227 ± 0.169
	0.569 ± 0.000	6.973 ± 0.011	8.160	4.324	
	0.544 ± 0.031	6.662 ± 0.033	8.166	4.326	

Tabla A 5.13

Efecto de agregar Acido ascórbico sobre el contenido de hierro ionizable en frijol negro incubado 60 horas en una solución buffer pH=7 a una temperatura de 55°C y cocinado

Fe/Vit C (mol/mol)	Peso (g)	Abs 1	Abs 2	Blanco	Fe ionizable (mg1/100g)	Fe ionizable (mg2/100g)	Fe ioniz.(media) ± d.s (mg/100g)	Fe ioniz.(media) ± d.s (mg/100g)
1/0	1.881	0.445	0.442	0.394	0.822	0.752	0.787 ± 0.049	0.661 ± 0.115
	1.885	0.246	0.243	0.205	0.589	0.520	0.555 ± 0.049	
	1.899	0.420	0.425	0.379	0.585	0.700	0.642 ± 0.081	
	1.924	0.416	0.420	0.379	0.487	0.577	0.532 ± 0.064	
1/1	1.939	0.219	0.185	0.1515	0.737	0.735	0.736 ± 0.002	0.695 ± 0.035
	1.898	0.409	0.412	0.3655	0.642	0.711	0.677 ± 0.049	
	1.945	0.417	0.418	0.372	0.661	0.683	0.672 ± 0.016	
1/3	1.899	0.396	0.394	0.342	0.883	0.837	0.860 ± 0.032	0.844 ± 0.022
	1.944	0.393	0.393	0.3405	0.829	0.829	0.829 ± 0.00	
1/6	1.902	0.409	0.412	0.3525	0.938	1.007	0.972 ± 0.048	1.001 ± 0.026
	1.935	0.436	0.438	0.3765	0.989	1.034	1.012 ± 0.032	
	1.941	0.412	0.414	0.352	0.998	1.042	1.020 ± 0.032	

Tabla A 5.14

Efecto de agregar Acido ascórbico a frijol negro incubado 60 horas en una solución buffer pH=7 a una temperatura de 55°C y cocinado

Fe/Vit C (mol/mol)	Fe ionizable (media) ± d.s (mg/100g)	Fe Total (media) ± d.s (mg/100g)	% Fe Ionizable	% Fe Disponible	% Fe Disponible (media) ± d.s
1/0	0.787 ± 0.049	7.292 ± 0.011	10.793	5.563	4.630 ± 0.708
	0.555 ± 0.049	7.292 ± 0.011	7.611	4.065	
	0.642 ± 0.081	7.008 ± 0.000	9.161	4.795	
	0.532 ± 0.064	6.931 ± 0.011	7.676	4.096	
1/1	0.736 ± 0.002	7.292 ± 0.011	10.093	5.234	5.103 ± 0.113
	0.677 ± 0.049	7.008 ± 0.000	9.660	5.030	
	0.672 ± 0.016	6.931 ± 0.011	9.696	5.046	
1/3	0.860 ± 0.032	7.292 ± 0.011	11.794	6.034	6.073 ± 0.056
	0.829 ± 0.000	6.931 ± 0.011	11.961	6.113	
1/6	0.972 ± 0.048	7.292 ± 0.011	13.330	6.757	7.149 ± 0.346
	1.012 ± 0.032	7.008 ± 0.000	14.441	7.280	
	1.020 ± 0.032	6.931 ± 0.011	14.716	7.410	

Tabla A 5.15

Contenido de fitato en frijol negro procesado y enlatado industrialmente

Muestra No.	Peso (g)	Abs a	Abs d	g PO4	g fitato	Fitato (g/100g)	Fitato(media) ± d.s (g/100g)
Malher 1	1.918	0.263	1.747	0.015	0.017	0.887	0.925 ± 0.054
Malher t	1.921	0.252	1.224	0.016	0.019	0.964	
Ducal E2108	1.978	0.237	0.989	0.016	0.018	0.919	1.062 ± 0.142
Ducal E2077	1.961	0.287	1.453	0.018	0.021	1.062	
Ducal E2169	1.957	0.337	1.898	0.021	0.024	1.204	
Lozano 1	1.952	0.325	1.885	0.020	0.022	1.150	1.101 ± 0.052
Lozano 2	1.972	0.331	2.372	0.018	0.021	1.047	
Lozano 3	2.033	0.328	1.930	0.020	0.023	1.108	

Tabla A 5.16

Contenido de hierro total en frijol negro procesado y enlatado industrialmente

Marca y No. Lote	Peso (g)	Abs 1	Abs 2	Fe Total (mg1/100g)	Fe Total (mg2/100g)	Fe Total(media) ± d.s (mg/100g)	Fe Total (media) ± d.s (mg/100g)
Malher 1	1.917	0.604	0.611	9.261	9.371	9.316 ± 0.078	9.922 ± 0.857
Malher 1	1.918	0.682	0.687	10.489	10.568	10.529 ± 0.056	
Ducal E2108	1.969	0.314	0.318	9.122	9.245	9.183 ± 0.087	8.992 ± 2.603
Ducal E2077	1.958	0.386	0.392	11.401	11.586	11.493 ± 0.131	
Ducal E2169	1.958	0.221	0.221	6.299	6.299	6.299 ± 0.000	
Lozano 1	1.947	0.956	0.966	29.175	29.486	29.331 ± 0.220	22.753 ± 5.832
Lozano 2	1.970	0.652	0.568	19.506	16.925	18.215 ± 1.825	
Lozano3	1.976	0.745	0.642	22.290	19.136	20.713 ± 2.231	

Tabla A 5.17

Contenido de hierro ionizable en frijol negro procesado y enlatado industrialmente

Muestra No.	Peso (g)	Abs 1	Abs 2	Blanco	Fe ionizable (mg1/100g)	Fe ionizable (mg2/100g)	Fe ioniz.(media) ± d.s (mg/100g)	Fe ioniz.(media) ± d.s (mg/100g)
Malher 1	1.921	0.553	0.539	0.434	2.356	2.039	2.197 ± 0.224	2.092 ± 0.149
Malher 2	1.949	0.552	0.577	0.460	1.708	2.266	1.987 ± 0.394	
Ducal E2108	2.008	0.588	0.599	0.490	1.788	2.026	1.907 ± 0.168	1.923 ± 0.211
Ducal E2077	1.972	0.544	0.574	0.447	1.810	2.472	2.141 ± 0.468	
Ducal E2169	1.960	0.590	0.579	0.492	1.843	1.599	1.721 ± 0.173	
Lozano 1	1.953	0.794	0.781	0.556	4.956	4.666	4.811 ± 0.205	4.974 ± 0.207
Lozano 2	1.976	0.540	0.546	0.291	5.142	5.274	5.208 ± 0.093	
Lozano 3	1.961	0.697	0.680	0.452	5.093	4.716	4.904 ± 0.267	

Tabla A 5.18

Porcentaje de hierro disponible en frijol negro procesado y enlatado industrialmente

Muestra No.	Fe Ionizable (media) \pm d.s (mg/100g)	Fe Total (media) \pm d.s (mg/100g)	% Fe Ionizable	% Fe Disponibl e	% Fe Disponible (media) \pm d.s
Malher 1	2.197 \pm 0.224	9.316 \pm 0.078	23.588	11.585	10.475 \pm 1.570
Malher 2	1.987 \pm 0.394	10.529 \pm 0.056	18.870	9.365	
Ducal E2108	1.907 \pm 0.168	9.183 \pm 0.087	20.765	10.257	10.949 \pm 2.132
Ducal E2077	2.141 \pm 0.468	11.493 \pm 0.131	18.625	9.250	
Ducal E2169	1.721 \pm 0.173	6.299 \pm 0.000	27.317	13.341	
Lozano1	4.811 \pm 0.205	29.331 \pm 0.220	16.403	8.204	11.257 \pm 2.886
Lozano2	5.208 \pm 0.093	18.215 \pm 1.825	28.590	13.940	
Lozano3	4.904 \pm 0.267	20.713 \pm 2.231	23.678	11.628	

Tabla A 5.19

Efecto de agregar Acido ascórbico sobre el contenido de hierro ionizable en frijol procesado y enlatado (Ducal E2077) industrialmente

Fe/Vit C (mol/mol)	Peso (g)	Abs 1	Abs 2	Blanco	Fe Ionizable (mg1/100g)	Fe Ionizable (mg2/100g)	Fe Ioniz.(media) \pm d.s (mg/100g)	Fe Ioniz.(media) \pm d.s (mg/100g)
1/0	1.972	0.564	0.574	0.447	2.251	2.472	2.361 \pm 0.156	2.137 \pm 0.239
	2.157	0.550	0.552	0.442	1.866	1.906	1.886 \pm 0.029	
	2.163	0.585	0.581	0.460	2.203	2.122	2.162 \pm 0.057	
1/1	1.972	0.326	0.327	0.226	2.798	2.831	2.814 \pm 0.023	2.994 \pm 0.255
	1.964	0.326	0.325	0.215	3.191	3.158	3.174 \pm 0.023	
1/3	1.966	0.247	0.251	0.165	2.225	2.358	2.292 \pm 0.094	2.492 \pm 0.283
	1.964	0.266	0.275	0.174	2.542	2.841	2.692 \pm 0.211	
1/6	1.958	0.304	0.297	0.201	2.934	2.700	2.817 \pm 0.165	3.019 \pm 0.286
	1.965	0.260	0.266	0.151	3.122	3.322	3.222 \pm 0.141	

Tabla A 5.20

Efecto de reducir la grasa sobre el contenido de hierro total en frijol negro procesado y enlatado industrialmente (desgrasado)

Muestra y No. lote	Peso (g)	Abs. 1	Abs. 2	Fe Total (mg1/100g)	Fe Total (mg2/100g)	Fe Total(media) \pm d.s (mg/100g)	Fe Total(media) \pm d.s (mg/100g)
Ducal E2077	1.9619	0.375	0.38	11.037	11.191	11.114 \pm 0.109	11.302 \pm 0.266
Ducal E2077	1.9582	0.39	0.388	11.521	11.460	11.491 \pm 0.044	

Tabla A 5.21

Efecto de reducir la grasa sobre el contenido de hierro ionizable en frijol negro procesado y enlatado industrialmente

Muestra No.	Peso (g)	Abs. 1	Abs. 2	Fe ionizable (mg/100g)	Fe ionizable (mg/200g)	Fe Ioniz.(media) ± d.s (mg/100g)	Fe ioniz.(media) ± d.s (mg/100g)
Ducal E2077	1.957	0.550	0.552	2.057	2.101	2.079 ± 0.031	2.231 ± 0.215
Ducal E2077	1.963	0.585	0.581	2.427	2.338	2.383 ± 0.063	

Tabla 5.22

Efecto de reducir la grasa en el porcentaje de hierro disponible de frijol procesado y enlatado industrialmente

Muestra No.	Fe ionizable (media) ± d.s (mg/100g)	Fe Total (media) ± d.s (mg/100g)	% Fe ionizabl e	% Fe Disponible	% Fe Disponible (media) ± d.s
1	2.079 ± 0.031	11.11408 ± 0.110	18.705	9.287	9.765 ± 0.681
2	2.383 ± 0.063	11.49059 ± 0.040	20.734	10.242	

Tabla A 5.23

Efecto de agregar Acido ascórbico sobre el porcentaje de hierro disponible de frijol negro(Ducal E2077) procesado y enlatado industrialmente

Fe/Vit C	Fe ionizable (media) ± d.s (mg/100g)	Fe Total (media) ± d.s (mg/100g)	%Fe ionizable	% Fe Disponible	% Fe Disponible (media) ± d.s
1/0	2.361 ± 0.156	11.493 ± 0.131	20.542	10.152	9.883 ± 0.534
	1.886 ± 0.029	11.493 ± 0.131	18.666	9.269	
	2.163 ± 0.057	11.493 ± 0.131	20.707	10.229	
1/1	2.814 ± 0.023	11.493 ± 0.131	24.484	12.007	12.745 ± 1.044
	3.174 ± 0.023	11.493 ± 0.131	27.620	13.483	
1/3	2.292 ± 0.094	11.493 ± 0.131	19.938	9.867	10.687 ± 1.160
	2.692 ± 0.211	11.493 ± 0.131	23.422	11.507	
1/6	2.817 ± 0.165	11.493 ± 0.131	24.509	12.019	12.848 ± 1.173
	3.222 ± 0.141	11.493 ± 0.131	28.033	13.678	

Tabla A 5.24

Contenido de fitato en hojas de chaya cocinadas (*Cindoscolus aconitifolius*)

Muestra No.	Peso (g)	Abs a	Abs d	g PO4	g fitato	Fitato (g/100g)	Fitato(media) ± d.s (g/100g)
1	1.841	0.272	2.143	0.014	0.016	0.866	0.901 ± 0.038
2	1.853	0.294	2.278	0.015	0.017	0.942	
3	1.930	0.314	2.713	0.015	0.017	0.895	

Tabla A 5.25

Contenido de hierro total en hojas de chaya cocinadas (*Cindoscolus aconitifolius*)

Muestra No.	Peso (g)	Abs. 1	Abs. 2	Fe Total (mg1/100g)	Fe Total (mg2/100g)	Fe Total (media) ± d.s (mg/100g)	Fe Total (media) ± d.s (mg/100g)
1	0.971	0.281	0.279	8.218	8.156	8.187 ± 0.044	8.310 ± 0.203
2	1.007	0.290	0.290	8.198	8.198	8.198 ± 0.000	
3	1.005	0.301	0.301	8.544	8.544	8.544 ± 0.000	

Tabla 5.26

Contenido de hierro ionizable en hojas de chaya cocinadas

Muestra No.	Peso (g)	Abs 1	Abs 2	Blanco	Fe Ionizable (mg1/100g)	Fe Ionizable (mg2/100g)	Fe Ioniz.(media) ± d.s (mg/100g)	Fe Ioniz.(media) ± d.s (mg/100g)
1	4.124	0.134	0.142	0.091	0.581	0.750	0.665 ± 0.119	0.698 ± 0.047
2	4.285	0.124	0.124	0.073	0.732	0.732	0.732 ± 0.000	

Tabla A 5.27

Porcentaje de hierro disponible en hojas de chaya cocinadas

Muestra No.	Fe Ionizable (media) ± d.s (mg/100g)	Fe Total (media) ± d.s (mg/100g)	% Fe Ionizable	% Fe Disponible	% Fe Disponible (media) ± d.s
1	0.665 ± 0.119	8.198 ± 0.000	8.111	4.301	4.408 ± 0.152
2	0.732 ± 0.000	8.544 ± 0.000	8.568	4.516	

APENDICE B

Curvas de calibración

Tabla B.1

Curva de calibración de fosfato (para cálculos de contenido de fitato)

Volúmen (ml)	µg PO4/ml	Absorbancia (830nm)	Regresión Lineal	
0.000	0.000	0.000	Constante	0.003265398
0.010	0.5933	0.028	Coef. X	0.057661804
0.050	2.9665	0.186	Coef. Corr	0.999574168
0.100	5.933	0.355		
0.200	11.866	0.670		
0.300	17.799	1.057		
0.400	23.732	1.341		
0.500	29.665	1.726		

Tabla B.2

Curva de Calibración de hierro estándar (para cálculos de hierro ionizable)

ppm de Fe	Absorbancia (521nm)	Regresión Lineal	
0.0	0.017	Constante	0.01546662
0.0	0.019	Coef. X	0.09578254
0.6	0.071	Coef.Corr	0.99988947
0.6	0.071		
0.6	0.071		
0.8	0.093		
0.8	0.092		
0.8	0.091		
1.6	0.167		
1.6	0.170		
1.6	0.170		
2.4	0.245		
2.4	0.245		
2.4	0.245		
4.0	0.397		
4.0	0.403		
4.0	0.397		

Tabla B.3

**Curva de Calibración de hierro estándar
(para cálculos de hierro total)**

ppm de Fe	Absorbancia (521nm)	Regresión Lineal	
0.0	0.016	Constante	0.017198
0.0	0.016	Coef. X	0.082619
0.0	0.015	Coef. Corr	0.999559
0.6	0.061		
0.6	0.061		
0.6	0.061		
1.6	0.147		
1.6	0.147		
1.6	0.148		
3.2	0.289		
3.2	0.297		
3.2	0.29		
4.0	0.351		
4.0	0.349		
4.0	0.351		
10.0	0.835		
10.0	0.845		
10.0	0.839		

APENDICE C

Tablas de análisis estadístico

Tabla C.1

Tabla de datos para prueba t de student
Comparación de resultados de disponibilidad de Fe en frijol negro cocinado obtenidos
con el método de disponibilidad *in vitro* de Narasinga Rao & Prabhavathi (1978)
y los reportados por Lynch(1984) en humanos

% Fe disp. (in vitro)	% Fe biodis
1.568824	0.46
1.913768	0.11
1.591975	1.88
1.319777	0.4
1.691008	0.18
1.19631	1.26
	1.73
	4.63
	1.06
	2.48

Tabla C.2

Prueba t de student para datos presentados en tabla C.1

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales

	Variable 1	Variable 2
Media	1.54694367	1.419
Varianza	0.06647397	1.90069889
Observaciones	6	10
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	10	
Estadístico t	0.28527255	
P(T<=t) una cola	0.39062828	
Valor crítico de t (una cola)	1.81246151	
P(T<=t) dos colas	0.78125655	
Valor crítico de t (dos colas)	2.22813924	

Tabla C.3

Análisis de varianza entre incubación a pH = 6, 7 y 8

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
pH = 6	3	1.4	0.46666667	0.00013333
pH = 7	3	1.46	0.48666667	0.00053333
pH = 8	3	1.67	0.55666667	0.00243333

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.0134	2	0.0067	6.48387097	0.031652415	5.14324938
Dentro de los grupos	0.0062	6	0.001033333			
Total	0.0196	8				

Tabla C.4

Análisis de varianza entre incubación a pH=6 y pH=7

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
pH = 6	3	1.4	0.46666667	0.00013333
PH =7	3	1.46	0.48666667	0.00053333

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.0006	1	0.0006	1.8	0.25081536	7.70864972
Dentro de los grupos	0.00133333	4	0.000333333			
Total	0.00193333	5				

Tabla C.5

Análisis de varianza entre incubación a pH=7 y pH=8

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
pH = 7	3	1.46	0.48666667	0.00053333
pH = 8	3	1.67	0.55666667	0.00243333

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.00735	1	0.00735	4.95505618	0.0900104	7.70864972
Dentro de los grupos	0.00593333	4	0.00148333			
Total	0.01328333	5				

Tabla C.6

Análisis de varianza entre incubación a pH=6 y pH=8

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
pH = 6	3	1.4	0.46666667	0.00013333
pH = 8	3	1.67	0.55666667	0.00243333

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.01215	1	0.01215	9.46753247	0.0370419	7.70864972
Dentro de los grupos	0.00513333	4	0.00128333			
Total	0.01728333	5				

Tabla C.7

Análisis de varianza entre incubaciones a temperaturas 50,55 y 60°C

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
T=50°C	3	1.59	0.53	0.0079
T=55°C	3	1.46	0.486666667	0.000533333
T=60°C	3	1.76	0.586666667	0.010833333

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.015088889	2	0.007544444	1.17474048	0.37108664	5.14324938
Dentro de los grupos	0.038533333	6	0.006422222			
Total	0.053622222	8				

Tabla C.8

Análisis de varianza entre control, secado y blanqueado

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Control	3	3.31	1.103333333	0.010033333
Inc-Blanq-Sec	3	3.05	1.016666667	0.004233333
Inc-Secado	3	3.3	1.1	0.0327

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.01446667	2	0.007233333	0.46202981	0.65068584	5.14324938
Dentro de los grupos	0.09393333	6	0.015655556			
Total	0.1084	8				

Tabla C.9

Distribución de Pearson para analizar la correlación entre el contenido de fitato y el % de Fe disponible

Fitato	%Fe Disp	Pearson
1.127	1.5	-0.93089125
0.81	2.1	
0.69	2.6	
0.49	3.0	
0.36	3.1	
0.23	3.3	
0.15	4.6	

Tabla C.10

Análisis de varianza entre cantidades de vitamina C agregada a frijol negro procesado

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

vitC/Fe	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
0mol/1 mol	3	20.65	6.88333333	32.8135363
1mol/1mol	2	25.49	12.745	1.089288
3mol/1mol	2	21.374	10.687	1.3448
6mol/1mol	2	25.697	12.8485	1.3761405

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	60.2371124	3	20.0790375	1.44583942	0.33452288	5.40944711
Dentro de los grupos	69.4373012	5	13.8874602			
Total	129.674414	8				

APENDICE D

Tabla D.1

Porcentaje de grasa en frijo negro procesado y enlatado industrialmente

Muestra	Peso inicial No	Peso final (g)	Peso grasa (g)	% grasa	% grasa*
1	4.004	3.599	0.405	10.115	10.212 ± 0.138
2	3.996	3.584	0.412	10.310	