

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**



**“LA FITASA EN LA ABSORCIÓN DE HIERRO EN PAPILLA INFANTIL”**

**TESIS**

**PRESENTADA POR**

**BACH. CAMAC HUANCA LUIS EDÉN FREDERING.**

**BACH. VILCA FLORES JULIO CESAR**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**PUNO**

**PERÚ**

**2014**

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL  
LA FITASA EN LA ABSORCIÓN DE HIERRO EN PAPILLA INFANTIL

TESIS PRESENTADA POR:

CAMAC HUANCA LUIS EDÉN FREDERING  
VILCA FLORES JULIO CESAR

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
INGENIERO AGROINDUSTRIAL

Aprobada por el jurado revisor conformado por:

PRESIDENTE

Ph.D. JUAN MARCOS ARO ARO

PRIMER MIEMBRO

M.Sc. F. VÍCTOR CHOQUEHUANCA CACERES

SEGUNDO MIEMBRO

Ing. M.Sc. PABLO A. BELTRÁN BARRIGA

DIRECTOR DE TESIS

Ing. M.Sc. ROGER SEGURA PEÑA

ASESOR DE TESIS

Ing. M.Sc. JOSE DAVID VELEZVIA DIAZ

PUNO - PERÚ

2014

Área: Ingeniería y tecnología

Tema: Desarrollo de procesos y productos agroindustriales sostenibles y eficientes

## DEDICATORIA

Este Trabajo de investigación va dedicado a mi padre Celestial que en todo momento me guio e inspiro fuerzas, valor y amor para nunca rendirme sin importar la adversidad.

A mi amada madre Maria Huanca Calla y a mi abuelo amado Pedro Huanca Apaza por siempre enseñarme a: respetar todo ser vivo, amar siempre, vivir con alegría, ayudar a todos, seguir el camino del bien y jamas desviarme de el y siempre ser leal a mi padre Celestial; a nunca rendirme y siempre cumplir mis sueños sin olvidar mis orígenes.

A mi preciosa hermanita Lizbeth, a mis tios Cesar y Jovita, a toda mi familia por los consejos brindados, el apoyo, el cariño y por siempre estar cuando mas los necesitaba. Gracias por todas sus enseñanzas.

*“Cuando los humanos valoren toda forma de vida lograran alcanzar y comprender el amor verdadero y duradero, la paz absoluta y la felicidad completa”* **Fredering Camac**

**Atte: LEFCH**

*Esta tesis se la dedico a mi Dios quien supo guiarme por el buen camino, darme fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban, enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento.*

*A mis padres Mateo Vilca Palaco y Juliana Flores Chalco por su apoyo, consejos, comprensión, amor, ayuda e los momentos difíciles y por ayudarme con los recursos necesarios para estudiar. Me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi carácter, mi empeño, mi perseverancia, mi coraje para conseguir mis objetivos.*

*Con todo cariño a mis hermanos Amador, Vilma, Armando, Marleni y Heimi; por estar siempre presentes, acompañandome para poderme realizar.*

*“La dicha de la vida consiste en tener siempre algo que hacer, alguien a quien amar y alguna cosa que esperar”.* **Thomas Chalmers**

**Atte: JCVF**

## AGRADECIMIENTO

Nuestro agradecimiento infinito y enorme a Dios por las bendiciones otorgadas y permitirnos la culminación de este trabajo para hacer realidad este paso a paso en nuestra vida profesional.

A nuestra Alma Mater Universidad Nacional del Altiplano, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial pues en sus pasillos y salones juntamente a nuestros docentes que nos brindaron sus conocimientos, sus consejos, los cuales nos formaron y orientaron durante toda nuestra vida universitaria para tener una buena formación profesional.

A la Universidad Nacional Agraria la Molina y la Universidad San Antonio Abad del Cuzco por el apoyo incondicional brindado durante la ejecución del presente proyecto, en especial a Nancy Acostupa y Mario Cumpa por las horas de dedicación, estudio e información compartida.

A nuestro jurado, nuestro director de tesis Ing M. Sc. Roger Segura Peña por todos los aportes críticos en cuanto a la investigación logando perfeccionarse el presente trabajo, Al apoyo incondicional y desinteresado de nuestro Docente Ing. M. Sc. Gallegos

A mis Tíos Cesar y Jovita por los consejos y todo el apoyo brindado durante estos años de estudio y ejecución del presente trabajo.

A mi hermanita Lizbeth por soportarme todos estos años sin importar la situación y siempre aconsejarme y apoyarme en todo momento.

A nuestros amigos Brenda, Yimne, Raul A, Vladimir, José, Raul M, Pilar, Nelly y a todas las personas que forman parte de nuestra vida profesional y personal les agradecemos por sus sabios consejos, sincera amistad y apoyo incondicional en todo momento.

**Gracias por todo**

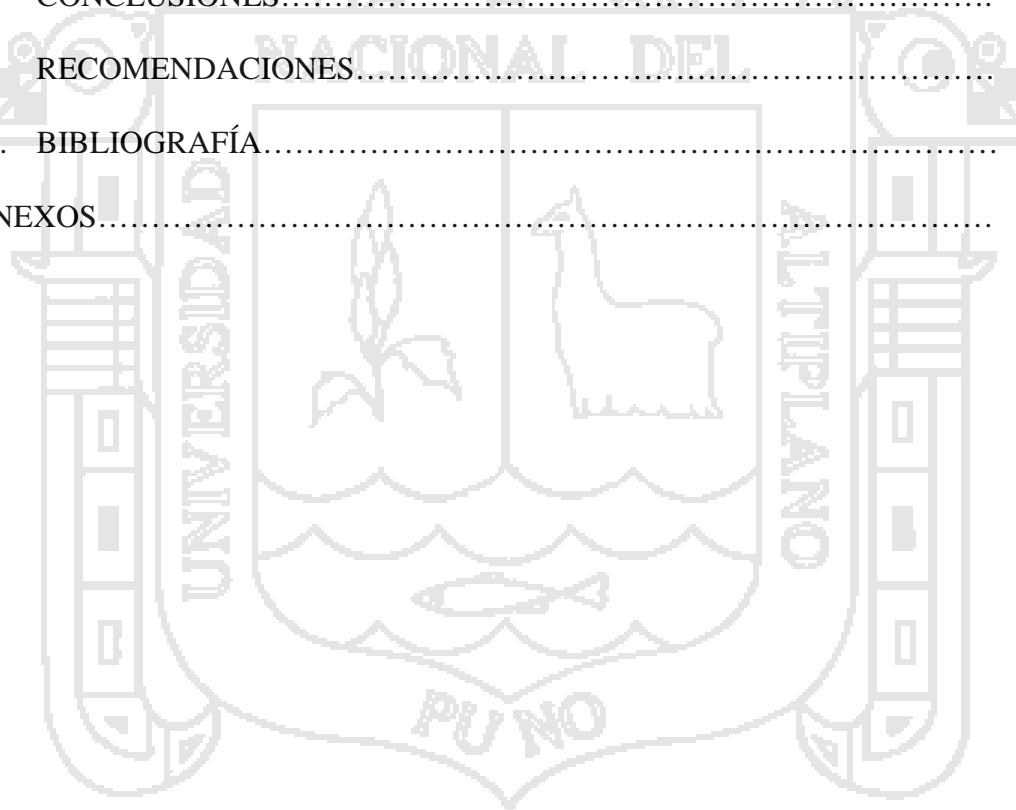
## ÍNDICE GENERAL

	Pág.
ÍNDICE GENERAL	
ÍNDICE DE TABLAS	
ÍNDICE DE FIGURAS	
ÍNDICE DE ANEXOS	
ÍNDICE DE SIGLAS	
RESUMEN	
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1 ENZIMA FITASA.....	3
2.1.1 Fitasa.....	3
2.1.2 Tipos de Fitasa.....	4
a Fitosas Exógenas.....	5
b Fitosas Vegetales.....	6
2.2 NECESIDADES NUTRICIONALES EN NIÑOS.....	7
2.2.1 Necesidades nutricionales de los minerales.....	7
2.2.2 Hierro.....	8
2.2.2.1 Grupo Hemo.....	10
2.2.3 Distribución del Hierro en el Organismo.....	11
2.2.4 Absorción y Metabolismo de Hierro.....	12
2.2.4.1 Metabolismo del Hierro.....	13
2.2.4.2 Absorción intestinal del Hierro.....	13
2.2.4.3 Regulación de la Absorción del Hierro.....	18
2.2.4.4 Inhibidores de la Absorción de Hierro.....	19

2.2.5	Eliminación del Hierro.....	20
2.2.6	Deficiencia de Hierro.....	20
2.3	FACTORES NO NUTRITIVOS.....	21
2.3.1	Inositoles Fosfato.....	23
2.3.1.1	Estructura y Nomenclatura.....	24
2.3.1.2	Método Analítico.....	25
2.3.1.3	Ácido Fítico en las Plantas.....	27
2.3.1.4	Interacción y Efectos Fisiológicos.....	29
	Efectos nocivos.....	30
2.3.2	Métodos de determinación de Ácido Fítico.....	30
2.3.2.1	Método Cualitativo.....	31
2.3.2.2	Método Cuantitativo.....	31
	Precipitación.....	32
	Cromatografía.....	32
2.3.3	Influencia de Ácido Fítico en la Disposición de Nutriente.....	34
2.3.3.1	Interacción con Proteína y Almidón.....	35
2.3.3.2	Interacción con Minerales y Elementos Traza.....	36
2.4	VALOR BIOLÓGICO.....	37
2.4.1	Valor Biológico de las proteínas.....	37
2.4.1.1	Digestión y Absorción de la Proteína.....	38
2.4.1.2	Requerimiento de Proteína.....	40
2.5	COMPOSICIÓN DE ALIMENTOS INFANTILES.....	42
2.5.1	Papillas Infantiles.....	43
2.6	CARACTERÍSTICAS DE LA PAPILLA INFANTIL DEL PRONAA	45
2.6.1	Papilla PRONAA.....	45

III.	MATERIALES Y METODOS.....	48
3.1	LUGAR DE EJECUCIÓN.....	48
3.2	MATERIALES, EQUIPOS Y OTROS.....	48
3.2.1	Materia Prima.....	48
3.2.2	Equipos e Instrumentos de Laboratorio.....	48
3.2.3	Reactivos.....	49
3.2.4	Utensilios Auxiliares.....	50
3.2.5	Animales.....	50
3.3	METODOLOGÍA DE ANÁLISIS.....	51
3.3.1	Determinación de Hierro.....	51
3.3.2	Determinación de Inositoles Fosfato.....	51
3.3.3	Determinación de Valor Biológico.....	52
3.4	METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	53
3.4.1	Desfitinización de la Papilla.....	53
3.4.2	Tratamiento Dietario.....	54
3.4.3	Muestras para el Análisis.....	57
3.4.4	Tratamiento de datos.....	59
3.4.4.1	Análisis Estadístico.....	59
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	61
4.1	CONTENIDO DE INOSITOLES FOSFATO Y HIERRO EN LA PAPILLA INFANTIL DEL PRONAA.....	61
4.1.1	Contenido de Inositoles Fosfato.....	61
4.1.2	Contenido de Hierro.....	63
4.2	TRATAMIENTO DIETARIO.....	64
4.2.1	Ganacia de peso y consumo de alimentos (g) por las ratas...	64

4.3	ANÁLISIS DE INOSITOLES FOSFATO.....	65
4.3.1	Efecto del procesado en los tratamientos en la desfitinizacion de la papilla infantil.....	65
4.3.2	Inositole Fosfato IP6 y (IP4+IP5).....	66
4.4	ANÁLISIS DE HIERRO.....	75
4.4.1	Hierro Absorbido en la sangre e hígado.....	75
4.4.2	Hierro excretado en las heces y orina.....	83
4.4.3	Correlación Pearson.....	91
4.5	VALOR BIOLÓGICO.....	92
V.	CONCLUSIONES.....	94
VI.	RECOMENDACIONES.....	95
VII.	BIBLIOGRAFÍA.....	96
	ANEXOS.....	113





## ÍNDICE DE TABLAS

	Pag.
Tabla 1 Recomendaciones diarias de minerales en los tres primeros años de vida.....	8
Tabla 2 Efectos fisiológicos provocados por los factores no-nutritivos de las leguminosas y cereales. ....	23
Tabla 3 Contenidos en ácido fólico de algunos vegetales.....	28
Tabla 4 Cálculo de los requerimientos de proteínas según el método factorial.....	42
Tabla 5 Porcentaje de insumos utilizados para la preparación de la papilla de PRONAA por la empresa ALPROSA Alimentos procesados S.A....	47
Tabla 6 Datos Estadísticos Descriptivos de Inositol Fosfato Encontrados en la Papilla de PRONAA (mg/100g).....	61
Tabla 7 Datos Estadísticos Descriptivos de porcentaje de Hierro encontrados en la Papilla de PRONAA (mg/100g).....	64
Tabla 8 Promedio de ganancia de peso (g) y consumo de ración (g) con respecto a los tratamientos.....	65
Tabla 9 Datos estadísticos descriptivos de IP6 (mg/100g) encontrados en los tratamientos con respecto al factor concentración de fitasa.....	67
Tabla 10 Datos estadísticos descriptivos de IP6 (mg/100g) encontrados en los tratamientos con respecto al factor temperatura.....	68
Tabla 11 Niveles de inositol fosfato (mg/100g) en los tratamientos empleados.....	73

Tabla 12	Datos Estadísticos Descriptivos de Hierro en la Sangre (mg/100g) Encontrados en los Tratamientos con respecto al factor Concentración de Fitasa.....	76
Tabla 13	Datos Estadísticos Descriptivos de Hierro en la Sangre (mg/100g) Encontrados en los Tratamientos con respecto al factor Temperatura.....	76
Tabla 14	Niveles de de hierro en la sangre e hígado (mg/100g).....	80
Tabla 15	Datos Estadísticos Descriptivos de Hierro en la Heces (mg/100g) Encontrados en los Tratamientos con respecto al factor Concentración de Fitasa.....	84
Tabla 16	Datos Estadísticos Descriptivos de Hierro en la Heces (mg/100g) Encontrados en los Tratamientos con respecto al factor Temperatura.....	85
Tabla 17	Niveles de hierro en las heces y en la orina (mg/100g).....	88
Tabla 18	Porcentaje de valor biológico.....	93

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Pag.</b>
Figura 1 Mecanismo de absorción intestinal de Hierro.....	16
Figura 2 Estructura molecular del ácido fítico propuesta por Anderson....	24
Figura 3 Ruta biosintética del mio-inositolhexaquisfosfato.....	29
Figura 4 Posibles interacciones del ácido fítico con minerales, elementos traza, proteínas y almidón.....	34
Figura 5 Flujo de operaciones para la obtención de papilla desfitinizado...	54
Figura 6 Flujo de operaciones para el tratamiento dietario.....	56
Figura 7 Flujo de operaciones para el muestreo para análisis.....	58
Figura 8 Efectos principales para Inositol Hexafosfato (IP6). .....	70
Figura 9 Efectos principales para valores de hierro en la sangre (mg/100g).	78
Figura 10 Efectos principales para valores de hierro en las heces (mg/100g).	86
Figura 11 Concentraciones de hierro (mg/100g) por efecto de tratamientos.	90

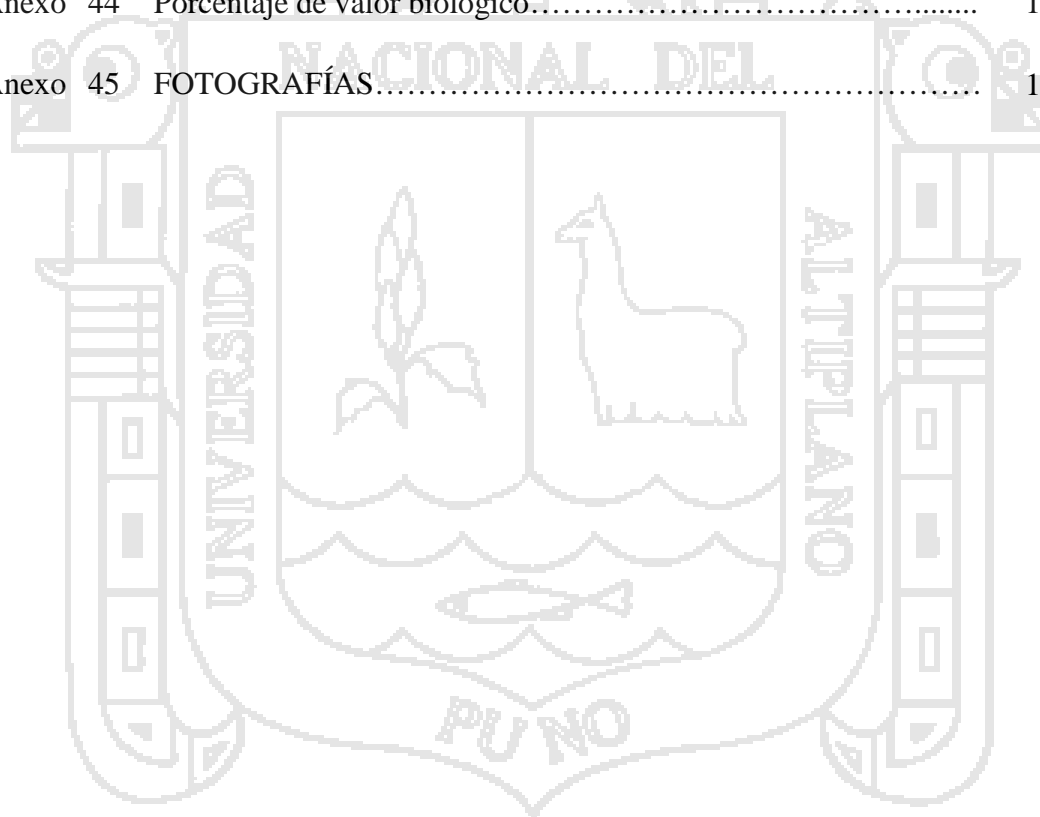
## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1	Cromatograma del ácido fítico en 3 concentraciones diferentes...	114
Anexo 2	Cromatograma del estándar de ácido fítico 1,3 mg/ml y la muestra M-1221.....	114
Anexo 3	Cromatograma del estándar de ácido fítico 1,3 mg/ml y la muestra M-1222.....	115
Anexo 4	Cromatograma del estándar de ácido fítico 1,3 mg/ml y la muestra M-1223.....	115
Anexo 5	Cromatograma del estándar de ácido fítico 1,3 mg/ml y la muestra M-1224.....	116
Anexo 6	Cromatograma del estándar de ácido fítico 1,3 mg/ml y la muestra M-1225.....	116
Anexo 7	Valores encontrados de inositoles fosfato en HPLC.....	117
Anexo 8	Valores encontrados de hierro en la papilla con el método de Fenantrolina.....	118
Anexo 9	Valores encontrados de hierro en la sangre con el método de Fenantrolina.....	119
Anexo 10	Valores encontrados de hierro en el hígado con el método de Fenantrolina.....	120
Anexo 11	Valores encontrados de hierro en las heces con el método de Fenantrolina.....	121
Anexo 12	Valores encontrados de hierro en la orina con el método de Fenantrolina.....	122

Anexo 13	Valores encontrados de valor biológico.....	123
Anexo 14	Análisis proximal de la muestras.....	124
Anexo 15	Aporte de las raciones preparadas.....	125
Anexo 16	Insumos y valor calórico de las raciones preparadas.....	126
Anexo 17	Análisis químico de las raciones preparadas.....	127
Anexo 18	Control de peso por día y consumo de alimentos de la dieta T1- 1221 –VB.....	127
Anexo 19	Control de peso por día y consumo de alimentos de la dieta T2- 1222 –VB.....	129
Anexo 20	Control de peso por día y consumo de alimentos de la dieta T3- 1223 –VB.....	131
Anexo 21	Control de peso por día y consumo de alimentos de la dieta T4- 1224 –VB.....	133
Anexo 22	Control de peso por día y consumo de alimentos de la dieta T4- 1225 –VB.....	135
Anexo 23	Análisis de Varianza para Inositol Hexafosfato (IP6).....	137
Anexo 24	Prueba de significancia de Duncan (p 0.05) contenido de inositoles hexafosfato (IP6).....	137
Anexo 25	Análisis de Varianza para Inositol Tetra y Pentafofosfato (IP4+IP5).....	138
Anexo 26	Prueba de significancia de Duncan (p 0.05) contenido de inositoles tetrafosfato (IP4) mas pentafofosfato (IP5).....	138
Anexo 27	Análisis de Varianza para Hierro en la SANGRE.....	139

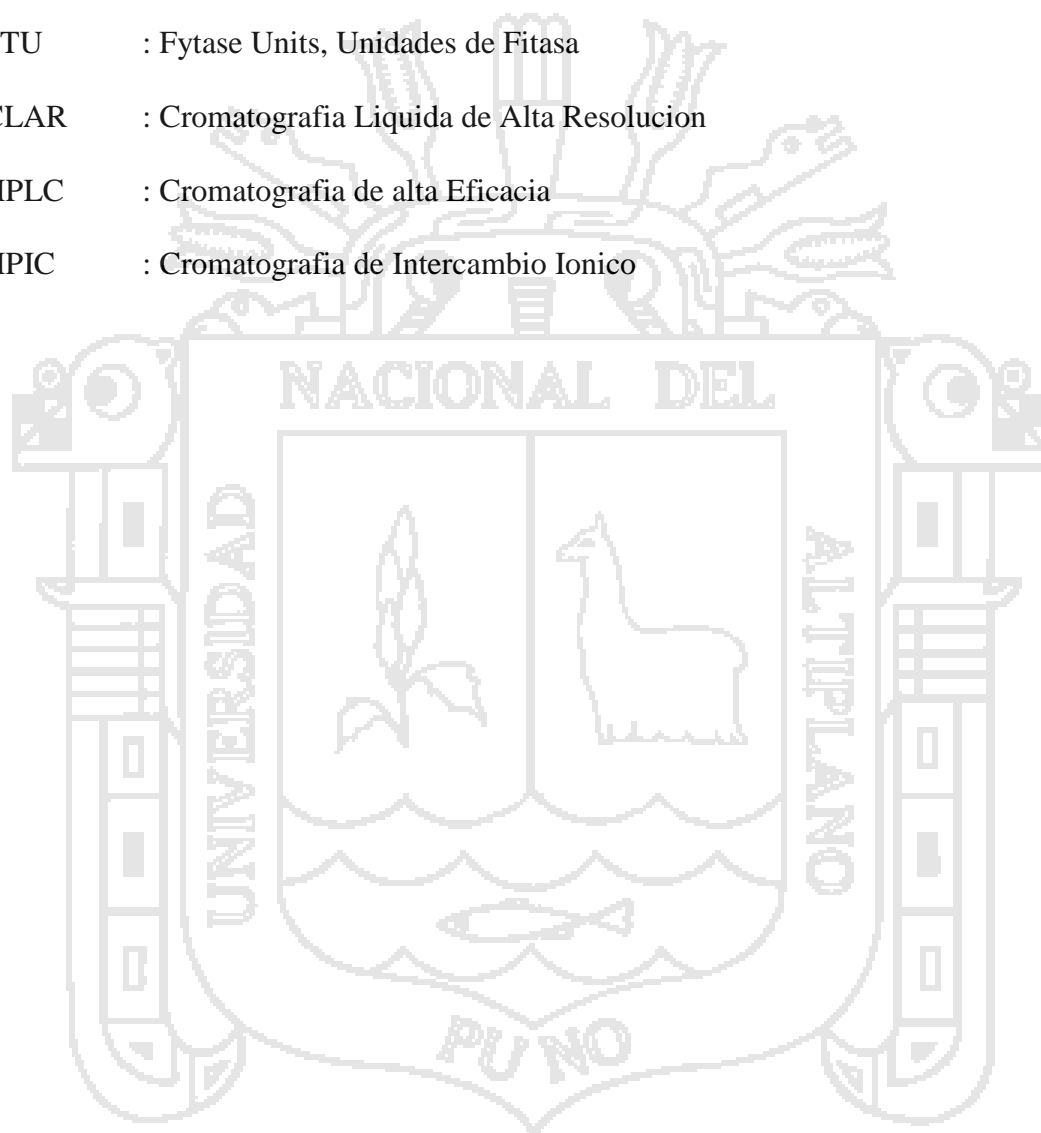
Anexo 28	Prueba de significancia de Duncan ( $p = 0.05$ ) contenido de Hierro en la Sangre.....	139
Anexo 29	Análisis de Varianza para Hierro en la HÍGADO.....	140
Anexo 30	Prueba de significancia de Duncan ( $p = 0.05$ ) contenido de Hierro en el Hígado.....	140
Anexo 31	Análisis de Varianza para Hierro en las HECES.....	141
Anexo 32	Prueba de significancia de Duncan ( $p = 0.05$ ) contenido de Hierro en la Heces.....	141
Anexo 33	Análisis de Varianza para Hierro en la ORINA.....	142
Anexo 34	Prueba de significancia de Duncan ( $p = 0.05$ ) contenido de Hierro en la Orina.....	142
Anexo 35	Análisis Químico Proximal de la Papilla de PRONAA.....	143
Anexo 36	Datos Estadísticos Descriptivos de Inositol Fosfato Encontrados en la Papilla de PRONAA (mg/100g).....	144
Anexo 37	Análisis Químico Proximal de los Tratamientos.....	145
Anexo 38	Análisis Químico Proximal de los Tratamientos.....	145
Anexo 39	Datos estadísticos descriptivos de IP6 (mg/100g) encontrados en los tratamientos con respecto al factor concentración de fitasa.....	146
Anexo 40	Datos estadísticos descriptivos de IP6 (mg/100g) encontrados en los tratamientos con respecto al factor temperatura.....	147

Anexo 41	Datos Estadísticos Descriptivos de Hierro en la Sangre (mg/100g) Encontrados en los Tratamientos con respecto al factor Temperatura.....	148
Anexo 42	Datos Estadísticos Descriptivos de Hierro en la Heces (mg/100g) Encontrados en los Tratamientos con respecto al factor Concentración de Fitasa.....	149
Anexo 43	Datos Estadísticos Descriptivos de Hierro en la Heces (mg/100g) Encontrados en los Tratamientos con respecto al factor Temperatura.....	150
Anexo 44	Porcentaje de valor biológico.....	151
Anexo 45	FOTOGRAFÍAS.....	152



## ÍNDICE DE SIGLAS

IP	: Inositol Fosfato
IUPAC-	: The International Union of Pure and Applied Chemistry and the
IUB	:International Union of Biochemistry.
FTU	: Fytase Units, Unidades de Fitasa
CLAR	: Cromatografía Liquida de Alta Resolución
HPLC	: Cromatografía de alta Eficacia
HPIC	: Cromatografía de Intercambio Ionico





## RESUMEN

En la presente investigación se realizó cuatro tratamientos en papillas infantiles, los cuales fueron aplicados con enzima fitasa procedente de *Aspergillus Níger* a dos concentraciones y temperaturas; Adicionalmente se tuvo un tratamiento control sin fitasa ni sometido a temperatura. Estos tratamientos se sometieron a un proceso de desfitinización. Se analizaron los contenidos de hierro (Fe) e inositol fosfato (IP6) presentes en las muestras, así mismo se analizaron los cambios en las concentraciones de inositol fosfato (IP6) presente en las muestras después del proceso de desfitinizado, Se determinó el valor biológico (VB) en los animales (Ratas albinas cepa holtzman) alimentados con la papilla desfitinizada, también se evaluó la absorción de hierro por los animales alimentados con papilla desfitinizada. Los resultados indican que es posible incrementar la absorción de hierro en alimentos tratados con enzimas fitasa; pues los contenidos de inositol fosfato IP6 disminuyeron en las muestras tratadas con la enzima fitasa T3-1223 < 110.52mg/100g, seguido del tratamiento T1-1221 < 112.35mg/100g. A comparación de la muestra control que fue igual a 150.32mg/100g; Los animales alimentados con papillas desfitinizadas tuvieron mayor absorción de hierro T4-1224 con un valor de 3.520 mg de hierro en 100g de sangre, seguido de T3-1223 con un valor de 3.359 mg de hierro en 100g de sangre. En comparación del grupo control 3.126mg de hierro en 100g de sangre. Las papillas desfitinizadas redujeron significativamente la eliminación de hierro por excreción fecal, T4-1224 con un valor de 0.325mg de hierro en 100g de heces, En relación a la papilla sin desfitinizar que mostro un valor de 0.572mg de hierro en 100g de heces. La evaluación de valor biológico (VB) fue la siguiente el T3-1223 obtuvo un VB de 73.17% este VB es superior a lo encontrado en la papilla sin desfitinizar que mostro un VB de 66.67%.

## I. INTRODUCCIÓN

En un gran número de países en vías de desarrollo, las hojuelas de cereales son introducidos en la alimentación infantil antes de los cuatro meses de edad. Esta práctica suele asociarse al desarrollo de enfermedades carenciales, fundamentalmente debidas a deficiencias en hierro. El ácido fítico es el principal antinutriente presente en los cereales, se encuentra presente en altas concentraciones en granos de cereales y en legumbres (1-2 %) y puede inhibir de forma significativa la absorción de minerales mediante la formación de complejos insolubles con minerales de interés nutricional, como el hierro impidiendo su absorción (Hurrell *et al.*, 1992).

Durante la infancia y adolescencia, la dieta influye en gran manera, no sólo sobre la salud inmediata de los individuos sino también sobre la salud de las personas adultas. Un adecuado aporte de minerales en estas edades es muy necesario, ya que una deficiencia de los mismos, puede causar la aparición de enfermedades y de graves alteraciones en el metabolismo; durante estas etapas de la vida, se produce la disminución del crecimiento corporal y la demanda de nutrientes es mayor, se hace necesario optimizar la absorción de los nutrientes (Frontela, 2007).

La presencia de factores anti nutricionales en los alimentos interfieren la disponibilidad de minerales de interés para el desarrollo en la captación de minerales, Por ello es de suma importancia el estudio de la influencia que ejerce el ácido fítico sobre la absorción mineral. El desarrollo de estrategias en la industria alimentaria que permitan incrementar la disponibilidad de nutrientes en los alimentos adquiriendo una gran importancia el procesado de los alimentos. Aunque se ha comprobado que procesos como

la molienda, la germinación o la fermentación de las semillas de cereales reducen los niveles de ácido fítico (Hurrell, 2004).

La adición de fitasa exógena permitiría obtener productos con mejor valor nutricional, beneficiosos para la salud y que mantengan intactas sus propiedades nutricionales. Estos alimentos podrían ser catalogados como alimentos funcionales. Por lo tanto se planteó como propósito de investigación reducir los componentes anti nutrientes que tienen los cereales de los cuales están elaboradas las papillas infantiles y que estas tengan un mejor valor nutricional, por estas consideraciones se planteó los objetivos siguientes:

- Determinar el contenido de Hierro (Fe) total e inositolos fosfato (IP6) que se encuentra en la papilla infantil sin la adición de enzima fitasa.
- Evaluar la eliminación de inositolos fosfato de la papilla infantil realizando tratamientos a dos concentraciones de la enzima fitasa y a dos temperaturas.
- Evaluar la absorción del hierro en animales de laboratorio alimentados con papilla infantil desfitinizada, mediante la evaluación de digestibilidad.
- Determinar el valor biológico de la proteína a través de ratas albinas cepa holtzman, alimentados con papilla infantil desfitinizada.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 ENZIMAS FITASA

#### 2.1.1. FITASA

Las fitasas digestivas e intrínsecas son enzimas que degradan el fósforo fítico produciendo ortofosfatos inorgánicos, ésteres fosfóricos y mio-inositol, lo que permite que una mayor fracción del fósforo orgánico sea transformada en una forma aprovechable para el animal. Consecuentemente, para comprender mejor la utilización del fósforo fítico presente en granos de cereales, se caracterizó químicamente el fósforo y la actividad fitásica intrínseca en granos de cereales (trigo, maíz y arroz) (Hernández *et al.*, 2006), el fitato constituye 1 a 4 % del peso de los cereales y usualmente va de 60 a 90 % del fósforo total. Las fitasas pueden ser derivadas de varias fuentes como plantas, animales y microorganismos. Se ha observado que las fuentes microbianas son más prometedoras para la producción comercial de fitasas y en alimentos basados en cereales (De Angelis *et al.*, 2003).

La fitasa forma parte de un subgrupo de enzimas de la familia de las fosfatasas ácidas. En términos generales, podrán ser consideradas fitasas todas aquellas enzimas que exhiban capacidad para hidrolizar el ácido fítico (Gibson y Ullah, 1990). Además se han mencionados excepciones como es una fitasa alcalina del polen de la azucena, la cual inicialmente hidroliza el grupo 5-fosfato (Barrientos *et al.*, 1994). Caracterizándose generalmente las fitasas fúngicas y bacterianas por liberar cinco de los seis fosfatos (Wyss *et al.*, 1999).

Las fitasas tienen como función el catalizar la hidrólisis de los fosfatos monoesterificados del ácido fítico dando lugar de forma progresiva a la formación de

diversos fosfatos de Inositol (Brenes *et al.*, 2002). En general la fitasa puede actuar no solo sobre el Inositol hexafosfato (IP6), sino también sobre inositoles fosfato menores como Inositol pentafosfato, Inositol tetrafosfato e Inositol trifosfato (IP5, IP4 y IP3). El comportamiento de la fitasa es claramente diferente dentro de cada legumbre debido, en parte al heterogéneo contenido en inositoles fosfato de cada especie (Frias *et al.*, 2003).

La fitasa es también importante al producir determinados productos de degradación del ácido fítico (IP3 e IP4) muy interesantes en estudios cinéticos y fisiológicos. Después de identificar cada uno de estos productos, que inducen efectos fisiológicos positivos para la salud, la utilización de fitasa debería encontrar una aplicación en el procesado de alimentos para producir alimentos con un valor nutritivo mejorado, beneficiosos para la salud, sin alterar sus propiedades nutricionales, funcionales y sensoriales (Konietzny y Greiner, 2002).

### 2.1.2. TIPOS DE FITASA

Existen diferentes criterios para la clasificación de las fitasas:

Basándonos en su pH óptimo, las fitasas se pueden clasificar en fitasas ácidas y alcalinas. Además, si se tiene en cuenta la posición del carbono del anillo de mio-inositol en la molécula de fitato por el que la fitasa comienza el proceso de desfosforilación (Greiner y Konietzny, 2006). La fitasa es una enzima que degrada a los fitatos para liberar fósforos y otros nutrientes, pertenece al grupo de las fosfatasa ácidas, catalizan la unión hidrolítica de los ésteres de ácido fosfórico de Inositol y por lo tanto libera orto fosfatos que pueden ser absorbidos. Al mismo tiempo se puede desligar minerales como el Calcio, Hierro y el Magnesio y ser convertidos a formas absorbibles (Coon y Leske, 1998).

### 2.1.3. Fitasas Exógenas

Las fitasas sintéticas que hidrolizan ácido fítico, al igual que las intrínsecas de los vegetales, son llamadas fitasas (Mio-inositol hexafosfato hidrolasa). Son fosfomonoesterasas capaces de hidrolizar el ácido fítico (mio-inositol 1, 2, 3, 4, 5, 6 hexakisfosfato) produciendo ortofosfatos inorgánicos y una pequeña proporción de esteres fosfóricos, pentafosfato a monofosfato, como productos intermediarios, y finalmente a mio-inositol libre (Harland y Morris, 1995). La IUPAC-IUB (1976) ha reportado la 3-fitasa la cual hidroliza primero la posición 3 del mio-inositol a 1, 2, 4, 5, 6-pentakisfosfato, aislada en animales y microorganismos (Lasztity y Lasztity, 1988).

Las fitasas microbianas son usadas para reducir el contenido de ácido fítico y se ha probado la capacidad de varios microorganismos para producir fitasa; algunos de ellos se usaron en la reducción del contenido de ácido fítico en harina de soya y harina de maíz durante un estado sólido de fermentación. Las fitasas exógenas se han encontrado en microorganismos como hongos (*Aspergillus sp*), levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*) y bacterias (*Bacillus subtilis*). Las fitasas obtenidas del *Aspergillus sp* siguen un orden para la hidrólisis de fitato, es decir, después de liberar el fosfato de la posición 3, continúa en el 4, 5, 6 y 2 (Venekamp *et al.*, 1995).

La fitasa producida por el *Aspergillus ficuumm* es una glicoproteína purificada, con una actividad enzimática que varía con la temperatura y cambios de pH; la temperatura óptima de la enzima es 60 a 70 °C, pero a 68 °C durante 10 min, la actividad se reduce 60 %. Las enzimas de *Aspergillus niger* son termoestables, resistentes al proceso de peletización y su actividad mínima es 5000 FTU g<sup>-1</sup> (Nasi, 1990). Las enzimas tienen actividad a pH 2.5 y 5.5, siendo 40 % menos efectiva a pH 2.5. Es

importante debido a que la mayor absorción de fósforo ocurre en las proximidades del intestino delgado, donde el pH 5.5 es óptimo para que la fitasa hidrolice los fosfatos y es necesario que la enzima se active en el medio ácido (pH 2.5) del estómago (Power y Khon, 1993).

### 2.1.3.1. Fitasas Vegetales

La mayoría de los componentes alimenticios de origen vegetal tienen actividad fitásica intrínseca variable. Se ha encontrado fitasa en arroz, trigo, maíz, soya, lechuga, frijoles enanos, alubias, centeno, leguminosas y oleaginosas, pero sólo la fitasa de cotiledones de trigo, alubias y soya se ha purificado, homogenizado y caracterizado. En la germinación de granos o polen, la fitasa puede degradar la fitina. El incremento en la actividad de la fitasa es concomitante con una disminución del ácido fítico durante la germinación; sin embargo, si se eleva la actividad de la fitasa se debe a la activación de la enzima preexistente o a la síntesis de la nueva proteína. En granos de cereales y oleaginosas la actividad fitásica, expresada como porcentaje de la actividad total, se encuentra principalmente en la aleurona (39.5 %) y en el endospermo (34.1 %); la actividad restante se ubica en el escutelo (15.3 %), testa (4.8 %), germen (2.9 %) y capas epidérmicas (1.9 %). Son fosfomonoesterasas, llamada también 6-fitasas (EC 3.1.3.26), por comenzar la hidrólisis del mioinositol en el fosfato en posición 6 (El-Batal y Abdel, 2001).

La actividad fitásica en el intestino se encontró por primera vez en ratas; luego se comprobó que dicha actividad está en la mucosa del duodeno de cerdos, conejos, becerros y pollos (Bitar y Reinhold, 1972), con la forma de meso-inositol-hexafosfato fosfohidrolasa. El uso de fitasa como suplemento es una forma para incrementar la

disponibilidad de fósforo en dietas basadas en granos para animales, además, para reducir la contaminación con fosfato en el ambiente (Xiao-Yun *et al.*, 2004).

## **2.2 NECESIDADES NUTRICIONALES EN NIÑOS**

El ser humano está integrado por un conjunto de órganos y tejidos cuya composición y proporción va variando desde el nacimiento hasta la edad adulta, la progresión normal de estos cambios están influenciados directamente por la alimentación y el medio hormonal, su valoración constituye un indicador excelente del desarrollo de un individuo (Yeste *et al.*, 2003). Las recomendaciones dietéticas se hacen en base de análisis de requerimiento según la evidencia científica disponible y considerando la situación nutricional prevalente en una región determinada. Estos representan la cantidad de nutriente que los alimentos deben de aportar para satisfacer los requerimientos del cuerpo, se expresan como cantidades que se deben ingerir cada día pudiendo representar un promedio a ser ingerido en un periodo de tiempo determinado (Lejarra, 2001).

### **2.2.1. NECESIDADES NUTRICIONALES DE LOS MINERALES**

El organismo humano contiene aproximadamente un 4% de minerales que deben ser aportados por la dieta (Linder, 1988). Las necesidades de elementos minerales durante el primer año de vida son muy importantes ya que juegan un papel esencial en la mineralización ósea y el desarrollo físico y mental. Es necesario establecer los requerimientos nutricionales del niño para evitar las enfermedades que derivan de una insuficiencia mineral, tanto a corto plazo como en la edad adulta. En el cuadro 1, se pueden observar las recomendaciones diarias de los distintos minerales en los primeros tres años de vida, según NRC (1991).



**Tabla 1:** Recomendaciones diarias de minerales en los tres primeros años de vida.

MINERALES	EDAD		
	0 – 6 meses	6 -12 meses	1 – 3 años
Calcio	400	600	800
Fósforo	300	500	800
Magnesio	40	60	90
Hierro	6	10	10
Cinc	5	5	10
Yodo	40	50	70
Selenio	10	15	20
Cobre	0,4 – 0,6	0,6 – 0,7	0,7 – 1
Manganeso	0,3 – 0,6	0,6 – 1	1 – 1,5

Ca, P, Mg, Fe, I, Cu, Mn (mg/día): Se (µg/día).

Fuente: National Research Council (NRC) 1991.

### 2.2.2. HIERRO

El hierro es el metal de mayor abundancia en el universo y el cuarto elemento encontrado con gran frecuencia en la corteza terrestre. Ubicado en el grupo 8 - periodo 4 de la tabla periódica de los elementos, cuenta con 26 electrones dispuestos en sus respectivos orbitales atómicos y es considerado como metal de transición. El hierro se encuentra de forma natural en el suelo, formando parte de diversos minerales, en el agua y en los alimentos. En los alimentos, el hierro se encuentra formando parte de dos grupos diferentes. El hierro de tipo hémico, es el que forma parte de la hemoglobina, mioglobina, citocromos y muchas otras hemoproteínas, que se encuentran principalmente en los alimentos de origen animal. El hierro de tipo no hémico corresponde a aquel hierro que no se encuentra unido al grupo hemo; básicamente está formado por sales inorgánicas de este metal y se encuentra principalmente en los alimentos de origen vegetal. En forma sintética hace parte de la mayoría de preparados farmacéuticos utilizados en la terapia contra la deficiencia de este mineral (Keel y Abkowitz, 2009).

En el organismo el hierro se distribuye en dos compartimientos: un área de depósito que constituye la reserva corporal del metal asociado a ferritina y hemosiderina en el sistema monocito-macrofago del bazo, hígado y medula ósea y en un compartimiento funcional conformado por compuestos celulares que contienen hierro tales como mioglobina y hemoglobina o que requieren hierro como las enzimas que lo necesitan como cofactor o como grupo prostético, ya sea en forma iónica o como grupo hemo. La transferrina unida al hierro facilita su intercambio entre ambos compartimientos. Fisiológicamente, el hierro se encuentra unido a proteínas, ya que en su estado libre, tiene la propiedad de generar junto al oxígeno, radicales libres (hidroxilos peróxidos, superóxidos) que pueden causar daño por peroxidación de los lípidos de membrana y otras ferro-proteínas celulares, así como al propio ADN (Pérez *et al.*, 2005).

Las dos principales formas de almacenamiento de hierro son la ferritina y la hemosiderina, integrante de los depósitos corporales, que almacenan hasta un 30% del contenido de hierro en los varones, mientras en las mujeres estos depósitos representan solo la octava parte del total. La ferritina es la forma básica de almacenamiento, mientras que la hemosiderina resulta de la agregación de restos de ferritina parcialmente degradada, originada cuando la concentración del elemento en la ferritina es alta. El hierro se transporta unido a la transferrina en forma de Hierro férrico. La transferrina se encarga del transporte del elemento desde la superficie basolateral del enterocito a los tejidos periféricos y lo protege frente a la filtración glomerular. Supone el 0,1 – 0,2% del hierro corporal total (Mesías, 2007).

### 2.2.2.1. Grupo Hemo

El grupo Hemo está formado por un anillo orgánico complejo, llamado protoporfirina, a la que se une un átomo de hierro divalente, el que forma 6 uniones coordinadas; cuatro de ellas se forman con la protoporfirina y de las dos restantes, una lo hace con el nitrógeno de la fracción proteica y la otra queda libre como sitio de unión para una molécula de oxígeno. El hemo se sintetiza principalmente en los glóbulos rojos y en los hepatocitos. Las diferencias entre estos dos tejidos y su necesidad por el grupo hemo radica en que existen diferentes mecanismos de regulación para su biosíntesis (Solá, 2010).

En los hepatocitos, el hemo es requerido para su incorporación en los citocromos, en particular los de clase P450, que son importantes para la detoxificación y en otros citocromos de la vía de la fosforilación oxidativa que contienen hemo. El factor que regula la velocidad de la reacción en la biosíntesis del hemo hepático es el sintasa (ácido - aminolevulínico sintasa). El producto de la oxidación del  $F^{3+}$  se llama hemina y actúa como un inhibidor de la sintasa a través de un mecanismo de retroalimentación. La hemina también inhibe el transporte de la sintasa desde el citosol (en donde es sintetizada) hacia la mitocondria (su sitio de acción) y reprime la síntesis de esta enzima. En los glóbulos rojos todo el grupo hemo es sintetizado para ser incorporado en la hemoglobina, lo cual sólo ocurre durante la diferenciación cuando se da la síntesis de hemoglobina. Cuando los glóbulos rojos maduran, la síntesis tanto del grupo hemo como de la hemoglobina cesa. En los reticulocitos (eritrocitos inmaduros) el hemo estimula la síntesis de proteínas. Adicionalmente, el control de la biosíntesis del hemo en los eritrocitos ocurre en varios sitios con la ayuda del sintasa. El control de esta biosíntesis se atribuye a la ferroquetalasa, la enzima responsable para la inserción del hierro a la protoporfirina (King, 2010).

### 2.2.3. DISTRIBUCIÓN DEL HIERRO EN EL ORGANISMO

En el interior del organismo, el hierro circula por la sangre unido a transferrina. Mediante esta unión, alcanza la superficie celular de los diferentes órganos como hígado, bazo, corazón, riñón, pulmón y glándulas endocrinas entre otras. Los principales sitios de almacenamiento del hierro se encuentran en el hígado y el bazo (Gaitán *et al.*, 2006).

El hierro corporal se halla en tres componentes:

El Funcional: Comprende fundamentalmente la hemoglobina y la mioglobina aunque también la cadena transportadora de electrones, así como el hierro que forma parte del sistema enzimático requerido para la síntesis del ADN (citocromos, peroxidasas, catalasas, mieloperoxidasas).

El de Depósito: Incluye a la ferritina y a la hemosiderina.

El de Transporte: Representa el hierro unido a la beta-2globulina específica o transferrina (Wagner *et al.*, 2006).

La ferritina es una proteína especializada en el depósito del hierro. Tiene la forma de una esfera ahuecada o con una cavidad interna, que constituye la parte proteica denominada apoferritina, y que forma la cubierta que protege al hierro que se encuentra en su interior. La molécula sin el hierro se denomina apoferritina. Su vida media es de aproximadamente 50 a 75 horas (Sheng y Enns, 2009). La importancia fundamental de la ferritina es mantener almacenado el hierro en los depósitos. El hierro iónico no unido es tóxico y el hierro es esencial para la vida y debe ser conservado. Por lo tanto, el poder ser almacenado en los tejidos no solo evita su toxicidad, sino que puede ser utilizado cuando el

organismo lo requiera. La ferritina en los tejidos está completamente saturada con hierro, permitiendo de esta manera que el hierro libre pueda ser incorporado inmediatamente (Muckenthaler *et al.*, 2008).

El metabolismo del hierro constituye un sistema cerrado en el que cada átomo del elemento circula en forma repetida desde el plasma y el líquido extracelular hasta la médula ósea, donde se incorpora a la hemoglobina. Dentro de los eritrocitos ingresa a la circulación periférica y permanece en la sangre durante 120 días, después de las cuales las células rojas envejecidas son captadas por el sistema retículo endotelial (RES). Aquí la hemoglobina es digerida y el hierro es liberado al plasma con el fin de iniciar nuevamente el ciclo, una pequeña cantidad de hierro es transferida a los depósitos desde donde pasa nuevamente al plasma. Una mínima proporción de hierro se elimina a través de: orina, sudor, heces o sangre; una cantidad similar es absorbida en el tracto gastrointestinal. Es menester destacar que aproximadamente un 10% de los eritrocitos de reciente formación es destruido en la médula ósea (eritropoyesis ineficaz) y el hierro es liberado sin pasar por la sangre periférica (Fairbanks *et al.*, 2001).

#### **2.2.4. ABSORCIÓN Y METABOLISMO DE HIERRO**

En un individuo normal, las necesidades diarias de hierro son muy bajas en comparación con el hierro circulante, por lo que sólo se absorbe una pequeña proporción del total ingerido. Esta proporción varía de acuerdo con la cantidad y el tipo de hierro presente en los alimentos, el estado de los depósitos corporales del mineral, las necesidades, la actividad eritropoyética y una serie de factores lumenales e intralumenales que interfieren o facilitan la absorción (Reddy, 2006).

#### 2.2.4.1. Metabolismo del Hierro

El hierro ( $Fe$ ), tiene la capacidad de aceptar y donar electrones, pudiendo encontrarse por ello en el organismo en su forma ferrosa ( $Fe^{2+}$ ) que dona electrones, o en forma férrica ( $Fe^{3+}$ ) que los acepta. Esta capacidad del  $Fe$  hace que sea un componente útil en citocromos, moléculas portadoras de oxígeno (mioglobina y hemoglobina) y muchas enzimas. Sin embargo, es ésta una reacción que no está exenta de riesgo, ya que el  $Fe$  puede catalizar la conversión de  $H_2O_2$  a radicales libres que, como es sabido, son potentes tóxicos que atacan a: membranas, proteínas celulares y al ADN (Andrews, 1999).

En condiciones normales, la cantidad de hierro presente en el organismo es de 35-45 mg/kg de peso. El 60-70% del  $Fe$  se encuentra en la Hb, un 10% en otras hemoproteínas, como la mioglobina, y algunas enzimas y citocromos, y el resto en depósitos unido a la ferritina y en menor cuantía a la hemosiderina. La cantidad de hierro presente en los depósitos en las mujeres durante su vida reproductiva suele ser inferior a la de los hombres debido a las pérdidas discontinuas de sangre durante el ciclo menstrual. Solamente un 1% del hierro está unido a la transferrina, aunque éste es el pool dinámico más importante (Muñoz *et al.*, 2005).

#### 2.2.4.2. Absorción Intestinal del Hierro

El hierro se ingiere con los alimentos y una dieta normal en nuestro medio contiene unos 6 mg/1000 calorías, lo que supone que una ingesta alimentaria adecuada aporta 10-20 mg de hierro elemental. De éstos se absorbe aproximadamente el 10%, especialmente en el ribete en cepillo de las células del duodeno y de la primera porción del yeyuno, por lo que el hierro dietético que ingresa diariamente en el organismo en condiciones normales es de sólo 1-2 mg. Diversos factores a nivel de la luz intestinal permiten que la proporción de

hierro absorbida de la dieta pueda variar, dentro de éstos se encuentra la cantidad y tipo de hierro presente en los alimentos (férrico o ferroso, hierro hémico o no hémico), la presencia de sustancias que bien pueden favorecer la absorción, como el ácido ascórbico, y otros que actúan como inhibidores, tales como oxalatos, fitatos, taninos, calcio, antiácidos y el pH. Igualmente, el estado de los depósitos y necesidades corporales de hierro, así como de la actividad de la eritropoyesis, como se verá más adelante modulan el ingreso de hierro al organismo (Toblli, 2008).

A nivel del enterocito se han identificado tres vías diferentes a través de las cuales el hierro puede pasar de la luz intestinal al interior del enterocito. Cada una de estas vías o mecanismos están relacionadas con los tipos de hierro presentes en los alimentos y con su estado de óxido-reducción. El hierro tipo hemo ó hémico, que se encuentra principalmente en las carnes rojas y el pescado se absorbe utilizando un transportador especial conocido con el nombre de proteína transportadora de Hemo 1 (PCH-1, por sus siglas en inglés). Este tipo de hierro atraviesa la membrana celular como molécula intacta, y ya dentro del enterocito el hierro es liberado de la estructura tetrapirrólica del grupo hemo por mecanismos, aún no muy bien dilucidados, en los que participa la hemo-oxigenasa. Este hierro hemo representa una pequeña proporción del hierro total de la dieta, pero su absorción es superior a la de cualquier otra forma de hierro y es la menos afectada por los componentes de los alimentos (Weiss, 2003).

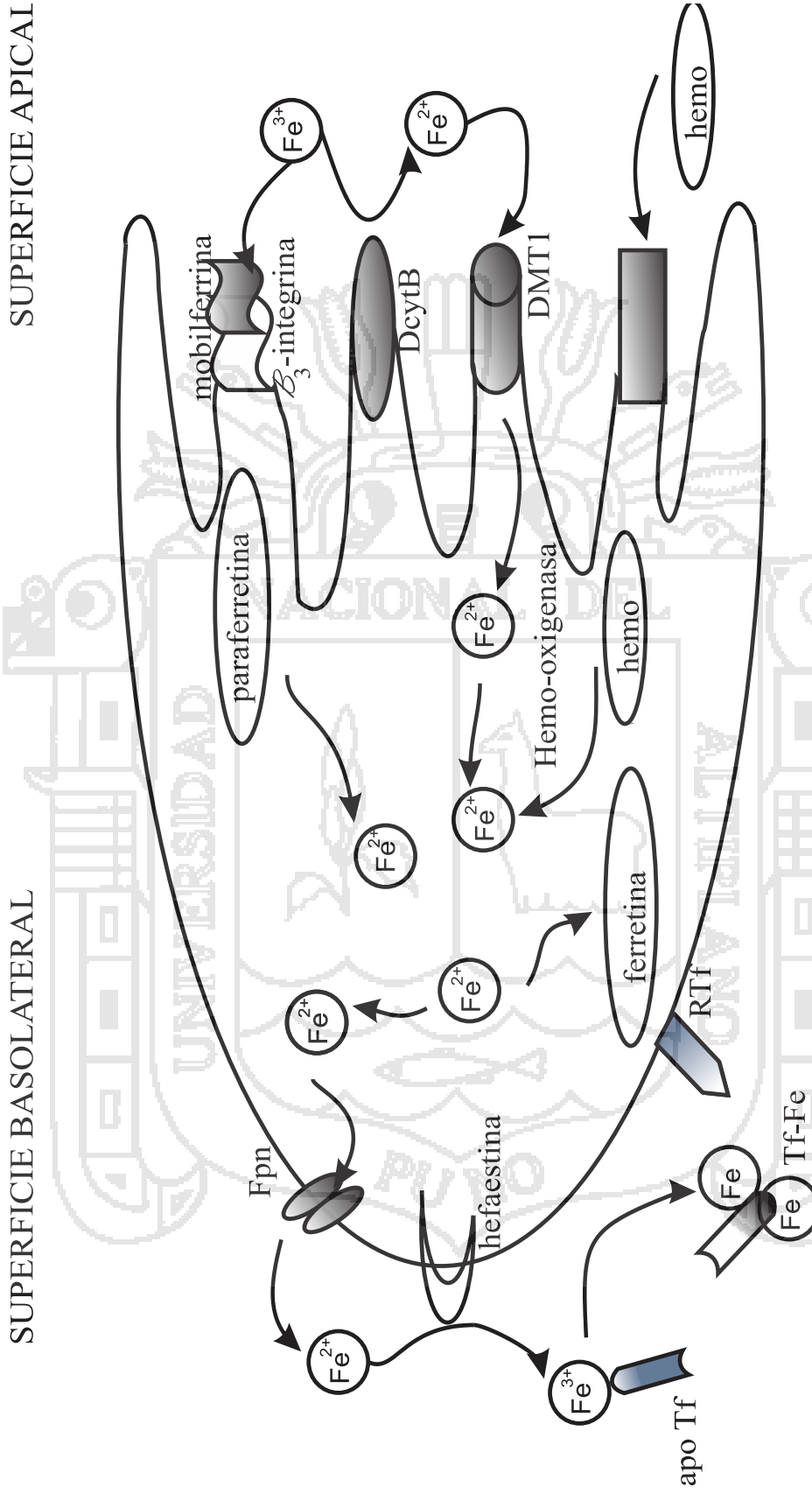
El hierro no hémico, es el más abundante y se encuentra presente en las verduras, cereales, legumbres y frutas en forma férrica ( $Fe^{3+}$ ). La absorción de este tipo de hierro ocurre por un transportador conocido como complejo mobilferrin-3-integrina, que lo introduce al citoplasma, pero de forma ineficiente, por lo que el hierro en forma férrica ( $Fe^{3+}$ ) es transformado a nivel del ribete en cepillo del enterocito a la forma ferrosa o

reducida ( $F^{2+}$ ), por una reductasa intestinal, el citocromo b duodenal, (Dcytb, por sus siglas en inglés) (Biergard *et al.*, 2005). Los diferentes mecanismos descriptos para la absorción de hierro, esquematizados en la Figura 1, se resumen a continuación:





**Fig. 1:** Mecanismo de absorción intestinal de Hierro (Pérez *et al.*, 2005).



Tf: transferrina, RTf: receptor de transferrina, DMT1 (divalent metal transporter 1): transportador de metales divalentes, DcytB (duodenal cytochrome b): reductasa duodenal, Fpn (ferroportin): proteína exportadora de hierro.

Una vez en el interior del enterocito, el metal absorbido a través de cualquiera de las vías descritas es convertido a su estado ferroso, paso que es realizado por un gran complejo proteico citoplasmático llamado paraferitina. El mismo incluye proteínas como  $\beta$ 3-integrina, mobilferrina, flavin mono-oxigenasa y  $\beta$ 2-microglobulina y utiliza una cadena de transporte de electrones con energía derivada de NADPH para llevar a cabo la reducción del hierro absorbido (Pérez *et al.*, 2005). Posteriormente, los iones ferrosos pueden ser almacenados en la ferritina o alcanzar la membrana basolateral del enterocito donde son conducidos por la proteína transportadora transmembrana ferroportina (Thomas y Oates, 2005).

No existe una vía fisiológica para la excreción de este metal esencial, su absorción a nivel duodenal está cuidadosamente regulada para mantener un equilibrio entre la incorporación y la pérdida corporal. La membrana basolateral del enterocito expresa receptores para transferrina que permiten la entrada del hierro transportado por esta proteína. El metal incorporado en este proceso “informa” a la célula sobre el estatus férrico del organismo, induciendo la regulación negativa de su captación vía receptor de transferrina e integrina-mobilferrina (Andrews, 2005).

Sin embargo, parece que el transportador basolateral Fpn sería el principal punto de regulación de la absorción de hierro dietario en respuesta a los requerimientos sistémicos, mientras que la regulación del transporte apical serviría de mecanismo de seguridad. La hepcidina, un pequeño péptido antimicrobiano producido por el hígado, se perfila como la principal responsable de esta regulación. De acuerdo con este modelo, la producción hepática de hepcidina estaría regulada por el grado de saturación de la Tf y el nivel de receptores para esta proteína a nivel hepático (RTf y RTf2), de modo que cuando la relación

Tf-diférrica/RTf aumenta, se induce la secreción de hepcidina. La unión de esta hormona proteica a la Fpn induce la internalización y posterior degradación de la proteína transportadora. Como consecuencia de la disminución de la exportación de hierro, se produce la inhibición de su adquisición por parte de la Tf plasmática y el aumento de la concentración del metal en el enterocito que, a su vez, conduciría a una inhibición de su transporte apical. Por el contrario, cuando la relación Tf-diférrica/RTf disminuye, cesa la producción hepática de hepcidina y se restaura la absorción de hierro (Ganz, 2003). La regulación post-traducciona de la Fpn por hepcidina completa un círculo homeostático: el hierro regula la secreción de hepcidina, la cual a su vez, controla la concentración de Fpn en la superficie basolateral de los enterocitos (Steele *et al.*, 2005).

#### **2.2.4.3. Regulación de la Absorción del Hierro**

En el estudio de la homeostasis del hierro se han implicado en los últimos años diversos genes y proteínas entre las cuales la hepcidina es catalogada actualmente como la hormona responsable del control de la absorción intestinal de hierro y su utilización por los macrófagos (Vyoral y Petrák, 2005).

La homeóstasis del hierro en el organismo se basa tanto en el control de la absorción intestinal del mineral, como de su reciclaje por los macrófagos. La comunicación entre las reservas hepáticas de hierro, los macrófagos y los enterocitos duodenales, esta mediada por la hepcidina. La hepcidina es una hormona peptidica producida por los hepatocitos que influye directamente en la expresión de la ferroportina en los enterocitos maduros del duodeno, y de ésta forma regula la absorción de hierro en respuesta a los requerimientos corporales del mineral; así el cuerpo puede responder rápida y adecuadamente a los cambios en las demandas de hierro por ajuste de la liberación del metal a partir de los enterocitos

duodenales y posiblemente de los macrófagos del sistema retículo endotelial. Este modelo explicaría la regulación de la absorción en condiciones normales y en casos de alteración en su absorción (Muckenthaler *et al.*, 2008).

Los mamíferos poseen mecanismos para mantener la homeostasis del hierro mediante la modulación de la expresión de la hepcidina hepática. La biodisponibilidad del hierro es definida como la eficiencia con la cual el hierro obtenido de la dieta es utilizado biológicamente, depende del tipo de hierro que se suministre en los alimentos, de la cantidad del mismo, de la combinación de alimentos en la dieta, el estado de oxidación del hierro y de algunos eventos que modifiquen la movilización de hierro entre los tejidos o la absorción del mismo como: la eritropoyesis aumentada, la hipoxia y las infecciones, así mismo, algunos de los inhibidores de la absorción de hierro son la ingesta crónica de alcalinos, fosfatos, fitatos y taninos (Gaitán *et al.*, 2006).

#### **2.2.4.4. Inhibidores de la Absorción del Hierro**

Estudios demostraron que el ácido fítico es el principal inhibidor en la absorción de hierro de los alimentos a base de cereales tales como trigo, frijol de ojo negro, sorgo, arroz, judías y mijo. Se ha observado que incluso pequeñas cantidades de ácido fítico tienen un fuerte efecto inhibitorio en trigo y soja; se observó que 1 mol de ácido fítico es capaz de acomplejar a 6 moles de ión férrico (Rossander-Hulthen *et al.*, 1990; Hurrell *et al.*, 1992).

Los detalles del mecanismo por los que los fitatos inhiben la absorción de hierro aún no han sido caracterizados (Lynch, 2000). El fitato monoférrico, que constituye solamente una pequeña proporción del ácido fítico existente en el salvado, no tiene propiedades, pero la formación de complejos fitato diférrico y tetraférrico en el tracto gastrointestinal podría dar lugar a hierro no disponible para la absorción. Sin embargo, el

ácido fítico puede ser degradado mediante la activación de la Fitasa endógena o por la adición de Fitasa exógena (Hurrell, 2003).

### **2.2.5. ELIMINACIÓN DE HIERRO**

La pérdida obligatoria eliminada diariamente de este elemento oscilan entre 1 y 2 mg/día, fundamentalmente a través de las heces (0,6 mg/día), procedentes de la bilis, de las células de la mucosa y de diminutas cantidades de sangre. Cantidades menores se pierden con las células descamadas y con el sudor (de 0,2 a 0,3 mg/día). La excreción férrica fundamentalmente se produce a través de las heces, siendo mínima las pérdidas urinarias (menos de 0,1 mg/día). En las mujeres hay que añadir las pérdidas relacionadas con las hemorragias menstruales, calculados entre 0,4 y 0,5 mg/día (Cole *et al.*, 1971).

### **2.2.6. DEFICIENCIA DE HIERRO**

La deficiencia de hierro surge cuando la cantidad ingerida no satisface las necesidades del organismo, ya sea por la ingesta insuficiente, una absorción deficiente o un exceso en la pérdida fisiológicas causadas por hemorragias, lesiones o enfermedades. La deficiencia de hierro es el déficit nutricional más común tanto en los países industrializados como en vías de desarrollo (Shafir *et al.*, 2006).

Afectando aproximadamente al 20 – 30% de la población. La mayoría de los casos ocurren en los países en vías de desarrollo donde las condiciones sanitarias y nutricionales no son adecuadas, y afecta principalmente al grupo de edad en los que los requerimientos o las pérdidas fisiológicas de hierro están aumentados, como es el caso de los niños y mujeres en edad reproductiva (Swanson, 2003).

### 2.3 FACTORES NO NUTRITIVOS

Dentro de las plantas destinadas a la alimentación, las leguminosas son unas de las más interesantes por su gran potencial nutritivo. Sin embargo, la utilización de sus nutrientes (proteínas, carbohidratos, minerales) se ve limitada por la presencia de una serie de compuestos de carácter no nutritivo que obstaculizan su aprovechamiento y que producen efectos fisiológicos y bioquímicos adversos en humanos y animales, pudiendo llegar a presentar toxicidad en algunos casos. Es por ello, que a estos compuestos se les ha designado tradicionalmente como “factores antinutritivos” y en los últimos tiempos como “factores no-nutritivos” (Bartholomai *et al.*, 2000).

Hasta ahora, se había pensado que para lograr una mejor utilización de las leguminosas, era necesario eliminar estos factores. Sin embargo, datos recientes apoyan la idea de que en la proporción adecuada pueden tener un papel beneficioso para la salud, por lo que empiezan a considerarse compuestos activos capaces de ejercer un efecto biológico, ya sea en el propio intestino o fuera de él, una vez absorbidos. De hecho, se les reconoce como: prebióticos, protectores del sistema circulatorio, reductores de la presión sanguínea, reguladores de la glucemia y los anticancerígenos, mejoradores de la respuesta inmune, etc., y por ello, actualmente se les denomina “factores nutricionalmente activos” (Muzquiz *et al.*, 2004).

Es muy importante tener en cuenta la concentración y frecuencia de consumo, así como la interacción con otros componentes de la dieta, para que estos factores sean considerados antinutrientes o pronutrientes, o dicho de otra forma, con efectos nocivos o beneficiosos para la salud. Estos compuestos, que no tienen una función nutricional clásicamente definida o no son considerados esenciales para la salud, pero que pueden tener

un impacto significativo en el curso de alguna enfermedad, se les identifica como fitoquímicos, y las leguminosas que los contienen son consideradas alimentos funcionales, ya que proporcionan un beneficio para la salud incrementando el bienestar o disminuyendo el riesgo de enfermar (Bello, 2005).

Los factores no-nutritivos intervienen en el metabolismo secundario de las leguminosas, bien como compuestos de reserva (inositoles fosfato,  $\alpha$ -galactósidos) que se sintetizan y acumulan durante la maduración de la semilla para utilizarse a lo largo del proceso germinativo, o bien como sustancias de defensa de la planta (inhibidores de proteasas, lectinas, taninos, L-DOPA, vicina, convicina) frente al ataque de bacterias, virus, hongos, insectos y animales, incluido el hombre (Chung *et al.*, 1998).

Desde un punto de vista bioquímico son compuestos de naturaleza muy variada. Pueden ser proteínas (inhibidores de proteasas, inhibidores de  $\alpha$ -amilasas, lectinas), glúcidos ( $\alpha$ -galactósidos, vicina, convicina, saponinas), aminoácidos no proteicos (L-DOPA,  $\alpha$ -ODAP), polifenoles (taninos condensados), alcaloides, etc., por lo que su metodología de extracción y cuantificación es muy específica. Además, son compuestos que no aparecen por igual en todas las leguminosas, y sus efectos fisiológicos en el hombre y otros animales son también diferentes (Tabla 2). Así por ejemplo, los glucósidos pirimidínicos vicina y convicina, causantes del fabismo, únicamente están presentes en el género *Vicia* (Pitz *et al.*, 1980) y el ácido  $\alpha$ -oxalil-diamino-propiónico ( $\alpha$ -ODAP), causante del latirismo, sólo se encuentra en el género *Lathyrus*. Algunos de los factores no-nutritivos de mayor interés presentes en las semillas de *V. faba* son:  $\alpha$ -galactósidos, glucósidos pirimidínicos, L-DOPA, inositoles fosfato, taninos condensados o inhibidores de tripsina. Por lo que a continuación, se detallan las características particulares de cada uno de ellos (Grela *et al.*, 2001).

**Tabla 2:** Efectos fisiológicos provocados por los factores no-nutritivos de las leguminosas y cereales.

FACTORES NO-NUTRITIVOS	EFFECTOS FISIOLÓGICOS
Inositoles Fosfato	Baja disponibilidad de minerales, proteínas, almidón.
Taninos Condensados	Baja disponibilidad de minerales, proteínas, almidón.
Alcaloides	Alteraciones del SNC, depresores del crecimiento
Proteínas:	
Inhibidores de proteasas	Baja digestibilidad proteica Hipertrófica, Pancreática
Inhibidores de -amilasa	Baja digestibilidad del almidón, depresores del crecimiento
Lectinas	Baja absorción de nutrientes, depresores del crecimiento
Glúcidos:	
-galactocido	Flatulencia
Saponina	Baja absorción de nutrientes, depresores del crecimiento
Vicina/convicina	Fabismo
Aminoácidos no-proteicos:	
L-DOPA	Fabismo
-ODAP	Latirismo

Fuente: Bartholomai *et al.*, 2000; Bello, 2005; Grela *et al.*, 2001; Chung *et al.*, 1998 y Pitz *et al.*, 1980.

### 2.3.1. Inositoles Fosfato

El mio-inositol hexaquisfosfato, comúnmente conocido como ácido fítico, fue aislado en forma de derivado de calcio/magnesio de los granos de aleurona del endospermo de semillas de trigo. Su concentración relativa y su distribución en la semilla fueron descritas por primera vez en 1894, e identificado como un inositol (Cosgrove, 1980).

Es un compuesto ampliamente distribuido en las semillas de leguminosas, que puede ser degradado por fitasas (mio-inositol hexaquisfosfato fosfohidrolasas) tanto

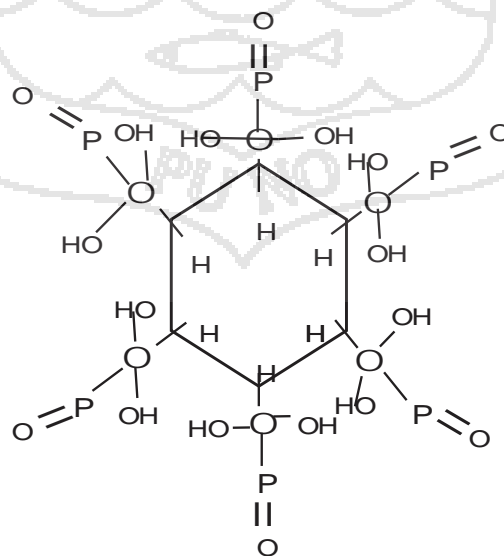


endógenas como exógenas. Estas enzimas pertenecen al grupo de las fosfatasa, y son capaces de hidrolizar secuencialmente el IP6 a ésteres de mio-inositol con menor número de grupos ortofosfato (mio-inositol pentaquis-, tetraquis, tri, di y monofosfato) y fosfato inorgánico. Se conocen dos tipos de fitasas: 3-fitasas y 6-fitasas, que inician la desfosforilación del anillo de mio-inositol en la posición 3 y 6, respectivamente. Las 3-fitasas suelen estar presentes en microorganismos, mientras que las 6-fitasas se encuentran generalmente en las semillas de plantas superiores (Greiner *et al.*, 2002).

### 2.3.1.1. Estructura y Nomenclatura

Anderson (1914), propuso la primera estructura de la molécula de ácido fítico comprobada y aceptada actualmente. El ácido fítico consiste en un anillo de inositol esterificado con seis grupos de ácido fosfórico. Dependiendo de la posición de éstos en el anillo (axial o ecuatorial) podemos encontrar nueve isómeros distintos. En las plantas se ha aislado el mio-inositol, también llamado ácido fítico y cuya estructura química se muestra en la Figura 2.

Fig. 2: Estructura molecular del ácido fítico propuesta por Anderson (1914).  $C_6H_{18}O_{24}P_6$



### 2.3.1.2. Método Analítico

Debido a la importancia que tiene la identificación y cuantificación de los inositoles fosfato, tanto por sus propiedades antinutritivas, como por sus efectos beneficiosos para la salud descubiertos en los últimos tiempos, se han ido desarrollado procedimientos cada vez más especializados para su determinación. Los primeros métodos analíticos estaban basados en las observaciones realizadas por Heubner y Stadler. Dichos autores comprobaron que el ión férrico formaba con el ácido fítico un complejo insoluble que se precipitaba a pH ácido. Esta propiedad constituyó la base de la mayoría de las técnicas iniciales para la determinación del ácido fítico. Estos ensayos se basaban en la extracción de la muestra en medio ácido, precipitación del complejo fitato  $Fe^{3+}$  por adición de ión férrico y estimación del contenido de ácido fítico a través de la cuantificación del fósforo, inositol o hierro del precipitado. Son métodos laboriosos y poco sensibles, pero el principal inconveniente es que carecen de especificidad para distinguir al ácido fítico de sus derivados parcialmente desfosforilados que coprecipitan, produciéndose así una sobreestimación del IP6 (Xu et al., 1992).

Harland y Oberleas (1986), desarrollaron un método en el que se utilizaba una columna de intercambio aniónico para eliminar el fósforo inorgánico y concentrar el ácido fítico. A continuación se realizaba una hidrólisis ácida, y el fósforo liberado del IP6 se cuantificaba colorimétricamente. Este procedimiento analítico fue modificado por Ellis y Morris, ya que el Inositol Hexafosfato (IP6) presente en el extracto ácido se encontraba ligado a proteínas, metales y otros componentes que dificultaban su extracción. Posteriormente fue adoptado por la Association of Official Agricultural Chemists (AOAC) como método oficial para la determinación de ácido fítico (Harland y Oberleas, 1986), a

pesar de que su contenido se sobrevalora cuando están presentes los productos de su hidrólisis (Lehrfeld y Morris, 1992).

Determinar el IP6 por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) utilizando una columna de fase reversa C18 y un detector de índice de refracción, ya que estos compuestos no absorben luz visible ni ultravioleta. Como paso previo a su análisis por CLAR (Graf y Dintzis, 1982) mostraron la necesidad de emplear una columna de intercambio aniónico en el proceso de purificación y concentración de la muestra, y así eliminar los sólidos solubles que pudieran eluir al mismo tiempo que el IP6. Con la fase reversa convencional utilizada por estos autores, es difícil cuantificar el pico del ácido fítico, ya que coincide con el frente del solvente.

Lee y Abendroth (1983) resuelven este problema con la introducción del par iónico en la columna de fase reversa, separando así el frente del solvente del analito. En los trabajos quedó demostrado que la CLAR de par iónico en fase reversa proporciona una alta eficacia en la separación y cuantificación de inositoles tri, tetra, penta y hexafosfato, ajustando el pH de la fase móvil de 7,1 a 4,3. Aunque con el objeto de reducir el tiempo de análisis, sustituye la columna de fase reversa C18, por una columna polimérica PRP-1 con valores reproducibles y una excelente resolución de los compuestos, siendo un método muy adecuado para analizar individualmente los inositoles fosfato presentes en legumbres. Otro procedimiento utilizado para cuantificar inositoles fosfato individualmente, es la CLAR de intercambio aniónico desarrollada y utilizada por diversos investigadores en los últimos años. Para la separación de estas moléculas son necesarias columnas de intercambio aniónico, y generalmente, a partir de los productos de reacción post-columna, se produce su detección ultravioleta. El inconveniente de estos métodos es que para la separación de los inositoles fosfato se requieren tiempos superiores a los de CLAR de par iónico. Además, es

necesaria la derivatización previa de estos compuestos para poder medir su absorbancia (Chen, 2004).

### 2.3.1.3. Ácido Fítico en las Plantas

El ácido fítico es en las plantas el mayor depósito de fósforo de que éstas disponen, ya que del fósforo total presente en las plantas, un 60-90% se encuentra en forma de fitato (Cherian, 1980). Es sintetizado a partir de glucosa 6-P, y se localiza en los granos y semillas de cereales, legumbres y oleaginosas; encontrándose también en el polen, tubérculos, frutas y otros vegetales (McCance y Widdowson, 1935). En este sentido, el contenido en ácido fítico de las plantas, está altamente correlacionado con el contenido total de fósforo, Propusieron que el contenido en ácido fítico podría ser estimado mediante la determinación del fósforo total (Lolas *et al.*, 1976).

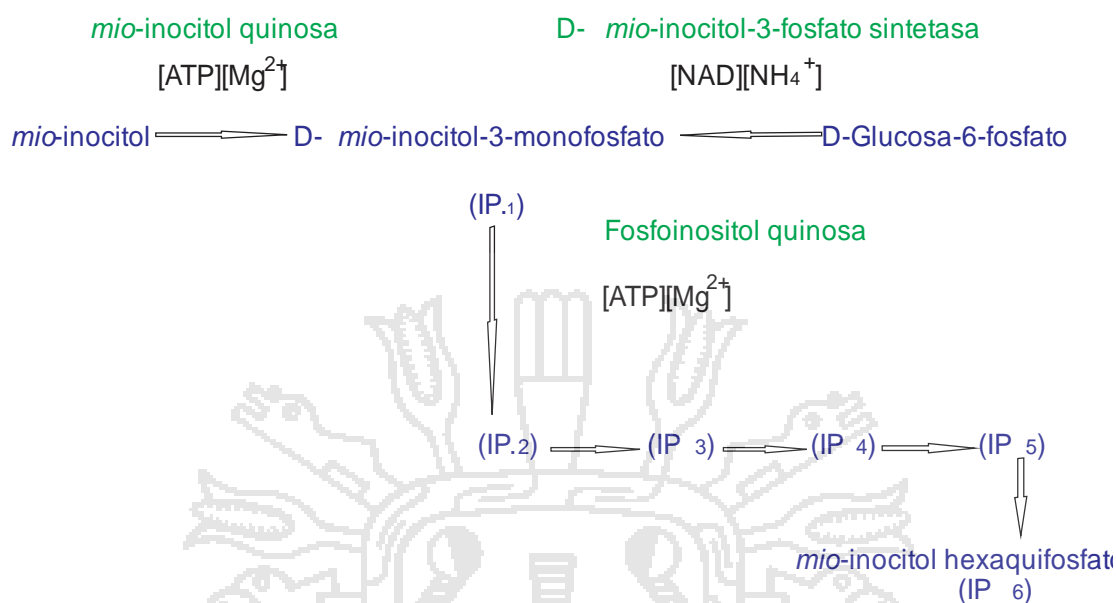
No obstante, actualmente la determinación del contenido en ácido fítico a través de la determinación del contenido en fósforo no es del todo aceptable. Las variaciones en el contenido de ácido fítico que se producen como consecuencia de las condiciones, localización y año de cultivo, aplicación de fertilizantes y variedad del cultivo se ha comprobado en distintos cereales y legumbres (Feil y Fossati, 1997). En la Tabla 3, se muestra el contenido en ácido fítico de cereales, semillas de leguminosas, nueces, semillas de oleaginosas y vegetales obtenidos en diferentes estudios (Egli, 2001).

**Tabla 3:** Contenidos en ácido fítico de algunos vegetales.

Muestras	Contenido de ácido fítico (g/100g)	Referencia
Cebada	0,8	Lolas <i>et al.</i> , 1976
Maíz	0,3	Hurrel <i>et al.</i> , 2002
Maíz blanco	0,8	Hurrel <i>et al.</i> , 2003
Maíz amarillo	0,7	Marfo <i>et al.</i> , 1990
Avena	0,9	Lolas <i>et al.</i> , 1976
Arroz	0,2	Hurrel <i>et al.</i> , 2002
Centeno	0,9	Fretzdorfft y Weipert. 1986
Trigo	1,3	O'Dell <i>et al.</i> , 1972
Quinoa	0,7	Valencia <i>et al.</i> , 1999
Habas	1,0	Eskin y Wiebe. 1983
Frijol	0,9	Davis y Warrington. 1986
Lenteja	0,8	Davis. 1981
Guisante	0,4	Urbano <i>et al.</i> , 2003
Semilla de soja	2,2	Khokar y Fenwick 1994

Fuente: Frontela, 2007

En la Figura 3, queda descrita la biosíntesis del ácido fítico en la semilla, que se inicia con la formación del D-mio-inositol-3-monofosfato (IP1) a partir del mio-inositol, en presencia de mio-inositol quinasa, o a partir de D-glucosa-6-fosfato por actuación de la isomerasa D-mio-inositol-3-fosfato sintasa. Posteriormente, las fosfoinositol quinasa catalizan la fosforilación gradual del IP1 a mio-inositol di, tri, tetra, penta y hexafosfato (Loewus y Murthy, 2000).

**Fig. 3:** Ruta biosintética del mio-inositol hexaquisfosfato.

Fuente: Loewus y Murthy, 2000; Citado por Goyoaga, 2005.

#### 2.3.1.4. Interacción y Efectos Fisiológicos

Los animales monogástricos, entre ellos el hombre, tienen escasas fitasas a nivel de estómago e intestino delgado, de manera que no pueden hidrolizar la molécula de ácido fítico y utilizar el fósforo que se encuentra formando parte de su estructura, ni los minerales con los que forma sales. Al llegar al intestino grueso, la actividad fitásica de la mucosa tampoco es suficiente para hidrolizar el IP6, por lo que es metabolizado por bacterias de la flora intestinal, aunque el fósforo y los demás minerales liberados ya no pueden ser absorbidos a ese nivel (Steer y Gibson, 2002).

El mio-inositol hexaquisfosfato ha sido considerado tradicionalmente como un antinutriente por su unión a minerales, proteínas y almidón con los que forma complejos que

no pueden ser asimilados. Sin embargo, estas interacciones moleculares también pueden ser favorables para la salud (Rickard y Thompson, 1997).

### **Efectos Nocivos**

La capacidad del ácido fítico para formar complejos insolubles con minerales esenciales como  $Cu^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}/Fe^{3+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$  y  $Mg^{2+}$ , hace que disminuya la absorción intestinal y biodisponibilidad de éstos (Persson *et al.*, 1998). En estudios realizados con animales y humanos, se ha observado que el IP5 y el IP6 tienen un efecto negativo sobre la biodisponibilidad de minerales, mientras que los inositoles fosfato menos fosforilados, IP1, IP2, IP3 e IP4, tienen baja capacidad de unión a cationes inorgánicos y los complejos que forman son más solubles. Sin embargo, el IP3 y el IP4 en presencia de inositoles fosfato altamente fosforilados, contribuyen a reducir la biodisponibilidad del hierro (Sandberg *et al.*, 1999).

Otra limitación a nivel nutritivo es la interacción iónica del ácido fítico con proteínas formando complejos proteína-fitato a pH ácido y proteína-mineral-fitato a pH básico. En ensayos realizados *in vitro* se ha observado una reducción de la solubilidad y biodisponibilidad de las proteínas, mientras que trabajos *in vivo* no siempre confirman este efecto. Además, debido a las interacciones fitato-proteína enzimática, el ácido fítico inhibe enzimas digestivas como lipasas, proteasas o  $\alpha$ -amilasas, paralizando reacciones enzimáticas a nivel digestivo (Knuckles y Betschart, 1987).

### **2.3.2. MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DE ÁCIDO FÍTICO**

La elección del método de determinación del ácido fítico, debe realizarse dependiendo del tipo de muestra con que se trabaja (granos de cereales, semillas de

leguminosas, alimentos procesados, contenido intestinal, tejidos biológicos), la información que queremos obtener (determinación cualitativa o cuantitativa, contenido total en ácido fítico, determinados inositoles fosfato o alguno de sus isómeros) y disponibilidad de equipos. El ácido fítico no presenta un espectro de absorción característico, por lo que no puede ser fácilmente identificado mediante reactivos colorimétricos específicos, su determinación se hace difícil (Frontela, 2007).

Los métodos de determinación del ácido fítico se pueden dividir en cualitativos y cuantitativos.

#### **2.3.2.1. Método Cualitativo**

Oberleas y Harland (1986), llevaron a cabo una revisión de los métodos cualitativos de separación e identificación de los inositoles fosfato. En ésta, destacan la cromatografía en papel, la electroforesis o el empleo del microscopio de luz polarizada.

#### **2.3.2.2. Método Cuantitativo**

Los métodos cuantitativos de determinación del ácido fítico son los más empleados. Es un método basado en la precipitación de las sales insolubles del ácido fítico, el cual, debido a su sencillez y a su bajo coste se sigue empleando actualmente en algunos laboratorios. No obstante, este método en relación a otros como la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (Sandberg y Ahderinne, 1986) o la resonancia magnética nuclear (NMR) (Frolich *et al.*, 1986) va perdiendo trascendencia progresivamente.

El método oficial de la AOAC (1997), permite cuantificar indirectamente IP6 mediante determinación espectrofotométrica del fósforo inorgánico presente. No obstante este método no nos permite distinguir IP6 de otros inositoles de un menor número de



fosfatos. Distintos métodos, basados principalmente en la cromatografía, se llevan a cabo para separar y cuantificar los diferentes inositoles fosfato. El descubrimiento de la importante función fisiológica que realiza el inositol 1,4,5-trifosfato como segundo mensajero celular movilizando el calcio presente en el retículo endoplásmico, ha despertado un mayor interés en el estudio de los distintos inositoles fosfato (Berridge e Irving, 1989).

### **Precipitación**

Este método está basado en la precipitación del ácido fítico como una sal insoluble, en su mayoría en forma de fitato férrico mediante la adición de cloruro férrico. Los métodos basados en la determinación del hierro en el precipitado no son recomendables ya que estos autores encontraron variaciones en la determinación del ratio Fe:P del fitato férrico en las semillas de soja. No obstante, el ratio de Fe:P de 4:6 es generalmente asumido (cuatro átomos de hierro por molécula de ácido fítico) (Thompson y Erdman, 1982) También emplean el método de la precipitación con cloruro férrico para la determinación del ácido fítico mediante la determinación del hierro precipitado y posterior cálculo del ácido fítico presente. Se han empleado otros métodos de determinación del ácido fítico mediante colorimetría (Akaniwor y Okechukwu, 2004).

### **Cromatografía**

#### **HPLC (Cromatografía líquida de alta eficacia)**

Mediante HPLC la muestra se fracciona entre una fase móvil que es líquida y una fase estacionaria gracias a la utilización de una presión muy elevada para forzar el paso del disolvente por una columna que contiene partículas muy finas, consiguiendo así separaciones de gran resolución (Skoog *et al.*, 2001).

La cromatografía líquida de alta eficacia es un método rápido, preciso y simple para medir la cantidad de ácido fítico presente en un alimento. Lehrfeld (1989), con el objetivo de resolver los problemas planteados hasta el momento en la determinación de ácido fítico mediante HPLC, desarrolló un método de extracción y determinación de ácido fítico e inositoles de un menor número de fosfatos consistente en la utilización de resinas de intercambio aniónico para concentrar y purificar el ácido fítico e isómeros para su posterior determinación mediante HPLC, empleando para ello un detector de índice de refracción. Este método permite identificar no solo el ácido fítico sino también otros inositoles fosfato, permite diferenciar claramente en el cromatograma entre el solvente y el analito y permite realizar el experimento en un solo día demostrando ser uno de los más eficaces y precisos.

Anteriores aplicaciones del HPLC para la determinación del ácido fítico han empleado columnas de sílice de fase reversa (C18 y detectores de índice de refracción) solucionando problemas planteados hasta entonces. De este modo, Lee y Abendroth (1983), reconocieron un problema en la detección de ácido fítico mediante HPLC por el cual, el frente generado por el solvente coincidía con el pico producido por el inositol hexafosfato ocultando por tanto esta molécula. Sandberg y Ahderinne (1986) demostraron que IP3, IP4, IP5 e IP6 podrían separarse ajustando el pH a un valor de 4,3.

### **HPIC (Cromatografía de intercambio iónico)**

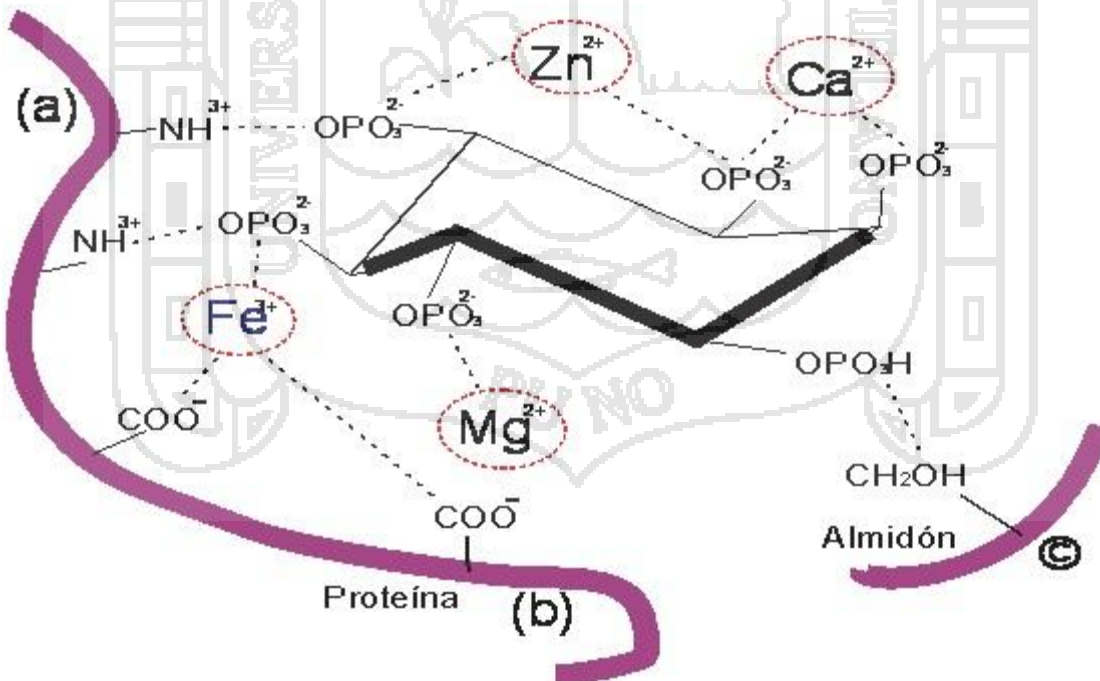
Este método, en comparación a los que emplean la precipitación revisados anteriormente, resultan en la detección unas mayores concentraciones de ácido fítico (Ellis y Morris, 1982). Un método rápido y sensible para la determinación del ácido fítico basado en una técnica de separación mediante una columna de intercambio aniónico y un detector de la conductividad (Talamond *et al.*, 1998).

La aplicación de un gradiente de intercambio iónico seguido de precipitación permite la separación de los distintos inositolos fosfato y demuestra la sobreestimación en la determinación del contenido en ácido fítico determinada mediante el método de la precipitación (Greiner, 2004).

### 2.3.3. INFLUENCIA DE ÁCIDO FÍTICO EN LA DISPOSICIÓN DE NUTRIENTES

El ácido fítico puede interactuar con diferentes componentes de los alimentos. En la Figura 4, se muestra la posible interacción con minerales y elementos traza, proteínas y almidón.

**Fig. 4:** Posibles interacciones del ácido fítico con minerales, elementos traza, proteínas y almidón.



Fuente: Egli, 2001

### 2.3.3.1. Interacción con Proteína y Almidón

El ácido fítico interfiere en la digestibilidad y disponibilidad de las proteínas, y su efecto depende de las características del complejo ácido fítico-proteína formado, el cuál varía en función del tipo de proteína, del pH y de la temperatura. Existen discordancias en los resultados obtenidos sobre la interacción entre el ácido fítico y las proteínas, éstas podrían estar debidas a la distinta naturaleza de las proteínas presentes en los alimentos, mientras que otros autores han atribuido este efecto negativo a la capacidad que presenta el ácido fítico de inhibir enzimas digestivas con actividad proteolítica. Esta actividad parece estar debida a las condiciones de pH ácido que necesita la pepsina para actuar, se forman uniones electrostáticas entre el ácido fítico y la pepsina, habiéndose observado igualmente, que a pH 3 el ácido fítico forma complejos insolubles con la tripsina (Martínez *et al.*, 2002).

Algunos estudios de Pérez *et al.* (2001), han observado que las fórmulas infantiles elaboradas con proteína animal presentan una mayor dialización del cinc que las elaboradas exclusivamente con proteína vegetal. También se describieron como la adición de fitatos a una fórmula preparada con leche de vaca en una concentración similar en proteína a la encontrada en una fórmula de soja, reducía la absorción de cinc a un nivel similar al encontrado en la fórmula de soja. Otros autores han comprobado que las fórmulas infantiles cuya fuente de proteína es la caseína y/o proteínas del suero de la leche presentan unos ratio (Ca:Fe) y (Fe: vitamina C) que permiten una adecuada dialización del hierro (Nogueira *et al.*, 2004).

El ácido fítico actúa sobre la digestibilidad del almidón disminuyéndola, produciendo un lento incremento de los niveles de glucosa en sangre a partir de alimentos que contienen ácido fítico (Thompson, 1988), lo cual se debe a la unión que se produce entre

el ácido fólico y el almidón, a su unión con la amilasa, uniéndose al calcio que es necesario para su actividad enzimática, o bien al almidón, modificando así su grado de gelatinización o su accesibilidad para las enzimas digestivas. Además influye en la respuesta sanguínea a la glucosa por producir retardo del vaciado gástrico (Martínez *et al.*, 2002).

### 2.3.3.2. Interacción con Minerales y Elementos Traza

Varios factores alimentarios han sido descritos como inhibidores de la absorción de elementos traza. Entre los más importantes se encuentra el ácido fólico. La estabilidad de los complejos formados entre el ácido fólico y los minerales y elementos traza depende del pH, de la relación molar ácido fólico–mineral y del mineral en sí mismo. Desde el punto de vista nutricional, adquiere una gran importancia el estudio de la influencia del ácido fólico sobre minerales de la dieta. En general, los complejos formados por tres a seis iones metálicos por cada molécula de ácido fólico son insolubles, mientras que los formados por uno o dos iones metálicos son solubles. Sin embargo, estos últimos sólo están presentes a elevados cocientes molares fólico–mineral. En relación equimolar, el ácido fólico liga más de un ión metálico por molécula, de esto se deduce que, a elevados cocientes (ácido fólico: iones metálicos) se forman complejos insolubles (Martínez *et al.*, 2006).

Existen pocos estudios en la literatura consultada que investiguen la relación entre los niveles de ácido fólico y la absorción de hierro en humanos (Hurrell, 2004). Según éstos, la degradación del ácido fólico adquiere una gran importancia nutricional ya que ha demostrado que una disminución de sus niveles en el alimento, incrementa la disponibilidad de minerales esenciales en la alimentación. Se ha comprobado que la degradación del ácido fólico, es tecnológicamente posible y que mejora de un modo significativo la absorción de minerales por el organismo, lo cual cobra una particular importancia durante la infancia. Una

alternativa a la degradación del ácido fítico, y que es empleada en la industria alimentaria, es la adición de determinados compuestos que tienen la capacidad de unirse al hierro produciendo la reducción del hierro en estado férrico al estado ferroso (el cual presenta una menor capacidad de unirse al ácido fítico). El ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y la vitamina C, han demostrado tener la capacidad de incrementar la absorción del hierro en alimentos ricos en ácido fítico (Hurrell, 2004).

## **2.4 VALOR BIOLÓGICO**

El valor biológico (denominado abreviadamente BV del inglés Biological Value o VB) es la medida de la absorción y síntesis en el cuerpo de la proteína procedente de la ingesta de alimentos. El valor biológico es la fracción de nitrógeno absorbido y retenido por el organismo y esto representa la capacidad máxima de utilización de una proteína. Se suele mencionar en la literatura a veces como calidad de una proteína, las de mayor calidad poseen mayor valor biológico y por lo tanto son mejores para captar proteína. Las proteínas poseen valores diferentes dependiendo de la fuente, por ejemplo las proteínas de la soja poseen un valor biológico inferior al de la carne roja, los valores de las proteínas se pueden cambiar con combinaciones especiales de alimentos. El valor biológico es una medida más específica del valor nutritivo, puesto que determina el porcentaje de proteína absorbida que es retenido o que permanece en el organismo. De esta forma se determina la utilidad de la proteína tanto para el crecimiento como para el mantenimiento corporal (Bander y Fisher, 1993).

### **2.4.1. VALOR BIOLÓGICO DE LAS PROTEÍNAS**

El conjunto de los aminoácidos esenciales sólo está presente en las proteínas de origen animal. En la mayoría de los vegetales siempre hay alguno que no está presente en cantidades suficientes. Se define el valor o calidad biológica de una determinada proteína

por su capacidad de aportar todos los aminoácidos esenciales necesarios para los seres humanos. La calidad biológica de una proteína será mayor cuanto más similar sea su composición a la de las proteínas de nuestro cuerpo. De hecho, la leche materna es el patrón con el que se compara el valor biológico de las demás proteínas de la dieta. Por otro lado, no todas las proteínas que ingerimos se digieren y asimilan. La utilización neta de una determinada proteína, o aporte proteico neto, es la relación entre el nitrógeno que contiene y el que el organismo retiene. Hay proteínas de origen vegetal, como la de la soja, que a pesar de tener menor valor biológico que otras proteínas de origen animal, su aporte proteico neto es mayor por asimilarse mucho mejor en nuestro sistema digestivo. En la siguiente tabla vemos algunos datos de calidad proteica sobre la base de la presencia de algunos de los aminoácidos esenciales más conflictivos en la dieta (Buil, 2004).

#### **2.4.1.1. Digestión y Absorción de la Proteína**

La digestión de las proteínas comienza en el estómago con la acción de pepsina y continúa en el intestino delgado con enzimas pancreáticas como tripsina, quimiotripsina, aminopeptidasas y carboxipeptidasas. Estas enzimas se secretan en la forma “pro” y son activadas por la escisión de una pequeña secuencia peptídica. Esta división la realizan enterocinasas secretadas en el líquido intestinal. Las proteínas de la dieta estimulan la secreción de las pro-enzimas pancreáticas. El tripsinógeno se divide para formar tripsina y ésta se une a las proteínas de la dieta para comenzar la hidrólisis (Dangin *et al.*, 2002).

Cuando ésta termina, aumenta el contenido de tripsina libre en el intestino, lo que constituye una señal para cesar la secreción de tripsinógeno. Posteriormente, las oligopeptidasas y aminopeptidasas del borde epitelial del enterocito completan la digestión; cada una de estas enzimas tiene una acción específica. La mayoría de los péptidos de más de

tres aminoácidos son hidrolizados extracelularmente por las enzimas del borde en cepillo de los enterocitos, mientras que los dipéptidos y los tripéptidos pueden ser absorbidos intactos. La absorción de péptidos y aminoácidos ocurre, principalmente, en el intestino delgado proximal, generalmente por transporte activo mediante transportadores específicos para los diferentes tipos de aminoácidos. Los dipéptidos, tripéptidos y oligopéptidos tienen también sistemas transportadores específicos. Se calcula que un 25 % de las proteínas de la dieta se absorben como dipéptidos y tripéptidos. Los aminoácidos se absorben en presencia de sodio y tanto éstos como los dipéptidos y tripéptidos se absorben rápidamente. Las dipeptidasas y tripeptidasas pueden hidrolizar posteriormente estos péptidos a aminoácidos, pero algunos alcanzan intactos la circulación sanguínea (Calderon y Ruíz, 2000).

Aún con mucha menor frecuencia, también existe una absorción limitada de proteínas intactas, bien a través de las uniones de las células epiteliales o bien por captación de vesículas desde la luz intestinal hasta la zona basal de estas células epiteliales. Esta absorción no tiene repercusión nutricional, pero puede ser importante desde un punto de vista inmunológico, porque puede dar lugar a respuestas alérgicas (Dangin *et al.*, 2003).

Tras la digestión de proteínas, los aminoácidos son transportados al hígado, donde se regula el flujo de aminoácidos de la dieta que entra en la circulación sistémica. El hígado transamina y oxida los aminoácidos sobrantes. En la práctica, el exceso de proteínas (aminoácidos) en la dieta de un sujeto sano da lugar a un aumento de la eliminación urinaria de nitrógeno. El hígado es el lugar principal de metabolización de aminoácidos esenciales, con excepción de los aminoácidos ramificados, que apenas se degradan en el eje enterohepático y son más bien metabolizados por otros tejidos periféricos; por ejemplo, sólo un 2 % de la leucina de la dieta es oxidada en el hígado (Calderon y Ruíz, 2000).



#### 2.4.1.2. Requerimiento de Proteína

Deben considerarse diversos factores para establecer los requerimientos de proteínas: la composición en aminoácidos, la influencia de la edad y el desarrollo del individuo, su estado de salud o de enfermedad, trabajo, actividad física que realiza, etc. Las proteínas de la dieta son necesarias para sustituir a las que pierde el organismo. Se estima que el cuerpo sintetiza unos 300 g de proteína al día. Las proteínas de tipo estructural, como colágeno o elastina, tienen una vida media prolongada; sin embargo, la de las proteínas funcionales, especialmente las enzimas, es mucho más corta, lo que les permite adaptarse al metabolismo corporal en constante cambio. Cuanto más activo sea el punto de la vía metabólica donde actúa una enzima, más rápido será el proceso de síntesis y degradación de ésta (Pérez *et al.*, 2005).

Alrededor del 80 % de los aminoácidos que resultan de la degradación de proteínas son reciclados para la síntesis proteica, el resto son degradados y deben ser sustituidos por aminoácidos sintetizados por el organismo o por aminoácidos de la dieta, si no pueden ser sintetizados. La pérdida de aminoácidos varía según el aporte energético. En el ayuno disminuye el flujo de aminoácidos y la pérdida de nitrógeno en orina se reduce considerablemente. Por lo tanto, los seres humanos tienen capacidad para mantener el balance nitrogenado a lo largo de un amplio intervalo, con gran variabilidad individual e interindividual. Si la carencia supera esa capacidad de adaptación, la fisiología corporal se altera y aparecen síntomas como crecimiento insuficiente, defectos inmunitarios, mala cicatrización de las heridas (Dangin *et al.*, 2003). Los requerimientos de proteínas se han estudiado mediante diferentes métodos:

En ratas en crecimiento la cantidad y calidad de las proteínas tiene un efecto inmediato en su crecimiento, que depende de la síntesis proteica y, a su vez, de la ingesta de aminoácidos. Sin embargo, es evidente que este método no puede utilizarse en humanos y por eso se recurre a otros procedimientos. El método factorial estudia las pérdidas corporales de nitrógeno en un individuo que ingiere una dieta sin proteínas. En pocos días se instauran mecanismos para reducir la pérdida de nitrógeno, aunque nunca llega a eliminarse por completo, pues, aunque reducidos, persisten de forma obligatoria algunos procesos metabólicos, aunque reducidos, como la oxidación de aminoácidos y la formación de urea y de otros compuestos nitrogenados. En la cuadro 4 se resumen los cálculos sobre los que se fundamenta la estimación de requerimientos de proteínas con este método. El resultado final se modifica en función del crecimiento en niños o de las mayores necesidades propias del embarazo y de la lactancia. A este método se le puede hacer la objeción de que basa sus cálculos en el individuo en ayunas, con las consecuentes adaptaciones metabólicas, lo que puede dar lugar a valores diferentes respecto de las necesidades reales de una persona sana que toma una alimentación estable (León, 2006).

**Tabla 4:** Cálculo de los requerimientos de proteínas según el método factorial

<b>PÉRDIDAS OBLIGADAS DE NITRÓGENO</b>	
Orina	38 mg/kg/día
Heces	12 mg/kg/día
Sudor, piel, pelo, uñas	2-3 mg/kg/día
Total	54 mg/kg/día (rango 41-69 mg/kg/día)
<b>REQUERIMIENTOS DE PROTEÍNAS</b>	
Equivalente proteico de pérdidas de nitrógeno	0,34 g/kg/día de proteína
Coefficiente de variación 15 % (+ 2 DS)	0,44 g/kg/día
Calidad de la proteína (composición de aminoácidos y digestibilidad)	0,8 g/kg/día

**Fuente.** Nutrición Enteral, (León, 2006).

## 2.5 COMPOSICIÓN DE LOS ALIMENTOS INFANTILES

El adecuado suministro de los nutrientes a través de los alimentos en una equilibrada composición es incluso más importante para los niños de corta edad que para los niños y adultos sanos durante cualquier otro periodo de la vida. La rápida tasa de crecimiento en los niños de corta edad sanos nacidos a término les lleva a doblar su peso en solamente 4-5 meses después del nacimiento y presentar elevados requerimientos de energía y nutrientes por kg de peso corporal. Además de alcanzar sus requerimientos en el mantenimiento, los niños de corta edad deben cubrir sus necesidades de energía y sustrato necesarios para la síntesis y deposición de nuevos tejidos.

Los elevados requerimientos metabólicos contrastan con la limitada capacidad de los niños de corta edad de compensar un suministro inadecuado de nutrientes debido a las

disminuidas reservas corporales de nutrientes y a los inmaduros mecanismos homeostáticos. Por ejemplo, la actividad de algunas vías metabólicas y la capacidad renal para concentrar la orina es aún baja durante los primeros 3-4 meses de vida (Wharton y Scout, 1996). Los niños de corta edad pueden no ser capaces de sintetizar suficientes cantidades de ciertos sustratos considerados como no esenciales o dispensables, ya que la limitada capacidad de las vías de síntesis metabólicas específicas no siempre es suficiente para alcanzar los elevados requerimientos. Algunos nutrientes considerados no esenciales en los adultos y en los niños de más edad pueden llegar a ser indispensables para los niños de corta edad que serían suministrados en la dieta.

Además de las consecuencias inmediatas de la alimentación infantil sobre el crecimiento, composición corporal, salud y bienestar, un número de recientes estudios han proporcionado indicaciones que la cantidad y calidad en el suministro de los nutrientes durante la infancia tiene importantes consecuencias a largo plazo en el desarrollo y función de los órganos, salud y riesgos de enfermedad así como en la habilidad cognitiva. Considerando el riesgo particular en los niños de corta edad a experimentar efectos adversos por las dietas con muy bajos o muy elevados nutrientes específicos (Fomon, 2001), y el hecho de que durante los primeros meses de vida, la única fuente de nutrientes para alcanzar los requerimientos dietéticos es la leche materna, especiales esfuerzos son necesarios para asegurar una adecuada composición dietética en los niños de corta edad.

### **2.5.1. PAPILLAS INFANTILES**

Debido a que la digestión de los almidones presentes en las papillas de cereales se lleva a cabo mediante la amilasa pancreática y a que este enzima no se encuentra totalmente funcional hasta el 4°-6° mes de vida, los cereales destinados a la alimentación de los lactantes

deben someterse a algún tipo de tratamiento que aumente su digestibilidad. Las papillas de cereales pueden estar constituidas por uno o varios cereales sin gluten o por mezclas de varios cereales conteniendo gluten. También existen en el mercado formulaciones que contienen en su composición un porcentaje importante de leche de continuación o leche de vaca, los denominados cereales lacteados, o productos con frutas o vegetales. Las papillas de elaboración industrial que contienen leche deben ser reconstituidas simplemente con agua y las que no llevan leche deben ser preparadas con leche de inicio o leche de continuación. Generalmente se utilizan sistemas enzimáticos para conseguir la hidrólisis de las cadenas de almidón (Santamaria, 2005).

Las primeras papillas en introducirse en la dieta del lactante son las papillas sin gluten y posteriormente se introducen las papillas con gluten. Las papillas de cereales que contienen gluten, como las de trigo, cebada, centeno y avena, es recomendable introducirlas después de los 6 meses de edad a efectos de no favorecer la sensibilización a pacientes con base inmunológica susceptibles de presentar la enfermedad celíaca (Ballabriga y Carrascosa, 1998).

Algunos autores consideran que la introducción demasiado temprana del gluten en la alimentación puede predisponer al desarrollo de la enfermedad celíaca y por esta razón en 1969 se recomendó no introducir cereales con gluten antes de los 4 meses de edad (European Society for Pediatric Gastroenterology, 1969), y posteriormente se recomendó no introducirlos hasta los 6 meses (ESPGAN, 1982).

Debido a que las papillas de cereales se encuentran enriquecidas en vitaminas y minerales, son una fuente importante de estos nutrientes para el lactante e incluso en Estados

Unidos se recomienda el consumo de cereales enriquecidos en hierro para prevenir la deficiencia de este compuesto en lactantes y preescolares (Santamaria, 2005).

## **2.6 CARACTERÍSTICAS DE LA PAPILLA INFANTIL DEL PRONAA**

### **2.6.1. PAPILLA PRONAA**

Producto producido por ALPROSA Alimentos procesados S.A. Arequipa – Perú, estos proveído al PRONAA(Programa Nacional de Asistencia Alimentaria), con fecha de producción 11 Noviembre 2011 y con fecha de vencimiento de 11 de mayo del 2012. Que está preparado a base de los siguientes insumos: harina de maíz extruida, harina de arroz extruida, grasa vegetal, azúcar, harina de grano de soja extruida, albumina en polvo (clara de huevo en polvo), proteína aislada de soja, fosfato tricalcico, sulfato de magnesio, saborizante natural de vainilla, vitaminas, minerales y alfa-fecoferol (antioxidante). El porcentaje correspondiente de cada una de los insumos que están detallados en el cuadro 5. Esta papilla era utilizada en la alimentación complementaria de los niños de 6 a 36 meses de nacido.

Quesada y Villalobos (2002), indican que las papillas se componen principalmente de cereales (arroz, trigo, avena, maíz, etc.), y pueden añadir frutas, miel, cacao, etc. Sirven de puente entre la lactancia y la alimentación propia de la edad adulta, más rica en texturas y sabores. Estos productos deben indicar con mucha claridad la edad a partir de la cual están indicados, las instrucciones de uso, así como la fecha de caducidad y las instrucciones de conservación. El etiquetado nutricional es obligatorio en los alimentos infantiles. La lista de ingredientes mostrará éstos en orden decreciente, según la cantidad en la que se encuentren en el producto final.

Como indica Quesada la materia prima tomada para este estudio contenía los datos como corresponden en la bolsa así como la: información nutricional, fecha de fabricación y de caducidad, las edades de los niños que deben de consumirlo y su modo de preparación.

Los cereales utilizados en más cantidad fueron el maíz y el arroz al 35.00 y 31.162% respectivamente, así como también la soja en 7.00%. El Granero (2009), indica que estos cereales garantizan los elementos nutritivos necesarios para el perfecto desarrollo de un niño y un óptimo aprovechamiento nutricional, manteniendo sus minerales y vitaminas óptimamente.

Por otra parte estos mismos cereales muestran un mayor contenido de ácido fólico o inositol hexafosfato, Hurrell *et al.*, (2002) encontró en maíz blanco y en arroz 0.8 y 0.2 mg/100 g respectivamente, Así como también Khokar y Fenwick (1994) encontró en las semillas de soja 2.2 mg/100 g como se puede observar en la Tabla 3.

**Tabla 5:** Porcentaje de insumos utilizados para la preparación de la papilla de PRONAA producidos por la empresa ALPROSA Alimentos procesados S.A.

INSUMO	(%)
Harina de maíz extruida	35.0000
Harina de arroz extruida	31.1618
Grasa vegetal	10.8700
Azúcar	7.0000
Harina de grano de soja extruida	7.0000
Albumina en polvo	3.9000
Proteína aislada de soja	2.3800
Fosfato tricalcico	1.9000
Sulfato de magnesio	0.2800
Saborizante natural de vainilla	0.2800
Vitaminas y minerales	0.2250
Alfa-fecofeol	0.0032
TOTAL	100.0000

**Fuente:** PRONAA (2010)



### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 LUGAR DE EJECUCIÓN

El presente trabajo de investigación se realizó de Noviembre del 2011 a Julio del 2012, en los Laboratorios de Evaluación Nutricional de los Alimentos (LENA) de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Distrito de la Molina, departamento de Lima; En el Laboratorio de Cromatografía de la Facultad de Química de la Universidad Nacional San Antonio Abad – Cusco; En el laboratorio de Análisis Físicoquímicos de Aguas, Suelos y Minerales AQUALAB – Cusco; En el Laboratorio de Evaluación Nutricional de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional del Altiplano–Puno.

#### 3.2 MATERIALES, EQUIPOS Y OTROS

##### 3.2.1. MATERIA PRIMA

Papilla Infantil producido por ALPROSA Alimentos procesados, estos proveído al PRONAA(Programa Nacional de Asistencia Alimentaria), con fecha de producción 11 Noviembre 2011 y con fecha de vencimiento de 11 de mayo del 2012.

##### 3.2.2. EQUIPOS E INSTRUMENTOS DE LABORATORIO

- Balanza de precisión
- Sistema de filtración al vacío
- Filtro 0.4um de diámetro
- Cromatógrafo líquido HPLC 1200, marca Angiletent Technologies
- Campana de extracción
- pH- metro, Micronal 20

- Centrífuga, International 5000 rpm
- Crisoles de porcelana
- Espectrofotómetro. Unicam SP500 serie 2
- Estufa de desecación de aire forzado
- Horno mufla
- Cartuchos de intercambio aniónico
- Matraces aforados de 50 y 100 mL de capacidad
- Tubos de ensayo
- Columna: Zorbax Carbohydrate 4,6x250mm-5-micron
- Matraces Erlenmayer de 250 ml.
- Tubos de centrifugación
- Refrigeradora
- Termómetro
- Pipetas graduadas
- Vasos precipitados
- Molino industrial
- Cronómetro
- Equipo de disección (tijera, pinzas, bisturí)

### 3.2.3. REACTIVOS

- Ácido clorhídrico
- Ácido fítico (fitato de sodio)
- Agua destilada
- Agua bi-destilada desionizada.
- Hidróxido de tetrabutilamonio

- Ácido sulfúrico 2 M
- Hidróxido de sodio 0.5 M
- Fitasa procedente de *Aspergillus niger*
- Clorohidroxilamina
- Ortofenantrolina
- Reactivos y materiales necesarios para el análisis químico proximal
- Reactivos y materiales necesarios para determinación de Nitrógeno

#### 3.2.4. UTENSILIOS AUXILIARES

- Ollas de aluminio
- Recipientes
- Bolsas de plástico polipropileno
- Mesa de acero inoxidable
- Guantes clínico de látex
- Bandejas esmaltadas
- Frascos de vidrio para recolección de heces y orina.

#### 3.2.5. ANIMALES

- Ratas albinas cepa holtzman machos de 25 días de nacido, con peso promedio inicial de 58.94g. procedentes del bioterio de la Universidad Nacional Agraria la Molina.

Se agruparon en 5 grupos de 6 animales cada uno.

### 3.3 METODOLOGÍA DE ANÁLISIS

#### 3.3.1. DETERMINACIÓN DE HIERRO

Se realizaron las siguientes determinaciones: porcentaje de hierro en la Sangre, hígado, heces, orina y la muestra patrón. Para esto se utilizaron el método de análisis 3500-Fe D- Método de Fenantrolina y el Método normalizado APHA – AWWA – 2005. Ello fue efectuado en el laboratorio de Análisis Fisicoquímicos de Aguas, Suelos y Minerales AQUALAB – Cusco.

#### 3.3.2. DETERMINACIÓN DE INOSITOLES FOSFATO

##### a) Preparación de Estándares

Se pesaron 30 mg de la sal de fitato de sodio (ácido fítico) y se disolvió en 20 ml de HCl 0,5M, para luego someter a hidrólisis por 16 horas a 85 °C luego se evaporó a sequedad y redisolver en 2 ml de agua.

Se realizaron las diluciones con agua para la curva patrón en concentraciones de 6,5; 3,25 y 1,3 mg/ml al final se colocó en vial para analizar por HPLC.

##### b) Tratamiento de la Muestra

Se pesaron 500 mg de muestra para disolverlas en 20 ml de HCl 0,5 M por dos horas y congelar (-18°C) manteniendo esta temperatura toda la noche, se descongeló para luego recolectar el sobrenadante y colocar en tubo centrifuga, se centrifugó a 4500 rpm por 20 minutos. Se separó el líquido del tubo para evaporar a sequedad a 60 °C, luego se disolvió

en 20 ml de HCl 0.01 M y hacer pasar a través de los cartuchos de intercambio aniónico, los cuales son acondicionados previamente con agua y HCl 0,01 M; se descarta el elato.

Eluir el ácido fítico del cartucho con 5 ml de HCl 2 M.se evaporó a 60 °C luego se diluyó en 1 ml de agua y se filtraron en filtros de 0,4  $\mu$ m. Al final se colocó en el vial y analizó por HPLC.

### c) Análisis por HPLC

Como fase móvil se utilizó agua destilada a un flujo de 0.8ml/min, el volumen de inyección fue de 5 uL durante un tiempo de 20 minutos; para este análisis se utilizó la columna Zorbax Carbohydrate 4,6x250mm-5-micron.

### 3.3.3. DETERMINACIÓN DE VALOR BIOLÓGICO

Se determinó en ratas albinas de la cepa Holtzman (AOAC, 1990).

Se aplicó la siguiente fórmula:

$$V = \frac{N_1 - (N_2 + N_3)}{N_4 - N_5} \times 1$$

Dónde:

NI: Nitrógeno ingerido por el grupo de animales alimentados con la dieta proteica.

NF: Nitrógeno excretado en heces del grupo de animales alimentados con la dieta proteica.

NU: Nitrógeno excretado en orina del grupo de animales alimentados con dieta proteica.

### 3.4 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

#### 3.4.1. DESFITINIZACIÓN DE LA PAPILLA

A fin de eliminar los inositoles fosfato presentes en la papilla infantil de PRONAA, se sometieron a cuatro tratamientos los cuales son:

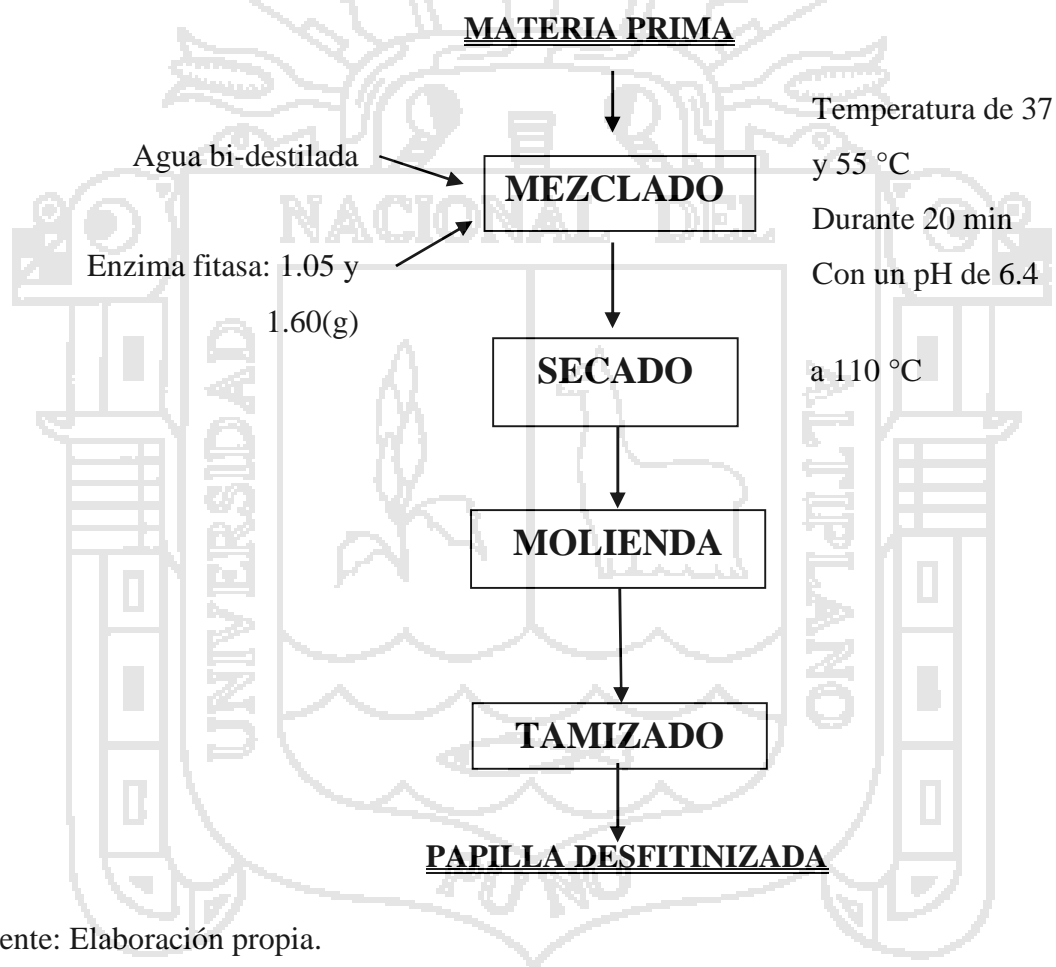
T1-1221. En este tratamiento se mezcló 3.640 kg de papilla y 3.7869gde Fitasa procedente de *Aspergillus niger* (2500 FTU/g) en estudio, con agua des-ionizada y bi-distilada a una temperatura de 55°C y un pH de 6.4; a un movimiento constante durante 20 min. Luego la mezcla se sometió al secado en un horno a una temperatura de 110° C, Posteriormente se sometió a molienda para obtener partículas de tamaño muy pequeño.

T2-1222.En este tratamiento se mezcló 3.646 kg de papilla y 3.7844gde Fitasa procedente de *Aspergillus niger* (2500 FTU/g) en estudio, con agua des-ionizada y bi-distilada a una temperatura de 37°C y un pH de 6.4; a un movimiento constante durante 20 min. Luego la mezcla se sometió al secado en un horno a una temperatura de 110 °C, Posteriormente se sometió a molienda para obtener partículas de tamaño muy pequeño.

T3-1223.En este tratamiento se mezcló 3.642 kg de papilla y 5.7635g de Fitasa procedente de *Aspergillus niger* (2500 FTU/g) en estudio, con agua des-ionizada y bi-distilada a una temperatura de 55°C y un pH de 6.4; a un movimiento constante durante 20 min. Luego la mezcla se sometió al secado en un horno a una temperatura de 110 °C, Posteriormente se sometió a molienda para obtener partículas de tamaño muy pequeño.

T4-1224. En este tratamiento se mezcló 3.648 kg de papilla y 5.7661 g de Fitasa procedente de *Aspergillus niger* (2500 FTU/g) en estudio, con agua des-ionizada y bi-destilada a una temperatura de 37°C y un pH de 6.4; a un movimiento constante durante 20 min. Luego la mezcla se sometió al secado en un horno a una temperatura de 110 °C, Posteriormente se sometió a molienda para obtener partículas de tamaño muy pequeño.

**Fig. 5:** Flujo de operaciones para la obtención de papilla desfitinizada.



Fuente: Elaboración propia.

### 3.4.2. TRATAMIENTO DIETARIO

En este experimento se utilizaron animales de laboratorio ratas albinas cepa HOLTZMAN machos de 25 días de nacido, estos fueron escogidos al azar en jaulas

individuales de metabolismo que permitían un perfecto control y separación de comida, heces y orina; se dividió en 5 grupos de 6 animales cada grupo (4 grupos para los cuatro tratamientos y uno para grupo control). A su vez estas jaulas fueron situadas en una habitación termorregulada a 21°C aproximadamente, con un sistema de ventilación conveniente y con fotoperiodo controlado de 12 horas (luz/oscuridad).

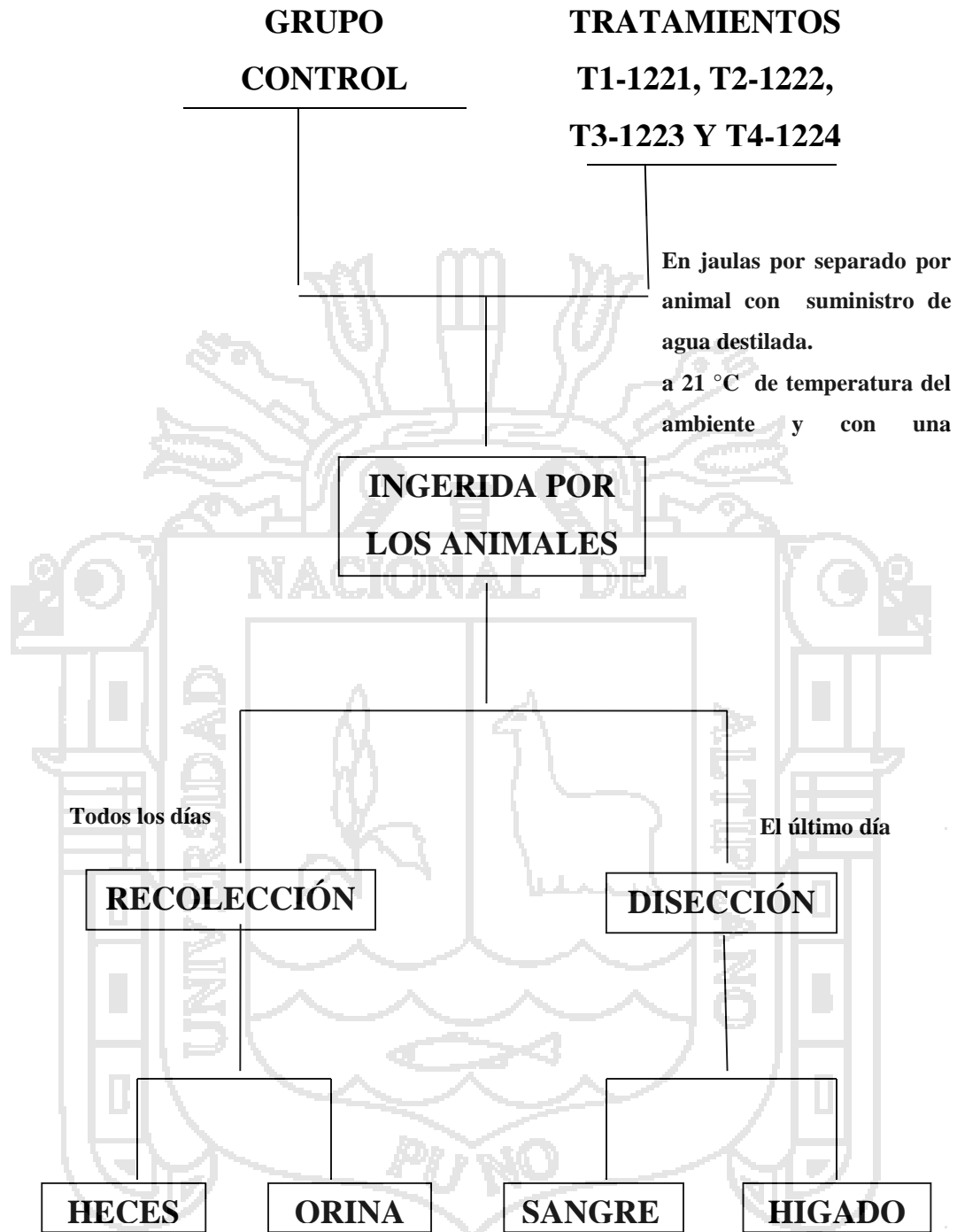
Las dietas fueron ingeridas por los animales, al igual que el agua destilada.

El periodo experimental fue de 8 días de duración, de los cuales el primer día correspondieron al periodo de adaptación a la dieta y condiciones experimentales, los siete días siguientes constituyeron el periodo experimental en el que se recogieron por separado las heces y orina, para su posterior análisis, controlándose diariamente durante este periodo la ingesta de la dieta y el peso corporal; como también la recolección de orina y heces y estas fueron medidas y pesadas respectivamente. El octavo día se realizó la disección a los animales para recolectar sangre e hígado para su posterior análisis.

Las heces fueron homogenizadas y desecadas, se conservaron refrigeradas en bolsas de plástico; la orina se recogió en frascos de vidrio y congelados para su posterior análisis (Mitchell, 1923).



**Fig. 6:** Flujo de operaciones para el tratamiento dietario



Fuente: Elaboración propia

### 3.4.3. MUESTRAS PARA EL ANÁLISIS

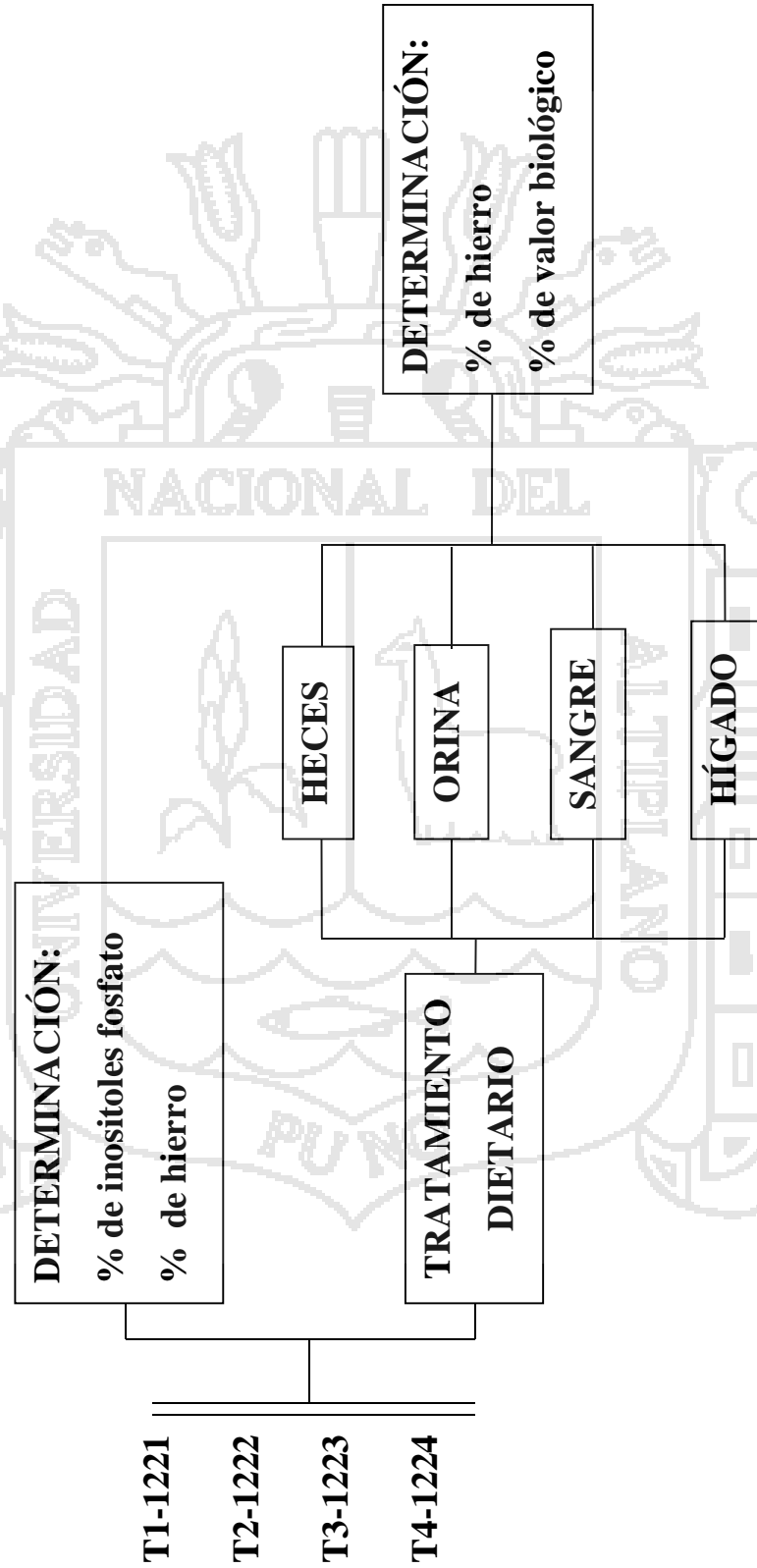
a) **Determinación de inositoles fosfato.** Se separó 100g de papilla T5-1225 (grupo control), también se reservó 100 g de las papillas desfitinizadas como: T1-1221, T2-1222, T3-1223 y T4-1224. Estos fueron llevados a sus respectivos análisis para determinar inositoles fosfato en HPLC (Frontela, 2007).

b) **Determinación de hierro.** Los tratamientos T1-1221, T2-1222, T3-1223, T4-1224 y T5-1225 inicialmente se pesaron muestras de 50g cada uno para determinar el porcentaje de hierro contenido mediante espectrofotometría.

Así también de cada tratamiento T1-1221, T2-1222, T3-1223, T4-1224 y T5-1225 se pesaron 250 g de cada uno por separado, los cuales fueron usados para el tratamiento dietario, utilizado estos en la dieta de las ratas albinas cepa HOLTZMAN machos durante ocho días. Se recolectó las heces y orina excretadas durante la experimentación, al finalizar el octavo día los animales fueron sacrificados para poder obtener la sangre y el hígado. Estos son analizados para obtener el porcentaje de Hierro excretado y absorbido por el organismo de las ratas.

c) **Determinación de valor biológico y digestibilidad de la proteína.** Durante el tratamiento dietario se recolectó las heces y orina de los animales para analizar el contenido de Nitrógeno consumido y excretado, para luego hacer el análisis de porcentaje de Valor Biológico y digestibilidad aparente (Velezví, 2005).

Fig. 7: Flujo de operaciones para el muestreo para análisis



Fuente: Elaboración propia.

### 3.4.4. TRATAMIENTO DE DATOS

#### 3.4.4.1. Análisis Estadístico

En este trabajo de investigación el modelo estadístico aplicado fue el Diseño Completamente al Azar (DCA), con arreglo factorial de 2x2 que hacen 4 tratamientos con 4 repeticiones para cada tratamiento haciendo un total de 16 unidades experimentales. Las medidas de inositolos fosfato fueron llevados a cabo por cuadruplicado, y los datos obtenidos se muestran como el valor medio de las mismas la desviación estándar (DS). Para comprobar la existencia de diferencia entre las medias se llevó a cabo la prueba de Duncan con un nivel de significación del 95%. Los contenidos de hierro en la papilla, sangre, hígado, heces y orina para estudiar el efecto de los tratamientos sobre el contenido de Inositol fosfato de la papilla infantil se realizaron los análisis de varianza (ANOVA) multifactorial y para determinar la significancia entre tratamientos se utilizó la prueba de rango múltiple de Duncan al  $p = 0.05$  de probabilidad. El análisis estadístico se realizó mediante los programas estadísticos IBM SPSS Statistics 20 y STATGRAPHICS Pluss.

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + (\tau\beta)_{ij} + \epsilon_{ij}$$

Dónde:

$Y_{ijk}$  =Es la variable respuesta de la  $k$  - ésima observación bajo el  $j$  - ésimo nivel del factor temperatura, sujeto al  $i$ - ésimo nivel de factor porcentaje adición de fitasa

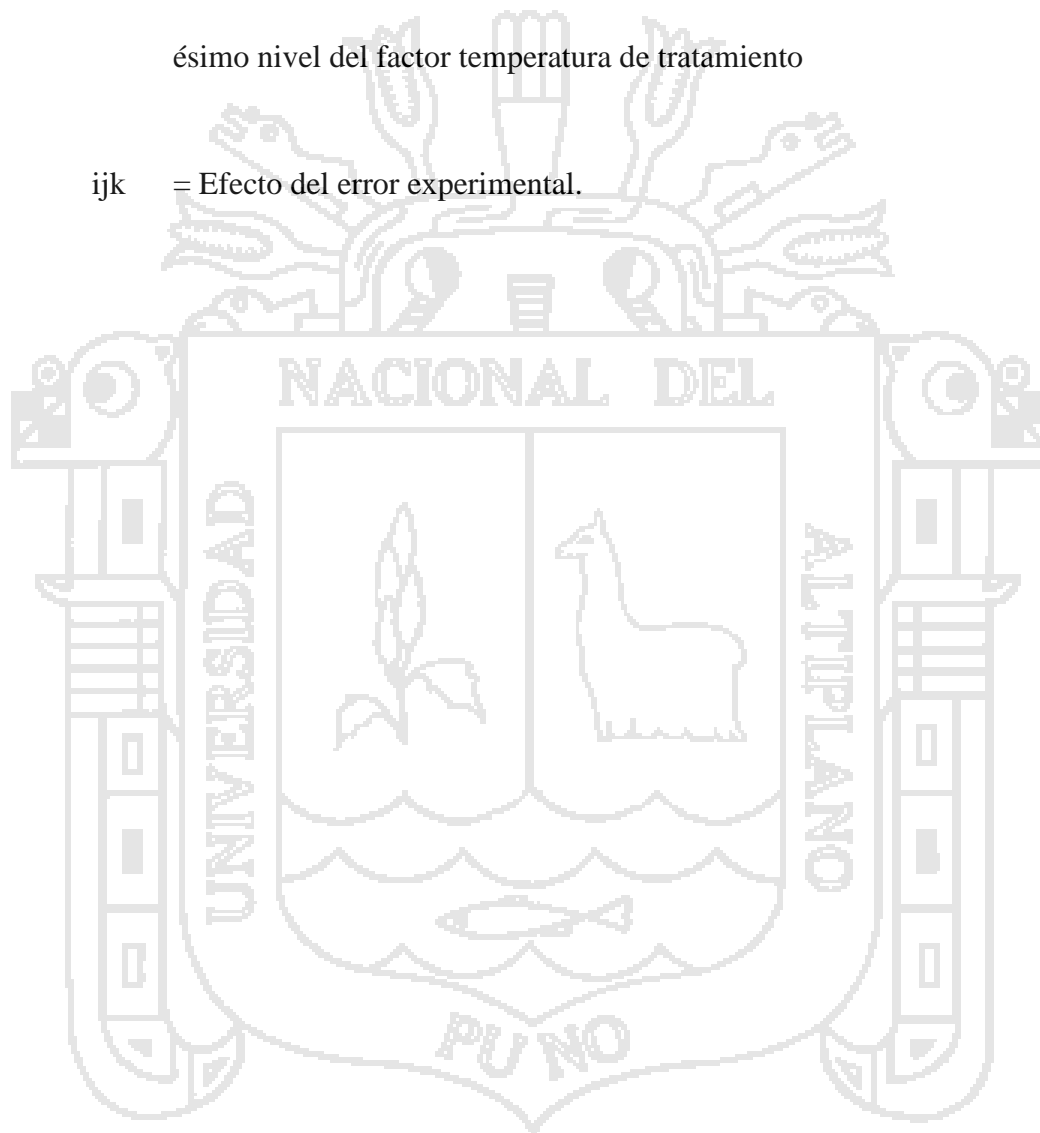
$\mu$  = Media general

$\mu_i$  = Verdadero efecto del  $i$ -ésimo nivel de tratamiento porcentaje adición de fitasa

$\mu_j$  = Verdadero efecto de la  $j$ -ésimo nivel de factor temperatura

$(\mu_{ij})$  = Efecto del  $i$ -ésimo nivel del factor porcentaje adición de fitasa con el  $j$ -ésimo nivel del factor temperatura de tratamiento

$\epsilon_{ijk}$  = Efecto del error experimental.



## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 CONTENIDO DE INOSITOLES FOSFATO Y HIERRO EN LA PAPILLA INFANTIL DEL PRONAA.

#### 4.1.1. CONTENIDO DE INOSITOLES FOSFATO

El ácido fítico o Inositol fosfato es uno de los principales antinutrientes que produce una disminución en la absorción de los minerales presentes en los alimentos infantiles que están procesadas a base de cereales (Hurrell, 2004).

En la Tabla 6, se muestra los datos estadísticos descriptivos de inositoles fosfatos encontrados en la papilla de PRONAA que fue empleada como materia prima de los tratamientos de este estudio, con respecto a los inositoles hexafosfato (IP6) se encontró un valor máximo de 156.0 mg y su valor mínimo de 146.6mg en 100g de papilla respectivamente, por lo tanto la media o promedio que se encontró fue de 150.32mg en 100g de papilla. Así como también se muestra las concentraciones halladas en los inositoles tetra y pentafosfato juntos (IP4 + IP5) con su valor máximo de 40.18mg y su valor mínimo de 25.94mg en 100g de papilla respectivamente, por lo tanto su media fue de 32.26mg en 100g de papilla.

**Tabla 6:** Datos Estadísticos Descriptivos de Inositol Fosfato Encontrados en la Papilla de PRONAA (mg/100g)

Inositol Hexafosfato	Descriptivos	Estadístico
Inositol Hexafosfato(IP6)	Media	150.316 ±2.186
Inositol Tetray Pentafosfato(IP4 + IP5)	Media	32.556 ±2.947

Frontela (2007), en su trabajo de investigación en las papillas infantiles utilizadas en su estudio encontró el contenido de inositoles hexafosfato como en: ocho cereales 186.2, trigo 157.6, crema de arroz 107.3, multicereales 100 y cereales sin gluten 167.9 mg en 100g de papilla respectivamente. Así como también encontró inositoles pentafofosfato en ocho cereales 133.4, trigo 137.9, crema de arroz 59.8, multicereales 43.5 y cereales sin gluten 131.9mg en 100g de papilla respectivamente.

Febles (1998), en su trabajo de investigación encontró inositoles fosfato con valores de 334 mg/100 g de muestra en papillas elaboradas con arroz y maíz principalmente, estos valores son los más bajos encontrados en su investigación pues las papillas estudiadas contienen entre 2000 a 3000 mg de fitatos por cada 100 g de muestra, estos valores tan elevados pueden deberse al método empleado para la determinación de los fitatos y también a los tipos de harinas utilizadas para su investigación siendo crudas algunas y otras integrales; algunas de estas muestras no eran sometidas a tratamiento alguno.

En la papilla infantil del PRONAA se halló cantidades similares de inositoles hexafosfato con respecto a las papillas infantiles ya estudiadas por Frontela donde se observan niveles considerables de inositoles de elevado número de fosfatos, que se consideran suficientes para poder comprometer la disponibilidad mineral. Con respecto a Febles y los valores hallados en su investigación hay una gran diferencia en cuanto al contenido de inositoles fosfato pues ambas papillas contienen en mayoría arroz y maíz; esta diferencia puede deberse al tratamiento empleado para su elaboración, pues como se sabe el Inositol Hexafosfato disminuye cuando es sometido a tratamiento térmico, durante la fabricación de la papilla del PRONAA es sometida a tratamiento térmico en el proceso de extrusión.

Quizás es necesario remarcar que aun tratándose de harinas refinadas se observan niveles considerables de inositoles de elevado número de fosfatos en la papilla infantil elaborados a partir de los ingredientes antes mencionados, que se consideran suficientes para poder comprometer la disponibilidad mineral lo cual implicaría la necesidad de incluir un tratamiento que produjese una mayor degradación de estos inositoles fosfato.

#### **4.1.2. CONTENIDO DE HIERRO**

En la Tabla 7, se muestra los datos estadísticos de mg de Hierro en 100gde papilla infantil en ella se puede observar los niveles de hierro encontrado que es de 5.702 – 5.705 mg/100g de papilla con una media de 5.703mg/100g, con una proporción baja para cubrir las necesidades dietéticas recomendados en los niños menores de 36 meses (NRC, 1991).

Frontela (2007), en su trabajo de investigación realizado con papillas infantiles encontró los valores de concentración de hierro en: ocho cereales 8.3, trigo 12, crema de arroz 8.8, multicereales 8.7 y cereales sin gluten 7.5 mg en 100g de papilla respectivamente. PRONAA (2010), menciona en su información nutricional que la concentración de hierro es de 11.11mg/100g de papilla, lo cual indicaría que hay una diferencia de 5.407mg/100g con lo encontrado en el análisis del estudio realizado, esta diferencia debió ser a causa de que los fabricantes de esta papilla no adicionaron algunos complementos para cumplir con la concentración estipulada de Hierro.

Hernandez Rodriguez (1999), indica las fórmulas utilizadas para la alimentación de los lactantes a partir del sexto mes deben de estar enriquecidas con hierro, recomendándose una concentración igual o superior a 1 mg/100 kcal, sin que la ingesta total exceda los 15 mg/día.



**Tabla 7:** Datos Estadísticos Descriptivos de porcentaje de Hierro encontrados en la Papilla de PRONAA (mg/100g)

Elemento	Descriptivos	Estadístico
Hierro (Fe)	Media	5.703±0.0003
	Mínimo	5.7020
	Máximo	5.7050

Fuente: Elaboración Propia (n=4)

## 4.2 TRATAMIENTO DIETARIO

### 4.2.1. GANANCIA DE PESO Y CONSUMO DE ALIMENTOS (g) POR LAS RATAS

En la Tabla 8, se visualizan los resultados, donde se observa el consumo de ración así como la ganancia de peso de las ratas que recibieron la dieta durante los 7 días de alimentación con los cuatro tratamientos T1-1221, T2-1222, T3-1223, T4-1224 respectivamente y el grupo control (T5-1225), donde el peso promedio más alto de ganancia de peso 9.32g se obtuvo con el tratamiento T2-1222 (Anexo 16). Así como también se muestra el promedio más bajo fue del tratamiento T4-1224 de 2.43g en este tratamiento se mostró poco aumento de peso de las ratas, hasta se encontró una disminución de un 0,8g en uno de ellos con respecto a su peso inicial (Anexo 18), esto podría relacionarse con factores relacionados a los animales de prueba.

Con respecto al grupo control (T5-1225) la ganancia de peso fue un promedio de 4.72g; fueron superiores los tratamientos T1-1221, T2-1222 y T3-1223; con promedios de 87.6g, 9.32g y 5.89g respectivamente esto indica que la ganancia de peso es significativamente superior al grupo control esto debido probablemente a que los tratamientos fueron sometidos a condiciones con temperatura y fitasa endógena. Lo opuesto

ocurrió con el tratamiento T4-1224 que tuvo un promedio de 2.43g inferior con respecto al grupo control, este resultado inferior al control puede deberse a factores externos como estado de las ratas, temperatura ambiente del laboratorio.

Cordero (2002), en su trabajo de “Evaluación nutricional de la proteína de la hoja de coca”, encontró que los pesos de los órganos de los animales que recibieron la dieta de coca, son menores que aquellos animales alimentados con la dieta control.

**Tabla 8:** Promedio de ganancia de peso (g) y consumo de ración (g) con respecto a los tratamientos.

Tratamientos	Consumo de Ración (g)	Ganancia de Peso (g)
T1-1221	49.84	8.6
T2-1222	50.205	9.32
T3-1223	36.08	5.89
T4-1224	27.01	2.43
T5-1225	34.02	4.72

Fuente: Elaboración propia. (n=6)

### 4.3 ANÁLISIS DE INOSITOLES FOSFATO

#### 4.3.1. EFECTO DEL PROCESADO EN LOS TRATAMIENTOS EN LA DESFITINIZACIÓN DE LA PAPILLA INFANTIL

Existen numerosos métodos para disminuir el contenido de fitatos en los cereales que se basan en adecuar las condiciones para estimular la actividad de la enzima fitasa endógena, presente de forma natural en las semillas de cereales, oleaginosas y legumbres. Estos métodos incluyen la germinación, el remojo de los cereales o la fermentación (Hotz y Gibson, 2001). Muchos de estos procesos son utilizados de forma tradicional para la

preparación de diversos tipos de alimentos destinados a la población de países en desarrollo donde los cereales son la base de la alimentación. Puesto que las papillas infantiles constituyen uno de los alimentos básicos durante el destete, es importante caracterizar los cambios que se producen en la concentración de inositoles fosfato durante su procesado, con el fin de mejorar la biodisponibilidad de los minerales presentes o añadidos en diferentes formas químicas.

Según Hurrell (2004), la forma más eficaz para degradar completamente el ácido fítico, es la adición de una fitasa exógena. Esta estrategia se ha utilizado experimentalmente en fórmulas infantiles preparadas con soja y con guisantes (Davidsson *et al.*, 2004); y también en cereales infantiles (Hurrell *et al.*, 2003) utilizando fitasa de *Aspergillus niger*. De esta manera, se ha estudiado la eliminación del contenido de ácido fítico en las papillas infantiles mediante la adición de fitasa de origen exógeno. Previamente a la aplicación del tratamiento, se estudió del efecto de dos fitasas microbianas de distinto origen (*Aspergillus niger* y de *Aspergillus oryzae*) sobre una disolución patrón de ácido fítico, controlando las condiciones de pH y temperatura para intentar degradar al máximo dicho antinutriente.

El efecto del procesado tecnológico de las papilla infantil se estudió mediante la aplicación de desfitinización sometiendo a tratamientos enzimático con dos concentraciones de fitasa de 1.05 y 1.60 g/kg de papilla respectivamente y, a dos temperaturas de 37°C y 55°C (Frontela, 2007; Gómez, 2005) (ver Figura 5).

#### **4.3.2. INOSITOLES FOSFATO IP6 Y (IP4 + IP5)**

En la Tabla 9, se muestra los datos estadísticos descriptivos de inositoles hexafosfato (IP6) con respecto a las dos concentraciones de fitasa a 1.05 y 1.60 g/kg de papilla respectivamente, en la que se observa que con la mayor concentración de fitasa (1.60

g/kg) la concentración de inositoles hexafosfato obtiene una media de 123.9476 mg/100g de muestra con un error típico de 0.39. En tanto con la menor concentración de fitasa (1.05 g/kg) se obtuvo una media de 128.295mg/100g de muestra $\pm$ 0.45. Esto nos indica que a una mayor concentración de fitasa ocurre una mayor degradación de ácido fítico.

**Tabla 9:** Datos estadísticos descriptivos de IP6 (mg/100g) encontrados en los tratamientos con respecto al factor concentración de fitasa

Inositol Hexafosfato	Concentración de fitasa (g)	Descriptivos	Estadístico
Concentración	1.05	Media	128.295 $\pm$ 0.449
de IP6	1.60	Media	123.947 $\pm$ 0.393

Fuente: Elaboración propia. (n=4)

En la Tabla 10, se muestra los datos estadísticos descriptivos de Inositol hexafosfato (IP6) con respecto a los dos temperaturas (37°C y 55°C) aplicados en los tratamientos, en donde se encontró que a mayor temperatura (55°C) es menor los valores encontrados obteniéndose una media de 11.44 mg/100g de muestra  $\pm$ 0.037. En tanto que a menor temperatura (37°C) los valores encontrados de Inositol hexafosfato son mayores, obteniéndose una media de 138.04 mg/100g de muestra $\pm$ 0.10. Esto nos indica que a un aumento de temperatura ocurre una mayor degradación de ácido fítico.

**Tabla 10:** Datos estadísticos de IP6 (mg/100g) encontrados en los tratamientos con respecto al factor temperatura.

Inositol Hexafosfato	Temperatura (°C)	Descriptivos	Estadístico
Concentración de IP6	37	Media	138,039±0.103
	55	Media	111,443±0.037

Fuente: Elaboración propia. (n=4)

Hurrell (2004), indica que la degradación de inositoles fosfato en los cereales pueden tener como consecuencia de la actividad de la fitasa endógena presentes y/o a la aplicación del tratamiento térmico. Al respecto Agte *et al.* (1999), pusieron de manifiesto que la degradación de fitato no ocurre únicamente por la activación de las fitasas, sino también por la aplicación de elevada temperatura. De hecho estos autores demostraron un incremento en la solubilidad de los minerales en las semillas de leguminosas tras someterlas en un tratamiento de tostado.

Así como también se puede degradar el ácido fítico con diferentes procesos como: Bressani *et al.* (2004), encontró la pérdida de ácido fítico durante el cocinado del maíz, arroz, sorgo y semillas de soja entre un 16-31%, produciéndose también un descenso (10,2%) en el contenido de ácido fítico de garbanzos y en el maíz, se produjo un descenso en el contenido de ácido fítico de un 17,4% .

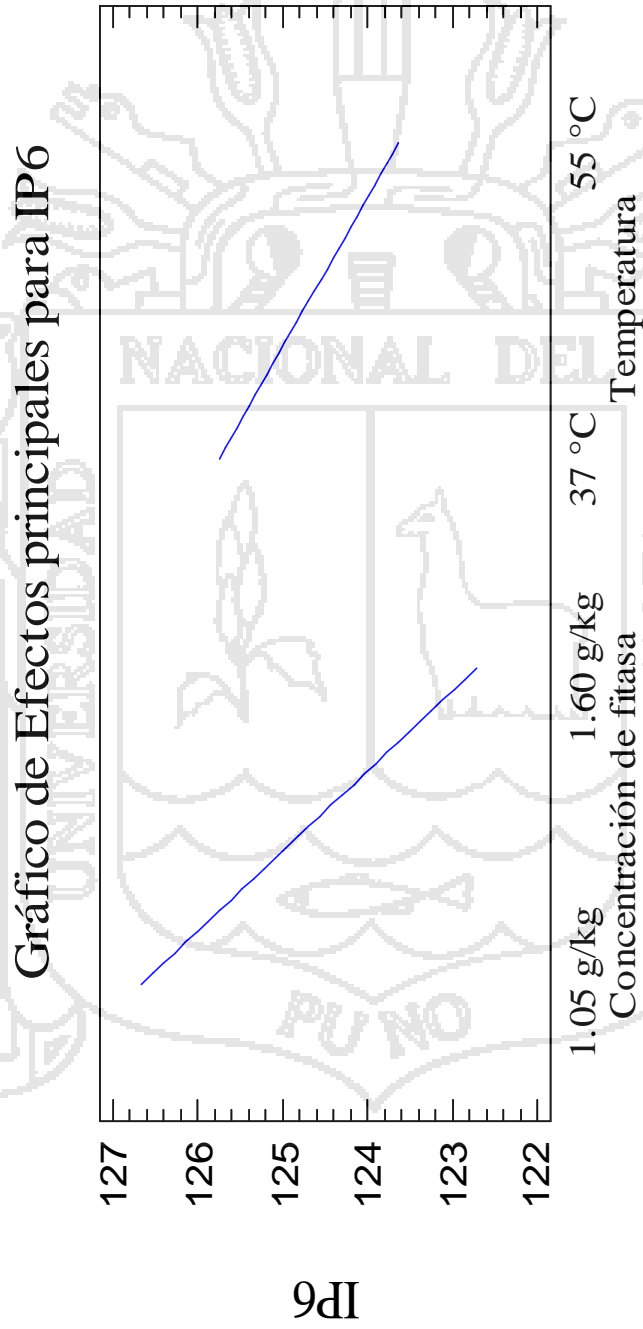
Durante la germinación, Kayode *et al.* (2006), observaron un descenso en el contenido de ácido fítico en la harina de sorgo como consecuencia de la germinación. Puede resultar efectiva como método de eliminación del ácido fítico en harinas de leguminosas. La mayor desventaja de este procedimiento es que también se eliminan cantidades considerables

de minerales y de vitaminas hidrosolubles (Hurrell, 2004). Perlas y Gibson, (2005) observaron que en el arroz y el maíz, tras su macerado, se producía un incremento en la disponibilidad del Fe, Ca y Zn.

La fermentación láctica (*Lactobacillus plantarum*), al producir un descenso en el valor de pH como consecuencia de la producción bacteriana de ácidos, principalmente láctico, produce un ambiente óptimo para la activación de la fitasa endógena presente en los cereales, produciéndose de forma paralela la formación de compuestos solubles de Fe y ácidos orgánicos (Bering *et al.*, 2006). La fermentación durante la elaboración del pan produce un descenso en el contenido de ácido fítico de las harinas de cereales.



**Fig. 8:** Efectos principales para Inositol hexafosfato (IP6)



En el Figura 8, observamos los efectos principales para el Inositol hexafosfato donde se indica que en tratamientos a mayor concentración de la enzima fitasa y a mayor temperatura disminuye la concentración de inositoles fosfato (IP6). Estos resultados nos indica que el tratamiento con enzimas fitasa y el tratamiento térmico son importantes para reducir la concentración de ácido fítico que produce una disminución de la absorción de minerales presentes en las papillas infantiles como lo señalan (Hurrell, 2004; Egli, 2001).

Los cereales y leguminosas sometidos a tratamientos térmicos experimentan una reducción en el contenido de fitatos que, a su vez, está en función de una serie de factores como el tipo de tratamiento térmico, la temperatura utilizada, el pH y la presencia de proteínas y cationes asociados al ácido fítico (Villegas, 2011).

Frontela *et al.* (2010), Indica que los métodos físicos de procesado industrial utilizados habitualmente tales como la molienda o triturado del cereal, consiguen reducir los niveles de ácido fítico, aunque el remojo y la germinación de las semillas, así como los procesos de fermentación han demostrado ser más eficaces en la eliminación de los fitatos presentes. El fundamento de estos últimos es la activación de las fitasas endógenas de las semillas, que producen una degradación del contenido en ácido fítico. Sin embargo, el modo más frecuente de eliminar el IP6 es la adición de fitasa exógena, producida principalmente por bacterias o levadura. Una de las características fundamentales a tener en cuenta es la termotolerancia que presentan las fitasas.

En el Anexo 23, se muestra el análisis de varianza para los valores de inositoles hexafosfato obtenidos según tratamiento y factores en estudio, muestra una diferencia altamente significativa entre tratamientos indicando que hay diferencias reales entre los promedios, el p-valor fue inferior a 0,05 (0,0002), por lo tanto existe diferencia significativa



con un nivel de confianza de un 95.00%, teniendo una coeficiente de variabilidad (CV) de 1.13% indica que el experimento ha sido conducido con una calificación muy buena. Para determinar cuál sería el mejor tratamiento se aplicó la prueba de comparaciones Duncan ( $p < 0.05$ ) (Anexo 24) obteniéndose como resultado que el mejor tratamiento es el T3-1223 (102.52 mg/100g) donde sus factores de estudio son a una concentración de fitasa de 1.6 g/kg y una temperatura de 55°C, seguido por T1-1221 (112.35 mg/100g) que fue tratada a la misma temperatura y una concentración de fitasa 1.05 g/kg estos dos se diferencian claramente del grupo control T5-1225 (150.32 mg/100g) de igual forma de T2-1222 y T4-1224 (140.99 mg/100g y 134.92 mg/100g) respectivamente.

Frontela (2007), en su investigación encontró una disminución significativa en concentración de inositol hexafosfato en muestras estudiadas, tras los tratamientos enzimáticos con alfa-amilasa y tostado, como en la papilla de ocho cereales que disminuyó de 285.5 mg/100g a 112.9 mg/100g y en la papilla de crema de arroz de 328.5 mg/100g a 300.8 mg/100g.

**Tabla 11:** Niveles de inositolos fosfato (mg/100g) en los tratamientos empleados.

CLAVE	IP4+IP5	IP6	IP4+IP5+IP6
T1-1221	66.17±4.552 <sup>b</sup>	112.35±1.173 <sup>a</sup>	178.52
T2-1222	151.13±3.768 <sup>c</sup>	140.99±2.772 <sup>c</sup>	292.11
T3-1223	29.79±3.589 <sup>a</sup>	110.52±1.207 <sup>a</sup>	140.31
T4-1224	69.92±5.728 <sup>b</sup>	134.92±1.173 <sup>b</sup>	204.84
T5-1225	32.56±9.362 <sup>a</sup>	150.32±6.957 <sup>d</sup>	182.87

Fuente: Elaboración Propia (n =4)

Cada valor representa la media  $\pm$  error típico ( $n=4$ ). Letras distintas (a-d) como superíndice de los valores medio dentro de la misma columna muestra diferencias significativas para  $p<0.05$ .

En la papilla utilizada en el estudio estaba elaborado a partir de harinas de cereales como el maíz y arroz en mayor porcentaje así como también de harina de soja, son de 35.0, 31.16 y 7.7% respectivamente (Cuadro 5), Frontela (2007) en su investigación encontró valores de inositoles fosfato en la harina de estos cereales, harina de arroz 328.5 mg/100g de IP6 y 138.5 mg/100g de IP5, harina de maíz 410.3mg/100g y 42.6 mg/100g, en tanto en la leguminosa como la soja (Khokher *et al.*,1994) encontró 2.2g de ácido fítico en 100g de muestra, esto atribuye que en nuestro trabajo de investigación se utilizó una papilla de contenido significativo de IP6 (T5-1225) que puede comprometer la absorción mineral. Con los tratamientos realizados se redujo (IP6) significativamente ( $p<0.05$ ) en los tratamientos con concentración de fitasa de 1.6 g/kg a una temperatura de 55°C (T3-1223) y una concentración de fitasa de 1.05g/kg a una temperatura de 55°C (T1- 1221).

También en la Tabla 11, se muestra los valores encontrados de concentraciones de inositoles tetra y pentafofosfato (IP4+IP5), el valor encontrado más alto fue de T2-1222 (151.13 mg/100g) indica que tiene una relación con respecto de IP6 del mismo tratamiento, así como también el valor mínimo encontrado es de T3-1223 (29.79 mg/100g) también tiene relación con valores encontrados de IP6 del mismo tratamiento. También se puede observar que el tratamiento con concentraciones de enzima fitasa y a diferentes temperaturas produjo un incremento significativo ( $p<0.05$ ) en los contenidos de inositoles tetra y pentafofosfato que superaron el valor encontrado del grupo control (T5-1225) (32.56 mg/100g), a excepción del T3-1223 (29.79 mg/100g) que fue inferior de la misma.

#### 4.4 ANÁLISIS DE HIERRO

En nuestro estudio se recolecto sangre e hígado para obtenerla absorción de hierro consumido durante la dieta en los 7 días de experimentación. Al respecto (Wagner, 2006), indica que el hierro corporal se halla fundamentalmente en la hemoglobina y la mioglobina, aunque también la cadena transportadora de electrones, así como que forma parte del sistema enzimático requerido para el sistema del ADN es denominado hierro funcional. También se encuentra en la ferritina denominado reserva.

##### 4.4.1. HIERRO ABSORBIDO EN LA SANGRE E HÍGADO

En la Tabla 12, se muestra los datos estadísticos descriptivos de valores de hierro encontrados en la sangre con respecto a las dos concentraciones de fitasa a 1.05 y 1.60 g/kg de papilla respectivamente, en la que se muestra que a mayor concentración de fitasa (1.60 g/kg) es mayor la absorción de hierro, los valores encontrados varían de 3.189–3.538mg/100g obteniéndose una media de 3.45 mg/100g, con error típico de 0.001.

En tanto a menor concentración de fitasa (1.05 g/kg) los valores encontrados de hierro que varían de 3.189– 3.273mg/100g obteniéndose una media de 3.23mg/100g de muestra con error típico de 0.001. Esto nos indica que en un tratamiento a mayor concentración de fitasa ocurre mayor absorción de hierro.

**Tabla 12:** Datos Estadísticos Descriptivos de Hierro en la Sangre (mg/100g) Encontrados en los Tratamientos con respecto al factor Concentración de Fitasa.

	Concentración de fitasa (g)	Descriptivos	Estadístico
Concentración de Hierro en la Sangre	1.05	Media	3.231±0.001
	1.6	Media	3.448 ±0.003

Fuente: Elaboración propia (n=4)

En la Tabla 13, se muestra los datos estadísticos descriptivos, valores de hierro encontrados en la sangre con respecto a los dos temperaturas de 37°C y 55°C aplicados en los tratamientos de nuestro estudio, donde se visualiza a menor temperatura (37°C) es mayor los valores encontrados de hierro obteniéndose una media de 3.36mg/100g, con error típico de 0.004. En tanto que a una mayor temperatura (55°C) es menor los valores encontrados de obteniéndose una media de 3.308 mg/100g, con error típico de 0.002. Esto nos indica que a una mayor temperatura se encuentra menor concentración de hierro en la sangre.

**Tabla 13:** Datos Descriptivos de Hierro en la Sangre (mg/100g) encontrados en los Tratamientos con respecto al factor Temperatura.

	Temperatura (°C)	Descriptivos	Estadístico
Concentración de Hierro en la Sangre	37	Media	3.362 ±0.005
	55	Media	3.308 ±0.002

Fuente: Elaboración propia. (n=4)

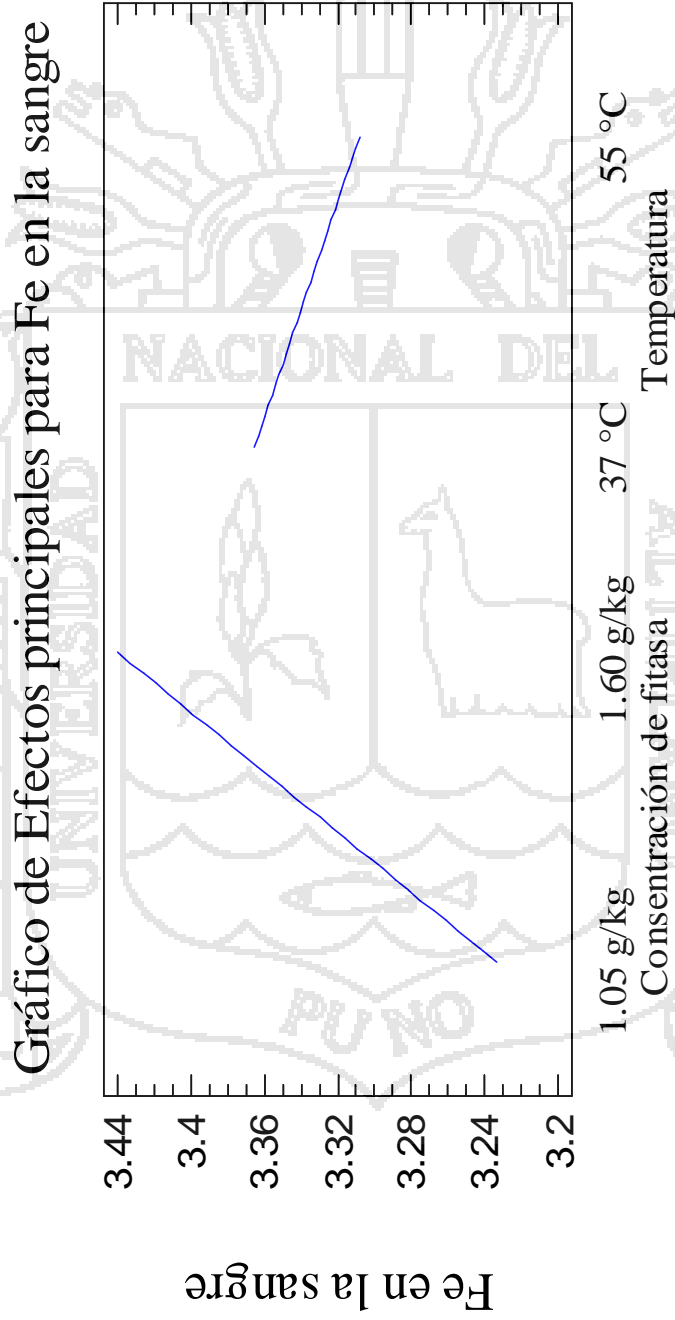
Los efectos principales para los valores de hierro encontrados en nuestro estudio se visualizan en la Figura 9, donde los factores de investigación temperatura y concentración de fitasa muestran los valores de hierro en la sangre, a mayor concentración de fitasa (1.6mg) es mayor el valor del hierro (mg/100g), en tanto a mayor temperatura (55°C) es menor el

valor del hierro (mg/100g). Al respecto (Sarria,1998), indica en su investigación que el porcentaje de absorción de hierro se redujo por el calentamiento disminuyendo también la utilización nutritiva del metal, además se produjo una disminución de la utilización metabólica en los animales que tomaron este preparado tratado al microondas.

Sarria (1998) en su trabajo de investigación encontró el contenido de hierro en el tratamiento a 65 °C en formulas infantiles en polvo halló 761.3 mg/g con una CV de 17.2 mg/g; y en la muestra control fue de 743.9 mg/g con una CV de 68.1 mg/g; en la cual tiene un incremento en la concentración de hierro en la sangre al ser sometida a una temperatura mayor a la de control.



**Fig. 9:** Efectos principales para valores de hierro en la sangre (mg/100g).



En la Tabla 14, se muestran los valores medios de hierro encontradas en la sangre de las ratas alimentadas con los tratamientos, T1-1221, T2-1222, T3-1223 y T4-1224 que fueron utilizados en nuestro estudio, el mayor valor de hierro lo presentó el T4-1224 que su valor media fue de 3.520 mg/100g, en cuanto los tratamientos T3-1223, T1-1221 y T2-1222 presentaron los valores de hierro de 3.359, 3.257 y 3.210 mg/100g respectivamente, en los tratamientos con concentración de 1.6g/kg de fitasa se encontraron mayores valores de concentración de hierro como en T4-1224 seguido de T3-1223 estos tratamientos se realizaron a temperaturas de 37°C y la segunda a 55°C. En tanto el grupo de animales alimentados con T5-1225 (grupo control) presentaron una baja concentración de hierro en su sangre de 3.126mg/100g, esto nos indica que la papilla contenía agentes antinutrientes que comprometieron significativamente la absorción del hierro. Al respecto (Engle-Stone *et al.*, 2005), indica que los fitatos (Inositol hexafosfato) que se localizan en la fibra del arroz, el trigo y el maíz, y la lignina de las paredes de las células vegetales, constituyen potentes inhibidores de la absorción de hierro, debido a la formación de quelatos insolubles. Para determinar el mejor tratamiento se aplicó la prueba de comparaciones Duncan ( $p < 0.05$ ) (Anexo 28), obteniéndose el mejor resultado el T4-1224 (3.520 mg/100g) con D.S. de 0.025, donde sus factores de estudio son a una concentración de fitasa de 1.6 g/kg a una temperatura de 37°C, seguido por T3-1223 (3.359mg/100g) con una D.S. de 0.009, que fue tratada a la misma concentración de fitasa 1.6 g/kg y a una temperatura de 55°C seguido de T1-1221 y T2-1222 (3.257 mg/100g y 3.210 mg/100g) con una desviación estándar de 0.025 y 0.004 respectivamente. En tanto el grupo control (T5-1225) quedando por debajo de todos los tratamientos (3.126mg/100g) con una desviación estándar de 0.084.



Tabla 14: Niveles de hierro en la sangre e hígado (mg/100g)

CLAVE	Hierro en la Sangre	Hierro en el Hígado	Hierro absorbido en la Sangre e Hígado
T1-1221	3.257±0.025 <sup>c</sup>	0.498±0.020 <sup>b</sup>	3.756
T2-1222	3.210±0.004 <sup>d</sup>	0.663±0.050 <sup>a</sup>	3.874
T3-1223	3.359±0.009 <sup>b</sup>	0.306±0.019 <sup>c</sup>	3.665
T4-1224	3.520±0.025 <sup>a</sup>	0.299±0.013 <sup>c</sup>	3.819
T5-1225	3.126±0.084 <sup>e</sup>	0.279±0.015 <sup>c</sup>	3.405

Fuente: Elaboración Propia

Cada valor representa la media y error típico ( $n=4$ ). Letras distintas (a-e) como superíndice de los valores medio dentro de la misma columna muestra diferencias significativas para  $p<0.05$ .

También en la Tabla 14, se muestran los valores medios de hierro encontrados en el hígado de las ratas alimentadas con los tratamientos, T1-1221, T2-1222, T3-1223 y T4-1224, el mayor valor de hierro encontrado lo presentó el T2-1222 y su valor media fue de 0.663mg/100g con un desviación estándar de 0.05, en cuanto los tratamientos T1-1221, T3-1223 y T4-1224 presentaron los valores de hierro de 0.498, 0.306 y 0.299mg/100g de muestra y su desviación estándar 0.02, 0.019 y 0.013 respectivamente. En tanto el grupo de animales alimentados con T5-1225 (grupo control) presentaron una baja concentración de hierro en su hígado de 0.279 mg/100g.

En el Anexo 29, se muestra el análisis de varianza para los valores de hierro encontrados en el hígado según tratamiento y factores en estudio, muestra una diferencia altamente significativa entre tratamientos indicando que hay diferencias reales entre los promedios, el p-valor fue inferior a 0.05 (0.0002), por lo tanto existe diferencia significativa con un nivel de confianza de un 95.00%, teniendo una coeficiente de variabilidad de 4.21% indica que el experimento ha sido conducido con una calificación muy buena. Para determinar cuál sería el mejor tratamiento se aplicó la prueba de comparaciones Duncan ( $p = 0.05$ ) (Anexo 30).

En relación a la absorción de hierro en la sangre e hígado presentando los dos juntos T2-1222 presentó el mayor valor de concentración de hierro (3.874mg/100g), en tanto el T4-1224 presentó un valor de concentración de hierro 3.819mg/100g y los demás tratamientos mostraron valores más inferiores. Al respecto (Frontela, 2007), en su trabajo de investigación

encontró la captación y la disponibilidad de hierro por las células Caco-2a partir de papillas infantiles elaboradas a base de cereales desfitinizadas y no desfitinizadas, encontró los valores de captación de hierro en: ocho cereales 3.99% y 1.96%, multicereales 3.97% y 3.68% y cereales sin gluten 1.91% y 1.59% respectivamente. Así como también encontró los valores de disponibilidad de hierro en: ocho cereales 10% y 4.7%, multicereales 8.6% y 9.9% y cereales sin gluten 4.2% y 3.2% respectivamente. Esto nos indica que las papillas que no son desfitinizadas no tienen mayor porcentaje de absorción y disposición de hierro al similar que encontramos en nuestro trabajo.

En relación (Vila y Quintana, 2008), indican Según la proporción del hierro dietario que es absorbido y utilizado por el Cuerpo puede ser de alta y baja biodisponibilidad, que la baja biodisponibilidad está presente en alimentos de origen vegetal, huevos y productos lácteos; su absorción es de 2 a 20% y está condicionada por la presencia de ciertos compuestos al momento de la ingesta, que disminuyen o potencian su absorción, el de alta biodisponibilidad está presente en la sangre de animales, carnes rojas, pescado y demás carnes y vísceras; constituye el 40% del hierro total de estos alimentos y tiene una absorción de 15 a 40%. La tasa de absorción de hierro se ve afectada por una serie de factores que pueden actuar simultáneamente y algunos están interrelacionados entre sí. Así por ejemplo, la absorción de hierro aumenta con la disminución de las reservas corporales del mineral, la anemia o la hipoxemia, e inversamente, disminuye en presencia de la inflamación, proceso que contribuye a la anemia de los procesos crónicos (Allen, 2001), así como también (Yip y Dallman, 1998) citado por (Gómez, 2005), indican que el hierro hemo y el no hemo poseen distintos mecanismos de absorción. En el hombre y algunos animales, el hierro hemo es el que se absorbe preferentemente. Para poder absorber el hierro no hemo este debe encontrarse en estado iónico. La absorción del hierro hemo es mucho más fácil y se ve poco afectada por el resto de los componentes de la dieta. Es importante resaltar que en numerosos

estudios se ha observado que la captación de hierro en forma ferrosa por las células es notablemente superior a la observada para el ión férrico (Frontela, 2007).

#### 4.4.2. HIERRO EXCRETADO EN LAS HECES Y ORINA

En nuestro trabajo se recolectó las heces y orina con el fin de encontrar la cantidad de hierro excretado durante los días de experimentación. Cook *et al*, (1991), indica que la eliminación de hierro se realiza a través de las heces, seguido de la piel y por último, la orina. El excretado fecalmente corresponde a la fracción no absorbida de la dieta.

En la Tabla 15, se muestra los datos estadísticos descriptivos de valores de hierro encontrados en las heces de los animales con dietas experimentales. Con respecto a las dos concentraciones de fitasa a 1.05 y 1.60 g/kg de papilla respectivamente, en la que se muestra a menor concentración de fitasa (1.05 g/kg) es mayor la excreción de hierro, los valores encontrados varían de 0.310 – 0.523 mg/100g obteniéndose una media de 0.44 mg/100g respectivamente, con error típico de 0.002. En tanto a mayor concentración de fitasa (1.60 g/kg) es menor la excreción de hierro encontrándose los valores de hierro que varían de 0.292 a 0.548mg/100g obteniéndose una media de 0.42mg/100g respectivamente, con error típico de 0.003. Esto nos indica que tratamiento a mayor concentración de fitasa ocurre menor cantidad de excreción de hierro.

**Tabla 15:** Datos Estadísticos Descriptivos de Hierro en la Heces (mg/100g) Encontrados en los Tratamientos con respecto al factor Concentración de Fitasa.

	<b>Concentración de fitasa (g)</b>	<b>Descriptivos</b>	<b>Estadístico</b>
<b>Concentración de Hierro en las Heces</b>	<b>1.05</b>	<b>Media</b>	<b>0,441±0.002</b>
	<b>1.6</b>	<b>Media</b>	<b>0,417±0.003</b>

Fuente: Elaboración Propia.

En la Tabla 16, se muestra los datos estadísticos descriptivos valores de hierro excretados en las heces de los animales con dietas experimentales. Con respecto a los dos temperaturas de 37°C y 55°C aplicados en los tratamientos de nuestro estudio, donde se visualiza a menor temperatura (37°C) es menor los valores encontrados de hierro que varían de 0.292 a 0.437mg/100g obteniéndose una media de 0.358mg/100g respectivamente, con error típico de 0.002. En tanto a mayor temperatura (55°C) es mayor los valores encontrados de hierro que varían de 0.490 a 0.548mg/100g obteniéndose una media de 0.517mg/100 g, con error típico de 0.001. Esto nos indica a mayor temperatura ocurre mayor excreción de hierro en las heces. En conclusión, con tratamientos de mayor concentración de la enzima fitasa (1.60g/kg) y a una menor temperatura (37°C) se encontró menor concentración de hierro excretado en las heces tal como se muestra en la Figura10.

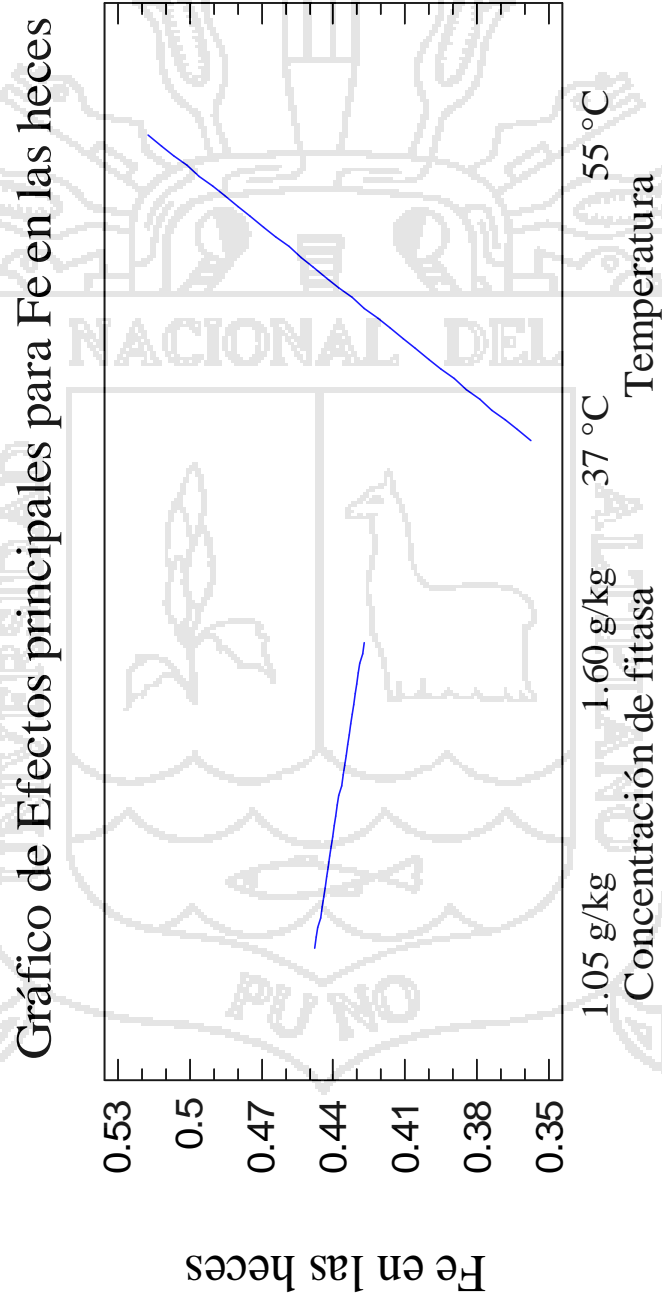
**Tabla 16:** Datos Estadísticos Descriptivos de Hierro en la Heces (mg/100g) Encontrados en los Tratamientos con respecto al factor Temperatura.

	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Descriptivos</b>	<b>Estadístico</b>
Concentración de Hierro en la Heces	37	Media	0,358±0.002
	55	Media	0,517±0.001

Fuente: Elaboración Propia (n=4)

En la Tabla 17, se muestran los valores medios de hierro encontradas en las heces de las ratas alimentadas con los tratamientos, T1-1221, T2-1222, T3-1223 y T4-1224 que fueron utilizados en nuestro estudio, el menor valor de hierro lo presentó el T4-1224 y su valor media fue de 0.325mg/100g, en cuanto los tratamientos T2-1222, T1-1221 y T3-1223 presentaron los valores de hierro de 0.391, 0.505 y 0.530 mg/100g respectivamente, en los tratamientos realizados a 37°C se encontraron menores valores de concentración de hierro como en T4-1224 seguido de T2-1222 estos tratamientos se realizaron con concentraciones de fitasa de: 1.60 g/kg y la segunda de 1.05 g/kg. En tanto el grupo de animales alimentados con T5-1225 (grupo control) presentaron una alta concentración de hierro excretados en las heces de 0.573mg/100g, esto nos indica que tratamientos realizados a mayores temperaturas tienden a que el hierro consumido sea excretado en cantidades mayores al respecto de tratamientos realizados a menor temperatura. Gómez (2005), en su estudio encontró que la excreción fecal de Fe en harina de guisante cruda (GC) 668.8µg/día, harina de guisante control no adicionado de fitasa (GNF) 442.3µg/día y harina de guisante adicionado de fitasa (GF) 425.0µg/día estos resultados decreció significativamente en las ratas que consumieron las harinas procesados.

**Fig. 10:** Efectos principales para valores de hierro en las heces (mg/100g).



Fuente: Elaboración Propia

En el Anexo 31, se muestra el análisis de varianza para los valores de hierro encontrados en las heces según tratamiento y factores en estudio, muestra una diferencia altamente significativa entre tratamientos indicando que hay diferencias reales entre los promedios, el p-valor fue inferior a 0,05 (0,0004), por lo tanto existe diferencia significativa con un nivel de confianza de un 95.00%, teniendo una coeficiente de variabilidad de 7.35% indica que el experimento ha sido conducido con una calificación buena. Para determinar cuál sería el mejor tratamiento se aplicó la prueba de comparaciones Duncan (p 0.05) (Anexo 32), obteniéndose como el mejor resultado el T4-1224 (0.325 mg/100g) con una desviación estándar de 0.039, donde sus factores de estudio son a una concentración de fitasa de 1.6g/kg y una temperatura de 37°C, seguido por T2-1222 (0.391mg/100g) con una desviación estándar de 0.089, que fue tratada a una concentración de fitasa de 1.05 g/kg y a una temperatura de 37°C seguido de T1-1221 y T3-1223 (0.505 mg/100g y 0.530 mg/100g) con una desviación estándar de  $0.022 \pm 0.025$  respectivamente. En tanto el grupo control (T5-1225) superando a todos los tratamientos (0.572mg/100g) con una desviación estándar de 0.027.



**Tabla 17:** Niveles de hierro en las heces y en la orina (mg/100g)

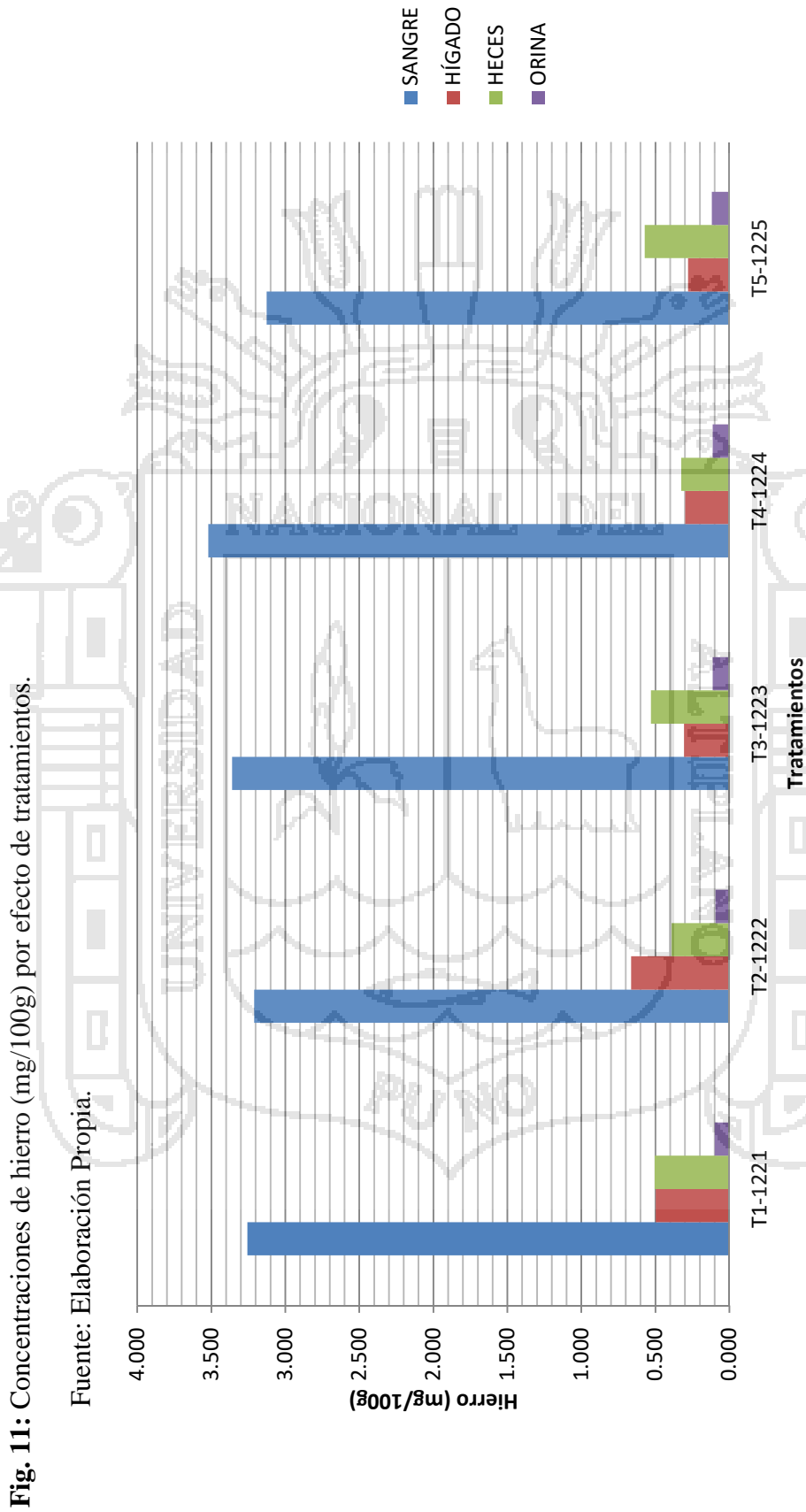
Clave	Hierro en Heces	Hierro en la Orina	Hierro Excretado en Heces y Orina
T1-1221	0.505±0.022 <sup>c</sup>	0.101±0.0047 <sup>a</sup>	0.605
T2-1222	0.391±0.089 <sup>b</sup>	0.095±0.0820 <sup>a</sup>	0.485
T3-1223	0.530±0.025 <sup>c-d</sup>	0.112±0.0102 <sup>b</sup>	0.642
T4-1224	0.325±0.039 <sup>a</sup>	0.113±0.0034 <sup>b</sup>	0.437
T5-1225	0.572±0.027 <sup>d</sup>	0.118±0.0102 <sup>b</sup>	0.690

Fuente: Elaboración Propia

Cada valor representa la media y su error típico (n=4). Letras distintas (a-d) como superíndice de los valores medio dentro de la misma columna muestra diferencias significativas para  $p < 0.05$ .

También en la Tabla 17, se muestran los valores medios de hierro encontrados en la orina excretada por las ratas alimentadas con los tratamientos, T1-1221, T2-1222, T3-1223 y T4-1224, el menor valor de hierro encontrado lo presentó el T2-1222 que su valor media fue de 0.095mg/100g con un desviación estándar de 0.082, en cuanto los tratamientos T1-1221, T3-1223 y T4-1224 presentaron los valores de hierro de 0.101, 0.112 y 0.113 mg/100g y sus desviación estándar 0.0047, 0.0102 y 0.0034 respectivamente. En tanto el grupo de animales alimentados con T5-1225 (grupo control) presentaron una alta concentración de hierro en la orina de 0.118 mg/100g. En el anexo 33, se muestra el análisis de varianza para los valores de hierro encontrados en la orina según tratamiento y factores en estudio, muestra una diferencia altamente significativa entre tratamientos indicando que hay diferencias reales entre los promedios, el p-valor fue inferior a 0.05 (0.0005), por lo tanto existe diferencia significativa con un nivel de confianza de un 95.00%, teniendo una coeficiente de variabilidad de 6.22% indica que el experimento ha sido conducido con una calificación muy buena. Para determinar cuál sería el mejor tratamiento se aplicó la prueba de comparaciones Duncan ( $p < 0.05$ ) (Anexo 34).

En relación de la excreción de hierro en las heces y orina presentando los dos juntos T4-1224 presentó el menor valor de concentración de hierro (0.437mg/100g), en tanto el T2-1222 presentó un valor de concentración de hierro 0.485mg/100g y los demás tratamientos mostraron valores más superiores.



#### 4.4.3. CORRELACIÓN DE PEARSON

Los resultados obtenidos en el análisis de correlación Pearson entre la absorción (hierro en la sangre e hígado), excreción (hierro en las heces y orina) de hierro y concentración de inositoles fosfato (IP6 y IP4+IP5), existe correlación negativa entre el contenido hierro en la sangre (mg/100g) y concentración de IP6 (mg/100g) siendo además estadísticamente significativa ( $p < 0.01$ ), es decir, cuando al aumentar o disminuir la concentración de inositoles fosfato (IP6) entonces el hierro en la sangre disminuirá o aumentará respectivamente, es decir, cuando la cantidad de IP6 en la papilla disminuye la cantidad de hierro absorbido aumenta o viceversa. Estos hallazgos, fueron ya observados por (Gómez, 2005) en su estudio de transformación y mejora del valor nutritivo de los guisante mediante la adición de enzima fitasa, diversos estudios indican que cuando se añade separadamente al alimento IP6 e IP5 pero no IP4 e IP3 se inhibe la absorción de Fe y Zn (Sandberg, et al., 1989, 1993; Lönnerdal, 1989; Sandström y Sandberg, 1992) citados por (Gómez, 2005).

La correlación se muestra también negativa entre el contenido de hierro en la sangre (mg/100g) y el contenido de hierro en las heces (mg/100g), siendo además estadísticamente significativa ( $p < 0.01$ ) en este sentido nos indica que cuando la excreción de hierro por las heces aumentan, la absorción de hierro en la sangre disminuye o viceversa respectivamente. En la correlación de contenido hierro en las heces (mg/100g) y concentración de IP6 (mg/100g), la correlación observada en nuestro estudio fue positiva siendo además estadísticamente significativa ( $p < 0.01$ ) esto nos indica que cuando la concentración de inositoles fosfato (IP6) aumenta la excreción de hierro por las heces aumentan respectivamente. En forma similar se mostró positiva la correlación entre la concentración de inositoles fosfato (IP6) y la concentración de inositoles fosfato (IP4+IP5).

#### 4.5 VALOR BIOLÓGICO

En la Tabla 18, se muestra los resultados del valor biológico (VB) de los tratamientos T1-1221, T2-1222, T3-1223 y T4-1224, así como también del grupo control (T5-1225), ensayadas en ratas de la cepa Holtzman. En el T4-1224 presentó un VB de 73.17% seguidos de T1-1221 que presentó un VB de 68.85%, en tanto T3-1223 presentó un VB de 66.67% tan similar al grupo control que presentó también VB de 66.67%, el valor más inferior que presentó fue el T2-1222 que fue de VB de 61.67%. Velezví (2005), en su investigación encontró resultados del valor biológico de las mezclas 1, 2 y 3 ensayadas también en ratas de las mismas características que utilizamos en nuestro trabajo de investigación, en la mezcla 1 (carachi 12%, cañihua 44% quinua 44%) encontró un VB de 72.62%, la mezcla 2 (carachi 15%, cañihua 55% tarhui 30%) encontró un VB de 72.22% y en la mezcla 3 (carachi 15%, cañihua 55% tarhui 30%) encontró un VB de 70.49%. Así también FAO (1982); citado por Velezví (2005), hallaron en ratas un valor biológico de 86.6% para lupino con adición de 0.2% para lupino puramente. Experimentalmente en grupo de niños de pueblo andino de la sierra central del Perú, y con la caseína de control, obtuvieron un valor biológico de 84.6% para lupino con adición de 0.2% de metionina y un valor biológico de 61.3% para lupino puramente.

**Tabla 18:** Porcentaje de valor biológico.

CLAVE	% VB
T1-1221	68.85
T2-1222	61.67
T3-1223	73.17
T4-1224	66.67
T5-1225	66.67

Fuente: Elaboración Propia (n=6)

Se muestra el mayor porcentaje de VB que se obtuvo fue en ratas alimentadas con el tratamiento T3-1223 (concentración de enzima fitasa de 1.60 g/kg a un temperatura de 55°C) que presentó un VB de 73.17%, seguido por el T1-1221 (concentración de enzima fitasa de 1.05 g/kg a un temperatura de 55°C) presento un VB de 68.85%; esto nos indica que el tratamiento térmico es un factor influyente en el porcentaje de valor biológico, en tanto los demás tratamiento mostraron valores inferiores. Rúbio (2000); citado por Goyoaga (2005), indica que el bajo valor biológico y la escasa utilización de esta proteína se atribuye a su deficiencia en aminoácidos azufrados, a su compacta estructura química, difícil de hidrolizar por los enzimas proteolíticos y a la presencia de factores antinutritivos (ácido fítico, taninos, inhibidores de proteasas, lecitinas, etc.) que limitan la digestibilidad de la proteína y la absorción de los aminoácidos en el tracto digestivo.

## V. CONCLUSIONES

Finalmente se llegó a las siguientes conclusiones:

- El contenido de Hierro (Fe) total fue de 5.703 mg/100g de muestra y para los inositoles fosfato (IP6) de 150.32mg/100g de muestra este último suficientemente elevado como para comprometer la disponibilidad mineral en la papilla.
- En la papilla infantil tratada con 1.60 g/kg de concentración de enzima fitasa y una temperatura de 55°C (T3-1223) se encontró el menor valor de IP6 que fue de 110.52mg/100g, seguido del tratamiento con 1.05 g/kg de concentración de enzima fitasa y una temperatura de 55°C (T1-1221) se encontró el valor de IP6 que fue de 112.35mg/100g de muestra.
- La absorción del hierro aumento en los animales alimentados con papillas desfitinizadas cuando esta fue tratada con 1.60 g/kg de concentración de enzima fitasa y una temperatura de 37°C (T4-1224) se encontró un valor de 3.520mg de hierro en 100g de sangre, seguido de la papilla tratada con 1.60 g/kg de concentración de enzima fitasa y una temperatura de 55°C (T3-1223) donde se encontró un valor de 3.359mg de hierro en 100g de sangre. En relación a la papilla sin desfitinizar que mostro un valor de 3.126mg de hierro en 100g de sangre. Esto indica que los inositoles fosfato influyen negativamente en la captación de hierro.
- El valor biológico (VB) de la proteína de las papillas infantiles desfitinizadas del T3-1223 obtuvo un VB de 73.17% este valor encontrado fue en la papilla desfitinizada con 1.60 g/kg de concentración de enzima fitasa y una temperatura de 55°C, este VB es superior a lo encontrado en la papilla sin desfitinizar que mostró un VB de 66.67%.

## VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda investigar la reducción de antinutrientes en los cereales y leguminosas para su mejora nutricional con los productos de la zona. Para una adecuada alimentación y aprovechamiento total de sus componentes nutricionales en los niños y personas en general.
- Se recomienda hacer un estudio del contenido en nutrientes (proteína, monosacáridos, disacáridos, almidón total y disponible, vitamina B1, vitamina B2, minerales totales (fósforo, magnesio, cinc y hierro) y factores no nutritivos (inhibidores de la tripsina y ácido fítico) de las papillas o alimentos funcionales a partir de cereales.
- Tomando en cuenta el presente trabajo de investigación, se recomienda la elaboración de papillas infantiles con tratamiento de la enzima fitasa u otro componente que pueda reducir componentes antinutrientes que por naturaleza contienen los cereales.
- Recomendamos el empleo simultáneo de otras estrategias encaminadas a incrementar la disponibilidad mineral de estos alimentos como la búsqueda de fuentes de minerales más biodisponibles, la adición de promotores de su absorción en las dosis adecuadas y la biofortificación.



## VII. BIBLIOGRAFÍA

- Agte, V.; Tarwadi, K. y Chiplonkar, S. (1999). Phytate degradation during traditional cooking: significance of the phytic acid profile in cereal-based vegetarian meals. *Journal of Food Composition and Analysis*.
- Akaninwor, J. y Okechukwu, P. (2004). Comparative nutrient and anti -nutrient levels in commercial and formulated weaning mixtures. *Biochemistry*, vol. 16.
- Anderson, R., (1914.A) contribution to the chemistry of phytin. *J. Biol. Chem.*
- Andrews, N.C. (1999). Disorders of iron metabolism. *N. Engl. J. Med.*
- Andrews, N. (2005). Molecular control of iron metabolism. *Best Practice & Research Clinical Haematology*.
- Allen, L. (2001). Biological mechanism that might under iron's effects on fetal growth and preterm birth. *J. Nutr.*
- AOAC. (1997). Official methods of analysis. In: Cunniff P. (ed.) 16th edition, 3rd revision. Gaithersburg, MD. USA.
- Ballabriga, A. y Carrascosa, A. (1998). Lactancia materna. En: *Nutrición en la infancia y la adolescencia*. Editorial. Ergon; Madrid.
- Bander, A. y Fisher P. (1993). Valor nutritivo de los alimentos. Editorial Limusa, Mexico.

- Bartholomai, G.; Tosi, E. y González, R. (2000). Caracterización de compuestos nutritivos, no nutritivos y calidad proteica. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Editorial Eudeba, Buenos Aires, Argentina.
- Barrientos, L.; Scott, J. y Murthy, P. (1994). Specificity of hydrolysis of phytic acid by alkaline phytase from lily pollen. *PlantPhysiol*.
- Bello, J. (2005). Alimentos saludables. Calidad de Vida, Alimentos y Salud Humana, Ediciones Díaz de Santos, Madrid, España.
- Berridge, M. y Irvine, R. (1989). Inositol phosphates and cell signalling. *Nature*.
- Biergard, G.; Aapro, M.S. y Bokemayer, C. (2005). Cancer-related anemia: pathogenesis, prevalence and treatment. *Oncology*.
- Bitar, K. y Reinhold, H. (1972). Phytase and alkaline phosphatase activities in intestinal mucosa of rat, chicken, calf and man. *Biochim.Biophys*.
- Boldt, D.H. (1999). New perspectives on iron: an introduction. *Am. J. Med. Sci*.
- Brenes, J.; Viveros, A., y Brenes, A. (2002). Las enzimas en nutrición porcina (II) *Producción Animal*.
- Buil, M.A. (2004). La nutrición en el programa Fitness. [http://www.felipeisidro.com/curso\\_direccion\\_programas\\_fitness/nutricion/4\\_prote%C3%ADnas.pdf-sp.html](http://www.felipeisidro.com/curso_direccion_programas_fitness/nutricion/4_prote%C3%ADnas.pdf-sp.html). 04/03/13.

- Calderón, A. y Ruiz, R. (2000). Enzymatic hydrolysis and synthesis of soy protein to improve its amino acid composition and functional properties. *J Food Sci.*
- Chen, Q. (2004). Determination of phytic acid and inositol pentakisphosphates in foods by high-performance ion chromatography. *J. Agric. Food Chem.*
- Cherian, M. (1980). Phytic acid interactions in foods systems. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.*
- Chung, K.; Wong, T.; Wei, C.; Huang, Y. y Lin, Y. (1998). Tannins and human health: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.*
- Cole, S.; Billewicz, W. y Thompson, A. (1971). Sources of variation in menstrual blood loss. *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology.*
- Coon, C. y Leske, K. (1998). Anvaluation of phosphorus bioavarabiLity-a phosphorus retention approach. *Technical symsium.*
- Cordero, T. (2002). EvaluaciónNutricional de la proteinade la Hoja de Coca. Tesis, UNMSM. Lima. 48-56 pág.
- Cosgrove, D. (1980). *Inositol Phosphates: Their Chemistry, Biochemistry and Physiology.* Elsevier Sci. Publ. Co., Elsevier Sci. Publ., EEUU.
- Cook, J.; Dassenko, S. y Whittaker, P. (1991). Calcium supplementation: effect on iron absorption.

- Dangin, M.; Guillet, C. y García-Ródenas, C. (2003). The rate of protein digestion affects protein gain differently during aging in humans. *J Physiol*.
- Dangin, M.; Boirie, Y.; Guillet, C. y Beaufrère, B. (2002). Influence of the protein digestion rate on protein turnover in young and elderly subjects. *J. Nutr*.
- Davidsson, L.; Ziegler, E.; Kastenmayer, P.; Van Dael, P. y Barclay, D. (2004). Dephytinisation of soyabean protein isolate with low native phytic acid content has limited impact on mineral and trace element absorption in healthy infants. *British Journal of Nutrition*.
- De Angelis, M.; Gallo, G.; Corbo, M.; Mc Sweeney, P.; Faccia, M.; Giovine, M. y Gobbetti, M. (2003). Phytaseactivity in sourdough lactic acid bacteria purification and characterization of a phytase from *Lactobacillus sanfranciscensis* CB1. *Inter. J. Food Microbiol*.
- Egli, I.M. (2001). Traditional food processing methods to increase mineral bioavailability from cereal and legume based weaning foods. Tesis doctoral. Swiss Federal Institute of Technology, Zurich (Suiza)
- El GraneroIntegral, S. L. (2009). PapillasInstantaneas de Cereales. Folleto de CaracterInformativo. Madrid – España.
- Ellis, R. y Morris, ER. (1982). Comparison of ion-exchange and iron precipitation methods for analysis of phytate. *Cereal*.

- ESPGAN Committee on Nutrition. Guidelines on Infant Nutrition. III. (1982).  
Recommendations for Infant Feeding. Acta Paediatr Scand.
- Fairbanks, V.; Beutle, E. y Lichtman, M. (2001). Metabolismo del hierro: Williams  
Hematology. Sexta Edición.
- Febles, CI. (1998). Estudio del contenido de fitatos en derivados de cereales de consumo en  
Canarias, Tesis doctoral., Universidad de la Laguna.
- Feil, B. y Fossati, D. (1997). Phytic acid in triticale grain as affected by cultivar and  
environment. Crop Sci.
- Fomon, S. (2001). Infant feeding in the 20th century: formula and beikost. J. Nutr. Suppl.
- Frías, J.; Doblado, R.; Antezana J. y Vidal-Valverde, C. (2003). Inositol phosphate  
degradation by the action of phytase enzyme in legume seeds. Food Chem.
- Fretzdorff, B. y Weipert, D. (1986). Phytinsäureingetreide und getreideerzeugnissen.  
Mitteilung I: Phytinsäure und phytase in roggen and roggenprodukten.  
Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung.
- Frolich, W.; Drakenberg, T. y Asp, N. (1986). Enzymic degradation of phytate  
(myoinositolhexaphosphate) in whole grain flour suspension and dough. A  
comparison between, spectroscopy and a ferric ion method. J. Cereal Sci.
- Frontela, C. (2007). Effect of phytase addition on in vitro mineral bioavailability from infant  
cereals. Tesis Doctoral., Universidad de Murcia. España.

- Frontela, C.; Ros, G. y Martínez, C. (2010). Empleo de Fitasa como Ingrediente Funcional en Alimentos. *Revista Mundo Alimentario*. Mexico.
- Gaitán, D.; Olivares, M.; Arredondo, M. y Pizarro, F. (2006). Biodisponibilidad del hierro en humanos. *Rev chilnutr*. vol.33.
- Ganz, T. (2003). Hpcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anaemia of inflammation. *Blood*.
- Gerlach, M.; Ben-Shachar, D.; Riederer, P. y Youdim, M.B. (1994). Altered brain metabolism of iron as a cause of neurodegenerative diseases *J. Neurochem*.
- Gibson, D. M. y Ullah, A. B. (1990). Phytases and their action on phytic acid. In: D. J. Morre, W. F. Boss and F. A. Loewus (eds) *Inositol Metabolism in Plants*: Wiley-Lis, New York.
- Graf, E. y Dintzis, F.R. (1982). Determination of phytic acid in foods by high-performance liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem*.
- Greiner, R. y Konietzny, U. (2006). Phytase for food application. *Food Technol. Biotechnol*.
- Greiner, R. (2004). Degradation of myo-inositol Hexakisphosphate by a phytate-degrading enzyme from *Pantoea agglomerans*. *The Protein Journal*, Volume 23.
- Greiner, R.; Larsson-Alminger, M.; Carlsson, N.; Muzquiz, M.; Burbano, C.; Cuadrado, C.; Pedrosa, M.M. y Goyoaga, C. (2002). Pathway of dephosphorylation of myo-inositol hexakisphosphate by phytases of legume seeds. *J. Agric. Food Chem*.

- Grela, E.; Studziński, T. y Matras, J. (2001). Antinutrients factors in seeds of *Lathyrus sativus* cultivated in Poland. *Lathyrus Lathyrism Newsletter*.
- Gómez, E. (2005). Transformación y Mejora de Valor Nutritivo de la Harina de Guisante Mediante la adición de enzima fitasa. Tesis Doctoral. Granada – España.
- Goyoaga, C. (2005). Estudio de Factores no nutritivos en “vicia faba i.”: Influencia de la Germinación Sobre su Valor Nutritivo. Tesis, Universidad Complutense Madrid, Facultad de Farmacia. España.
- Harland, B.F. y Oberleas, D. (1986). Anion-exchange method for determination of phytate in food: collaborative study. *J. AOAC*.
- Harland, B. y Morris, E. (1995). Phytate: a good or bad food component. *Nutr. Res.* 15.
- Hernández Rodríguez, M. (1999). Alimentación en la primera infancia. En: Tratado de Nutrición. Ediciones Díaz de Santos. S.A. Madrid.
- Hernández, G.; Godoy, S. y Chicco, C. F. (2006). Biodisponibilidad del fósforo de cereales en aves. *Rev. Científica*.
- Hotz, C. y Gibson, R.S. (2001). Assessment of home-based processing methods to reduce the phytate content and phytate/zinc molar ratio of white maize (*Zea mays*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- Hurrell, R.; Juillerat, M.; Reddy, M.; Lynch, S.; Dassenko, S.A. y Cook, D. (1992). Soy protein, phytate and iron absorption in humans.

- Hurrell, R.; Reddy, M.; Burri, J. y Cook, J. (2002). Phytate degradation determines the effect of industrial processing and home cooking on iron absorption from cereal-based foods. *British Journal of Nutrition*, vol 88.
- Hurrell, R. (2003). Influence of Vegetable Protein Sources on Trace Element and Mineral Bioavailability. *Am. Soc. Nutr. Sci.*
- Hurrell, R.; Reddy, M.; Juillerat, M. y Cook J. (2003). Degradation of phytic acid in cereal porridges improves iron absorption by human subjects.
- Hurrell, R. (2004). Phytic acid degradation as a means of improving iron absorption. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*
- Keel, S. y Abkowitz, J. (2009). The Microcytic Red Cell and the Anemia of Inflammation. *N Engl J Med.*
- King, M. (2010). Metabolismo del Hierro. <http://themedicalbiochemistrypage.org/spanish/heme-porphyrin-sp.html>. 24/12/12.
- Koletzko, B.; Baker, S.; Cleghorn, G.; FagundesNeto, U.; Gopalan, K.; Hernell, O.; Hock, Q.S.; Jirapinyo, P.; Lonnerdal, B.; Pencharz, P.; Pzyrembel, H.; Ramirez-Mayans, K.; Shamir, R.; Turck, D.; Yamashiro, Y. y Zong-Yi, D. (2005). Global Standard for the Composition of Infant Formula: Recommendations of an ESPGHAN Coordinated International Expert Group. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition.*



- Konietzny, U. y Greiner, R. (2002). Molecular and catalytic properties of phytate-degrading enzymes (phytases). *Int. J. Food Sci. Technol.*
- Khokar, S. y Fenwick, G. (1994). Phytate content of indian foods and intakes by vegetarian Indians of Hisarregion, Haryanastate. *J. of Agriculture and Food Chem.*
- Knuckles, B. y Betschart, A. (1987). Effect of phytate and other myoinositol phosphate esteres on  $\alpha$ -amylase digestion of starch. *J. Food Sci.*
- Lasztity, R. y Lasztity, L. (1988). Phytic acid in cereal technology. *Adv. Cereal Sci. Technol.*
- Lee, K. y Abendroth, J. A. (1983). High performance liquid chromatographic determination of phytic acid in foods. *J. Food Sci.*
- Lehrfeld, J. (1989). High-performance liquid chromatography analysis of phytic acid on a pH-stable macroporous polymer column. *Cereal Chemistry*, vol. 66.
- Lehrfeld, J. y Morris, E.R. (1992). Overestimation of phytic acid in foods by the AOAC anion-exchange method. *J. Agric. Food Chem.*
- Lejarra, H. (2001). *Guía de Alimentación para Niños Sanos*. Sociedad de Pediatría Argentina.
- León, M. (2006). *Proteína en Nutrición Artificial., Nutrición Enteral*. Barcelona – España.
- Linder, MC. (1988). *Nutrición y aspectos bioquímicos, metabólicos y clínicos*. EUNSA. Pamplona.

- Loewus, F.A. y Murthy P.P.N. (2000). Myo-Inositol metabolism in plants. *Plant Sci.*
- Lolas, GM.; Palamidis, N. y Markakis, P. (1976). The phytic acid-total phosphorus relationship in barley, oats, soybeans and wheat. *Cereal Chem.*
- Lynch, SR. (2000). El efecto del calcio sobre la absorción de hierro. *Nutr. Res. Rev.*, 13 (2)
- Marfo, EK.; Simpson, BK.; Idowu, JS. y Oke, OL. (1990). Effect of local food processing on phytate levels in cassava, cocoyam, yam, maize, sorghum, rice, cowpea and soybean. *J. Agric. Food Chem.*
- Martínez, B.; Ibáñez, MV. y Rincón, F. (2002). Ácido fítico: aspectos nutricionales e implicaciones analíticas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, vol. 52.
- Martínez, B.; Rincón, F. y Ibáñez, MV. (2006). Dialysability of trace elements in infant foods containing liver. *Food Chemistry*.
- Mesías, M. (2007). Importancia de la dieta en la digestibilidad y metabolismo del Hierro y Calcio en la adolescencia, Influencia de consumo de productos de la reacción de Maillar. Tesis, Córdoba.
- Morris, R.; Bodwell, E.; Miles, W.; Mertz, W.; Prather, E. y Canary, J. (1987). Long-term consumption of beef extended with soy protein by children, women and men: III. Iron absorption by adult men. *Plant foods for human nutrition*. 37 (4).
- Muñoz, M.; Campos, A.; García-Erce, A. y Ramírez, G. (2005). Fisiopatología del metabolismo del hierro: implicaciones diagnósticas y terapéuticas. *Nefrología*.

- Muckenthaler, M.; Galy, B. y Hentze, M. (2008). Systemic Iron Homeostasis and the Iron-Responsive Element/Iron-Regulatory Protein (IRE/IRP) Regulatory Network. *Annu. Rev. Nutr.*
- Muzquiz, M.; Hill, G.D.; Cuadrado, C.; Pedrosa, M.M. y Burbano, C. (2004). Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds and Oilseeds. EAAP publication, Wageningen, The Netherlands.
- McCance, RA. y Widdowson, EM. (1935). Estimation of phytic acid. *Biochem J.*
- National Research Council (NRC) (1991). Nutrient Requirements of Recommended dietary allowances. Washington DC, National Academic Press.
- Nogueira, C.; Colli, C. y Amancio, O. (2004). Infant formula iron dialysability related to other nutrients. *Food Chemistry*, vol. 9.
- Oberleas, D. y Harland, BF. (1986). Analytical methods for phytate. In: Graf E. Phytic acid: chemistry and applications. Minneapolis: Pilatus Press.
- O'Dell, B.; Boland, A. y Koirtiyohann, R. (1972). Distribution of phytate and nutritionally important elements among the morphological components of cereals grains. *J. Agric. Food Chem.*
- Pérez, G.; Vittori, D.; Pregi, N.; Garbossa, G. y Nesse, A. (2005). Homeostasis del hierro. Mecanismos de absorción, captación celular y regulación. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana.*

Pérez-Llamas, F.; Larqué, E.; Marín, J. y Zamora, S. (2001). Disponibilidad in vitro de minerales en fórmulas infantiles con distinta fuente proteica. *Nutrición Hospitalaria*.

Pérez-Llamas, F.; Larqué, E. y Zamora, S. (2005). Calidad nutritiva de los alimentos. En: Gil A (ed), Ruiz López MD (co-ed). *Tratado de nutrición, tomo II. Acción Médica*. Madrid.

Persson, H.; Türk, M.; Nyman, M. y Sandberg, A.S. (1998). Binding of  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ , and  $\text{Cd}^{2+}$  to inositol tri-, tetra-, penta-, and hexaphosphates. *J. Agric. Food Chem.*

Pitz, W. J.; Sosulski, F.W. y Hogge, L.R. (1980). Occurrence of vicine and convicine in seeds of some Vicia species and others pulses. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.*

Power, R. y Khon, N. (1993). Phytase: The limitations to its universal use and how biotechnology is responding. In: Lyons, T. P., and K. A. Jacques. *Biotechnology in the Feed Industry. Proceedings of Alltechs. Tenth Annual Symposium*. Nottingham University Press, U. K.

Programa Nacional de Asistencia Alimentaria PRONAA. (2010). Papilla para Niños de 6 a 36 Meses. Programa Integral de nutrición. MINDES. Perú. .  
<http://www.pronaa.gog.pe/MINDES/programaintegraldenutrición-Fe1.pdf> -  
[sp.html](http://www.pronaa.gog.pe/MINDES/programaintegraldenutrición-Fe1.pdf). 25/06/11.

Quesada, S. y Billalobos, G. (2002). *Nutrición Infantil*. Centro de Información de Medicamentos Universidad de Costa Rica.

- Reddy, M.; Hurrell, R. y Cook, J. (2006). Meat consumption in a varied diet marginally influences nonheme iron absorption in normal individuals. *J. Nutr.*
- Rickard, S. y Thompson, L. (1997). Interactions and biological effects of phytic acid. En: *Antinutrients and Phytochemicals in Food*. Capítulo 17.
- Rossander-Hulthen, L.; Gleerup, A. y Hallberg, L. (1990). Inhibitory effect of oat products on non-haem iron absorption in man. *Eur. J. Clin. Nutr.*
- Sandberg, A. y Ahderinne, R. (1986). HPLC method for determination of inositol Tri-, Tetra-, Penta-, and Hexaphosphates in foods and intestinal contents. *Journal of FoodScience*. Vol. 51.
- Santamaria, A. (2005). Hábitos Alimentarios de los Lactantes Españoles y Chilenos. Tesis; Barcelona.
- Sarria, B. (1998). Efectos del tratamiento térmico de Formulas Infantiles y Leche de Vaca sobre la Biodisponibilidad mineral y proteica. Tesis doctoral., Universidad Complutense de Madrid, España.
- Simons, P.; Jongbloed, W.; Versteegh, H. y Kemme, P. (1992). Improvement of phosphorus available by microbial phytase in poultry and pigs. In: *Proceeding Georgia Nutrition Conference*, Atlanta, GA.
- Solá, J. (2010). Bioinorganica del hierro en el ser humano. <http://www.heurema.com/TFQ/TFQ19-Fe1/TFQ19-Fe1.pdf> - sp.html. 10/01/13.

- Sheng, A. y Enns, C. (2009). Molecular mechanisms of normal iron homeostasis. American Society of Hematology.
- Shafir, T.; Angulo-Barroso, R.; Calatroni, A.; Jiménez, E. y Lozoff, B. (2006). Effects of iron deficiency in infancy on patterns of motor development over time. Human Movement Science.
- Skoog, DA.; Holler, FJ. y Nieman, TA. (2001). Principios de análisis instrumental. Ed. McGraw-Hill/Interamericana de España, S.A.V., Madrid.
- Steele, T.; Frazer, D. y Anderson, G. (2005). Systemic regulation of intestinal iron absorption. *IVBMB Life*.
- Steer, T.E. y Gibson, G.R. (2002). The microbiology of phytic acid metabolism by gut bacteria and relevance for bowel cancer. *Inter. J. Food Sci. and Technol.*
- Swanson, C. (2003). Iron intake and regulation: implications for iron deficiency and iron overload.
- Talamond, P.; Gallon, G. y Treche, S. (1998). Rapid and sensitive liquid chromatographic method using a conductivity detector for the determination of phytic acid in food. *Journal of Chromatography A*.
- Thompson, D. y Erdman, J. (1982). Structural model of ferric phytate: implication for phytic acid analysis.
- Thompson, L. (1988). Antinutrients and blood glucose. *Food Technol.*

- Thomas, C. y Oates, P. (2005). Ferroportin/IREG-1/MTP-1/SLC40A1 modula la absorción de hierro en la membrana apical de los enterocitos. *Gut*.
- Tijskens, L.; Greiner, R.; Biekman, E. y Konietzny, U. (2001). Modeling the Effect of Temperature and pH on Activity of Enzymes: The Case of Phytases. *Biotechnology Bioengineering*.
- Toblli, J. (2008). Fisiopatología del Metabolismo del Hierro y sus implicaciones en la anemia perioperatoria. *Anemia*, Argentina.
- Valencia, S.; Svanberg, U.; Sandberg, A. y Ruales, J. (1999). Processing of quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd): effects of in vitro iron availability and phytate hydrolysis. *Int. J. of Food Sci. and Nutr.*
- Velezví, J. (2005). Elaboración de sopas reconstituibles en base de carachi, Tarhui, cañihua y quinua. Tesis. UNALM - Lima.
- Venkamp, J.; Tas, A. y Somers, W. (1995). Developments in phytase activity determination: NMR-approach. In: Noordwijkerhout, Proceedings of the 2nd European Symposium on Feed Enzymes. TNO, Zeist, The Netherlands.
- Velickovic, D.; Vucelic-Radovic, B.; Blagojevic, S.; Barac, M.; Stanojevic, S. y Ljubicic, M. (1999). A modification of a method for phytic acid determination. *J. Serb. Chem. Soc.*

- Vila, M. y Quintana, M. (2008). Ingesta de hierro dietario en mujeres adolescentes de instituciones educativas. *Journals, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.*
- Villegas, E. (2011). El AcidoFítico y los Fitatos. *Semanario, Facultad de Quimica, Universidad Nacional Agraria La Molina. Semana N° 51.*
- Vyoral, D. y Petrák, J. (2005). Hecpidin: A direct link between iron metabolism and immunity. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology.*
- Wagner, P.; Huaman, J.; Núñez, O.; Zapata, P. y Díaz, A. (2006). La anemamia. consideraciones fisiopatológicas, clínicas y terapéuticas. Tercera edición. Lima-Perú.
- Weiss, G. (2003). Iron and immunity: a double-edged sword. *Eur J Clin Invest.*
- Wharton, B. y Scott, P. (1996). Distinctive aspects of metabolism and nutrition in infancy. *ClinBiochem.*
- Wyss, M.; Brugger, R.; Kronenberg, A.; Remy, R.; Fimbel, R.; Oesterhelt, G.; Lehman, M. y Van Loon, A. P.G.M. (1999). Biochemical characterization of fungal phytases (myo-inositol hexakisphosphatephosphohydrolases): catalytic properties. *Appl. Environ. Microbiol.*
- Xiao-Yun, W.; Fan-Guo, M. y Hai-Meng, Z. (2004). Unfolding and inactivation during thermal denaturation of an enzyme that exhibits phytase and acid phosphatase activities. *Inter. J. Bioch. Cell Biolog.*



Xu, P.; Price, J. y Aggett, P.J. (1992). Recent advances in methodology for analysis of phytate and inositol phosphates in foods. *Progress in Food and Nutrition Science*.

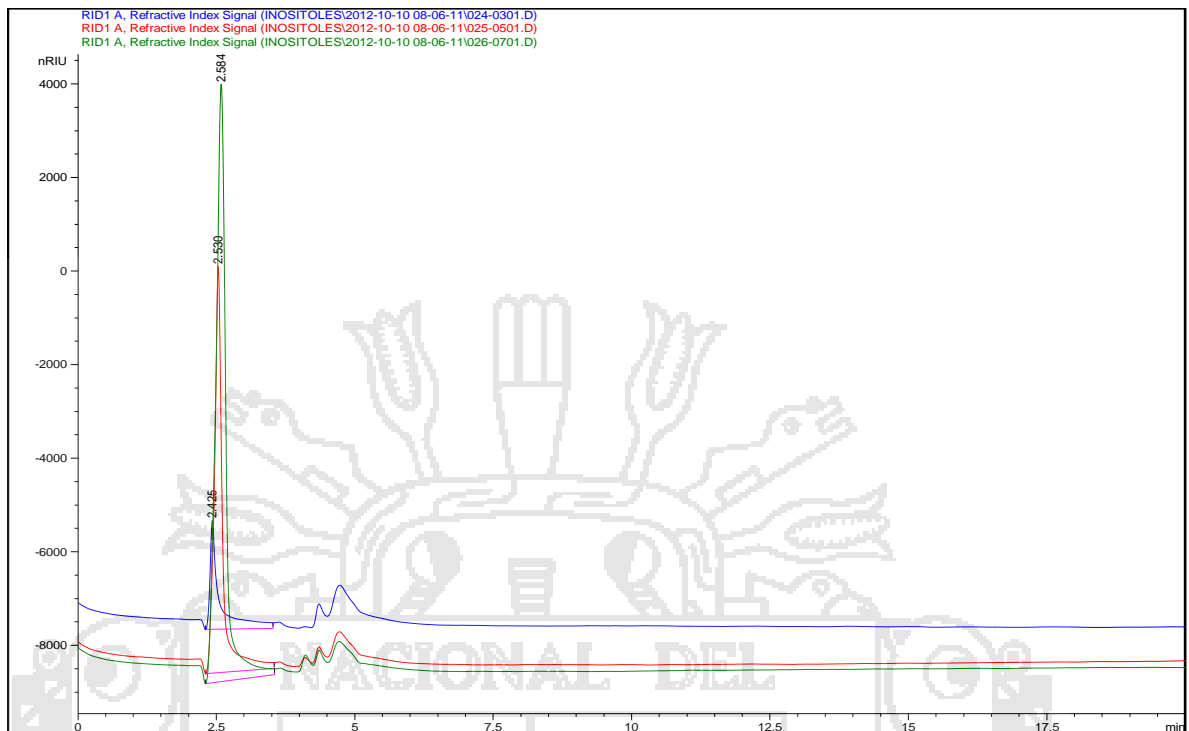
Yaste, D.; Del Rio, L. y Carroscosa, A. (2003). Valores de Referencia de Masa Osea, Evaluado por Densitrometria de Doble Energía (DEXA) versus Antropometría. *Anales Españoles de pediatría*.



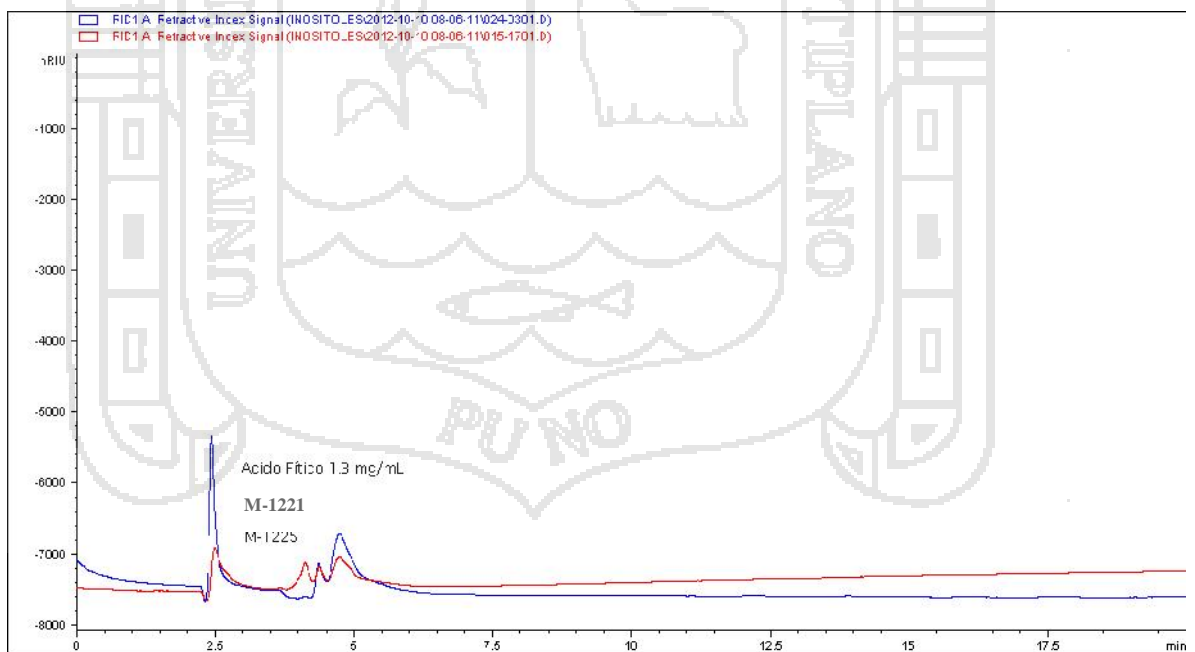
# ANEXOS



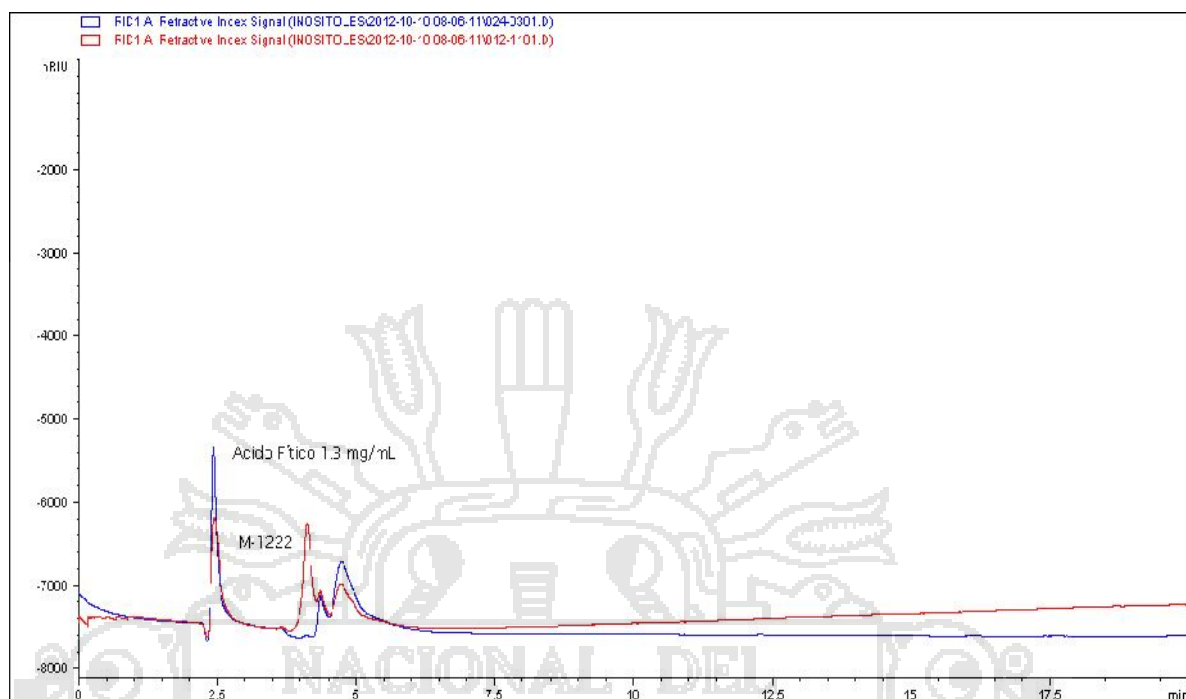
**Anexo 1:** Cromatograma del ácido fítico a 3 concentraciones diferentes.



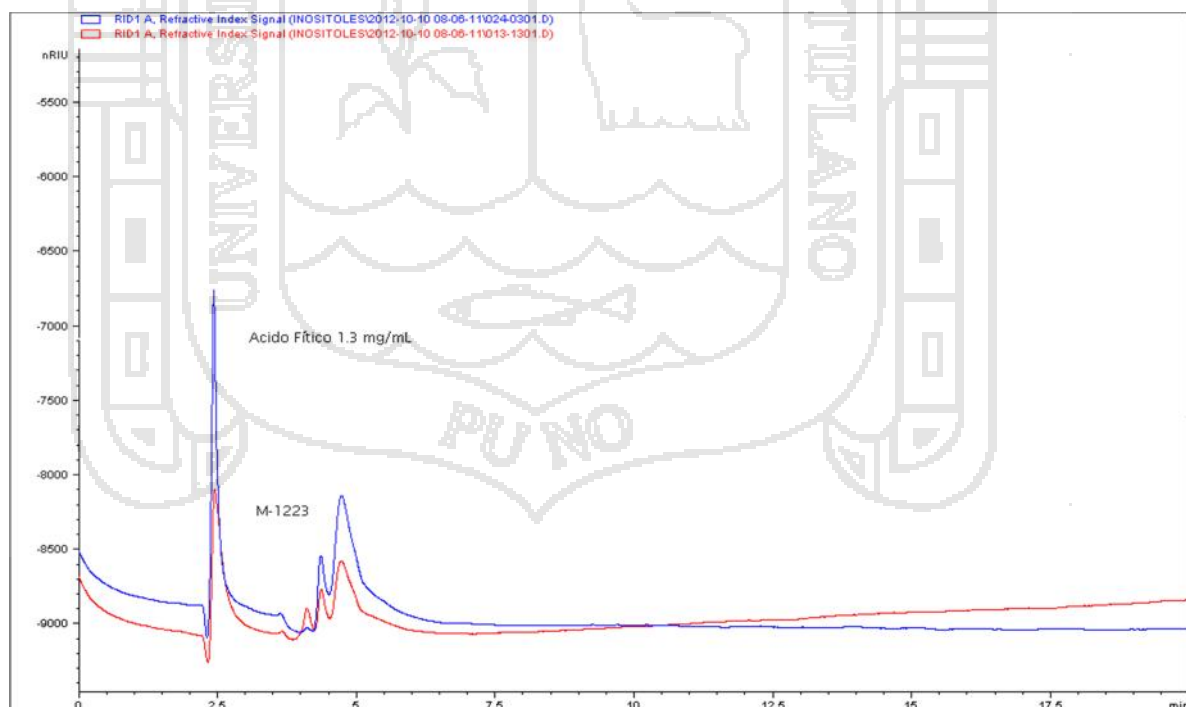
**Anexo 2:** Cromatograma del estándar de ácido fítico 1,3 mg/ml y la muestra M-1221



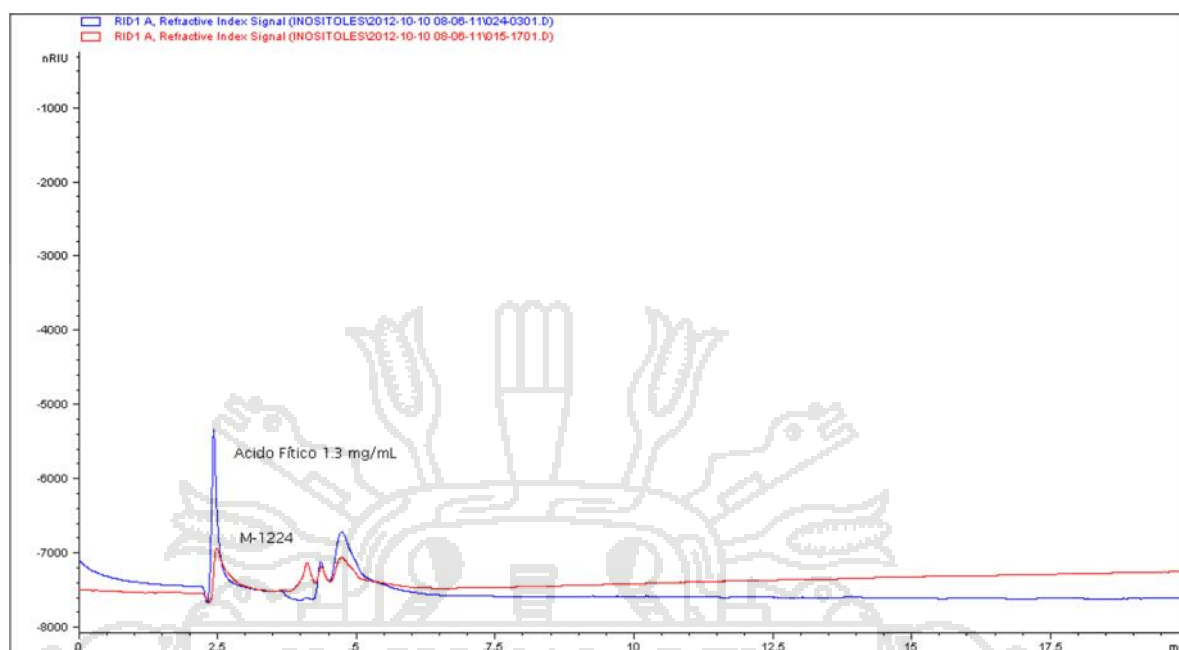
**Anexo 3:** Cromatograma del estándar de ácido fítico 1,3 mg/ml y la muestra M-1222



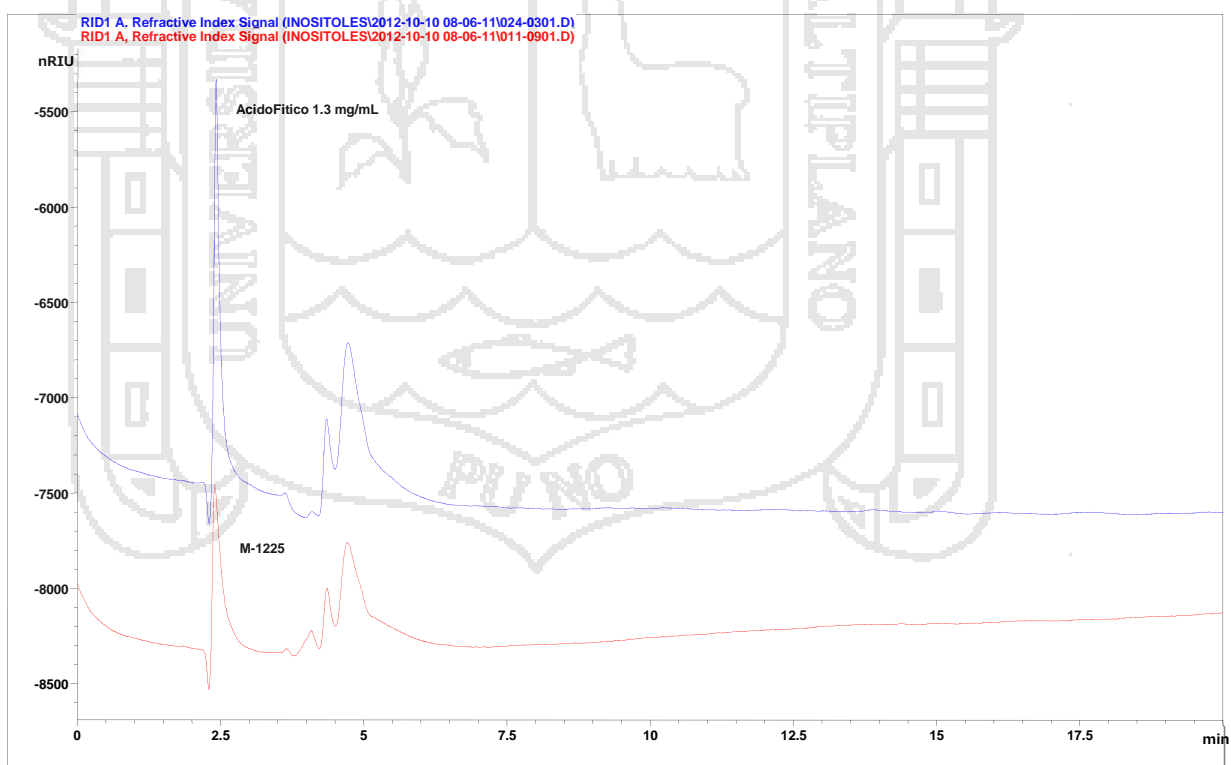
**Anexo 4:** Cromatograma del estándar de ácido fítico 1,3 mg/ml y la muestra M-1223



**Anexo 5:** Cromatograma del estándar de ácido fítico 1,3 mg/ml y la muestra M-1224



**Anexo 6:** Cromatograma del estándar de ácido fítico 1,3 mg/ml y la muestra M-1225



Anexo 7: Valores encontrados de inositoles fosfato en HPLC.

Muestra	AREA						R1 A.F. (mg/100g)	R2 A.F. (mg/100g)	R3 A.F. (mg/100g)	R4 A.F. (mg/100g)
	R1	R2	R3	R4	R5	R6				
M-1221	IP2	15980	16000.8	16012.4	15968.4	125.33824856	125.501392211	125.592376172	125.24726460	
	IP3	303.1	300.5	299.6	305.6	2.37734813	2.356955175	2.349896074	2.39695674	
	IP4	4489.3	4490.1	4492	4479.4	35.21157692	35.217851680	35.232754226	35.13392682	
	IP5	4396.3	4029.7	3836.1	3594.3	34.48213655	31.606729676	30.088238754	27.72108710	
	IP6	14198.9	14303.3	14389.7	14402.1	111.36828895	112.187144594	112.864818228	112.96207694	
	IP2	20745.2	20777.8	20750	20773	162.71383191	162.969528217	162.751480450	162.93187968	
M-1222	IP3	181.8	183.1	182.7	183.6	1.42593827	1.436134750	1.432997372	1.44005647	
	IP4	14256.6	13940	13965.4	13928	111.82085572	109.337621083	109.536844582	109.24349975	
	IP5	5416.7	5323.5	5221.3	5019.7	42.48558767	41.754578611	40.952978548	39.37174007	
	IP6	17672.2	17960.4	18080.4	18187	138.61092592	140.871406722	141.812620103	142.64873132	
	IP2	23810.5	23835.9	23825.5	23820.9	186.75634339	186.955566885	186.873995059	186.83791521	
	IP3	720.6	725.2	720.8	720.6	5.65198635	5.688066199	5.653555041	5.65198635	
M-1223	IP4	1360.5	1352.8	1363.4	1360.5	10.67100671	10.610612181	10.693752696	10.67100671	
	IP5	2460.6	2498	2414.1	2383.3	19.29958038	19.592925213	18.934860191	18.69328209	
	IP6	14070.4	13964.9	14139.5	14187.9	110.36040629	109.532922860	110.902388329	111.28201106	
	IP2	22335	22353.6	22348.5	22340.1	175.18334052	175.329228597	175.289227029	175.22334209	
	IP3	-	-	-	-	0.00000000	0.000000000	0.000000000	0.00000000	
	IP4	4867.3	4870.4	4868	4851.5	38.17639907	38.200713753	38.181889486	38.05247265	
M-1224	IP5	4199.7	4610.4	3804.3	3584	32.94011530	36.161418095	29.838817209	28.11090631	
	IP6	17102.4	16912.6	17303.2	17489.6	134.14173105	132.653045217	135.716694772	137.17871289	
	IP2	18900	18921	18915	18906	148.24110749	148.405819836	148.358759167	148.28816816	
	IP3	765.6	772.2	770.2	773.6	6.00494137	6.056708106	6.041021217	6.06768893	
	IP4	1218.6	1217.3	1210	1218.9	9.55802188	9.547825405	9.490568258	9.56037492	
	IP5	2976.8	2090.4	2766.8	3904	23.34836660	16.395937096	21.701243186	30.62080866	
M-1225	IP6	18860.5	19890	19288.8	18618.7	147.93129142	156.006117887	151.290638849	146.03474646	

**Anexo 8:** Valores encontrados de hierro en la papilla con el método de Fenantrolina.

CLAVE	%T				PPM				PESO				mg Fe/100 g
	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	(g)	R1	R2	R3	
T1-1221	49.48	49.51	49.47	49.49	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.5	5.585	5.586	5.584
T2-1222	49.92	49.90	49.92	49.91	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.5	5.504	5.505	5.506
T3-1223	49.74	49.75	49.75	49.74	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.5	5.538	5.536	5.538
T4-1224	49.98	49.99	49.98	49.99	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.5	5.493	5.493	5.492
T5-1225	48.85	48.85	48.85	48.85	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.5	5.702	5.703	5.702

**Anexo 9:** Valores encontrados de hierro en la sangre con el método de Fenantrolina

CLAVE	%T				PPM				VOL (ml)	mg Fe/100 g			
	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4		R1	R2	R3	R4
T1-1221	41.01	40.96	41.01	40.92	0.77	0.77	0.77	0.77	1.79	3.2677	3.2731	3.2460	3.2415
T2-1222	77.51	78.11	78.46	78.18	1.77	1.77	1.78	1.77	4.14	3.1935	3.2488	3.1893	3.2103
T3-1223	46.95	47.13	47.18	46.96	1.35	1.36	1.36	1.35	3.21	3.3530	3.3514	3.3566	3.3668
T4-1224	49.18	49.43	49.29	49.27	1.40	1.40	1.40	1.40	3.32	3.5383	3.5033	3.5023	3.5265
T5-1225	46.29	46.38	46.10	46.70	1.34	1.34	1.34	1.35	3.19	3.0827	3.1111	3.1079	3.2024



**Anexo 10:** Valores encontrados de hierro en el hígado con el método de Fenantrolina.

CLAVE	%T				PPM				PESO (g)	mg Fe/100 g			
	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4		R1	R2	R3	R4
T1-1221	77.35	77.73	76.84	77.15	0.20	0.19	0.20	0.20	4	0.4934	0.4834	0.5037	0.4932
T2-1222	70.49	73.30	70.97	72.13	0.27	0.24	0.26	0.25	3.8	0.6971	0.6251	0.6793	0.6515
T3-1223	85.69	84.82	85.37	85.19	0.12	0.13	0.12	0.12	4.1	0.2989	0.3179	0.3053	0.3112
T4-1224	89.57	89.25	89.50	89.33	0.08	0.09	0.08	0.09	3.05	0.2981	0.3044	0.2975	0.3041
T5-1225	87.69	87.21	87.67	87.42	0.10	0.11	0.10	0.10	3.9	0.2760	0.2890	0.2789	0.2818

**Anexo 11:** Valores encontrados de hierro en las heces con el método de Fenantrolina.

CLAVE	%T				PPM				PESO (g)	mg Fe/100 g			
	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4		R1	R2	R3	R4
T1-1221	87.97	87.70	87.63	87.11	0.10	0.10	0.10	0.11	2	0.4904	0.5020	0.5034	0.5230
T2-1222	92.24	92.28	92.00	91.87	0.06	0.06	0.06	0.06	2	0.3019	0.3032	0.3099	0.3175
T3-1223	87.32	87.62	87.50	87.89	0.10	0.10	0.10	0.10	2	0.5373	0.5221	0.5276	0.5126
T4-1224	92.44	91.75	92.06	92.39	0.06	0.07	0.06	0.06	2	0.3216	0.3492	0.3357	0.3228
T5-1225	86.48	87.41	87.38	86.97	0.11	0.10	0.10	0.11	2	0.5958	0.5543	0.5575	0.5711

**Anexo 12:** Valores encontrados de hierro en la orina con el método de Fenantrolina.

CLAVE	%T				PPM				VOL (ml)	mg Fe/100 g			
	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4		R1	R2	R3	R4
T1-1221	42.30	42.77	43.31	43.83	0.72	0.71	0.69	0.68	69	0.1045	0.1025	0.0999	0.0973
T2-1222	47.59	42.47	42.90	43.51	0.60	0.72	0.71	0.69	70	0.0836	0.1019	0.0985	0.0968
T3-1223	40.39	40.71	41.30	40.86	0.79	0.78	0.76	0.77	71	0.1148	0.1126	0.1095	0.1124
T4-1224	48.43	46.94	43.11	45.72	0.58	0.61	0.70	0.63	60	0.1039	0.1081	0.1245	0.1136
T5-1225	38.09	38.11	39.19	38.10	1.01	1.01	1.11	1.01	94	0.1144	0.1156	0.1277	0.1146

**Anexo 13:** Valores encontrados de valor biológico.

PARAMETROS	MUESTRA				
	T1-1221	T2-1222	T3-1223	T4-1224	T5-1225
Número de animales (6 ratas)	6	6	6	6	6
Peso inicial (g)	64.8	63.88	53.53	53.17	59.65
Peso final (g)	73.08	73.2	59.42	55.6	69.03
Ganancia de peso (g)	8.6	9.32	5.89	2.43	9.38
Consumo de alimento (g)	49.84	50.21	36.08	27.06	41.86
Materia seca del alimento (%)	93.6	93.57	93.8	94.01	95.13
Nitrógeno del alimento (%)	1.68	1.67	1.66	1.64	1.65
Nitrógeno consumido (g) NI	0.84	0.84	0.6	0.44	0.69
Promedio de heces excretadas (g)	13.44	14.83	9.36	6.52	13
Materia seca de heces (%)	59.17	53.91	63.33	67.94	66.6
Nitrógeno en heces (5)	1.73	1.65	2.07	2.12	1.61
Nitrógeno excretado en heces (g) NF	0.23	0.24	0.19	0.14	0.21
Densidad de la orina	1.02835	1.02365	1.0231	1.0249	1.0109
Promedio de orina excretada (ml)	16.445	24.98	14.81	13.11	45.1
Promedio de orina excretada (g)	16.91	25.57	15.15	13.44	45.59
Nitrógeno en orina (%)	1.15	0.91	0.74	0.74	0.35
Nitrógeno excretado en orina (g) UN	0.19	0.23	0.11	0.1	0.16
VALOR BIOLÓGICO (%)	68.85	61.67	73.17	66.67	66.67

**Anexo 14:** Análisis proximal de la muestras.

ANALISIS	T1-1221		T2-1222		T3-1223		T4-1224		T5-1225	
	%	Kcal	%	Kcal	%	Kcal	%	Kcal	%	Kcal
Humedad %	4.56	-	4.42	-	3.86	-	5.02	-	0.55	-
Proteína total (Nx6.25), %	13.87	55.48	14.33	57.32	13.97	55.88	14.71	58.84	14.6	58.4
Grasa %	8.41	75.69	9.62	86.58	9.54	85.86	9.69	87.21	11.64	104.76
Fibra cruda %	1.04	-	0.84	-	0.71	-	0.78	-	0.95	-
Ceniza %	3.59	-	3.5	-	3.28	-	3.46	-	3.7	-
ELN %	68.53	274.12	67.29	269.16	68.64	274.56	66.34	265.36	68.56	274.24
TOTAL	100	405.29	100	413.06	100	416.3	100	411.41	100	437.4

**Anexo 15:** Aporte de las raciones preparadas.

	Para T1-1221	Para T2-1222	Para T3-1223	Para T4-1224	Para T5-1225
Proteína	% 10	% 10	% 10	% 10	% 10
Energía Kcal	380	380	381.32	380	393.5

**Anexo 16:** Insumos y valor calórico de las raciones preparadas.

INSUMOS	Para T1-1221		Para T2-1222		Para T3-1223		Para T4-1224		Para T5-1225	
	Cantidad (g)	Kcal	Cantidad (g)	Kcal	Cantidad (g)	Kcal	Cantidad (g)	Kcal	Cantidad (g)	Kcal
Alimento problema	72.1	1	69.78	1	71.58	298	69.98	8	68.49	8
sales minerales	4	-	4	-	4	-	4	-	4	-
Mezcla de vitaminas	5	18.87	5	18.87	5	18.87	5	18.87	5	18.87
Azúcar	4.2	16.2	4.93	19.72	-	-	9	36	-	-
Maicena	9.65	33.97	11.88	41.78	14.93	52.55	9.55	33.62	18.16	63.92
Fibra	4.25	11.26	4.41	11.7	4.49	11.9	4.47	11.84	4.35	11.53
Grasa vegetal	0.8	7.2	-	-	-	-	-	-	-	-
		385.7		390.2		381.3		380.0		
Total	100	1	100	8	100	2	102	1	100	393.5
		298.2		298.2		279.6		299.1		

Anexo 17: Análisis químico de las raciones preparadas.

	Para T1-1221	Para T2-1222	Para T3-1223	Para T4-1224	Para T5-1225
	%	%	%	%	%
Proteína	10.5	10.41	10.39	10.24	10.31
Humedad	6.4	6.43	6.2	5.9	4.87

Anexo 18: Control de peso por día y consumo de alimentos de la dieta T1-1221 - VB

	1	2	3	4	5	6	Ganancia de peso	Consumo de alimento	Heces	Orina	
Nº de ratas	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(ml)	
Peso inicial	26/12/2011	27/12/2011	28/12/2011	29/12/2011	30/12/2011	31/12/2011	01/01/2012				
1	66.00	68.00	70.60	71.50	72.80	74.40	77.70	11.70	53.80	13.48	13.03
2	61.20	62.50	62.60	63.50	65.50	66.00	67.30	6.10	41.66	11.09	11.30
3	59.70	61.80	62.00	64.00	66.00	68.00	68.20	8.50	48.47	13.36	19.07
4	64.70	65.50	64.00	67.80	67.60	69.00	69.60	4.90	44.22	12.28	18.07
5	69.80	71.20	72.00	74.50	77.50	78.20	80.60	10.80	59.68	16.18	18.13
6	65.50	66.20	66.90	69.00	72.60	74.40	75.10	9.60	51.20	14.23	19.07
TOTAL	386.90	395.20	398.10	410.30	422.00	430.00	438.50	51.60	299.03	80.62	98.67
PROM:	64.483	65.867	66.350	68.383	70.333	71.667	73.083	8.600	49.838	13.437	16.445



ANALISIS DE RACION		ANALISIS DE HECESES %		ANALISIS DE ORINA %	
Humedad	6.4	Humedad	40.83	Densidad	1.02835
Proteína	10.5	Proteína	10.79	Orina exc. mL	16.445
Grasa	-	Grasa	-	Gr. Orina	16.91
Materia seca	93.60	Materia seca	59.17	Proteína %	7.21
Ceniza	-	Ceniza	-	% N	1.15
Fibra	-	Fibra	-	Nit Excretado (g)	0.19
Nifex	-	Nifex	-		
% N	1.68	% N	1.73		
Nit Ingerido (g)	0.84	Nit Excretado (g)	0.23		



**Anexo 19:** Control de peso por día y consumo de alimentos de la dieta T2-1222 - VB

N° de ratas	1		2		3		4		5		6		Consumo de alimento (g)	Heces (g)	Orina (ml)
	Peso inicial (g)	27/12/2011	28/12/2011	29/12/2011	30/12/2011	31/12/2011	01/01/2012	Ganancia de peso (g)							
7	59.90	60.50	61.50	63.50	66.90	67.90	70.00	10.10	52.27	17.31	32.53				
8	61.10	61.80	63.10	64.86	65.60	67.00	69.00	7.90	49.86	13.79	9.60				
9	64.90	67.00	68.50	68.80	71.00	72.10	72.60	7.70	52.11	13.92	14.33				
10	63.00	62.70	60.50	62.40	65.40	69.10	70.10	7.10	38.93	11.71	29.37				
11	67.50	71.00	70.10	71.90	70.90	74.10	78.50	11.00	52.25	13.09	11.44				
12	66.90	72.10	71.00	74.60	75.10	74.10	79.00	12.10	55.81	19.18	52.60				
TOTAL	383.30	395.10	394.70	406.06	414.90	424.30	439.20	55.90	301.23	89.00	149.87				
PROM:	63.883	65.850	65.783	67.677	69.150	70.717	73.200	9.317	50.205	14.833	24.978				

ANÁLISIS DE RACION %		ANÁLISIS DE HECES %		ANÁLISIS DE ORINA %	
Humedad	6.43	Humedad	46.085	Densidad	1.02365
Proteína	10.41	Proteína	10.32	Orina exc. ml	24.98
Grasa	-	Grasa	-	Gr. Orina	25.57
Materia seca	93.57	Materia seca	53.91	Proteína %	5.68
Ceniza	-	Ceniza	-	% N	0.91
Fibra	-	Fibra	-	Nit. Excretado (g)	0.23
Nifex	-	Nifex	---		
% N	1.67	% N	1.65		
Nit. Ingerido (g)	0.84	Nit. Excretado (g)	0.24		

**Anexo 20:** Control de peso por día y consumo de alimentos de la dieta T3-1223 -VB

N° de ratas	Peso inicial		1		2		3		4		5		6		Consumo de alimento	Heces (g)	Orina (ml)
	(g)	(g)	04/01/2012	05/01/2012	06/01/2012	07/01/2012	08/01/2012	09/01/2012	09/01/2012	09/01/2012	09/01/2012	09/01/2012	09/01/2012	09/01/2012			
13	53.20	53.00	51.10	50.50	50.90	55.00	59.00	5.80	33.03	9.25	13.77						
14	60.00	61.30	63.00	63.00	60.50	60.90	62.00	2.00	39.69	11.43	32.67						
15	57.00	60.50	62.50	63.90	65.00	64.10	65.00	8.00	47.68	13.25	12.83						
16	51.50	53.00	52.00	51.20	51.90	51.50	52.60	1.10	25.02	5.86	8.56						
17	47.00	48.30	51.40	54.00	54.90	55.90	57.50	10.50	32.23	8.16	10.10						
18	52.50	56.50	57.90	57.50	59.50	59.90	60.40	7.90	38.81	8.21	10.93						
TOTAL	321.20	332.60	337.90	340.10	342.70	347.30	356.50	35.30	216.46	56.16	88.86						
PROM:	53.533	55.433	56.317	56.683	57.117	57.883	59.417	5.883	36.077	9.360	14.810						

ANALISIS DE RACION %		ANALISIS DE HECES %		ANALISIS DE ORINA %	
Humedad	6.2	Humedad	36.67	Densidad	1.0231
Proteína	10.39	Proteína	12.92	Orina exc. MI	14.81
Grasa	-	Grasa	-	Gr. Orina	15.15
Materia seca	93.80	Materia seca	63.33	Proteína %	4.64
Ceniza	-	Ceniza	-	% N	0.74
Fibra	-	Fibra	-	Nit Excretado (g)	0.11
Nifex	-	Nifex	-		
% N	1.66	% N	2.07		
Nit Ingerido (g)	0.6	Nit Excretado (g)	0.19		

**Anexo 21:** Control de peso por día y consumo de alimentos de la dieta T4-1224 - VB

N° de ratas	Peso inicial		1		2		3		4		5		6		Ganancia de peso (g)	Consumo de alimento (g)	Heces (g)	Orina (ml)
	(g)	(g)	04/01/2012	05/01/2012	06/01/2012	07/01/2012	08/01/2012	09/01/2012	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)				
19	58.50	59.20	60.00	56.40	57.50	57.70	62.50	4.00	31.96	7.00	12.74							
20	49.50	50.00	49.50	49.00	48.80	48.80	-0.80	15.79	4.54	9.03								
21	51.50	53.00	53.60	54.00	53.20	55.50	4.00	27.93	7.60	11.43								
22	48.00	47.00	46.70	47.80	47.60	48.50	0.50	21.20	5.35	13.16								
23	60.50	61.00	61.50	62.00	62.10	64.90	4.40	37.37	8.16	15.67								
24	51.00	53.50	55.40	57.00	56.60	53.90	2.50	28.09	6.47	16.60								
<b>TOTAL</b>	<b>319.00</b>	<b>323.70</b>	<b>326.70</b>	<b>324.70</b>	<b>327.00</b>	<b>326.30</b>	<b>333.60</b>	<b>14.60</b>	<b>162.34</b>	<b>39.12</b>	<b>78.63</b>							
<b>PROM:</b>	<b>53.167</b>	<b>53.950</b>	<b>54.450</b>	<b>54.117</b>	<b>54.500</b>	<b>54.383</b>	<b>55.600</b>	<b>2.433</b>	<b>27.057</b>	<b>6.520</b>	<b>13.105</b>							

ANALISIS DE RACION %		ANALISIS DE HECES %		ANALISIS DE ORINA %	
Humedad	5.9	Humedad	32.06	Densidad	1.0249
Proteína	10.24	Proteína	13.22	Orina exc. MI	13.11
Grasa	-	Grasa	-	Gr. Orina	13.44
Materia seca	94.10	Materia seca	67.94	Proteína %	4.6
Ceniza	-	Ceniza	-	% N	0.74
Fibra	-	Fibra	-	Nit Excretado (g)	0.099
Nifex	-	Nifex	-		
% N	1.64	% N	2.12		
Nit Ingerido (g)	0.44	Nit Excretado (g)	0.14		

**Anexo 22:** Control de peso por día y consumo de alimentos de la dieta T4-1225 - VB

N° de ratas	Peso inicial		1		2		3		4		5		6		Ganancia de peso (g)	Consumo de alimento (g)	Heces (g)	Orina (ml)
	(g)	(g)	14/01/2012	15/01/2012	16/01/2012	17/01/2012	18/01/2012	19/01/2012	19/01/2012	19/01/2012	19/01/2012	19/01/2012	19/01/2012	19/01/2012				
25	56.00	58.50	58.50	58.50	54.50	60.00	61.00	62.80	6.80	36.11	7.64	28.87						
26	55.90	55.10	54.50	58.50	59.20	60.50	62.60	6.70	35.09	8.46	44.64							
27	61.50	62.50	64.30	66.90	62.20	66.40	64.00	2.50	34.72	7.46	54.80							
28	65.00	66.70	69.40	72.50	76.50	80.20	84.50	6.50	35.73	12.35	41.56							
29	66.50	69.30	73.60	75.00	78.00	82.10	86.70	5.20	33.73	13.39	57.50							
30	53.00	51.60	53.50	52.60	53.40	53.40	53.60	0.60	28.76	28.70	43.23							
<b>TOTAL</b>	<b>357.90</b>	<b>363.70</b>	<b>373.80</b>	<b>380.00</b>	<b>389.30</b>	<b>403.60</b>	<b>414.20</b>	<b>28.30</b>	<b>204.14</b>	<b>78.00</b>	<b>270.60</b>							
<b>PROM:</b>	<b>59.650</b>	<b>60.617</b>	<b>62.300</b>	<b>63.333</b>	<b>64.883</b>	<b>67.267</b>	<b>69.033</b>	<b>4.716</b>	<b>34.023</b>	<b>13.000</b>	<b>45.100</b>							



ANALISIS DE RACION %		ANALISIS DE HECES %		ANALISIS DE ORINA %	
Humedad	4.87	Humedad	33.4	Densidad	1.0109
Proteína	10.31	Proteína	10.08	Orina exc. MI	45.1
Grasa	-	Grasa	-	Gr. Orina	45.59
Materia seca	95.13	Materia seca	66.6	Proteína %	2.21
Ceniza	-	Ceniza	-	% N	0.35
Fibra	-	Fibra	-	Nit Excretado (g)	0.16
Nifex	-	Nifex	-		
% N	1.65	% N	1.61		
Nit Ingerido (g)	0.69	Nit Excretado (g)	0.21		

**Anexo 23:** Análisis de Varianza para Inositol Hexafosfato (IP6)

Origen	Suma de cuadrados tipo III	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	359821,723 <sup>a</sup>	3	119940,574	74645,794	0,000
Intersección	30675133,899	1	30675133,899	19090868,396	0,000
FITASA	7670,224	1	7670,224	4773,613	0,000
TEMPERATURA	347239,830	1	347239,830	216106,959	0,000
FITASA *	2207,141	1	2207,141	1373,629	0,000
TEMPERATURA					
Error	3200,738	1992	1,99499		
Total	32135934,825	1996			
Total corregida	363022,461	1995			

<sup>a</sup>R-cuadrado = 99.1795% R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 98.9744%

x= 124.69337033

CV=1.13%

**Anexo 24:** Prueba de significancia de Duncan (p 0.05) contenido de inositoles hexafosfato (IP6)

N°	CLAVE	Frecue ncia	Promedio de IP6 (mg/100g)	Prueba de Duncan en P=0.05
1	T3-1223	4	110.519 ± 1.207	a
2	T1-1221	4	112.346 ± 1.173	a
3	T4-1224	4	134.923 ± 3.113	b
4	T2-1222	4	140.986 ± 2.772	c
5	T5-1225	4	150.316 ± 6.957	d

**Anexo 25:** Análisis de Varianza para Inositol Tetra y Pentafosfato (IP4+IP5)

Origen	Suma de cuadrados tipo III	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	4092317,669 <sup>a</sup>	3	1364105,890	261304,451	0,000
Intersección	12383262,345	1	12383262,345	2372104,387	0,000
FITASA	1704724,566	1	1704724,566	326552,447	0,000
TEMPERATURA	1927458,456	1	1927458,456	369218,751	0,000
FITASA * TEMPERATURA	248087,793	1	248087,793	47523,030	0,000
Error	10398,977	1992	6,72287		
Total	17905120,383	1996			
Total corregida	4102716,646	1995			

<sup>a</sup>R-cuadrado = 99.7444%      R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 99.6805%

x= 79.25173536

CV=1.3.27%

**Anexo 26:** Prueba de significancia de Duncan (p 0,05) contenido de inositoletetrafosfato (IP4) mas pentafosfato (IP5)

N°	Clave	Frecuencia	Promedio de IP4 y IP5 (mg/100g)	Prueba de Duncan en P 0.05
1	T3-1223	4	29.792 ± 3.589a	a
2	T5-1225	4	32.556 ± 9.362a	a
3	T1-1221	4	66.174 ± 4.552b	b
4	T4-1224	4	69.916 ± 5.728b	b
5	T2-1222	4	151.126 ± 3.768c	c

**Anexo 27:** Analisis de Varianza para hierro en la SANGRE

Origen	Suma de cuadrados tipo III	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	30,248 <sup>a</sup>	3	10,083	40077,430	0,000
Intersección	21962,264	1	21962,264	87297676,43 0	0,000
FITASA	20,935	1	20,935	83216,217	0,000
TEMPERATURA	1,607	1	1,607	6386,876	0,000
FITASA *	5,293	1	5,293	21038,280	0,000
TEMPERATURA					
Error	0,501	1992	0,000313649		
Total	22266,781	1996			
Total corregida	30,749	1995			

<sup>a</sup>R-cuadrado = 98.3597 %      R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 97.9496 %

$\bar{x} = 3.33677030$

CV=0.53%

**Anexo 28:** Prueba de significancia de Duncan (p 0.05) contenido de Hierro en la Sangre

N°	Clave	Frecue ncia	Promedio de Fe en la sangre (mg/100g)	Prueba de Duncan en P 0.05
1	T4-1224	4	3.520 ± 0.025	a
2	T3-1223	4	3.359 ± 0.009	b
3	T1-1221	4	3.257 ± 0.025	c
4	T2-1222	4	3.210 ± 0.004	d
5	T5-1225	4	3.126 ± 0.084	E

**Anexo 29:** Análisis de Varianza para Hierro en el Hígado.

Origen	Suma de cuadrados		Media		Sig.
	tipo III	Gl	cuadrática	F	
Modelo corregido	48,285 <sup>a</sup>	3	16,095	57989,413	0,000
Intersección	384,473	1	384,473	1385223,241	0,000
FITASA	38,281	1	38,281	137922,183	0,000
TEMPERATURA	3,050	1	3,050	10990,234	0,000
FITASA *	3,644	1	3,644	13130,547	0,000
TEMPERATURA					
Error	0,553	1992	0,000345251		
Total	450,028	1996			
Total corregida	48,838	1995			

<sup>a</sup>R-cuadrado = 98.8777 %      R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 98.5971%

$x = 0.44151123$

CV=4.21%

**Anexo 30:** Prueba de significancia de Duncan (p 0.05) contenido de Hierro en el Hígado

N°	Clave	Frecuencia	Promedio de Fe en el Hígado (mg/100g)	D.S.	Prueba de Duncan en P 0.05
1	T2-1222	4	0.663	±0.050	A
2	T1-1221	4	0.498	±0.020	b
3	T3-1223	4	0.306	±0.019	c
4	T4-1224	4	0.299	±0.013	c
5	T5-1225	4	0.279	±0.015	c

**Anexo 31:** Análisis de Varianza para Hierro en las HECES.

Origen	Suma de cuadrados		Media		Sig.
	tipo III	Gl	cuadrática	F	
Modelo corregido	13,772 <sup>a</sup>	3	4,591	5350,507	0,000
Intersección	377,577	1	377,577	440063,410	0,000
FITASA	0,203	1	,203	236,556	0,000
TEMPERATURA	12,567	1	12,567	14646,458	0,000
FITASA *	1,019	1	1,019	1187,680	0,000
TEMPERATURA					
Error	1,709	1992	0,00103427		
Total	383,379	1996			
Total corregida	15,481	1995			

<sup>a</sup>R-cuadrado = 90.0058% R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 87.5073%

x= 0.43751135 CV=7.35%

**Anexo 32:** Prueba de significancia de Duncan (p 0.05) contenido de Hierro en la Heces.

N°	Clave	Frecuencia	Promedio de Fe en la Heces (mg/100g)	Prueba de Duncan en P 0.05
1	T4-1224	4	0.325 ± 0.039	a
2	T2-1222	4	0.391 ± 0.089	b
3	T1-1221	4	0.505 ± 0.022	c
4	T3-1223	4	0.529 ± 0.025	c d
5	T5-1225	4	0.572 ± 0.027	d

**Anexo 33:** Análisis de Varianza para Hierro en la ORINA.

Origen	Suma de cuadrados tipo III	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	0,123 <sup>a</sup>	3	0,041	1293,378	0,000
Intersección	21,764	1	21,764	685379,218	0,000
FITASA	0,108	1	0,108	3410,616	0,000
TEMPERATURA	0,004	1	0,004	119,168	0,000
FITASA *	0,005	1	0,005	143,788	0,000
TEMPERATURA					
Error	0,063	1992	0,0000390619		
Total	22,091	1996			
Total corregida	0,186	1995			

<sup>a</sup>R-cuadrado = 66.8729%      R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 58.5911%

x=0.10501963      CV=6.22%

**Anexo 34:** Prueba de significancia de Duncan (p 0.05) contenido de Hierro en la Orina.

N°	Clave	Frecuencia	Promedio de Fe en la Orina (mg/100g)	D.S.	Prueba de Duncan en P 0.05
1	T2-1222	4	0.0947	±0.0820	a
2	T1-1221	4	0.1006	±0.0047	a
3	T3-1223	4	0.1123	±0.0102	b
4	T4-1224	4	0.1125	±0.0034	b
5	T5-1225	4	0.1181	±0.0102	b

**Anexo 35: Análisis Químico Proximal de la Papilla de PRONAA****GRUPO CONTROL (T5-1225)**

ANÁLISIS	RESULTADOS
HUMEDAD, %	0.55
PROTEINA TOTAL (Nx6.25), %	14.6
GRASA, %	11.64
FIBRA CRUDA, %	0.95
CENIZA, %	3.7
ELN, %	68.56

Fuente: PRONAA, 2010



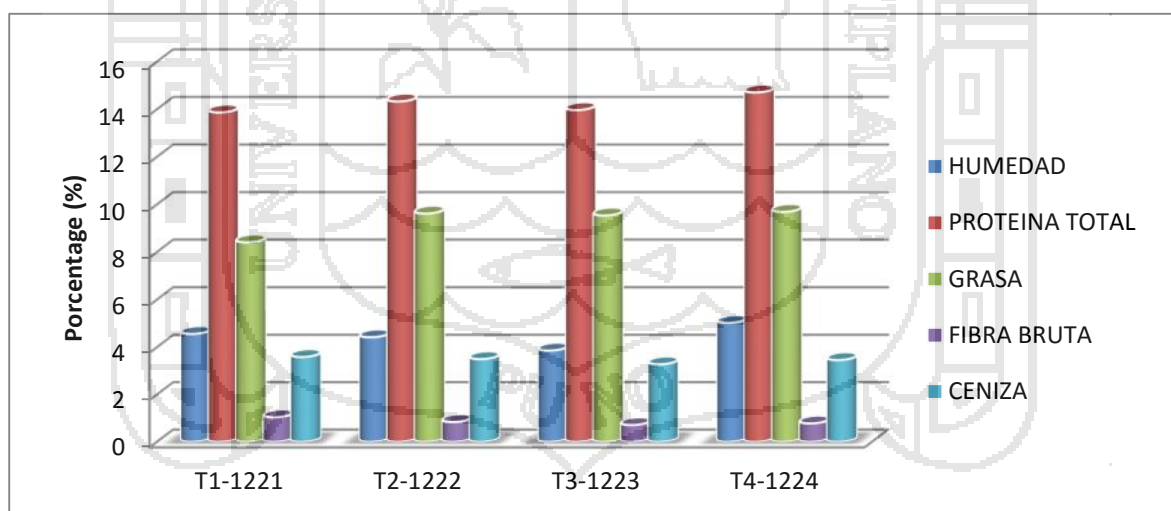
**Anexo 36:** Datos Estadísticos Descriptivos de Inositol Fosfato Encontrados en la Papilla de PRONAA(mg/100g)

Inositol Hexafosfato	Descriptivos	Estadístico
	Media	150.315699
	Mediana	149.610965
Inositol Hexafosfato (IP6)	Varianza	19.114
	Desv. típ.	4.3720067
	Mínimo	146.0347
	Máximo	156.0061
Inositol tetra y pentafofosfato (IP4 + IP5)	Media	32.555787
	Mediana	32.049100
	Varianza	34.616
	Desv. típ.	5.8835616
	Mínimo	25.9438
	Máximo	40.1812

**Anexo 37:** Análisis Químico Proximal de los Tratamientos.

CLAVE	HUMEDAD (%)	PROTEINA	GRASA	FIBRA	CENIZA (%)	ELN (%)
		TOTAL (%)	(%)	BRUTA (%)		
T1-1221	4.56	13.87	8.41	1.04	3.59	68.53
T2-1222	4.42	14.33	9.62	0.84	3.5	67.29
T3-1223	3.86	13.97	9.54	0.71	3.28	68.64
T4-1224	5.02	14.71	9.69	0.78	3.46	66.33

**Anexo 38:** Análisis Químico Proximal de los Tratamientos.



**Anexo 39:** Datos estadísticos descriptivos de IP6 (mg/100g) encontrados en los tratamientos con respecto al factor concentración de fitasa

Inositol Hexafosfato	Concentración de fitasa (g)	Descriptivos	Estadístico	Error típico
Concentración de IP6	1.05	Media	128.2953	0.44897
		Desv. típ.	14.29206	
		Mínimo	111.37	
		Máximo	142.65	
		Media	123.9476	0.39028
		Desv. típ.	12.22865	
	1.60	Mínimo	109.53	
		Máximo	137.18	

**Anexo 40:** Datos estadísticos descriptivos de IP6 (mg/100g) encontrados en los tratamientos con respecto al factor temperatura.

Inositol hexafosfato	Temperatura (°C)	Descriptivos	Estadístico	Error típico
Concentración de IP6	37	Media	138,0395	0,10314
		Desv. típ.	3,42639	
		Mínimo	132,65	
	55	Máximo	142,65	
		Media	111,4438	0,03749
		Desv. típ.	1,11942	
		Mínimo	109,53	
		Máximo	112,96	

**Anexo 41:** Datos Estadísticos Descriptivos de Hierro en la Sangre (mg/100g) Encontrados en los Tratamientos con respecto al factor Temperatura.

Temperatura (°C)	Descriptivos	Estadístico	Error típico
37	Media	3.36192	0.004697
	Desv. típ.	0.156045	
	Mínimo	3.189	
	Máximo	3.538	
	Concentración de Hierro en la Sangre		
55	Media	3.30782	0.001750
	Desv. típ.	0.052265	
	Mínimo	3.241	
	Máximo	3.367	

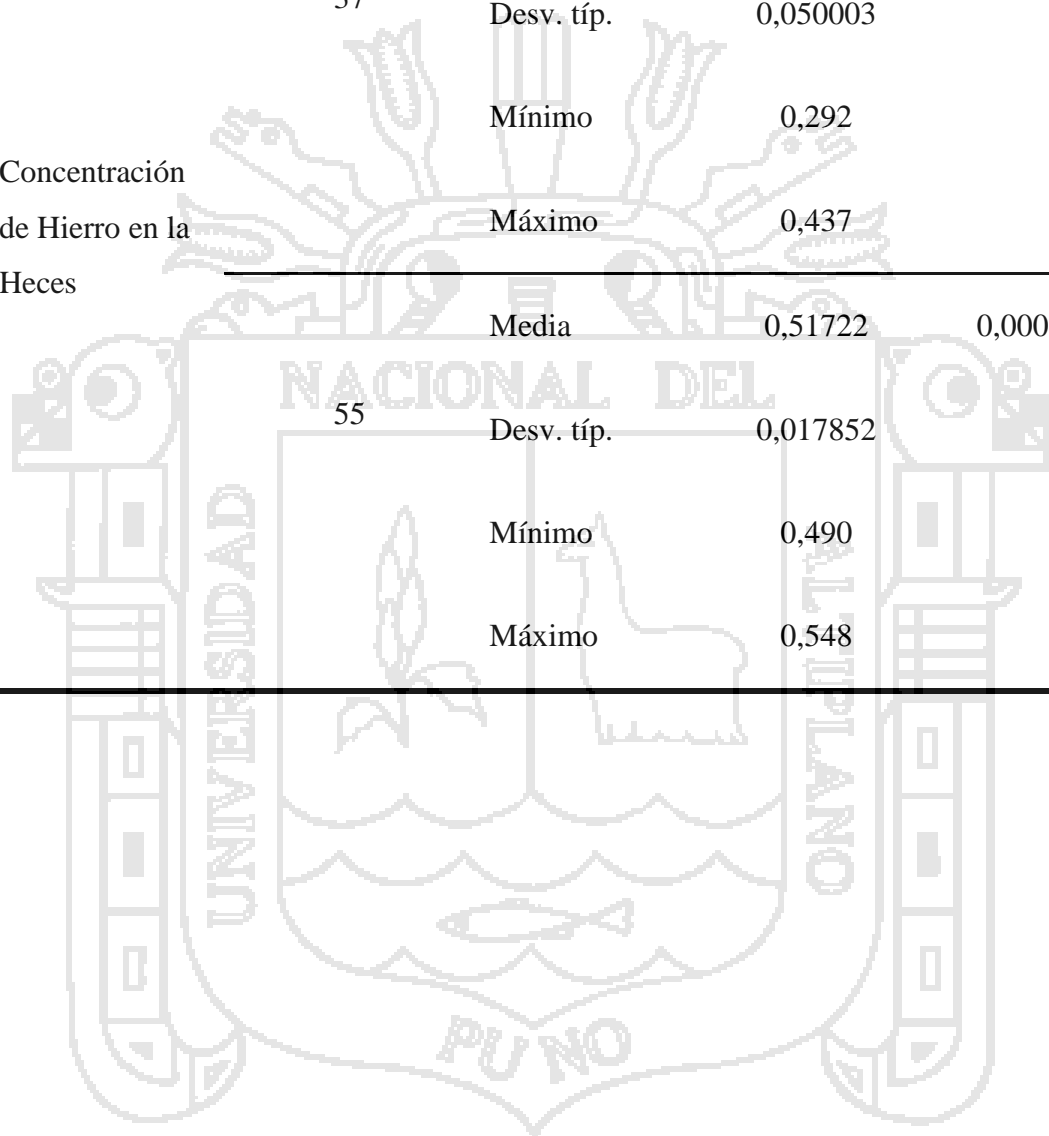
**Anexo 42:** Datos Estadísticos Descriptivos de Hierro en la Heces (mg/100g) Encontrados en los Tratamientos con respecto al factor Concentración de Fitasa.

Concentración de fitasa (g)	Descriptivos Estadístico	Error típico
	Media	0,44118
1.05	Desv. típ.	0,067729
	Mínimo	0,310
	Máximo	0,523
Concentración de Hierro en la Heces	Media	0,41716
	Desv. típ.	0,103710
1.6	Mínimo	0,292
	Máximo	0,548

**Anexo 43:**Datos Estadísticos Descriptivos de Hierro en la Heces (mg/100g) Encontrados en los Tratamientos con respecto al factor Temperatura.

Temperatura (°C)	Descriptivos	Estadístico	Error típico
37	Media	0,35839	0,001505
	Desv. típ.	0,050003	
	Mínimo	0,292	
	Máximo	0,437	
55	Media	0,51722	0,000598
	Desv. típ.	0,017852	
	Mínimo	0,490	
	Máximo	0,548	

Concentración  
de Hierro en la  
Heces



**Anexo 44:** Porcentaje de valor biológico.

CLAVE	NI (g)	NF (g)	NU (g)	% VB
T1-1221	0.84	0.23	0.19	68.85
T2-1222	0.84	0.24	0.23	61.67
T3-1223	0.6	0.19	0.11	73.17
T4-1224	0.44	0.14	0.1	66.67
T5-1225	0.69	0.21	0.16	66.67

Dónde:

NI= Nitrógeno Ingerido

NF= Nitrógeno excretado en las heces

NU= Nitrógeno excretado en la orina

VB= Valor Biológico



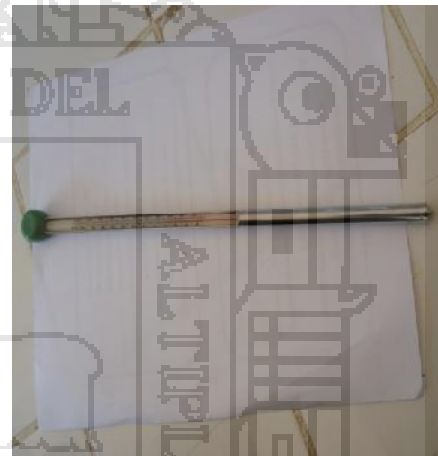
**Anexo 45: FOTOGRAFÍAS**

**Insumo: Papilla infantil (PRONAA)**



**Balanza analítica para pesado de fitasa**

**Termometro para medio ambiente**



**Desfitinizado de las papillas**



**Aislamiento de ratas cepa HOLTMAN**



**Pesado inicial de animales**



**Jaulas metabólicas**



**Secado de sangre para determinación de hierro**

