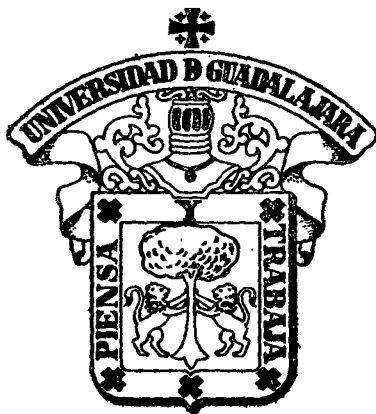


UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**“QUELATOS DE FIBRA NO DIGERIBLE-HIERRO,
LIBERACION POR AGENTES
OXIDO - REDUCTORES”**

TESIS PROFESIONAL

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

PRESENTA

PEDRO MACEDONIO GARCIA LOPEZ

GUADALAJARA, JALISCO, 1982

DEDICATORIA

A toda la humanidad, en especial
a sus siguientes miembros:

Mi familia, maestros, compañeros y amigos.

C O N T E N I D O .

	PAGS.
INTRODUCCION.....	1 - 13
MATERIALES Y METODOS.....	14 - 19
RESULTADOS.....	20 - 23
DISCUSION Y CONCLUSIONES.....	24 - 26
BIBLIOGRAFIA.....	27 - 29

INTRODUCCION.

El hierro es uno de los elementos más comunes en la tierra. A pesar de las pequeñas cantidades que podemos encontrar en las células vivas, el hierro es uno de los más abundantes que existen en el planeta, cuya corteza se cree que está constituida por una mezcla de hierro y níquel.

La concentración de hierro en el agua de mar es de aproximadamente 0.2×10^{-6} moles por litro, mientras que en los suelos podemos encontrar hasta 3.8% (1).

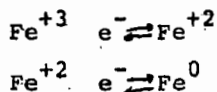
A pesar de las grandes concentraciones de hierro que existen en el mundo inorgánico en sistemas biológicos, solamente lo encontramos en pequeñas cantidades. Sin embargo, esto no quiere decir que carezca de importancia, dado que contrario a su baja concentración, la función que desempeña es de vital importancia para los seres vivos.

De la misma forma que otros elementos de transición del cuarto período de los elementos, los electrones de valencia del hierro pertenecen al subnivel 3d. Dado que los electrones del nivel 3d poseen energías similares, los metales de transición se encuentran en varios estados de oxidación (2).

El hierro lo podemos encontrar en estados de oxidación tan altos como VI o tan bajos como -II, sin embargo el hierro se encuentra comúnmente en los estados de oxidación II y III (ferroso y férrico), ya que los demás estados requieren condiciones químicas especiales (3).

La forma férrica Fe^{+3} y su forma reducida Fe^{+2} son los únicos dos estados estables en sistemas biológicos.

El hierro ferroso se oxida rápidamente a hierro férrico en presencia de oxígeno. Sin embargo, la forma ferrosa puede actuar como agente oxidante o como reductor, según se indica a continuación:



En soluciones ácidas los iones ferroso y férrico se encuentran en el estado hidratado $\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6^{+2}$. Conforme se incrementa el pH, las moléculas de agua liberan protones y se forman los hidróxidos de hierro que son más insolubles a valores pH mayores. Con una solubilidad de 10^{-1} M y de 10^{-16} M a pH de 7 para el hidróxido ferroso e hidróxido férrico, respectivamente (3).

La estabilidad y el comportamiento químico del hierro a diferentes valores de pH reviste singular importancia, dado que el hierro debe permanecer en solución para fin de ser absorbido en la región proximal del intestino delgado.

ABSORCION DEL HIERRO Y SU CONSERVACION

El hierro se absorbe primariamente en el intestino delgado, aunque una parte de éste se absorbe en el estómago. Muchos estudios han demostrado que una vez que el hierro se absorbe, éste se conserva en el cuerpo y no se excreta en cantidades significativas; en animales adultos y con excepción de hemorragia y otras condiciones patológicas, el hierro en las raciones no es necesario en cantidades elevadas.

El principal sitio de almacenamiento del hierro es el hígado. También se encuentran cantidades significativas en la médula ósea y bazo. La gestación y la producción de huevo demandan cantidades mayores de hierro.

La regulación de la absorción del hierro, en gran parte se - lleva a cabo por las células epiteliales del intestino, aunque el mecanismo exacto de este control todavía no se haya precisado.

El hierro de los alimentos existe en estado férrico (Fe^{+3}) - ya sea con hidróxido férrico o como compuestos orgánicos férricos. - Por la acción del ácido clorhídrico, estos compuestos se disocian - en iones férricos libres o en hierro orgánico labilmente unido. Las sustancias reductoras de los alimentos como los grupos SH (cisteína) o el ácido ascórbico reducen el hierro férrico al estado ferroso. - En esta forma, el hierro es más soluble y debe, por lo tanto ser -- más fácilmente absorbible.

En una época la llamada teoría del "bloqueo mucoso", se consideró suficientemente adecuada para explicar el control intestinal de la absorción del hierro. Según esta teoría, la cantidad de proteína fijadora de hierro (Apoferritina) en las células de la mucosa, era el factor regulador. El hierro ferroso una vez dentro de las células mucosas, se oxida y pasa al estado férrico y se combina con - la apoferritina formando la ferroproteína FERRITINA. De esta manera, la capacidad fijadora de la apoferritina para el hierro limita la - absorción ulterior del mismo, y una vez saturada con hierro, no puede presentarse mayor almacenamiento de éste.

Sin embargo, en estudios más recientes se han detectado más portadores dentro de las células que regulan el paso del hierro hacia la sangre. Es probable que el hierro que entra en la célula en exceso del que puede ser unido al sistema portador, sea incorporado a la ferritina.

El hierro liberado por la célula mucosa entra en la sangre -

de la porta casi todo en estado ferroso (Fe^{+2}). En el plasma, el -- hierro ferroso rápidamente se oxida al estado férrico (Fe^{+3}) y luego se incorpora a la proteína específica fijadora de hierro, TRANSFERRINA.

El bajo grado de saturación de la transferrina condiciona la liberación del hierro por la célula mucosa. La ceruplasmina ejerce una acción catalítica en el plasma que convierte el Fe^{+2} en Fe^{+3} , y puede así acelerar la incorporación del hierro a la transferrina. La médula ósea rápidamente capta el hierro fijo a la transferrina. Así la transferrina de alguna manera desvía el hierro plasmático hacia aquellas células que están elaborando activamente hemoglobina.

El nivel de hierro en el plasma es el resultado de un equilibrio dinámico, durante el cual, el hierro plasmático se redistribuye en varios circuitos metabólicos, terminando cada circuito en el retorno del hierro a la confluencia del hierro plasmático. En el -- circuito cuantitativamente más importante, el hierro usado para la síntesis de hemoglobina comprende la transferencia del hierro plasmático a la médula ósea, el eritrocito, el eritrocito envejecido y el retorno al plasma (Ciclo de la hemoglobina) (4).

Existen dos fuentes principales de hierro en la dieta, el -- hierro heme proporcionado principalmente por alimentos de origen -- animal y el hierro no-heme proporcionado principalmente por los vegetales (5). La disponibilidad del hierro heme es más alta que la -- disponibilidad del hierro no-heme.

Las necesidades minerales deben evaluarse para los diferen-- tes tipos de animales, teniendo en cuenta:

1.- La acción de los macro y microelementos en el cuerpo ani

mal, relacionado estrechamente con las transformaciones de los componentes orgánicos del alimento y de la producción.

- 2.- La forma de administración de los minerales, en vista de que los cationes deben ir junto con aniones adecuados o en forma de complejos fácilmente absorbibles.

Otros oligoelementos divalentes, cercanos en sus propiedades al hierro se han estudiado aisladamente y en combinación para observar sus interacciones. La deficiencia de cobre se ha comprobado que es acentuada en algunos lugares por exceso de molibdeno. El zinc es un componente de la anhidrasa carbónica cuya función resulta esencial para el transporte del dióxido de carbono y para el mantenimiento del equilibrio ácido-básico en el organismo. Sin embargo a pesar de que disponemos de abundante información experimental sobre la importancia del zinc, como elemento esencial para los animales de laboratorio, carecemos de información sobre deficiencias de zinc en animales domésticos.

Entre diversos factores la quelación de dichos oligoelementos incluyendo la del Mg^{++} , constituye un mecanismo importante para la biodisponibilidad de los mismos. En la actualidad la administración de oligoelementos en forma de óxidos no es siempre satisfactoria debido a su escasa solubilidad.

Los oligoelementos mencionados casi siempre actúan como catalizadores de reacciones químicas en los seres vivos. Su demanda por el organismo es tanto mayor cuanto más se le imponga un desarrollo intensivo, gestación, lactación, también así cuando por afanes de incrementar la productividad se modifiquen las raciones que habi---

tualmente se los suministraban, la función nutricional de los oligoelementos es de vital importancia, por ejemplo: El cobalto, es un componente de la vitamina B₁₂ factor extrínseco que combate la anemia perniciosa. El iodo forma parte de una molécula orgánica compleja, esencial de la hormona tiroidea, consecuentemente, se constituye en un factor importante para la regulación de muchas funciones corporales. El selenio ejerce una función oxidativa en las reacciones del metabolismo intermediario. El hierro forma parte de la hemoglobina y es clave para la función respiratoria de los mamíferos y otros animales. La mioglobina de los músculos similar en su contenido en hierro al que posee la hemoglobina de la sangre, sirve como almacén local de oxígeno a disposición del tejido muscular. En general el oxígeno en todos los animales se transporta por las llamadas proteínas respiratorias en las cuales siempre existe un elemento metálico.

Algunas enzimas contienen hierro como la catalasa, enzima que transforma el peróxido de hidrógeno de una gran variedad de moléculas y las enzimas citocrómicas, esenciales para atrapar la energía derivada de la oxidación de los hidratos de carbono y de las grasas (6).

Los animales domésticos, especialmente los jóvenes y sobre todo en los lechones, no es rara una carencia de hierro. Las causas principales de la anemia ferropénica en ellos corresponden a:

- a) Deficiencias en el aprovechamiento de hierro y de su incorporación a la hemoglobina, como sucede cuando hay carencia de cobre.
- b) Insuficiente aporte de hierro en el alimento.

- c) Insuficiente absorción de hierro debido a enfermedades --
gastrointestinales crónicas.

La anemia ferropénica se presenta en lechones de 2-4 semanas de edad cuando el aporte de hierro en sus alimentos no es suficiente y/o permanecen sin exponerse a la obtención de éste, a partir de recursos naturales.

En la aparición de esta anemia intervienen diversos factores:

- a) Baja reserva de hierro en los lechones al nacimiento cuyos valores se distribuyen de la siguiente manera: Total 36 - mg, 16 mg forman parte de la hemoglobina, 8 mg en los depósitos del hígado, y el resto forman parte de los tejidos. Por su rápido desarrollo en las tres primeras semanas de vida se necesitan: 300 a 350 mg de hierro.
- b) El rápido aumento de los lechones en unos 6 días lo duplican en comparación con su peso al nacimiento. Este enorme crecimiento lleva consigo una síntesis intensiva de hemoglobina y de otras sustancias que contienen hierro (mioglobina, citocromo).
- c) Escaso contenido de hierro de la leche materna, insuficiente para cubrir las necesidades de la progenie. La primera semana de vida el hierro que los lechones reciben -- con la leche materna es solamente de 0.8-0.9 mg diarios. -- La cantidad total de hierro ingerida en las tres primeras semanas de vida es solamente de 33 mg, o sea la décima -- parte de lo indispensable para evitar la aparición de la anemia normocítica hipocrómica.

Como consecuencia de la anemia hipocrómica disminuyen el cre

cimiento la vitalidad y la capacidad de defensa. El corazón se hipertrofia y el volumen minuto puede llegar a triplicarse, la cantidad de citocromo, catalasa y de mioglobina de los tejidos disminuye con la carencia de hierro. En condiciones normales de cría y de alimentación, es muy raro que se presente anemia en los otros animales domésticos (7).

Además del nivel de hierro presente en la dieta, existen otros factores que influyen en la absorción del mismo. Las sales ferrosas se absorben mas eficientemente que las sales férricas. El alto consumo de arcillas, fitatos, fósforo, zinc, cadmio, cobalto, -- pueden reducir la disponibilidad del hierro. Los ácidos orgánicos -- como lactato, piruvato y succinato pueden aumentar la absorción del hierro posiblemente mediante la reducción y la quelación del mineral. El tipo de los carbohidratos en la dieta puede también influir en su absorción.

Aunque el cuerpo es muy eficiente en cuanto a la conservación del hierro, algunas cantidades de éste se pierden en la orina, heces y sudor.

Entre los factores nutricionales que contribuyen a la menor disponibilidad del hierro para su absorción se encuentran los fitatos y la fibra. Se ha observado que el ácido fitico o hexafosfato de inositol es capaz de formar complejos insolubles con diferentes metales (8). Dado que el ácido fitico se encuentra en las plantas -- se ha considerado como un factor antinutricional presente en los alimentos.

La presencia de fitatos en la dieta no explica totalmente -- las anormalidades observadas en sujetos cuya dieta se encuentra ba-

sada en cereales. Por lo tanto se ha sugerido que la fibra puede interaccionar con los minerales e influir en su disponibilidad (9).

En un experimento realizado en pollos de 4 semanas de edad, se añadió a la dieta un 6% mas de fibra de la dieta. Añadiendo a la dieta: Salvado de trigo, salvado de maíz, salvado de soya, salvado de arroz, cascarilla de avena y celulosa. Se observó una disminución en el peso corporal, consumo de alimento, y en la tibia aparecieron bajas concentraciones de zinc, hierro y manganeso en los animales que se alimentaron a partir de la dieta a la que se añadió -- salvado de arroz. Las otras fuentes no produjeron diferencias significativas en los valores para los parámetros analizados.

Los análisis de las dietas muestran que los niveles de fibra en la dieta a la que se añadió salvado de arroz no son extremadamente altos comparada con las otras dietas. La adición de salvado de arroz contribuye a un aumento en la cantidad de ácido fitico de todas las dietas analizadas en 1.3%. Se concluye que alguna fuente de fibra de la dieta puede ser benéfica mientras que otra es perjudicial para el estado nutricional (10).

LA FIBRA Y SUS IMPLICACIONES EN LA NUTRICION ANIMAL.

Originalmente la fibra se definió como la porción indigerible de los alimentos, de hecho, el análisis de la fibra en los alimentos es rutinario para identificar sus elementos no nutritivos.

A Van Soest se le ha considerado el pionero en este campo de investigación. En 1973 señaló que la fibra no digerible de los alimentos en animales monogástricos, corresponde a la porción de la pared celular de las plantas, que resisten su degradación por las secreciones endógenas del tracto gastrointestinal, definición que permanece aceptada hasta el momento actual (11). Otros autores creen que la fracción no digerible de las proteínas, almidones, minerales, azúcares y otros compuestos no metabolizables, tales como los productos de la reacción de Maillard también forman parte de la fibra de la dieta.

El contenido de fibra es un factor importante que gobierna el volumen de una ración, cualquiera que pueda ser el significado implícito en el uso de este término. Cuando se utiliza en relación con el uso de una mezcla de granos el término se refiere al peso de un volumen dado de un alimento por ejemplo: La avena que pesa aproximadamente 0.45 Kg/Lt es voluminoso en contraste con la harina de maíz la cual pesa 0.70 Kg/Lt. Los concentrados voluminosos en general son ricos en fibras, aunque los espacios de aire entre las partículas contribuyen a lo voluminoso.

El volumen del bolo alimenticio se considera importante, ya que se desea cierto grado de distensión del tracto digestivo para un funcionamiento adecuado que permita la eliminación de los residuos alimenticios. Por supuesto, esta distensión puede obtenerse --

por el consumo de grandes cantidades de cualquier alimento, pero se obtiene particularmente con la ingestión de materiales como la fibra. El volumen aumenta por su capacidad de absorber agua. Algunos materiales como el agar y mucilagos absorben grandes cantidades de agua, mientras que otros, tales como la celulosa regenerada no absorben agua. La harina de linaza contiene menos fibra que el salvado de trigo y absorbe tres veces más agua, por lo tanto es más voluminosa en el tracto digestivo.

La influencia del volumen en la eliminación de residuos alimenticios, es esencialmente de efecto laxante. Se reconoce que los alimentos ricos en fibra tienden a ser laxantes y que la fibra que absorbe el agua y se expande es más catártica que aquella que no lo hace, por lo menos para ciertas especies. Un alimento no fibroso -- que absorbe gran cantidad de agua es menos efectivo, dado que en su mayor parte queda digerido y por lo tanto no llega a la porción del tracto digestivo que se encuentra ocupado principalmente por residuos alimenticios. Por supuesto el volumen no es la única causa del efecto laxante de muchos alimentos, ya que algunos contienen sustancias específicas que promueven el peristaltismo.

El volumen deseado depende de la especie en vista de su variabilidad en lo que respecta al tamaño y anatomía de su tracto digestivo. También depende del nivel de producción que se pretenda. Demasiado volumen disminuye el consumo de nutrientes digeribles, -- por lo tanto, el consumo de materiales voluminosos de baja digestibilidad en estas circunstancias deberá ser limitado. Podría pensarse que la alfalfa sería ideal para una ración única desde el punto de vista que promueve la actividad del tracto digestivo, sin em-

bargo las vacas de alta producción no pueden consumir cantidades su ficientes de ésta para cubrir sus necesidades nutritivas. Las ovejas crecen normalmente con dietas purificadas con bajo contenido de fibra cuando se incluyen bicarbonato de sodio y potasio, como bu---ffer, sugiriendo como tal que el volumen es menos importante de lo que se creía.

Las hojuelas de cebada o espiga de maíz molidas suplementadas con proteínas, vitaminas y minerales mostraron tasas satisfactorias y eficiencia en la ganancia de peso en el ganado de carne finalizado, pero se observaron en algunos animales daños del epitelio del rumen (paraqueratosis) y abscesos en el hígado. La adición de paja evitó estos cambios patológicos, pero no mejoró la eficiencia en la ganancia de peso. Los buffers han sido eficientes en algunos estudios y en otros no.

No se ha explicado totalmente el papel que juega el volumen en las raciones de rumiantes. En ciertas especies incluso en humanos, grandes cantidades de fibra causan irritación intestinal y -- otros problemas gastrointestinales (12).

La digestión de un alimento implica varios procesos: Prehensión, masticación, paso del alimento a través del esófago y de ahí al estómago para luego pasar al intestino delgado donde se absorben los principios nutritivos obtenidos por el ataque de numerosas enzimas a los mismos durante este proceso. Algunos metales como el hierro presente en dichos alimentos pueden quelarse y no ser absorbidos por el tracto gastrointestinal a menos que coexista o se añadan agentes oxidoreductores tales como: Ascorbato y citrato.

El hierro es de gran importancia nutricional durante la eta-

pa de lechones, en la cual los aportes de hierro son insuficientes para el desarrollo de los mismos. Por lo tanto estos animales requieren la administración parenteral complementaria a base de hierro-dextran y raciones que contengan una cantidad adecuada de hierro.

La fibra (hemicelulosa, lignina, Etc.) son agentes quelantes de hierro, zinc, magnesio y calcio. Su contenido puede ser variable dependiendo de los alimentos que se utilicen, por lo tanto su capacidad para retener hierro, teóricamente también es diferente.

El propósito de esta tesis consiste en cuantificar el hierro total del salvado de maíz, trigo, tortillas y raciones para cerdos. También deseamos demostrar la capacidad de diferentes compuestos orgánicos para eluir hierro de los alimentos y precisar la necesidad de un proceso en el cual estos se utilicen en forma sucesiva. Por otra parte pretendemos establecer una orientación en relación a los diferentes componentes de los alimentos que son capaces de unir fuertemente al hierro.

MATERIALES Y METODOS

Se realizó la extracción del hierro presente en salvado de maíz, salvado de trigo, tortillas de maíz y raciones para cerdos.

El salvado de trigo utilizado se obtuvo de trigo blando distribuido por la Asociación de Químicos en Cereales. El salvado de maíz a partir de Productos de Maíz S.A. de C.V. Guadalajara, Jal.- las raciones para cerdos fueron obtenidas del Rancho de Cofradía de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Guadalajara, y contenían 12,14 y 16% de proteína. Las tortillas se compraron en la localidad.

Cada una de las muestras se molió hasta obtener partículas que pasaron a través de una malla # 20. Los salvados de maíz y de trigo, así como las tortillas se trataron directamente con los solventes motivo de estudio. A las raciones para cerdos se les practicó una extracción preliminar con 15 ml. de éter de petróleo por cada 0.05 g. de muestra. Los tubos se agitaron en un rotor durante un minuto, el éter de petróleo se decantó y el éter remanente de la muestra se eliminó evaporándolo por calentamiento.

FASE I

Determinamos la capacidad de extracción de hierro por diferentes sustancias a diferentes concentraciones a partir de las tortillas de maíz y raciones para cerdos de la siguiente manera:

En cada experimento se pesaron 20 mg. de tortilla por duplicado. Luego se transfirieron a tubos de polietileno de 15 ml. de capacidad con tapón de baquelita, numerados del 1 al 24. Las sustancias utilizadas fueron ácido ascórbico al 0.1% y 1.0%, citrato-

de sodio al 0.1, 1.0 y 5.0%; EDTA al 0.1, 1.0%; utilizando la solución salina glucosada (5.0 g D-glucosa, 7.5 g de NaCl, 0.3 g KCl disueltos en un litro de agua destilada y desmineralizada) como referencia. Como blanco, utilizamos las mismas soluciones sin muestra.

El mismo procedimiento se utilizó para determinar la capacidad de extracción de las mismas soluciones a partir de raciones para cerdos. Solamente que en estos experimentos se utilizaron 50 mg. de muestra.

Todas las muestras se rotaron durante 30 min, se centrifugaron 5 min a 3,000 r.p.m., tomándose volúmenes de 2 ml para la determinación de hierro por el método colorimétrico del sulfonato de batofenantroleina (13) de la siguiente manera: A un volumen de 2 ml - (problema) se añadieron sucesivamente 2 ml de ácido clorhídrico, -- 0.2 M, 0.2 ml de acetato de amonio al 50% (p/v) y 0.2 ml de una solución saturada de sulfato de hidrazina, enseguida se agita esta solución; después se adicionaron 0.2 ml de una solución de sulfonato de batofenantroleina, la mezcla se agitó y después de aproximadamente 20 minutos se midió la absorbancia a 535 nm con la ayuda de un espectrofotómetro Spectronic 20 Bausch and Lomb de las instalaciones de la F M.V.Z. Se utilizó una celdilla conteniendo el blanco correspondiente para estandarizar el aparato a cero.

En las soluciones estándar, siempre se utilizaron concentraciones de hierro conocidas, ésta fue preparada a partir de una solución de hierro II que contenía 1 mg de Fe/ml. La solución de hierro de concentración conocida se preparó añadiendo 0.1 ml de esta solución y se aforó con 100 ml de las soluciones utilizadas para la elución del hierro de las muestras, de tal forma que la concentración obtenida fue de 1 ug/ml (esta solución se pre-----)

para poco antes de usarse). A un volumen de 2 ml se añadieron los reactivos del método de la batofenantroleína. El cálculo se realizó utilizando la siguiente fórmula:

$$\frac{A_S}{A_P} \times 2 \times \frac{10}{2} \times \frac{1}{0.02/0.05 \text{ g}} = \text{ug/mg}$$

Donde A_S = Absorbancia del estándar

A_P = Absorbancia del problema

Cuando se presentaron problemas de inhibición por la presencia de citrato o EDTA se añadieron volúmenes de 1 ml de ácido ascórbico al 1%.

La solución estándar de Fe II se preparó pesando 3.512 g de sulfato ferroso amoniacal $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y se diluyó en 500 ml. de agua destilada y desmineralizada conteniendo 2 ml de ácido clorhídrico concentrado. El agua se desionizó haciéndola pasar a través de una columna intercambiadora de iones.

FASE II

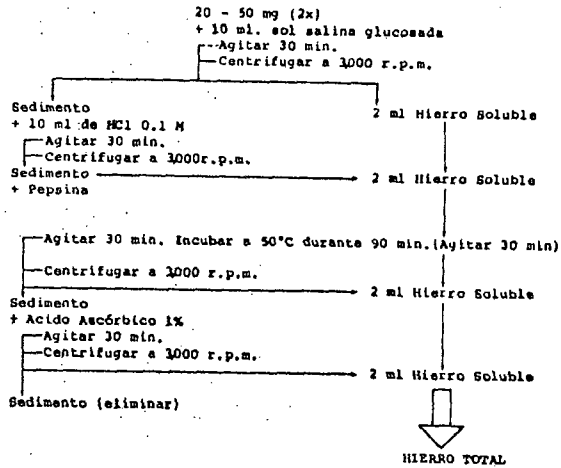
Para precisar el carácter químico de algunos componentes -- con los cuales pudiese persistir unido el hierro en las muestras -- estudiadas y otras, diseñamos un diagrama de flujo, donde se prevee una comparación entre el salvado de maíz, salvado de trigo y raciones para cerdos, así como los posibles componentes químicos -- de cada uno, que son capaces de unir el hierro.

Se pesaron 0.02 a 0.05 g de muestra por duplicado en una balanza analítica, luego se transfirieron a tubos de polietileno de-

15 ml. de capacidad con tapadera de baquelita. Enseguida añadimos--
10 ml. de solución salina glucosada (5.0 g D-glucosa, 7.5 g de ---
NaCl, 0.3 g de KCl en un litro de agua destilada y desmineralizada).
Los tubos se colocaron en un rotor por 30 min. a 30 r.p.m. aproximada--
mente. Enseguida se centrifugaron a 3,000 r.p.m. durante 5 min. y -
se extrajeron 2 ml de sobrenadante para medir el hierro presente en
esta extracción. Después de decantó el sobrenadante, y se agregaron
10 ml. de HCl 0.1 M, los tubos se rotaron, centrifugaron y extraji--
mos un volumen de 2 ml. para medir el hierro presente en esta ex---
tracción. Para comprobar la presencia de proteínas que pudieran es-
tar captando hierro, se añadieron 50 mg. de pepsina y se completó -
nuevamente el volumen de 10 ml con HCl 0.1 M la mezcla se incubó a-
50°C durante 90 min. en baño María, después se rotaron, centrifuga-
ron y de nuevo se tomaron volúmenes de 2 ml. para la determinación-
de hierro. Después de decantar el sobrenadante se procedió a la ex-
tracción con ácido ascórbico al 1.0%, añadiendo 10 ml. de esta solu-
ción al residuo; los tubos se rotaron, centrifugaron y se tomaron -
alícuotas de 2 ml. para medir el hierro presente en esta extracción.

La determinación de hierro de cada una de estas extracciones
se llevó a cabo por el método colorimétrico del sulfonato de batofe-
nantroleína y la fórmula utilizada en la fase I de nuestros experi-
mentos anteriormente descritos. Como blanco utilizamos las mismas -
soluciones sin muestra.

PROCEDIMIENTO PARA EXTRACCION DE HIERRO EN ALIMENTOS



DETERMINACION DE HIERRO TOTAL

Para la medición del hierro total se colocaron 0.2 g. de la muestra en un crisol de porcelana y ésta se colocó en una mufla a 550°C hasta la obtención de cenizas. Las muestras se enfriaron y se añadieron 0.25 ml. de ácido nítrico 1M para eliminar todas las partículas de carbón, se colocaron de nuevo en la mufla a 550°C. - Las cenizas se disolvieron en 2.0 ml de HCl 1 M (se calentó en caso necesario) colocadas en un matraz volumétrico de 10 ml de capacidad; se lavó el crisol 4 veces con 2 ml de agua destilada y desmineralizada, colocándolos en él mismo con la ayuda de un embudo. - El hierro se determinó por el método colorimétrico del sulfonato de batofenantroleina (13).

RESULTADOS.

La figura 1 describe la capacidad del ascorbato, citrato y EDTA a las concentraciones indicadas en materiales y métodos para extraer hierro en raciones para cerdos.

Encontramos que la cantidad de hierro eluido por el ácido ascórbico y citrato es superior ($p < 0.001$) a la concentración de hierro extraído por la solución salina glucosada. La concentración de hierro extraída con EDTA no es estadísticamente significativa en comparación con el hierro extraído con la solución salina glucosada.

La figura 2 describe la capacidad de extracción de hierro por los mismos compuestos a partir de tortillas de maíz.

Encontramos que las concentraciones de 0.1, 1.0 y 5.0% de citrato extraen mas hierro que la solución salina glucosada; su diferencia es estadísticamente significativa ($p < 0.001$). Lo mismo sucede con las soluciones de ácido ascórbico al 0.1% ($p = 0.005$) y al 1.0% ($p < 0.001$).

La capacidad de extracción del EDTA en comparación con la capacidad de extracción de hierro de la solución salina glucosada no es estadísticamente significativa.

La figura 3 muestra la porción de hierro liberada a partir del salvado de trigo, salvado de maíz y raciones para cerdos mediante la extracción con solución salina glucosada seguida sucesivamente por HCl 0.1 M, HCl 0.1 M conteniendo 0.5% de pepsina y por último ácido ascórbico al 1.0%.

Se puede observar que del 16 al 32% del hierro presente en -

las muestras es soluble en la solución salina glucosada. Aproximadamente el 50% del hierro presente en el salvado de trigo y las raciones para cerdos se extraen con HCl 0.1 M, Aunque solamente el 31% - se extrae a partir del salvado de maíz. Un 20% de hierro adicional se libera a partir del salvado de maíz y trigo, cerca del doble 37% a partir de las raciones para cerdos mediante la acción de la pepsina. El ácido ascórbico liberó un 17% y un 14% de hierro a partir -- del salvado de maíz y trigo respectivamente, sin embargo no fue posible liberar hierro a partir de las raciones para cerdos.

En la tabla 1 se presentan las concentraciones totales de -- hierro de los materiales estudiados, el valor para la tortilla es mayor que los valores publicados (14,15). Por otra parte el valor - obtenido para el salvado de trigo concuerda con el valor asignado - para este material por la asociación de químicos en cereales.

RECUPERACION DE HIERRO PARTIR DE RACIONES PARA CERDOS

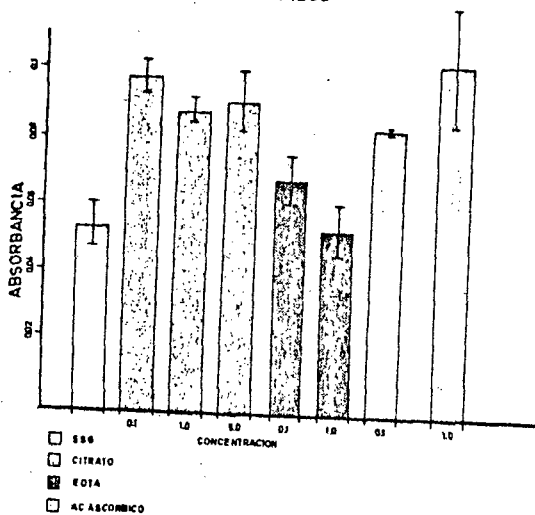


FIG. 1

RECUPERACION DE HIERRO A PARTIR DE TORTILLA DE MAIZ

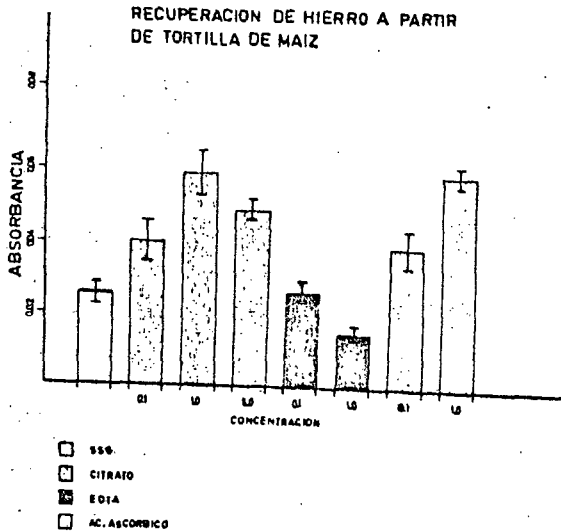


FIG. 2

PROCESO PARA EXTRACCION DE
HIERRO EN ALIMENTOS

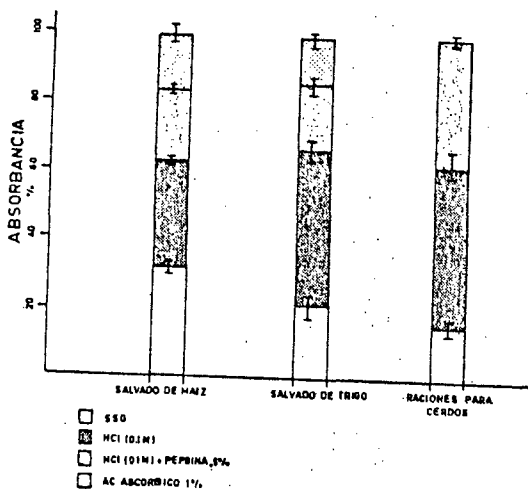


FIG . 3

T A B L A I

CONCENTRACIONES TOTALES DE HIERRO EN P. P. M.
PARA LA TORTILLA, SALVADO DE MAIZ Y TRIGO,
RACIONES PARA CERDOS.

	HIERRO P.P.M.
TORTILLA	70
SALVADO DE TRIGO	129
SALVADO DE MAIZ	378
RACION 12% PROTEINA	433
RACION 14% PROTEINA	447
RACION 16% PROTEINA	761

DISCUSION Y CONCLUSIONES .

Los datos obtenidos indican que el hierro presente en los salvados de maiz y trigo, es difícil de eluir, por lo cual fue necesario estudiar su recuperación en 4 etapas, empleando: (A) soluciones salinas glucosadas, (B) HCl 0.1 M, (C) HCl-pepsina, (D) ácido ascórbico. En las raciones para cerdos el total de hierro se extrajo con los 3 primeros solventes.

En las muestras, la mayor proporción del hierro soluble en soluciones salinas diluidas consistía en fitato monoférrico compuesto que sin duda alguna es el principal componente de esta fracción (A) (16). La fracción (B) incluye un 90% del hierro ligado a los componentes de la fibra de la dieta dado que se ha demostrado que éste se libera casi totalmente al pH del HCl 0.1 M (17). La fracción (C) obviamente representa el hierro que se encuentra combinado con las proteínas susceptibles a la acción enzimática de la pepsina. No se sospechaba de la presencia de otra fracción (D) liberada por el ácido ascórbico. Misma que posiblemente representa el hierro que se encuentra en forma trivalente, ya sea en la forma de hidróxido férrico o en combinación con algún compuesto que no se ha identificado hasta la fecha y que se libera cuando se convierte a la forma ferroso que es más soluble. Leichter y Joslyn (18) liberaron hierro presente en el pan mediante el uso de Hiposulfito de sodio como agente reductor.

Las soluciones de citrato y ascorbato liberan considerablemente más hierro a partir de su combinación con las tortillas y las raciones para cerdos que la solución salina glucosada, dichas dife-

rencias son estadísticamente significativas.

El EDTA libera menos, y con respecto a la solución salina -- glucosada la diferencia no es estadísticamente significativa. La acción del EDTA puede relacionarse con su capacidad para liberar hierro a partir de su combinación con la fibra (17).

El efecto que tuvo la concentración de las soluciones sobre la extracción del hierro fue mínima. Las soluciones preparadas a -- concentraciones de soluto del 1% se comportaron igual que las soluciones al 0.1% aunque, en el caso del EDTA esta última fue mas eficiente. De la misma manera las soluciones de citrato al 5% presentaron menor eficiencia para la extracción del hierro que las soluciones al 1%.

Se ha demostrado que tanto el ascorbato como el EDTA son -- efectivos para promover la absorción del hierro en humanos a partir de dietas las cuales consisten principalmente de cereales y otros -- alimentos de origen vegetal (19-24).

El salvado y algunos otros derivados de los cereales contienen cobalto, cromo y manganeso a concentraciones del mismo orden -- que las concentraciones de hierro. Se especuló sobre posibles inter -- ferencias en la reacción del hierro con la batofenantroleina como -- causante de diferencias ocasionales, sin embargo, ni el cobalto ni el manganeso produjeron color cuando se probaron en las mismas condiciones utilizadas para la determinación de hierro. De la misma ma -- nera se ha demostrado que el cromo no presenta tales reacciones con la batofenantroleina (25). Dado que los objetivos de este estudio -- fueron de comparar la habilidad de varios agentes oxidoreductores -- para liberar el hierro presente en estos alimentos, tal objetivo se

llevó a cabo mediante el cálculo de la proporción de la absorban--
cia total obtenida para cada una de las extracciones; o mediante -
el uso directo de las absorbancias cuando se llevaron a cabo compa
raciones sencillas.

Finalmente sugerimos este esquema de elución de hierro cu
do se requiera precisar el contenido del mismo en otros alimentos.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- J.B. Neilands: Chemistry of Iron in Biological Systems; in Metal Ions in Biological Systems. Studies of Some Biochemical and Envioremental.
- 2.- Gregory R. Choppin y Bernard Jaffe. 1968. Química Ciencia de la Materia, La Energía y el Cambio.
- 3.- Jacobs A. and Worwood M. 1974. Iron in Biochemistry and Medicine editado por Academic Press London and New York.
- 4.- Harper A. Harold. 1978. Manual de Química Fisiológica. Sexta Edición. Editor El Manual Moderno S.A.
- 5.- Lee, K. and F.M. Clydesdale. 1979. Quantitive determination of the elemental, ferrous, ferric, soluble and complexed iron in - foods. J. Food Sci. 94;594.
- 6.- Ruiz Martínez Carlos. 1971. Problemas de Enfermedades Nutricionales XIX. Congreso Mundial de Veterinaria. Sección 5, Tópico 6.
- 7.- Erich Kolb. 1976. Fisiología Veterinaria. Tercera Edición. Editor Acribia. pp. 148;149.
- 8.- Oberleas, D'M.E. Munher, and B.L O'dell. 1966. Dietary metal -- complexing agents and zinc availability in the rat. J.Nutr.90;56.
- 9.- Reinhold, J.G., Ismail-Beigi, and B. Faradji. 1975. Fibervs phytateas determinant of the availability of calcium, zinc and -- iron of breadsuffs. Nutr. Rep. Int. 12;75.
- 10.- Thompson S.A. Weber, C.W; Poultry Scie. 1981,60,840.
- 11.- Van Soest, P.J.1973. Colaborative study of acid detergent fiber and lignin J.A.O.A.C. 56, 781.
- 12.- Maynard, Lossli, Hintz, Warner. 1979. Animal Nutrition. Seventh Edition Mc. Graw-Hill. pp. 29,30.

- 13.- Henry, J; J. Richard, C. Donald Cannon and W. James Winkelman. 1974. Clinical Principles and Techniques. Second edition. Harper and Row pp. 681-684.
- 14.- Gravioto, R.O., Anderson, R.K. Lochhart E.E., Nuranda, F.P. -- Harris, R.S.-R.S. 1945 Nutritive value of the Mexican tortilla- Science 102, 91, 93.
- 15.- García-López J.S. 1981. Iron availability from corn tortilla - and cooked beans; a Study of the effect of fiber. Thesis. Oregon State University, Corvallis Ore. 97331.
- 16.- Morris, E.R., R. Ellis, P. Steele, and P. Moser 1980. Inorga-- nic Nutrient balance of humans consuming whole wheat bran vs - dephytenized wheat bran. Fed. Proc. 39:787.
- 17.- Reinhold J.G., García López J.S. and Garzón, P. Binding of -- iron by fiber of wheat and Maize. Ame. J. Clin. Nutr. 34. 1981.
- 18.- Leichter, J. and Joslyn, M.A. 1967. State of iron in dough and bread. Cereal Chem. 44, 346-352.
- 19.- Larysse. M. 1975. Dietary iron absorption, en Kief. H. Editor- Iron Metabolism and its disorders Excerpta. Med. pp. 25-33 Ame- rican Elsevier Co. New York.
- 20.- Sayer S., M.H., Lynch, S.R, Charlton, R.W., Borwell T.H., Wal- ker R.B., Mayet. F. 1974. Iron absorption from rice meal coo-- ked with fortified salt containing ferrous sulfate and ascor-- bic acid. Br. J. Nutr, 31, 367-375.
- 21.- Larysse M., Martínez-Torres, C. Fe (III) EDTA complexes as -- iron fortification. Am. J. Clin. Nutr. 30, 1166-1174. 1977.
- 22.- Bjorn-Rasmussen, E. and Hallberg, L. 1974. Iron absorption -- from maize supplemented with ferous sulfate. Nutr. Metab.16;94-100

- 23.- Derman d., Sayer, M. Lynch, S.R., Charlton. R.W., Bothwell T.-
H. 1977. Iron absorption from cereal based meal containing ca-
ne sugar fortified with ascorbic acid. Br. J. Nutr. 38, 261-269.
- 24.- Mac Phail, A.P. Bothwell, T.H. Torrance, J.D. Derman D.P. Bewa
da W.R. Charlton, R.W. and Mayet, F. 1981. Factors affecting -
absorption of iron from Fe (III) EDTA. Br. J. Nutr. 45 215-227.
- 25.- Faraji, B., Reihold J.G. and abadi P. 1981 Human studies of --
iron absorption from fiber-rich Iranian flat breads. Nutr. --
Rep. Int. 23. 269-278.