



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales
Maestría en Nutrición Humana



EVALUACIÓN DE LA ABSORCIÓN DE HIERRO DE PLÁTANO EN HUMANOS
USANDO ISÓTOPOS ESTABLES

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

Maestro en Nutrición Humana

Presenta:

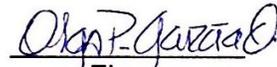
L.N. Mara Martínez Monterrosas

Dirigido por:

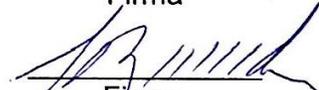
Dra. Olga Patricia García Obregón

SINODALES

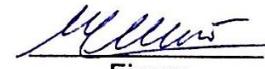
Dra. Olga Patricia García Obregón
Presidente


Firma

Dr. Jorge Luis Rosado Loria
Secretario


Firma

MC. María del Carmen Caamaño Pérez
Vocal


Firma

Dra. Miriam Aracely Anaya Loyola
Suplente


Firma

Dra. Karina de la Torre Carbot
Suplente


Firma


Dra. Margarita Teresa de Jesús García Gasca
Director de la Facultad


Dr. Irineo Torres Pacheco
Director de Investigación y Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Octubre, 2013
México

RESUMEN

La deficiencia de hierro y anemia son un problema de salud pública que afecta al 24.8% de la población mundial. El plátano es regularmente consumido en muchos países, donde la prevalencia de deficiencia de hierro es alta. Por lo que el plátano podría ser un vehículo potencial para aumentar el consumo de hierro a través de su fortificación. El efecto de la matriz de plátano sobre la absorción de hierro no se conoce. El objetivo de este trabajo fue determinar la absorción fraccional y la cantidad absorbida de hierro de plátano tabasco crudo y macho cocido con y sin hierro adicionado usando isótopos estables. Participaron 60 mujeres mexicanas de una comunidad rural de Querétaro, quienes dieron su consentimiento por escrito. Únicamente 59 mujeres concluyeron el estudio. Las mujeres fueron asignadas al azar a 1 de 4 grupos: 1) 480g de plátano tabasco crudo por 6 días (N=15), 2) 360 g de plátano tabasco crudo adicionado con 2 mg de FeSO_4 encapsulado/100 g por 2 días (N=15), 3) 500 g de plátano macho cocido por 4 días (N=14) y 4) 360 g de plátano macho cocido adicionado con 2 mg de FeSO_4 encapsulado/100 g por 2 días (N=15). Las mujeres consumían la comida marcada extrínsecamente todos los días durante el desayuno y no podían consumir ningún otro alimento durante 3 horas. La absorción de hierro se midió después de consumir el plátano extrínsecamente marcado con 2mg de ^{58}Fe y una dosis de referencia de 6mg de ^{57}Fe , usando ICP-MS. Se tomó una muestra de sangre para la determinación de hemoglobina, ferritina y proteína C-reactiva. El contenido de hierro y fitato fue analizado en todos los tipos de plátano. El porcentaje de absorción de hierro no fue diferente entre plátano macho cocido con y sin hierro adicionado ($p < 0.055$). El porcentaje de absorción de plátano tabasco crudo adicionado con hierro fue significativamente menor en comparación con el plátano sin hierro adicionado ($p < 0.001$). A pesar de que hubo diferencias de la concentración de ferritina entre grupos, se realizó un ANOVA para ajustar por esta variable y determinar si tuvo influencia en la absorción de hierro; los valores promedios estimados fueron similares a los análisis sin ajuste. La cantidad total de hierro absorbido de plátano tabasco y plátano macho aumento 2 veces y 5 veces, respectivamente, cuando el hierro es añadido al plátano ($p < 0.001$). La absorción de hierro en el plátano macho cocido con y sin hierro adicionado fue significativamente mayor comprado con el plátano tabasco crudo. Por lo tanto, la matriz de plátano puede ser usada como un vehículo potencial para la modificación genética para aumentar el contenido de hierro. Estudios futuros son necesarios para describir cómo la cocción de los plátanos aumenta la absorción de hierro y para determinar la absorción de las líneas de plátano modificadas genéticamente aumentando su contenido de hierro y evaluar la eficacia de esta estrategia para mejorar el estado de hierro en poblaciones con una alta prevalencia de deficiencia de hierro.

(Palabras clave: Absorción, hierro y plátano.)

SUMMARY

Iron deficiency and anaemia are a public health problem that affects the 24.8 % of the world population. The banana is regularly consumed in many countries around the world, where the prevalence of iron deficiency is high. So the banana could be a potential vehicle for increasing iron intake through its fortification. The effect of banana matrix on the iron absorption is not known. The objective of this study was to evaluate iron absorption from raw and cooked banana with and without added iron using stable isotopes. Sixty Mexican women from a rural community of Querétaro participate and gave their writing consent. Only 59 women completed the study. The women were randomly assigned to 1 of 4 groups: 1) 480 g of raw banana for 6 days (N = 15), 2) 360 g of raw banana added with 2 mg of encapsulated FeSO₄/100 g for 2 days (N = 15), 3) 500 g of cooked banana for 4 days (N = 14) and 4) 360 g of cooked banana added with 2 mg of encapsulated FeSO₄/100 g for 2 days (N = 15). Daily during breakfast women consumed banana extrinsically labeled and could not eat any other food for 3 hours. Iron absorption was measured using ICP-MS after extrinsically labeling with 2 mg of ⁵⁸Fe and a reference dose of 6 mg of ⁵⁷Fe. A blood sample was taken for the determination of hemoglobin, ferritin, and C-reactive protein. Iron and phytate content was analyzed in all types of banana. Percent of iron absorption was not different from cooked banana with or without added iron. Absorption from raw bananas with added iron was significantly lower than without added iron (p<0.001). Since there was a difference in ferritin concentrations between groups, an ANOVA was done adjusting for baseline ferritin concentrations to determine if ferritin had influence in iron absorption; the results indicated no significant effect of ferritin and the estimated mean values were similar that the unadjusted analyses. Total amount of iron absorbed from raw and cooked banana increased 2-fold and 5-fold, respectively, when iron was added (p< 0.001). Thus, the banana matrix may be used as a potential target for genetic modification to increase iron content. Further research is necessary to describe how cooking bananas increases iron absorption. Further studies are also needed to determine the absorption of modified lines of banana with high iron content, and to evaluate the efficacy of this strategy to improve iron status in populations with a high prevalence of iron deficiency.

Key words: Absorption, iron and bananas

A Dios, mi familia y profesores de la
Facultad de Ciencias Naturales de la UAQ

AGRADECIMIENTOS

A Dios por brindarme la oportunidad y la dicha de la vida, así como los medios necesarios para continuar mi formación académica.

A mis padres y hermano quienes me han apoyado a lo largo de esta etapa de mi vida en la que he tenido que tomar mis propias decisiones, siempre brindándome la fuerza necesaria para continuar en esos momentos donde el ánimo, estrés y cansancio fueron los peores enemigos.

A Enrique por su apoyo emocional durante estos dos años del posgrado. Durante todo este tiempo juntos, sé que no ha sido fácil soportarme en esos momentos de estrés en los que parecía que me iba rendir, pero siempre tuviste una palabra de aliento y apoyo para mí.

A mis profesores que depositaron su confianza y esperanza en mí desde el momento en que fui aceptada en el programa de posgrado.

A mi director de tesis y sinodales quienes me han brindado su sabiduría, orientación y apoyo incondicional.

A mis compañeros y algunos ahora amigos que me apoyaron a escribir y concluir esta tesis.

Por último pero no menos importante a HarvestPlus, CONACYT y la UAQ por su apoyo económico para poder realizar todo este trabajo.

ÍNDICE

RESUMEN	i
SUMMARY	ii
AGRADECIMIENTOS	iv
ÍNDICE	v
INDICE DE TABLAS.....	viii
INDICE DE FIGURAS	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	2
2.1 Hierro	2
2.1.1 Absorción.....	3
2.1.2. Metabolismo y regulación	4
2.1.3. Funciones	6
2.1.4. Ingestión Recomendada	7
2.2. Deficiencia de hierro	10
2.2.1. Epidemiología	10
2.2.2. Consecuencias	11
2.2.3. Etiología.....	12
2.2.3.1 Incremento del requerimiento.....	12
a) Mujeres en edad reproductiva. Embarazo y lactancia.....	12
b) Crecimiento y desarrollo.....	13
c) Procesos inflamatorios y de Infección	13
2.2.3.2 Biodisponibilidad	13
a) Inhibidores.....	14
b) Potenciadores	16
2.3. Estrategias para disminuir la deficiencia de hierro	17
2.3.1. Suplementación	17
2.3.2. Fortificación.....	18
2.3.3. Modificación genética de los alimentos.....	18
2.4. Plátano	20

2.4.1. Composición química y nutrimental	21
2.4.2. Modificación genética de plátano.....	22
2.5. Isótopos.....	23
2.5.1. Generalidades.....	23
2.5.2. Isótopos estables: método para estudiar absorción de hierro.....	23
III. HIPOTESIS	25
IV. OBJETIVOS	25
4.1 Objetivo general.....	25
4.1.1 Objetivos específicos	25
V. METODOLOGÍA.....	26
5.1. Tamaño de muestra	26
5.2. Proceso de Consentimiento Informado	26
5.2.1 Lineamientos éticos	27
5.3. Población de estudio.....	27
5.4. Diseño de estudio	28
5.5 Procedimientos	29
5.5.1 Evaluación de la dieta.....	29
5.5.2. Preparación de la dieta.....	31
5.5.3. Preparación de isótopos	32
5.6. Intervención.....	33
5.6.1 Intervención tratamiento plátano Tabasco crudo sin y con hierro adicionado	33
5.6.2 Intervención tratamiento plátano Macho cocido sin y con hierro adicionado	35
5.6.3 Administración de isótopos	38
5.6.4. Recolección de dieta.....	39
5.6.5. Recolección de sangre	39
5.7. Técnicas de laboratorio.....	41
5.8. Procesamiento de datos para absorción de hierro.....	42
5.9. Análisis estadístico.....	43
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	44

6.1. Selección de la muestra	44
6.2. Características generales de la muestra	45
6.3. Contenido de hierro y fitato en diferentes tipos de plátano	48
6.4. Absorción de hierro de los diferentes tratamientos	49
VI. CONCLUSIONES	52
VII. LITERATURA CITADA	53

INDICE DE TABLAS

Tabla		Página
1	IDR de hierro para la población mexicana	7
2	Alimentos fuentes de hierro hem	8
3	Alimentos fuentes de hierro no hem y su biodisponibilidad	9
4	Composición química y nutrimental del plátano tabasco y macho	21
5	Cronograma de actividades del grupo de tratamiento con plátano tabasco crudo sin hierro adicionado	34
6	Cronograma de actividades del grupo de tratamiento con plátano tabasco crudo con hierro adicionado	35
7	Cronograma de actividades del grupo de tratamiento con plátano macho sin hierro adicionado	36
8	Cronograma de actividades del grupo de tratamiento con plátano macho con hierro adicionado	37
9	Dosis final de isótopos por persona	38
10	Características generales de los participantes al inicio del estudio	46
11	Principales alimentos fuentes de hierro y frecuencia de consumo	47
12	Contenido de hierro y fitato y relación molar fitato/hierro en los plátanos crudos y cocidos usados en los estudios de absorción	49

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Estructura de la hemoglobina	3
2	Absorción de hierro hem y no hem proveniente de la dieta	4
3	Preferencia afectiva del plátano macho medida por un cuestionario de evaluación sensorial	30
4	Procedimiento para la selección de la población	45
5	Frecuencia de consumo por grupo de alimentos	47
6	Absorción de hierro en mujeres después de consumir plátano tabasco crudo y plátano macho cocido durante el desayuno	51

I. INTRODUCCIÓN

La deficiencia de hierro y la anemia causada por deficiencia de este micronutriente es un problema de salud pública que afecta a cerca del 24.8% de la población mundial, tanto en países desarrollados como en los no desarrollados, siendo los niños y las mujeres en edad reproductiva los grupos más vulnerables (McLean et al., 2009).

Las estrategias propuestas contra la deficiencia de hierro están enfocadas a disminuir la pobreza, mejorar los servicios de salud, mejorar la seguridad alimentaria, aumentar el consumo de hierro, reducir las pérdidas o mejorar la biodisponibilidad del hierro presente en los alimentos (WHO/UNICEF/UNU, 2001). Las acciones dirigidas a aumentar la ingestión de hierro abarcan la suplementación farmacológica, la adición de hierro a alimentos, así como la biofortificación y la orientación alimentaria (Martínez-Salgado et al., 2008).

Se ha visto que la fortificación de alimentos es una estrategia efectiva a largo plazo enfocada a mejorar los niveles de hierro en sangre. Sin embargo, primero es necesaria la elección apropiada del vehículo de fortificación y del fortificante. Algunos programas enfocados a la fortificación de alimentos con compuestos de hierro en algunos países son: las harinas de trigo en la mayor parte de América Latina, en Chile la leche en polvo, en México la harina de maíz así como alimentos complementarios entregados en programas de gobierno (WHO/UNICEF/UNU, 2001).

A pesar de los esfuerzos, la deficiencia de hierro sigue siendo un problema de salud pública, por lo que nuevas estrategias son necesarias. Por lo tanto, una estrategia a nivel mundial que se ha desarrollado es la fortificación de plátano a través de la modificación genética, por considerarse uno de los cuatro cultivos más importantes del mundo, después del arroz, el trigo y el maíz.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Hierro

El hierro es un micronutriente esencial para la vida, no solo por ser indispensable para la respiración humana, sino también por ser un constituyente clave de gran número de enzimas (Nadadur et al., 2008).

En el ser humano el hierro es requerido para la síntesis de las hemoproteínas que, como su nombre indica, poseen el grupo químico “hemo”. Una de las proteínas más importantes de este tipo es la hemoglobina (**Figura 1**) (Baynes, 1996).

En una persona adulta sana, el hierro representa aproximadamente 35 y 45 mg/kg en mujeres y en hombres, respectivamente (Lieu et al. 2001). El mayor contenido de hierro en el cuerpo, cerca del 60-70% está presente en eritrocitos en la forma de hemoglobina. Otro 10% del hierro esencial lo constituyen las mioglobinas, citocromos y otras enzimas que contienen hierro en su estructura. Del 20-30% de hierro excedente es almacenado como ferritina y hemosiderina en hepatocitos y macrófagos del retículo endotelial (Forrelat, Gautier, and Fernández 2000; Nadadur, Srirama, and Mudipalli 2008; Toxqui et al. 2010).

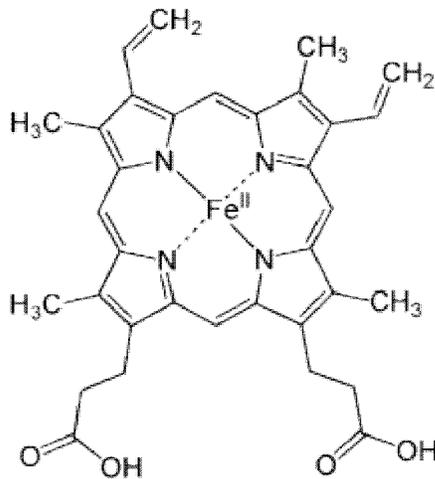


Figura 1. Estructura de la hemoglobina

2.1.1 Absorción

El hierro proveniente de la dieta se encuentra en dos formas básicas, el hierro hem y el no hem. La absorción de ambas formas tiene lugar en la región proximal del intestino delgado y se piensa que su transporte a través de la membrana apical hacia el enterocito ocurre por vías totalmente diferentes (Sharp y Srai, 2007).

El hierro no hem, entra al tracto gastrointestinal principalmente en forma férrica, sin embargo, esta forma no es biodisponible; por lo que antes de ser absorbido, el hierro férrico es reducido a ferroso por la combinación de agentes dietarios reductores y la reductasa férrica de la membrana apical, llamada citocromo duodenal b (Dcytb). Una vez que ha sido reducido, el hierro ferroso resultante es sustrato para el transportador de metales divalente (DMT1) también conocido como transportador de catión divalente (DCT1), el cual junto con el bajo pH ácido presente en la membrana del borde del cepillo estabiliza el hierro ferroso y provee una rica fuente de protones, lo cual es necesario para transportar el hierro de la membrana apical al enterocito (**Figura 2**) (Mackenzie y Garrick, 2005; Sharp y Srai, 2007; Sharp, 2010).

El hierro hem es absorbido por la vía de la proteína importadora de hem (HCP1). El hierro hem es absorbido como una molécula de porfirina intacta y por la acción de una oxigenasa hem, se libera hierro en el pool intracelular común junto con el hierro absorbido por la vía del transportador no hem y bilirrubina que es expulsada de la célula por la acción de ciertas proteínas. Si las reservas de hierro en el organismo son altas, el hierro se almacena en forma de ferritina o es desplazado al pool de hierro lábil (LIP) para ser exportado a la superficie basolateral del enterocito vía ferroportina (IREG1). Posteriormente el hierro es re-oxidada a hierro férrico por acción de la hepaestina para poder ser transportado por la transferrina (**Figura 2**) (Wessling-Resnick, 2006; Sharp, 2010).

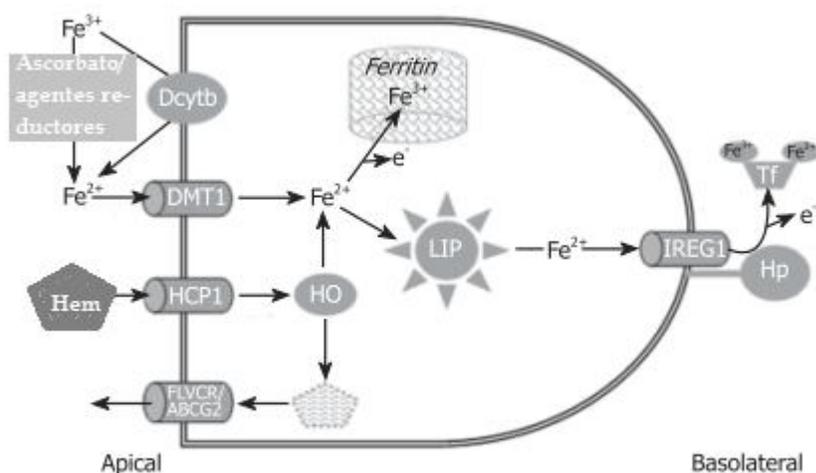


Figura 2. Absorción de hierro hem y no hem proveniente de la dieta.

Dcytb: citocromo duodenal b, DMT1: transportador de metales divalente, HCP1: proteína importadora de hem, HO: hemo oxigenasa, LIP: pool de hierro lábil, IREG1: ferroportina, Hp: hepcidina y Tf: transferrina.

Adaptado de: (Sharp y Srai, 2007)

2.1.2. Metabolismo y regulación

Una vez que el hierro atraviesa la pared basolateral del enterocito, se une a la transferrina. La transferrina es una proteína sintetizada por el hígado y la cual sirve de transporte para el hierro a través del plasma y así esté disponible para

todas las células corporales que lo requieren. Si la transferrina está saturada, el exceso de hierro no se podrá unir a ésta, por lo cual se almacenará dentro de la célula en forma de gránulos de ferritina o hemosiderina en el sistema retículo endotelial del hígado, el bazo (Forrelet et al., 2000; Toxqui et al., 2010).

El hígado tiene el papel más importante en la regulación del metabolismo del hierro para lograr su homeostasis. Esta regulación se da a nivel de absorción y utilización, a través de la hormona hepática hepcidina. Se ha visto que la deficiencia de hierro en ratas disminuye la expresión de hepcidina, estimulando la absorción intestinal de hierro y al mismo tiempo aumentando la expresión duodenal de DMT1 (Ganz y Nemeth, 2006).

La participación de la hepcidina en el metabolismo de hierro se propuso tras observar en modelos de ratones que la síntesis de esta hormona es inducida por el hierro proveniente de la dieta, sugiriendo que es un regulador negativo de la función de la ferroportina (IREG1). Se sabe que la hepcidina es secretada al torrente sanguíneo donde actúa sistemáticamente para unirse a IREG1. Por lo tanto, la hepcidina regula el transporte de hierro por transferrina. Cuando las reservas de hierro son adecuadas o altas, el hígado produce hepcidina la cual viaja hacia el intestino delgado donde provoca que la ferroportina sea internalizada, bloqueando la única vía para la transferencia de hierro de los enterocitos hacia el plasma. Cuando las reservas son bajas, se suprime la producción de hepcidina, por lo que las moléculas de ferroportina están presentes en la membrana basolateral del enterocito y por lo tanto podrán transportar hierro del citoplasma del enterocito hacia la transferrina del plasma (Ganz y Nemeth, 2006; Muñoz et al., 2009).

Bajo condiciones fisiológicas, la expresión de hepcidina en el hígado se regula por un grupo de proteínas que son expresadas en los hepatocitos. Además, su expresión se puede regular por factores relacionados con infección e inflamación (Ganz y Nemeth, 2006).

2.1.3. Funciones

Más que otro mineral, el hierro es un elemento clave en el metabolismo de todos los organismos vivos (Fairbanks 1998). El hierro puede existir en diversos estados de oxidación que van de -2 a +6. Sin embargo, en los sistemas biológicos estos estados de oxidación se limitan principalmente al estado ferroso (+2), férrico (+3) y ferril (+4). La capacidad oxidativa del hierro permite la transferencia de electrones para formar y deshacer enlaces teniendo mayor afinidad por átomos de oxígeno, nitrógeno y azufre, participando de esta manera en un gran número de reacciones bioquímicas. Estas reacciones pueden agruparse en tres tipos: transporte y almacenamiento de oxígeno, transferencia de electrones y oxidación y reducción de sustratos (Beard, 2001).

El transporte de oxígeno es una de las principales funciones del hierro. El hierro forma parte del grupo heme, el cuál es el sitio de absorción de oxígeno por parte de la hemoglobina y la mioglobina, proporcionando los medios para transportar oxígeno a los tejidos y dentro de las células musculares (Fairbanks 1998; Beard 2001).

La función mitocondrial es crucialmente dependiente de un adecuado suministro de hierro. El ejemplo más representativo de una función mitocondrial dependiente de hierro es el transporte de electrones en la cadena respiratoria (Gille and Reichmann 2011), ya que se encuentra formando parte de 6 proteínas con sitios heme activos y 6 proteínas con hierro y sulfuro (Conrad y Umbreit, 2000).

Por otro parte, el hierro es necesario para la mielinización de la médula espinal y el cerebro y es cofactor de numerosas enzimas participantes en la síntesis de neurotransmisores y del ADN. Asimismo es indispensable para la

eritropoyesis, está relacionado con la replicación celular, la acción de algunas hormonas y participa en el sistema inmune (Beard, 2001).

2.1.4. Ingestión Recomendada

Para la población mexicana, la ingesta diaria recomendada (IDR) de hierro se enlista en la **Tabla 1**.

Tabla 1. IDR de hierro para la población mexicana

Grupo de edad	Hierro (mg)
Niños	
0-6 meses	SI
7-12 meses	16
1-3 años	13
4-8 años	15
Hombres	
9-13 años	20
14-18 años	22
19-30 años	15
31-50 años	15
51-70 años	15
>70 años	15
Mujeres	
9-13 años	16
14-18 años	22
19-30 años	21
31-50 años	21
51-70 años	12
>70 años	12
Embarazadas	28
Lactantes	19

SI: sin información suficiente para dar una Ingesta Diaria Sugerida
Fuente: (Dommarco et al., 2004)

Las mejores fuentes de hierro son las carnes (res, cerdo, vísceras, pescado y pollo), debido a que contienen cantidades relativamente altas de hierro hem, el cual, como ya se mencionó, tiene una biodisponibilidad elevada. Existen alimentos que contienen alto contenido de hierro no hem, como son los cereales, leguminosas, algunas oleaginosas y frutos secos. La **Tabla 2** muestra los

alimentos rico en hierro hem y su contenido; en la **Tabla 3** se muestran algunos alimentos seleccionados de acuerdo con su hierro no hem y su biodisponibilidad según la razón molar Fe/fitatos (Dommarco et al., 2004).

Tabla 2. Alimentos fuentes de hierro hem

Contenido en 100g	Alimento
Alto >3 mg	Vísceras: hígado (cerdo, res, pollo), pulmón, riñón Carne seca de res Armadillo, acociles Mariscos: almeja, ostión, camarón seco
Medio 1.2 a 3 mg	Lengua de res Pescado: mojarra Molleja de pollo Iguana, conejo, venado Ternera
Bajo <1.2 mg	Pescado: atún Pescado seco: charal, bacalao Carne de res: filete aguayón, falda, cecina, sesos Pato

Fuente: (Dommarco et al., 2004)

Tabla 3. Alimentos fuentes de hierro no hem y su biodisponibilidad

Contenido en 100g	Alimento
Alto >7 mg	<p>ALTA BIODISPONIBILIDAD Hojuelas de maíz Queso de tuna Chiles secos: ancho, morita, pasilla, chipotle, mulato, guajillo</p> <p>BAJA BIODISPONIBILIDAD Cereales adicionados listos para comer (altos en fibra), salvado de trigo Soya, frijol blanco, frijol ojo de liebre, alubia Ajonjolí, semilla de calabaza</p>
Medio 3 a 7 mg	<p>ALTA BIODISPONIBILIDAD Amaranto, pasta de trigo adicionada con espinacas o huevo Yema de huevo Semilla de girasol Romeritos, perejil, guaje verde, quelite, ejote, berro Lenteja, garbanzo</p> <p>BAJA BIODISPONIBILIDAD Germen de trigo Frijol azufrado, bayo, negro, haba seca Avellana, cacahuete</p>
Bajo <3 mg	<p>ALTA BIODISPONIBILIDAD Pan de trigo (dulce y salado) Hojas de chaya, flor de calabaza, flor de colorín, papaloquelite, bledos, poro, huaunzontle Nanche, capulin, zapote borracho Leche fresca de vaca, queso maduro y queso fresco</p> <p>BAJA BIODISPONIBILIDAD Arroz, pasta de trigo no adicionada, tortilla Nuez de castilla</p>

Biodisponibilidad de hierro según razón molar Fe/fitatos

Alta biodisponibilidad: alta razón molar Fe/fitatos <10.

Baja biodisponibilidad: baja razón molar Fe/fitatos ≥10.

Fuente: (Dommarco et al. 2004)

2.2. Deficiencia de hierro

La deficiencia de hierro se define como la condición en la cual las reservas de hierro son nulas y por lo tanto el suministro de hierro a los tejidos, incluyendo los eritrocitos se ve comprometido. La progresión de un adecuado balance de hierro a una deficiencia de hierro, se ha definido en 3 estados. El primer estado consiste en una disminución de las reservas de hierro, principalmente caracterizado por una reducción de la concentración de ferritina, lo cual se refleja en una declinación de las reservas de hierro de hígado, bazo y médula ósea, existe una reducción en la velocidad normal de la eritropoyesis; debido a que el hierro funcional es normal, no se define esta etapa como deficiencia de hierro. En el segundo estado, el hierro no es suficiente para combinarse con protoporfirina y formar el grupo heme, también se observa una reducción en el transporte de hierro manifestado por una disminución en la concentración de hierro y ferritina, y aumenta la concentración de receptores de transferrina; este estado ya se define como deficiencia de hierro, sin anemia. La anemia representa el estado final y más severo, caracterizado por la ausencia de hierro funcional que se manifiesta como anemia microcítica hipocrómica, el transporte de hierro se reduce por lo que la síntesis de hemoglobina no se realiza adecuadamente (Cook and Finch 1979; Dallman 1986).

2.2.1. Epidemiología

Las consecuencias de las deficiencias de micronutrientes son una importante carga para el sector salud (The World Bank, 2006). De acuerdo a las últimas estimaciones de la Organización Mundial de la Salud, la prevalencia mundial de anemia es de aproximadamente 24.8%, siendo los niños preescolares los más afectados en un 47.4%. En mujeres embarazadas y no embarazadas, la prevalencia es de 41.8 y 30.2% respectivamente (McLean et al., 2009).

En México, la prevalencia de anemia se ha reducido en forma importante en los últimos años. De acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición del

2012 (ENSANUT 2012), la prevalencia nacional de anemia disminuyó de 26.8 a 23.3 % en niños preescolares. En zonas rurales, la prevalencia disminuyó de 29.5% a 25.4% en el mismo grupo de edad. En niños escolares (5 a 11 años de edad) la prevalencia es de 10.1 % y de 11.8 % para mujeres en edad reproductiva (Gutiérrez et al., 2012).

La prevalencia de la deficiencia de hierro considerada por niveles de ferritina en suero es del 26% en niños menores de 5 años y del 13 % en niños de 5 a 11 años, siendo los niños de zonas rurales los más afectados (Shamah-Levy et al., 2012). En mujeres adultas no embarazadas y embarazadas, la prevalencia de deficiencia de hierro es aproximadamente del 40.5 y 52 %, respectivamente (Rivera-Dommarco et al., 2001).

2.2.2. Consecuencias

Las manifestaciones clínicas más comunes por la deficiencia de hierro incluyen la esclera azul, glositis, estomatitis angular, koilinoquia, pica y anemia por deficiencia de hierro, principalmente (Beard, 2001).

Dentro de las consecuencias funcionales principales, la deficiencia de hierro afecta el desarrollo cognitivo, la conducta y el crecimiento físico de niños preescolares y escolares (Lozoff, 2007). Asimismo, la respuesta inmune disminuye por lo que existe un aumento en la morbilidad por infecciones, en todos los grupos de edad (WHO/UNICEF/UNU 2001). Existe evidencia que sugiere que el hierro es un componente fundamental para el desarrollo normal del sistema inmune. Es necesario para la proliferación de células inmunes, especialmente los linfocitos, asociados con la generación de la respuesta específica a infección (Ekiz et al. 2005). La capacidad física y el rendimiento físico se ven disminuidos en adolescentes y adultos. Se ha observado una relación causal entre la deficiencia de hierro y la disminución de la capacidad física de trabajo. El posible mecanismo de este efecto es la reducción en el transporte de oxígeno asociado con la anemia; la deficiencia de hierro en el tejido probablemente juega un rol al reducir la

capacidad celular oxidativa (Haas y Brownlie, 2001). Durante el embarazo, la deficiencia de hierro aumenta la mortalidad y morbilidad materna (Allen, 1997); la mortalidad y morbilidad fetal también se ve incrementada, así como el riesgo de bajo peso al nacer (Allen, 2000).

2.2.3. Etiología

El aumento en los requerimientos, el bajo consumo y la biodisponibilidad de hierro son los principales factores que pueden desarrollar la deficiencia de hierro y/o anemia.

2.2.3.1 Incremento del requerimiento

Es necesaria la ingesta diaria de hierro para remplazar las pérdidas a través de heces, orina y la piel. Las mujeres en edad reproductiva, principalmente mujeres embarazadas; los niños preescolares y escolares tienen mayor riesgo de desarrollar deficiencia de hierro y anemia, ya que sus requerimientos se ven aumentados.

a) Mujeres en edad reproductiva. Embarazo y lactancia

Para mujeres en edad reproductiva es necesario que se tome en cuenta la pérdida de hierro durante la menstruación. Durante el embarazo, los requerimientos no son uniformes (McMahon 2010). Es necesario hierro adicional para cubrir el aumento de la masa de hemoglobina asociada con el aumento del volumen de sangre y para cubrir los depósitos de hierro en los tejidos fetales y placentarios (DeMaeyer et al. 1990; L. H. Allen 1997). El máximo aumento del volumen sanguíneo se da alrededor de la semana 20-25 de gestación y la mayor absorción de hierro por parte del feto ocurre después de la semana 30 (L. H. Allen 1997).

Los requerimientos adicionales de hierro durante la lactancia se establecen a partir de la cantidad de hierro secretado en la leche humana. Se supone que la menstruación se restablece después de 6 meses de lactancia exclusiva; así que además de la secreción de hierro en la leche debe considerarse la pérdida de hierro en la sangre menstrual en la estimación del requerimiento (DeMaeyer et al. 1990; WHO/UNICEF/UNU 2001).

b) Crecimiento y desarrollo

Se considera la incorporación de hierro en tejidos durante el crecimiento para todos los infantes, niños y púberes de 7 meses hasta 18 años de edad. La incorporación de hierro durante el crecimiento puede determinarse por el aumento en la masa de hemoglobina y el crecimiento de los tejidos. Es deseable que las reservas corporales de hierro aumenten al principio de la niñez para contribuir a mantener un estado de hierro adecuado durante el crecimiento (DeMaeyer et al. 1990; WHO/UNICEF/UNU 2001).

c) Procesos inflamatorios y de Infección

Los requerimientos de hierro también se pueden ver aumentados en casos de sangrado crónico debido a infecciones por parásitos causando infecciones recurrentes y por lo tanto pérdida de hierro a través de las heces (DeMaeyer et al. 1990).

2.2.3.2 Biodisponibilidad

La biodisponibilidad de hierro corresponde a la proporción de hierro que es absorbida y utilizada con propósitos estructurales o funcionales. La biodisponibilidad dependerá principalmente de factores relacionados con la alimentación como lo es el efecto de inhibidores y potenciadores de su absorción en los cuales nos enfocaremos y los relacionados con el huésped como lo es el

estado fisiológico, el estado nutricional de hierro y otros micronutrientes, la presencia de procesos inflamatorios o infecciosos (Amaro and Martos 2004; Hunt 2005).

Rosado et al. (1992), evaluaron la disponibilidad de diversos nutrientes, entre ellos hierro, de 2 dietas mexicanas, una representativa del área rural y otra del área urbana. En este estudio, el consumo de hierro fue mayor en la dieta rural comparado con la urbana, pero la absorción aparente fue mayor en la urbana (35 %) en comparación con la rural (17 %), lo que sugiere que la biodisponibilidad de hierro de la dieta rural es menor que la urbana. Asimismo, Rivera-Domarco et al. (2001) publicaron en la Encuesta Nacional de Nutrición una estimación de la biodisponibilidad de hierro en la dieta de la población mexicana, el cual supone que la reserva corporal de hierro es de 0-25 mg y toma en cuenta el efecto de factores promotores e inhibidores sobre la absorción de hierro. Se encontró que la biodisponibilidad se encuentra alrededor de 5% en los grupos de población de preescolares, escolares y mujeres incluidos en la encuesta. Es decir, la biodisponibilidad de hierro de la dieta mexicana es muy baja.

a) *Inhibidores*

En dietas basadas en vegetales, se ha observado que el principal inhibidor de la absorción de hierro es el fitato. Al tener una carga altamente negativa, el ácido fítico actúa como quelante de iones minerales. El hierro se adhiere con facilidad a los fitatos formando complejos insolubles que no pueden ser digeridos por el intestino humano y por lo tanto su absorción se ve limitada (Minihane and Rimbach 2002). El efecto negativo del fitato sobre la absorción de hierro se ha observado a concentraciones relativamente bajas de 2-10 mg/comida (R. Hurrell and Egli 2010). En un estudio se evaluó la influencia de polifenoles y ácido fítico presentes en frijoles encontrando que la absorción de hierro disminuye en presencia de estos compuestos (Petry et al. 2010).

En el caso de los polifenoles la inhibición de la absorción de hierro se debe a la formación de compuestos insolubles (Binaghi et al. 2008; R. Hurrell and Egli 2010). Se ha observado que el efecto inhibitorio de estos compuestos depende del tipo y la cantidad presente en el alimento (R. F. Hurrell, Reddy, and Cook 1999; Amaro and Martos 2004).

Se ha sugerido que el contenido de algunas fibras influye en la absorción de minerales. Muchas de estas fibras son polisacáridos indigeribles y aun los polisacáridos digestibles, como el de arroz y maíz, probablemente inhiben la absorción de hierro hasta cierto punto (Hallberg et al. 1978). Gillooly et al. (1984), evaluaron el rol de la fibra de cereales en la absorción del hierro no hem, observando que ciertos componentes de la fibra dietaria contribuyen a una pobre biodisponibilidad de hierro en comidas a base de sorgo y, de los constituyentes de los compuestos de fibra estudiados, únicamente la lignina y hemicelulosa mostraron un efecto inhibitorio.

Se ha observado que el calcio tiene un efecto inhibitorio sobre la absorción de hierro hem y no hem. Se ha propuesto que la inhibición se da a nivel apical y de la membrana basolateral de los enterocitos. Estudios muestran que el calcio puede actuar como un inhibidor competitivo del DMT1, lo que limita la absorción de hierro (R. Hurrell and Egli 2010). Adicionalmente, se observó que una exposición de calcio a células intestinales Caco-2 a concentraciones similares a las dietarias, causa una internalización del DMT1 y por consecuencia una reducida expresión de este en la membrana (Sharp 2010).

Las proteínas de origen animal como la proveniente de la leche, huevo y albúmina muestran un efecto inhibitorio sobre la absorción de hierro (R. F. Hurrell et al. 1988; R. F. Hurrell et al. 1989). La proteína proveniente del frijol de soya también a mostrado tener un efecto inhibitorio, atribuyendo esto a la presencia de fitatos en este alimento, sin embargo en un estudio tras una completa degradación de fitatos la absorción de hierro se sigue viendo inhibida lo que sugiere que la

misma proteína de soya actúa como inhibidor (Hallberg and Rossander 1984; R. Hurrell and Egli 2010).

b) Potenciadores

El efecto inhibitorio de todos los inhibidores puede ser contrarrestado por la acción del ácido ascórbico. Diversos estudios han mostrado el efecto potenciador del ácido ascórbico en la absorción de hierro no hem, debido a la reducción de hierro férrico a ferroso y al potencial para evitar la quelación del hierro (R. Hurrell and Egli 2010). (Diaz et al. 2003) encontraron un aumento en la absorción de hierro, tras el consumo de 25 mg de ácido ascórbico junto con 2 comidas típicas mexicanas.

Se ha demostrado que la carne de res, puerco, pollo y pescado han mostrado tener un efecto potenciador sobre la absorción de hierro en dietas basadas en vegetales (Gillooly et al. 1984). Los primeros autores en reportar que la carne tenía un efecto sobre la absorción de hierro, observaron que el músculo e hígado de ternera, así como el pescado aumentaba un 150% la absorción del hierro no hem en humanos que consumieron una dieta a base de frijoles negros y maíz (Layrisse et al. 1968; Martinez and Layrisse 1970, 1971). Björn-Rasmussen y Hallberg (1979), reportaron que la adición de pollo, carne de res o pescado en una comida a base de maíz incrementa 2-3 veces la absorción de hierro no hem comparado con la misma cantidad de proteína adicionada y proveniente de albúmina de huevo.

Se ha considerado que el consumir 30 g de tejido muscular es equivalente al consumo de 25 mg de ácido ascórbico para potenciar la absorción de hierro no hem (R. Hurrell and Egli 2010). Baech et al. (2003), demostraron que pequeñas cantidades de carne de puerco (≥ 50 g) aumenta significativamente la absorción de hierro no hem de comidas ricas en fitatos y bajas en vitamina C.

2.3. Estrategias para disminuir la deficiencia de hierro

Existen diversas estrategias que se han empleado a nivel internacional para la prevención y control de esta deficiencia. Las estrategias diseñadas para el control de las deficiencias de micronutrientes han sido parte esencial del esfuerzo para combatir el hambre y la malnutrición. Las políticas y programas incluyen estrategias basadas en aumentar la ingestión de hierro, a través de la suplementación, fortificación, biofortificación y/o la orientación alimentaria y aquellas enfocadas a la mejora en los servicios de salud y seguridad alimentaria (WHO/UNICEF/UNU 2001; Martínez-Salgado et al. 2008).

2.3.1. Suplementación

La suplementación consiste en proveer dosis relativamente grandes de micronutrientes, por lo general en forma de pastillas, cápsulas o jarabes. Tiene la ventaja de ser capaz de suministrar una cantidad óptima de un nutriente concreto o de nutrientes, en una forma altamente absorbible, y es a menudo la manera más rápida para controlar la deficiencia en individuos o grupos de población que han sido identificados como deficientes. La suplementación por lo general requiere la adquisición y compra de micronutrientes en un costo relativamente alto, y también es necesario un sistema de distribución eficaz y un alto grado de cumplimiento de consumo. La falta de suministros y el consumo no sostenido de estos programas de suplementación, han sido los principales obstáculos reportado para el éxito de la estrategia (WHO/UNICEF/UNU 2001).

En los países en desarrollo, los programas de suplementación han sido ampliamente utilizados para proporcionar hierro y ácido fólico a las mujeres embarazadas. En México, un ejemplo es el del programa federal de gobierno Oportunidades, el cual proporciona un suplemento alimenticio (papilla) para niños de 6-23 meses de edad. Sin embargo, una evaluación del impacto del suplemento en crecimiento, anemia, morbilidad y función cognitiva de niños entre 12-24

meses, no encontró beneficios después de 6 meses de suplementación en ninguna de las variables estudiadas, incluyendo la anemia (Rosado et al. 2011).

2.3.2. Fortificación

La fortificación de alimentos se refiere a la adición de micronutrientes a alimentos procesados. En muchos casos, esta estrategia conduce a mejoras relativamente rápidas del estado de nutrición de la población y a un costo muy razonable, sobre todo si se puede aprovechar la tecnología existente y las redes locales de distribución del país. Un requisito indispensable para la fortificación es que el alimento enriquecido debe ser consumido en cantidades adecuadas, por una gran proporción de los individuos de la población a la que va dirigida. También es necesario que la selección del fortificante se base en el precio, su biodisponibilidad y efecto en las propiedades sensoriales del alimento (L. Allen et al. 2006; Martínez-Salgado et al. 2008).

Las harinas de trigo y maíz nixtamalizado, el arroz, la sal, el azúcar, así como otros condimentos son algunos de los productos que han sido fortificados en diversos países. Actualmente en México la fortificación con hierro es obligatoria utilizando como vehículo la harina de maíz y trigo (NOM-247-SSA1-2008).

2.3.3. Modificación genética de los alimentos

A pesar de los progresos del pasado en el control de las deficiencias de micronutrientes a través de la dieta, la suplementación y fortificación de alimentos, se necesitan nuevos enfoques para ampliar el alcance de las intervenciones basadas en los alimentos y contribuir al desarrollo sostenible de las poblaciones y la mitigación de deficiencias de micronutrientes (Pfeiffer and McClafferty 2007).

Dado que la deficiencia de hierro tiene mayor prevalencia en países en desarrollo, donde la biodisponibilidad de este nutriente es baja, algunas

organizaciones no gubernamentales (ONG's) con participación a nivel mundial han decidido implementar estrategias para lograr la cosecha de alimentos básicos modificados genéticamente con mayor contenido de ciertos micronutrientes que el original. HarvestPlus es una de éstas y tiene como objetivo corregir el problema de deficiencia de algunas vitaminas y minerales, entre estos el hierro, con estrategias de modificación genética que incrementen el contenido de micronutrientes en cereales, leguminosas y actualmente el plátano que constituyen principales fuentes de alimentos para gran cantidad de países (Harvest Plus 2004).

La modificación genética de plantas para mejorar el contenido de elementos traza de los cultivos tradicionales y/o la mejora de la biodisponibilidad de estos, es una estrategia complementaria a las existentes en poblaciones que consuman dichos cultivos y que posiblemente mejorará su nutrición. La modificación genética se puede lograr mediante dos enfoques totalmente diferentes (Lonnerdal 2003). El primero, mediante el uso de la reproducción convencional y técnicas de selección, donde cultivos con el más alto contenido de elementos traza, la mayor concentración de los potenciadores de su biodisponibilidad y/o el contenido más bajo de inhibidores de su absorción pueden ser producidos en líneas estables (Glenn 2002; Nestel et al. 2006). En segundo plano, técnicas de ingeniería genética pueden usarse para crear nuevos cultivos con las propiedades deseadas (Harvest Plus 2004). Éstos enfoques abarcan la inserción de nuevos genes, el mejoramiento de la expresión de genes ya presentes pero en baja expresión, y la depresión de la expresión de genes o la ruptura de vías envueltas en la síntesis de inhibidores de la absorción de elementos traza (Lonnerdal 2003).

Un ejemplo claro del uso de la modificación genética es el arroz, el cual es un cultivo importante en el mundo; sin embargo, es una fuente pobre de micronutrientes esenciales como la vitamina A y el folato. El "Golden Rice", es una variedad de arroz genéticamente modificado que contiene 37 $\mu\text{g/g}$ de carotenos del cuál 31 $\mu\text{g/g}$ es β -caroteno (Paine et al. 2005). La biofortificación de

arroz se ha utilizado también para aumentar el contenido de folato en donde se sobreexpresaron dos genes para la biosíntesis de folato, obteniendo de 100 g de granos de arroz pulido, lo que representa hasta cuatro veces del requerimiento diario de folato para un adulto (Sergei et al. 2007).

2.4. Plátano

Plátano es el término común utilizado para las plantas herbáceas del género *Musa* de la familia Musaceae. Es considerado uno de los cultivos más importante en la agricultura, dentro de las frutas ocupa el primer lugar. Es producido en gran cantidad en áreas tropicales y subtropicales, según la FAO es el cuarto cultivo más importante a nivel mundial, después del arroz, trigo y maíz (Zhang et al. 2005).

De acuerdo con la FAO, la producción mundial de plátano para el 2011 fue de 38,901,406 toneladas, siendo el principal país productor Uganda para este mismo año (FAO 2013a).

En México, los principales estados productores se agrupan en tres regiones: Golfo de México (Tabasco, Veracruz y Oaxaca), Pacífico (Chiapas) y Pacífico Centro (Colima, Michoacán, Jalisco, Guerrero y Nayarit), cuya producción rebasa 1,964,545 toneladas al año, de las cuales 95% se destinan al consumo nacional (García et al. 2009).

El consumo per cápita de plátano en nuestro país, fue de 15.9 kg para el año 2009, siendo la segunda fruta de consumo después de las naranjas y mandarinas (FAO 2013b).

Podemos considerar dos tipos de plátanos, los plátanos para cocción y los de postre o dulce, que generalmente se comen crudos o frescos. En México, el término “plátano” se usa indistintamente, pero en otros países se denomina

“banano” a los que se consumen como fruta cruda o fresca, y “plátano” a los que se cocinan (Arias et al. 2004).

2.4.1. Composición química y nutrimental

3La composición aproximada del plátano tabasco crudo y plátano macho cocido se muestra en la siguiente tabla (**Tabla 4**).

Tabla 4. Composición química y nutrimental del plátano tabasco crudo y plátano macho cocido

Nutrimento (unidades)	Plátano tabasco crudo (100g)	Plátano macho cocido (100g)
Agua (g)	74.91	67.30
Energía (Kcal)	89	116
Proteína (g)	1.09	0.79
Grasas (g)	0.33	0.18
Ceniza (g)	0.82	0.58
Carbohidratos (g)	22.84	31.15
Fibra dietaria total (g)	2.6	2.3
Azúcares totales (g)	12.23	14.00
Almidón (g)	5.38	SI
Hierro (mg)	0.26	0.58

SI: sin información suficiente.
Adaptado de: USDA, 2011.

Durante el periodo de maduración hay cambios en la apariencia, textura y composición del plátano. La coloración de la cáscara va de verde a amarilla. Existe una migración de agua de la cáscara a la pulpa. El cambio bioquímico más relevante que ocurre durante la maduración del plátano es la conversión de almidón en azúcares simples (Adao and Glória 2005). El almidón es el principal componente de los plátanos verdes, y sufre importantes cambios durante la madurez. El contenido de almidón varía de acuerdo a la etapa de maduración en la que se encuentre el plátano, pudiendo encontrar hasta un 80 % en el periodo

pre-climatérico y descendiendo hasta un 1% en el periodo climatérico (Zhang et al. 2005).

Es bien sabido que una parte del almidón consumido no puede ser digerida por el intestino delgado de humanos sanos, este almidón se conoce como almidón resistente. Se conocen cuatro tipos de almidón resistente: el tipo I se define como almidón físicamente inaccesible; el tipo II es el almidón granular que podemos encontrar en la papa cruda; el tipo III es almidón retrogradado, que surge después de un tratamiento hidrotérmico y el tipo IV es un almidón modificado químicamente. La generación de almidón resistente tras un tratamiento hidrotérmico se debe principalmente a la interacción creciente entre los polímeros del almidón. El almidón del plátano contiene largas cadenas de amilopectina por lo cual podemos clasificarlo del tipo II (Lehmann, Jacobasch, and Schmiidl 2002).

2.4.2. Modificación genética de plátano

Los plátanos son cultivos con una alta vulnerabilidad a plagas y enfermedades producidas por hongos, virus y/o bacterias, lo que daña seriamente la producción de estos cultivos. A través de las tecnologías de transformación genética se han logrado producir variedades resistentes a estos organismos (Atkinson et al. 2003; Arvanitoyannis et al. 2008).

Debido a que la deficiencia de vitamina A y la anemia ferropénica son los principales problemas de salud pública en países donde el cultivo alimentario básico es el plátano, se ha propuesto la modificación genética de dichos cultivos para aumentar el contenido de provitamina A y hierro ya que la suplementación, la fortificación de alimentos y la diversificación de la dieta, son estrategias poco sustentables a largo plazo y de impacto limitado en países en desarrollo. Investigadores de la Universidad Tecnológica de Queensland (QUT), Australia, en colaboración con la Organización Nacional de Investigación Agrícola (NARO) están trabajando para hacer frente a este problema, a través de la generación de

variedades de plátano con un aumento significativo de los niveles de pro-vitamina A y hierro en la fruta utilizando técnicas de ingeniería genética (QUT 2010).

2.5. Isótopos

Un isótopo es uno, dos o más especies de átomos de un elemento químico con el mismo número atómico y posición en la tabla periódica y casi idéntica función química pero con diferentes masas atómicas y propiedades físicas (Wong and Abrams 2003).

2.5.1. Generalidades

El término isótopo se introdujo en 1913 por el químico inglés Frederick Soddy. Los isótopos estables a diferencia de los radioactivos no causan radioactividad y los podemos encontrar en la naturaleza (Wong and Abrams 2003).

El hierro posee cuatro isótopos estables (^{54}Fe , ^{56}Fe , ^{57}Fe y ^{58}Fe), dos de los cuales tienen una abundancia natural lo suficientemente bajo como para ser utilizado como marcadores en la medición de la absorción; ^{57}Fe (22 g/kg total de hierro) y ^{58}Fe (2.8 g/kg total de hierro) (Kastenmayer et al. 1994).

2.5.2. Isótopos estables: método para estudiar absorción de hierro

Los isótopos estables pueden ser utilizados en diversas investigaciones nutricionales que se refieran a la absorción, utilización y retención de nutrimentos. La principal ventaja de los isótopos estables es la capacidad de poder utilizar en poblaciones, tales como las mujeres embarazadas, lactantes y niños en los que la exposición a la radiación ionizante sería inaceptable (Patterson and Veillon 2001).

La absorción de un elemento se puede estimar mediante la determinación de la fracción absorbida de un isótopo o isótopos administrados como trazador en

una muestra biológica. Dependiendo del método utilizado para determinar el valor de la absorción, se puede determinar la absorción aparente o fraccional. La absorción aparente se define como la absorción determinada a partir de un solo marcador de un elemento, y la fraccional se calcula a partir de la proporción de dos isótopos diferentes (J. Griffin 2002).

Los isótopos pueden ser añadidos a una comida de prueba de forma extrínseca o intrínseca. En el marcaje extrínseco, el isótopo estable es adicionado directamente dentro o mezclado con la comida de prueba a estudiar. En el marcaje intrínseco, el isótopo estable es incorporado al alimento durante el proceso de crecimiento para poder producir un alimento marcado similar en la mayor medida posible al alimento nativo (International Atomic Energy Agency 2012).

III. HIPOTESIS

La absorción de hierro será mayor en las mujeres que hayan consumido el plátano crudo o cocido adicionado con hierro.

IV. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar la absorción de hierro de plátano Tabasco crudo y plátano Macho cocido en humanos usando isótopos estables.

4.1.1 Objetivos específicos

1. Determinar la absorción fraccional y cantidad de hierro absorbido del plátano Tabasco y Macho sin hierro adicionado.
2. Determinar la absorción fraccional y cantidad de hierro absorbido del plátano Tabasco y Macho adicionado con hierro.
3. Determinar el efecto del contenido de fitatos en plátano crudo y cocido y su efecto en la absorción de hierro.

V. METODOLOGÍA

5.1. Tamaño de muestra

El tamaño de la muestra se calculó para detectar una diferencia biológica en la absorción fraccional de hierro de 0.1, una desviación estándar de 0.08, con un error alfa de 0.05, una potencia de 90 %, también se incluyó una pérdida potencial de los sujetos del 10%. Con estas premisas se incluyó a 15 mujeres en cada grupo, con un total de 60.

5.2. Proceso de Consentimiento Informado

Primeramente se dio a conocer detalladamente a las candidatas a participar en qué consistía el estudio, incluyendo las responsabilidades de éstas, así como los riesgos y beneficios de participar en el mismo.

La descripción inicial de la investigación se llevó a cabo en la casa del DIF (Sistema para el Desarrollo Integral de la Familia) de Fuentezuelas. Al término de ésta cada persona tuvo el tiempo suficiente y la oportunidad de expresar alguna(s) duda(s), misma(s) que le fue(ron) resuelta(s).

Se pidió a las posibles participantes que explicaran el estudio con sus propias palabras para evaluar la comprensión que tuvieron éstas sobre el propósito del estudio, los requisitos y cualquier riesgo y/o beneficio por participar. Cada vez que éstas mostraron falta de comprensión sobre algún punto, el grupo de colaboradores de este estudio lo aclaró. Una vez que se logró la total comprensión y las candidatas tuvieron tiempo suficiente para considerar y discutir el estudio, les fue leída la Carta de Consentimiento Informado, para posteriormente ser firmada en caso de aceptar la participación, y se entregó una copia del documento. La carta original se conserva con el archivo de estudio de cada participante, bajo la debida seguridad en las oficinas de la UAQ. Cada

participante tuvo asignado un número de identificación (ID) y en toda la información y muestras recolectados se utilizó para personalizarlas.

5.2.1 Lineamientos éticos

El estudio fue aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro. De cada participante se obtuvo firma de la Carta de Consentimiento Informado de acuerdo a los lineamientos éticos del comité mencionado.

5.3. Población de estudio

Se realizó una invitación abierta a participar en el estudio a todas las mujeres residentes de la comunidad rural Fuentezuelas, ubicada en el municipio de Tequisquiapan, en el Estado de Querétaro, donde nuestro grupo de investigación ha estado trabajando durante los últimos 10 años. Esta comunidad está localizada aproximadamente a una hora de distancia de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Para elegir a las participantes del estudio se hizo una invitación abierta a mujeres adultas de la comunidad y éstas fueron citadas en la casa del DIF de Fuentezuelas, dentro de un horario establecido, para recibir por parte del Coordinador en Campo la información pertinente acerca del estudio, así como conocer los criterios de inclusión, exclusión y eliminación. A continuación se enlistan los mismos:

→ *Criterios de inclusión:*

1. Mujeres sanas.
2. Edad entre 18 y 45 años al inicio del estudio.
3. Haber accedido a participar y dar por escrito su consentimiento.
4. Consumo regular de plátano Tabasco y/o plátano Macho.

→ *Criterios de exclusión:*

1. Embarazadas o en periodo de lactancia.
2. Bajo tratamiento farmacológico (excepto anticonceptivos orales).
3. Bajo suplementación de vitaminas y/o nutrientes inorgánicos, principalmente hierro, 3 meses antes del estudio.
4. Deficientes de hierro (ferritina <12 mg/L).
5. Cualquier enfermedad crónica, como hipertensión o diabetes.
6. Cualquier enfermedad gastrointestinal, como gastritis o úlcera.
7. Presencia de diarrea o algún otro síndrome de malabsorción referido.
8. Presencia de cualquier tipo de infección (proteína C-reactiva (CRP) > 3 mg/L).
9. Un Índice de Masa Corporal (IMC) >30 kg/m² (obesidad)
10. No aceptar participar en el estudio.

→ *Criterios de eliminación:*

1. Presentar algún malestar gastrointestinal secundario al tratamiento del estudio
2. Desertar del estudio

5.4. Diseño de estudio

Es un estudio experimental y aleatorizado en donde participaron 60 mujeres divididas en cuatro tratamientos diferentes para evaluar la absorción de hierro de distintos tipos de plátano utilizando isotopos estables.

Los cuatro tratamientos disponibles fueron:

- Tratamiento 1. Plátano tabasco crudo sin hierro adicionado (n=15).
- Tratamiento 2. Plátano tabasco crudo adicionado con hierro (n=15).
- Tratamiento 3. Plátano macho cocido sin hierro adicionado (n=15).
- Tratamiento 4. Plátano macho cocido adicionado con hierro (n=15).

5.5 Procedimientos

5.5.1 Evaluación de la dieta

La evaluación de la dieta consistió en la elección del proceso de preparación del plátano macho cocido seguido de una evaluación sensorial y finalmente una evaluación del proceso de fortificación.

a) Preparación del plátano macho cocido

La preparación del plátano macho cocido se basó en el procedimiento tradicional para preparar *matooke* en Uganda. El método tradicional consiste en pelar los plátanos, cortar por la mitad y envolverlos en hojas de plátano. Posteriormente se colocan dentro de una vaporera y someten a cocción a fuego lento durante 45 minutos. Una vez pasado el tiempo y el plátano está lo suficientemente suave, se retiran las hojas de plátano y se bate el plátano hasta obtener un puré.

b) Prueba de Evaluación sensorial: preferencia afectiva

Se llevó a cabo un análisis sensorial con la finalidad de evaluar la preferencia en relación con el estado de madurez del plátano macho. Se prepararon 2 purés: uno que incluía plátanos extremadamente maduros y otro únicamente con maduros. Se aplicó un cuestionario de evaluación sensorial para determinar la preferencia afectiva. En este cuestionario, la reacción subjetiva de los plátanos cocidos se mide por la preferencia, aceptabilidad y gusto. Se consideraron 5 factores para la evaluación: color olor, sabor, textura y apariencia general. La escala iba de 1 a 5, siendo 1 la menor calificación. Se incluyó una pregunta de preferencia entre ambas muestras así como los comentarios adicionales.

El plátano macho cocido con la mayor preferencia fue el preparado con plátano maduro, aunque no hubo diferencias significativas con respecto a los otros

cinco factores evaluados en comparación con los plátanos extremadamente maduros (**Figura 3**).

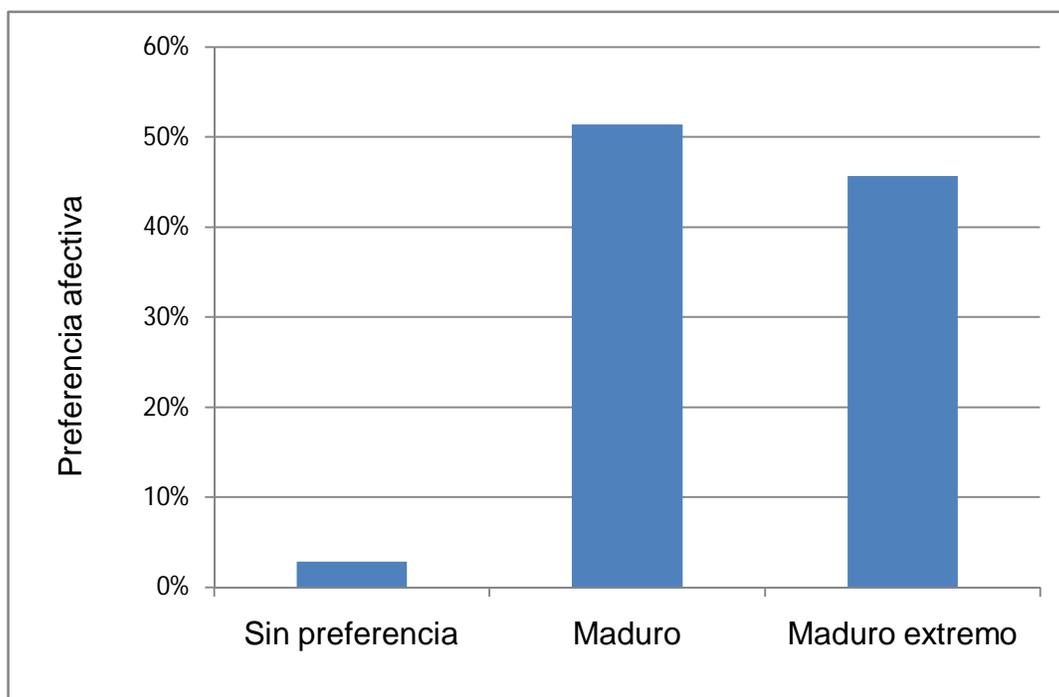


Figura 3. Preferencia afectiva del plátano macho medida por un cuestionario de evaluación sensorial (%) (N=70)

c) Elección del tipo de hierro a adicionar

Se probaron cuatro tipos diferentes de fortificante para evaluar el fortificante de hierro que tuviera los menores efectos negativos en los diferentes tipos de plátano. Los fortificantes usados fueron:

1) Sulfato ferroso microencapsulado (Dr. Paul Lohmann GmbH KG, Emmertal, Germany; 16% Fe).

2) Sulfato ferroso (Supreem Pharmaceuticals Mysore Pvt. Ltd, Nanjangud, India; 50% Fe).

3) Sulfato ferroso (Crown Technology Inc, Indiana, USA; 32% Fe).

4) Fumarato ferroso (Polydrug Laboratories, Mumbai, India; 32% Fe).

La cantidad de fortificante adicionado vario de acuerdo al tipo de fortificante. Todos los fortificantes fueron mezclados con maltodextrina hasta obtener 2 mg y fue espolvoreado a una muestra de 360 g de plátano tabasco crudo y a 360 g de plátano macho cocido.

El fortificante de hierro elegido para adicionar a los plátanos fue el sulfato ferroso microencapsulado debido a la estabilidad que mostró al provocar cambios mínimos en el vehículo. La cantidad a adicionar a ambos tipos de plátano fue 0.35 g de hierro mezclado con maltodextrina hasta llegar a 2 mg de hierro por cada 100 g de plátano.

5.5.2. Preparación de la dieta

La dieta que se proporcionó a las participantes fue preparada día con día por el equipo de trabajo. Para los tratamientos con plátano tabasco, únicamente se pelaron y pesaron los plátanos, colocándose en platos desechables. Para el grupo de plátano tabasco adicionado con hierro, adicionalmente al proceso anterior se agregaron 2 mg de hierro por cada 100 g de plátano, haciendo un corte a lo largo del plátano y espolvoreando el hierro dentro de este.

Para los tratamientos con plátano macho posterior a la preparación del puré (matooke), se pesó colocándose en platos desechables. Para el grupo de plátano macho adicionado con hierro, adicionalmente al proceso anterior se agregaron 2mg de hierro por cada 100 g de plátano, espolvoreando el sulfato ferroso sobre el puré.

Para el tratamiento de plátano Tabasco y Macho sin hierro adicionado se pesaron y sirvieron 480 y 500 g, respectivamente a cada una de los participantes. Para el tratamiento de plátano Tabasco y Macho adicionado con hierro se pesaron y sirvieron 360 g a cada una de las participantes. La cantidad de plátano a

consumir se definió de acuerdo al promedio de consumo diario del país con mayor consumo per cápita de plátano.

Todos los alimentos fueron preparados por los miembros del equipo de trabajo y siguiendo las prácticas de higiene para el manejo de alimentos de la Norma Oficial Mexicana (NOM-251-SSA1-2009).

5.5.3. Preparación de isótopos

Los isótopos de hierro ^{57}Fe y ^{58}Fe con una pureza isotópica de 95.6% y 93.13% respectivamente, se obtuvieron en la forma de metal de Trace Sciences International. Ambas formas de hierro metal fueron convertidas a sulfato ferroso. El isótopo ^{58}Fe se disolvió a temperatura ambiente en 5 mL de 7 mol/L HNO_3 y 21 mL de 0.5 mol/L H_2SO_4 , y fue secado descubierto a 120°C en una mufla por 1 hora, posteriormente a 230°C por 30 min y a 500°C por 30 min. El polvo fue reconstituido en 40.5 mL de 0.2 mol/L H_2SO_4 . La solución de sulfato ferroso obtenida se llevó a un volumen final de 335 mL y una concentración de 0.5 mg/mL, lo cual se verificó en un espectrómetro de absorción atómica (Perkin-Elmer, Norwalk CT). Finalmente la solución de sulfato ferroso fue filtrada a través de un filtro Millex FH-13 (Millipore, New Bedford, MA). El isótopo ^{57}Fe se disolvió en 13 mL de 7 mol/L HNO_3 y 54 mL de 0.5 mol/L H_2SO_4 y secada descubierta a 120°C en una mufla por una hora seguido de 230°C por 30 min y 500°C por 30 min. El polvo obtenido fue reconstituido en 104 mL de 0.2 mol/L H_2SO_4 . La solución de sulfato ferroso obtenida se llevó a un volumen final de 286 mL y una concentración 1.5 mg/mL lo cual se verificó por espectrometría de absorción atómica (Perkin Elmer, Norwalk CT). Finalmente, la solución de sulfato ferroso obtenida fue filtrada a través de un filtro Millex FH-13 (Millipore, New Bedford, MA), Todos los ácidos utilizados para la preparación de las soluciones de isótopos fueron Ultrapure Reagent (Merck, Darmstadt, Germany). Finalmente las soluciones fueron almacenadas a 4°C protegiéndolas de la luz.

5.6. Intervención

Primeramente aquellas mujeres que aceptaron participar en el estudio y firmaron el consentimiento se les citó a lo largo de 3 días. Durante este tiempo las mujeres eran citadas tras un ayuno nocturno, con ropa muy ligera y sin zapatos para tomar el peso (con una báscula electrónica para adulto Seca) y la estatura (con un estadímetro de pared Seca 206); por duplicado y no consecutivamente, por personal entrenado y siguiendo procedimientos estandarizados [Lohman et al., 1988]. Posteriormente aquellas que tuvieran un IMC < 30 kg/m² fueron asignadas al azar a uno de los cuatro grupos disponibles.

Cada semana se trabajó con un grupo de los diferentes tratamientos, el orden en el cual participaron fue determinado de manera aleatoria. Los días que se llevaban actividades de trabajo con cada grupo se numeraron para fines de logística del -1 al 0 y en todos los grupos se realizaron las mismas actividades durante estos días.

El día -1 del estudio (jueves) para cada grupo, se llevó a cabo la primera muestra de sangre después de un ayuno nocturno de 8 horas, la cual nos permitió medir la concentración de hierro, ferritina, proteína C-reactiva y una biometría hemática completa.

El día 0 (viernes) se entregaron los resultados de la muestra de sangre a las señoras y se les aplicó el cuestionario de Escrutinio previamente validado. Aquellas mujeres que cumplieran con los criterios mencionados anteriormente se citaron el lunes próximo para poder iniciar con el tratamiento.

5.6.1 Intervención tratamiento plátano Tabasco crudo sin y con hierro adicionado

Para el tratamiento de plátano Tabasco sin hierro adicionado, por 6 días consecutivos (Día 1 a 6), las mujeres (n=15) consumieron 480 g de plátano y una solución de isótopo oral ^{58}Fe , durante el desayuno. Se les solicitó en todo momento, evitar dejar residuo de alimento y/o solución. Los dos días posteriores (Día 7 y 8), las participantes consumían una dosis de isótopo oral de referencia (^{57}Fe) con ácido ascórbico. Después de 14 días de consumir la segunda dosis de referencia, se tomó la muestra de sangre final (día 23) para medir la incorporación de hierro en eritrocitos (**Tabla 5**).

Tabla 5. Cronograma de actividades del grupo de tratamiento con plátano Tabasco crudo sin hierro adicionado.

ACTIVIDADES	Días del estudio											
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9 – 21	22	
Procedimiento del Estudio												
Muestra de sangre basal (en ayuno)	X											
Antropometría	X											
Consumo de plátano tabasco sin hierro adicionado junto con isótopo oral ^{58}Fe , durante el desayuno		X	X	X	X	X	X					
Consumo de dosis de referencia isótopo oral ^{57}Fe con ácido ascórbico								X	X			
Muestra de sangre final (en ayuno), para medir enriquecimiento en eritrocitos	X											X

En el tratamiento de plátano Tabasco con hierro adicionado, por 2 días consecutivos (Día 1 y 2), las mujeres (n=15) consumían 500 g de plátano y una solución de isótopo oral ^{58}Fe durante el desayuno. Igualmente se les solicitó en todo momento, evitar dejar residuo de alimento y solución. Los siguientes dos días (Día 3 y 4), las participantes consumían una dosis de isótopo oral de referencia (^{57}Fe) con ácido ascórbico. Después de 14 días de consumir la segunda dosis de

referencia, se tomó la muestra de sangre final (día 19) para medir la incorporación de hierro en eritrocitos (**Tabla 6**).

Tabla 6. Cronograma de actividades del grupo del tratamiento con plátano Tabasco crudo con hierro adicionado.

ACTIVIDADES	Días del estudio						
	0	1	2	3	4	5 – 17	18
Procedimiento del Estudio	0	1	2	3	4	5 – 17	18
Muestra de sangre basal (en ayuno)	X						
Antropometría	X						
Consumo de plátano Tabasco adicionado con hierro o plátano Macho adicionado con hierro junto con isótopo oral ⁵⁸ Fe, durante el desayuno		X	X				
Consumo de dosis de referencia isótopo oral ⁵⁷ Fe con ácido ascórbico.				X	X		
Muestra de sangre final (en ayuno), para medir enriquecimiento en eritrocitos	X						X

5.6.2 Intervención tratamiento plátano Macho cocido sin y con hierro adicionado

Para el estudio de plátano Macho sin hierro, durante cuatro días consecutivos (Día 1 a 4), las mujeres (n=15) consumían 500 g de plátano y una solución de isótopo oral ⁵⁸Fe durante el desayuno. Se les solicitó en todo momento evitar dejar residuo de alimento y solución. Los dos días posteriores (Día 5 y 6), las participantes consumían una dosis de isótopo oral ⁵⁷Fe de referencia con ácido ascórbico. Después de 14 días de consumir la segunda dosis de referencia, se tomó la muestra de sangre final (día 21) para medir la incorporación de hierro en eritrocitos (**Tabla 7**).

Tabla 7. Cronograma de actividades del grupo del tratamiento con plátano Macho sin hierro adicionado.

ACTIVIDADES	Días del estudio									
	0	1	2	3	4	5	6	7 – 19	20	
Procedimiento del Estudio	X									
Muestra de sangre basal (en ayuno)	X									
Antropometría	X									
Consumo de plátano Macho sin hierro adicionado junto con isótopo oral ^{58}Fe , durante el desayuno		X	X	X	X					
Consumo de dosis de referencia isótopo oral ^{57}Fe con ácido ascórbico.						X	X			
Muestra de sangre final (en ayuno), para medir enriquecimiento en eritrocitos	X									X

Para el estudio de plátano Macho con hierro adicionado, durante 2 días seguidos (Día 1 y 2), las mujeres (n=15) consumían el tipo de plátano Macho cocido (500 g) y una solución de isótopo oral ^{58}Fe durante el desayuno, se les solicitó en todo momento evitar dejar residuo de alimento. Los siguientes dos días (Día 3 y 4), las participantes consumían una dosis de isótopo oral ^{57}Fe de referencia con ácido ascórbico. Después de 14 días de consumir la segunda dosis de referencia, se tomó la muestra de sangre final (día 19) para medir la incorporación de hierro en eritrocitos (**Tabla 8**).

Tabla 8. Cronograma de actividades del grupo del tratamiento con plátano Macho cocido con hierro adicionado.

ACTIVIDADES	Días del estudio						
	0	1	2	3	4	5 – 17	18
Procedimiento del Estudio	X						
Muestra de sangre basal (en ayuno)	X						
Antropometría	X						
Consumo de plátano Tabasco adicionado con hierro o plátano Macho adicionado con hierro junto con isótopo oral ^{58}Fe , durante el desayuno		X	X				
Consumo de dosis de referencia isótopo oral ^{57}Fe con ácido ascórbico.				X	X		
Muestra de sangre final (en ayuno), para medir enriquecimiento en eritrocitos	X						X

Todos los desayunos siempre se proporcionaron después de un ayuno nocturno y solo por la mañana (9.00 am). En todo momento se les pidió a las participantes que no consumieran ningún otro alimento diferente al proporcionado entre y durante las 3 horas posteriores al consumo del desayuno, y permanecieran durante este tiempo en la casa del DIF, tiempo en el que fueron supervisadas por el personal de campo. Después de las 3 horas de haber consumido las comidas experimentales, se le ofreció a cada participante un almuerzo y durante el resto del día podían consumir su dieta habitual.

Durante las tres horas posteriores al consumo del desayuno, en el primer día las participantes acudieron con un médico para que se les realizara una evaluación general de su estado de salud y se expidiera un certificado médico. Durante los días posteriores se aplicaron los cuestionarios de Frecuencia de Alimentos y Socioeconómico. Igualmente se brindaron talleres de orientación alimentaria y de manualidades

La variabilidad entre los días de intervención de cada tratamiento dependió de la estimación de la cantidad de hierro consumida para que pudiera ser cuantificada la incorporación de hierro en eritrocitos.

5.6.3 Administración de isótopos

Los isotopos mencionados anteriormente se proporcionaron de acuerdo a un procedimiento estándar para marcado extrínseco con isótopos estables de hierro, la administración de estos era por vía oral en una solución acuosa con isótopo estable ^{58}Fe y ^{57}Fe , en cada día de intervención según correspondiera. Los plátanos estuvieron marcados extrínsecamente aproximadamente con 2 mg de ^{58}Fe distribuido en los días que recibieron el plátano y en proporción al contenido intrínseco de hierro. La dosis de referencia fue de aproximadamente 3 mg de ^{57}Fe con 25 mg de ácido ascórbico por día para asegurar la absorción máxima, durante 2 días. La cantidad administrada por isótopo se observa en la **Tabla 9**.

Tabla 9. Dosis final de isótopos por persona

Alimento	mg de ^{58}Fe	# días	mg totales de ^{58}Fe	mg de ^{57}Fe	# Días	mg totales de ^{57}Fe (dosis ref)
Plátano tabasco crudo	0.35	6	2	3	2	6
Plátano tabasco adicionado con hierro	1	2	2	3	2	6
Plátano macho cocido	0.5	4	2	3	2	6
Plátano macho cocido adicionado con hierro	1	2	2	3	2	6

En todos los estudios, a las mujeres se les pidió que consumieran la solución de isótopo oral ^{58}Fe a la mitad del desayuno y bajo supervisión para asegurar el consumo total de la dosis. Los isotopos fueron administrados por el investigador principal del estudio y supervisado por el coordinador de campo. Los

recipientes con la solución de los isotopos se enjuagaron 3 veces con agua libre de minerales, la cual también fue ingerida por las participantes.

El consumo de la solución con el isótopo oral de referencia también fue después de un ayuno nocturno y bajo supervisión para asegurar el consumo total de la dosis. Igualmente los recipientes con la solución de los isotopos de referencia se enjuagaron con agua libre de minerales y también fue ingerida por las participantes.

5.6.4. Recolección de dieta

De cada una de los tratamientos administrados se recolectó muestra por duplicado de la porción de plátano consumida en cada estudio. Esto implicó recolectar las cantidades exactas del plátano que se consumió en cada uno de estos tratamientos.

Las dietas se recolectaron de acuerdo al siguiente procedimiento:

- 1) Tarar el plato en que se serviría a la participante el plátano.
- 2) Agregar la cantidad de plátano y el tipo de plátano dependiendo del tratamiento, hasta obtener la cantidad deseada.
- 3) Al término de cada desayuno, pesar y registrar el peso individual de cualquier porción de alimento no consumida.
- 4) Calcular el peso de cada alimento consumido por la participante a partir de lo siguiente: cantidad de alimento administrado (g) menos el peso de la porción no consumida (g).

5.6.5. Recolección de sangre

Para la toma de sangre a cada participante se tomó una muestra de 10 mL de sangre aproximadamente, por una flebotomista calificada, para medir los

siguientes biomarcadores nutricionales: hierro, proteína C-reactiva, ferritina y biometría hemática.

La sangre se recolectó usando materiales libres de metales para los análisis de isótopos estables de hierro en plasma. La sangre se colocó en tubos de ensayo de polipropileno conteniendo 120 unidades de heparina libre de metales. Los tubos se agitaron varias veces inmediatamente después de la recolección. Después de una hora, la sangre se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos para separar los eritrocitos del plasma. El plasma se transfirió a tubos de almacenamiento libres de metales para el análisis de hierro en plasma. Se adicionaron 6mL de cloruro de sodio 0.9% a los eritrocitos y se mezcló suavemente. Se centrifugaron los eritrocitos nuevamente a 3000 rpm por 10 minutos y el cloruro de sodio 0.9% se desechó. El proceso de lavado con cloruro de sodio 0.9% se repitió una vez más. Una vez lavados los glóbulos rojos, se almacenaron a -20° C hasta su posterior procesamiento y análisis para la medición de la incorporación de eritrocitos ^{58}Fe .

Los tubos con la muestra de sangre se forraron con parafilm y se colocaron en un recipiente con hielo. Treinta minutos después se centrifugaron a 2,000 r.p.m. durante 10 minutos a 4 °C. Se separó el suero o plasma sobrenadante con pipeta Pasteur desechable (libre de minerales) y se colocó en un microtubo para centrifuga debidamente identificado y forrado con papel aluminio. Dado que la toma se realizó fuera de las instalaciones del laboratorio, se colocaron los tubos en una hielera provista de material congelado y se trasladaron al laboratorio en un periodo no mayor a 2 hrs. a partir de la obtención de las muestras. Al llegar al laboratorio se analizó la biometría hemática en sangre y se guardaron las muestras de suero y plasma en ultracongelador a -70 °C hasta el momento en que fueron analizadas, o bien, empacadas de manera convencional para ser transportadas en el momento oportuno al UCHSC.

5.7. Técnicas de laboratorio

Las determinaciones en laboratorio de Fe plasmático, ferritina, CRP, hemoglobina y la biometría hemática se realizaron en el laboratorio de Nutrición Humana, en la Facultad de Ciencias Naturales de la UAQ.

La concentración de hierro en plasma se midió por espectrofotometría (Genesis 20, ThermoSpectronic, ThermoElectronCorp).

La ferritina en suero se cuantificó por turbidimetría por el método de aglutinación de partículas de látex recubiertas con anticuerpos anti-ferritina humana leído por espectrofotometría (Genesis 20, ThermoSpectronic, ThermoElectronCorp), empleando un kit de Biosystems Reagents & Instruments^{MR}, Barcelona, España.

La CRP en suero se cuantificó por turbidimetría leído por espectrofotometría (Genesis 20, ThermoSpectronic, ThermoElectronCorp), empleando un kit de Biosystems Reagents & Instruments^{MR}, Barcelona, España.

La determinación de hemoglobina y el recuento sanguíneo completo se llevó a cabo utilizando un equipo Cell-Dyn (Cell-Dyn 1400 de Abbott, EUA), mediante métodos convencionales, en sangre total.

Los ensayos se realizaron de acuerdo a las instrucciones de los fabricantes con los calibradores y controles adecuados.

El laboratorio de Nutrición Humana sigue los procedimientos de estandarización recomendados por la OMS, incluyendo el uso de calibradores externos.

El análisis de contenido de hierro y fitatos en las muestras de plátano se realizó por duplicado y para cada uno de los tratamientos administrados. El análisis del contenido de hierro en las muestras se realizó en el equipo de Absorción Atómica AAAnalyst 700, Perkin Elmer Instruments, utilizando el estándar de hierro Perkin Elmer Pure N9300126 y una lámpara de cátodo hueco para hierro, marca Perkin Elmer Instruments, N305-0126 (NOM-117-SSA1-1994).

El contenido de fitatos en las muestras de plátano se determinó por espectrofotometría mediante la técnica de Vaintraub y Lapteva (1988) Vaintraub y Latpeaua, 1986, modificado por Gao et al. (2007), donde se extrae el ácido fítico en un medio ácido y posteriormente se forma su sal de sodio para hacerla reaccionar con el reactivo de Wade (Wade: 0.03% de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ + ácido sulfosalicílico 0.3%) y así leer la absorbancia a 500 nm por medio de un espectrofotómetro (Génesis 10 UV).

Las relaciones entre los isótopos en las muestras de sangre se midieron por Espectrometría de Masas de Conductividad Acoplada (ICP –MS por sus siglas en inglés, Inductively Coupled Mass Spectrometry) para calcular la absorción de hierro, tal como se ha descrito anteriormente (Abrams 1999; Chen et al. 2005). La incorporación de hierro a eritrocitos se calculó usando un promedio de volumen de sangre, posteriormente se estima por ecuación la cantidad total de isótopo estable que se ha incorporado a los eritrocitos. La estimación de la absorción de hierro se calculó asumiendo que un 80% del hierro absorbido se incorporó a eritrocitos. La cantidad total de hierro absorbido se calculó multiplicando la absorción fraccional por el contenido de hierro de cada tratamiento

5.8. Procesamiento de datos para absorción de hierro

El procesamiento de datos incluyó cálculos del total de hierro en la dieta experimental (TFD), absorción fraccional de Fe (AFF) y absorción total de Fe (ATF).

La AFF se determinó por una técnica de marcaje extrínseco con isótopos orales, basada en el enriquecimiento de eritrocitos asumiendo que un 90% del hierro absorbido es incorporado a eritrocitos.

La ATF de las comidas experimentales junto con los isótopos administrados, se determinó multiplicando la cantidad conocida de Fe ingerido por la absorción fraccional previamente determinada.

Así, el TFD y la ATF para cada individuo fueron calculados a partir de las siguientes ecuaciones:

- $\text{TFD (mg Fe)} = \text{mg Fe en cada g de dieta experimental} * \text{g de dieta experimental consumida}$
- $\text{ATF (mg Fe)} = \text{TFD (mg Fe)} * \text{AFF (mg Fe)}$

5.9. Análisis estadístico

El análisis estadístico incluyó estadística descriptiva de los sujetos de cada tratamiento. El promedio en el consumo de hierro, la absorción fraccional de hierro y el hierro total absorbido de los diferentes tratamientos se compararon utilizando la prueba T de Student. Fue necesario realizar un ANOVA para ajustar por las concentraciones de ferritina al comparar la absorción de hierro entre grupos y así determinar el efecto de ésta. Las diferencias se consideraron significativas con una $p < 0.05$. Todos los análisis se realizaron utilizando el programa SPSS v18 (SPSS Inc., Chicago, IL).

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Selección de la muestra

Un total de 82 mujeres decidieron participar en el estudio para lo cual se les tomó el peso y talla. De acuerdo al IMC el 15.8% presentaron obesidad por lo que no pudieron ser incluidas en el estudio.

Posteriormente a un total de 69 mujeres resultantes de la primera selección, se les tomó la primera muestra de sangre resultando el 7.2 % con anemia (ferritina <12 mg/L) y el 2.9 % con la proteína C-reactiva elevada (proteína C-reactiva > 3 mg/L), razones por las cuales tuvieron que ser excluidas del estudio.

De las 62 mujeres restantes, 60 fueron seleccionadas aleatoriamente y se incluyeron en el estudio; 15 por cada grupo debido al tamaño de muestra. Todo el procedimiento descrito se resume en la **Figura 4**.

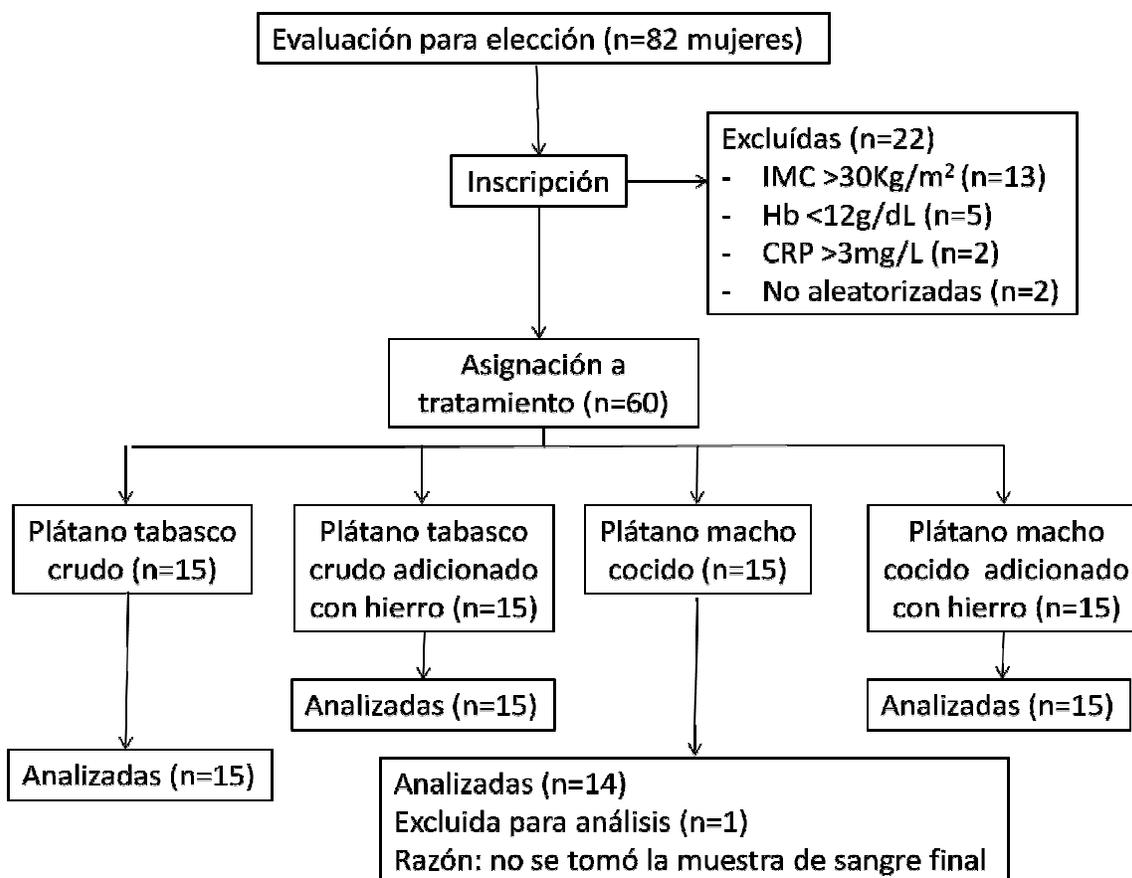


Figura 4. Procedimiento para la selección de la muestra

Únicamente 59 sujetos completaron el estudio y los resultados de estos sujetos fueron incluidos en el análisis. Un sujeto del grupo con tratamiento de plátano macho sin hierro adicionado interrumpió su participación por deserción voluntaria.

6.2. Características generales de la muestra

Las características generales de la población estudiada (n = 59) se describen en el **Tabla 10**.

Tabla 10. Características generales de los participantes al inicio del estudio¹

Características	Plátano macho		Sig*	Plátano tabasco		Sig*
	Sin hierro adicionado	Adicionado con hierro		Sin hierro adicionado	Adicionado con hierro	
N	14	15		15	15	
Edad (años)	35.57 ± 5.50	32.87 ± 6.93	0.190	34.40 ± 7.83	30.87 ± 7.69	0.223
Peso (kg)	61.90 ± 7.62	60.94 ± 5.97	0.830	63.81 ± 5.71	60.66 ± 7.87	0.22
Estatura (cm)	1.54 ± 0.05	1.53 ± 0.06	0.486	1.54 ± 0.03	1.52 ± 0.05	0.252
Índice Masa Corporal (kg/m ²)	26.09 ± 2.98	26.19 ± 2.83	0.778	26.84 ± 2.42	26.01 ± 2.36	0.346
Ferritina (µg/L)	91.55 ± 20.89	73.93 ± 17.59	0.040	70.17 ± 12.88	84.00 ± 20.71	0.036
Hemoglobina (g/dl)	14.60 ± 0.82	14.60 ± 0.82	0.050	14.39 ± 1.23	14.02 ± 0.89	0.358

¹ Valores promedio ± DS

* Significancia estadística por prueba T-student (p<0.05)

Al inicio del estudio, la concentración de hierro y el IMC no fue diferente entre grupos (**Tabla 10**). La concentración de ferritina fue significativamente mayor en el grupo que recibió plátano macho sin hierro adicionado comparado con el grupo que recibió el plátano macho adicionado con hierro (P<0.05). También el grupo que recibió el plátano tabasco adicionado con hierro tuvo significativamente mayores concentraciones de ferritina comparado con el grupo que consumió plátano tabasco sin hierro adicionado.

De acuerdo al IMC se determinó que de la población estudiada, un 1.69 % presentó bajo peso, el 30.51% peso normal y un 67.80 % sobrepeso, lo cual significa que un 69.49% de la población se encontró fuera del peso esperado para su talla.

En cuanto a la alimentación de esta población, su dieta principalmente se basa en alimentos de origen vegetal, siendo los grupos de verduras, cereales y frutas los más consumidos (**Figura 5**). De acuerdo a la ENSANUT 2012, Estos resultados son similares a los de la población mexicana, donde la alimentación de mujeres de 12 a 49 años de edad de la zona rural, se basa principalmente en alimentos que corresponden al grupo de cereales, leguminosas, frutas y verduras.

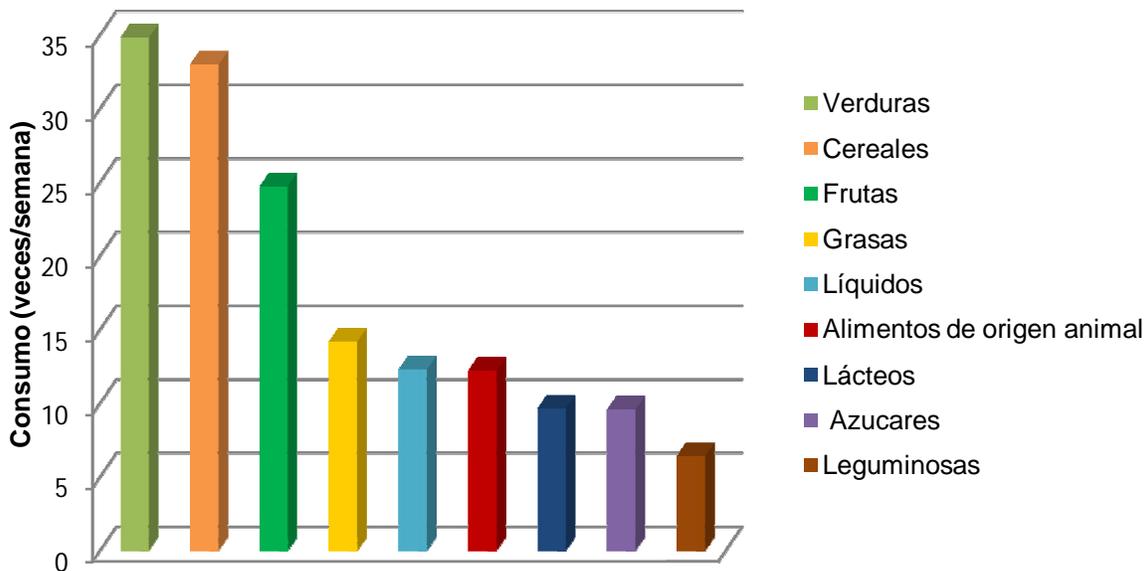


Figura 5. Frecuencia de consumo por grupo de alimentos N=60

En la **Tabla 11** podemos observar los alimentos fuentes de hierro principalmente consumidos en esta población y su frecuencia de consumo.

Tabla 11. Principales alimentos Fuentes de hierro y frecuencia de consumo.

Fuentes de alimento	Frecuencia de consumo (veces/semana)
Tortillas de Maíz	11.4
Frijoles	5.0
Jamón	1.9
Avena	1.8
Carne de res	1.3
Salchicha	1.2
Pollo	1.1
Carne de puerco	0.7
Lentejas	0.6
Verduras de hoja verde (<i>acelga, quelites</i>)	0.5
Pan integral	0.4
Hígado de res	0.3

6.3. Contenido de hierro y fitato en diferentes tipos de plátano

Para los resultados del análisis de hierro y fitato de las diferentes preparaciones de plátanos utilizados en este estudio se muestran en la **Tabla 12**. El contenido de fitato fue similar en todas las muestras de plátano. Hurrell et al. (1992), encontraron un incremento en la absorción de hierro de 4 a 5 veces, cuando la concentración de ácido fítico se reducía a < 0.01 mg/g de proteína de soya aislada, concentraciones de ácido fítico muy similares a las encontradas en el presente estudio. En otro estudio se evaluó la absorción de hierro afectada por fitato de sodio de distintas dietas a base de trigo encontrado un efecto inhibitorio del 18 % a una concentración de 2 mg de fitato de sodio (Hallberg, Brune, and Rossander 1989). La relación molar fitato/hierro puede ser usada para estimar el efecto de éste en la absorción. En las muestras de plátano estudiadas, la relación molar fitato/hierro del plátano no está afectando la absorción de hierro, ya que es $< 0.4:1$. Se ha observado que relaciones molares fitato/hierro $< 1:1$ mejoran la absorción de hierro en dietas basadas en cereales o leguminosas que no contienen potenciadores de la absorción (Tuntawiron et al. 1990; R. Hurrell and Egli 2010). En conclusión, las concentraciones de fitato son bajas en las muestras de plátano estudiadas por lo que podemos asegurar que la absorción de hierro no es afectada por este factor en ninguna de nuestras muestras.

Tabla 12. Contenido de hierro y fitato y relación molar fitato/hierro en los plátanos crudos y cocidos usados en los estudios de absorción.

Alimento	Plátano tabasco crudo	Plátano Tabasco crudo adicionado con hierro	Plátano macho cocido	Plátano macho cocido adicionado con hierro
Fe mg/100 g de plátano*	0.326 ± 0.038	1.925 ± 0.063	0.527 ± 0.015	2.022 ± 0.007
Fitato mg/100 g de plátano*	0.230 ± 0.015	0.230 ± 0.008	0.240 ± 0.008	0.240 ± 0.008
Porción servida (g)	480	360	500	360
Fe mg/por porción	1.564	6.93	2.635	7.279
Fitato mg /por porción	1.104	0.828	1.2	0.864
Relación molar fitato/hierro	0.06	0.01	0.04	0.01

*Promedios ± desviación estándar

La adición de hierro al plátano tabasco aumentó 5 veces el contenido de hierro y 4 veces en el plátano macho en estos tratamientos (**Tabla 12**).

6.4 Absorción de hierro de los diferentes tratamientos

Debido a las diferencias significativas de las concentraciones de ferritina entre grupos, fue necesario realizar un ANOVA para ajustar por esta variable y de esta manera poder determinar si la concentración de ferritina afectó la absorción de hierro. Existe una relación inversamente proporcional entre la absorción de hierro y las concentraciones de ferritina (Cook et al. 1974; Hunt 2003). Los resultados del ANOVA indicaron un efecto no significativo de la ferritina y los valores promedio estimados fueron similares a los de los análisis sin ajustar.

El porcentaje de absorción de hierro del plátano macho cocido sin y con hierro adicionado fue mayor en este último grupo, sin embargo la diferencia no llega a ser significativa. Por otro lado, el porcentaje de absorción de hierro del plátano tabasco crudo adicionado con hierro fue significativamente menor que el plátano tabasco crudo sin hierro adicionado ($p < 0.001$).

El consumo total de hierro de plátano crudo y cocido fue significativamente mayor cuando se agregó hierro a los plátanos ($p < 0.001$). Adicionar hierro a los plátanos cocidos aumento significativamente la cantidad de hierro total absorbida de 0.78 ± 0.28 mg a 4.23 ± 2.09 mg ($p < 0.001$). La cantidad de hierro total absorbido de plátano crudo aumentó también cuando se adicionó el hierro de 0.77 ± 0.33 mg a 1.65 ± 0.86 mg ($p < 0.002$). En general, la absorción de hierro total de los plátanos cocidos fue significativamente mayor cuando se adicionó hierro comparado con los plátanos crudos ($p < 0.001$). **(Figura 6)**.

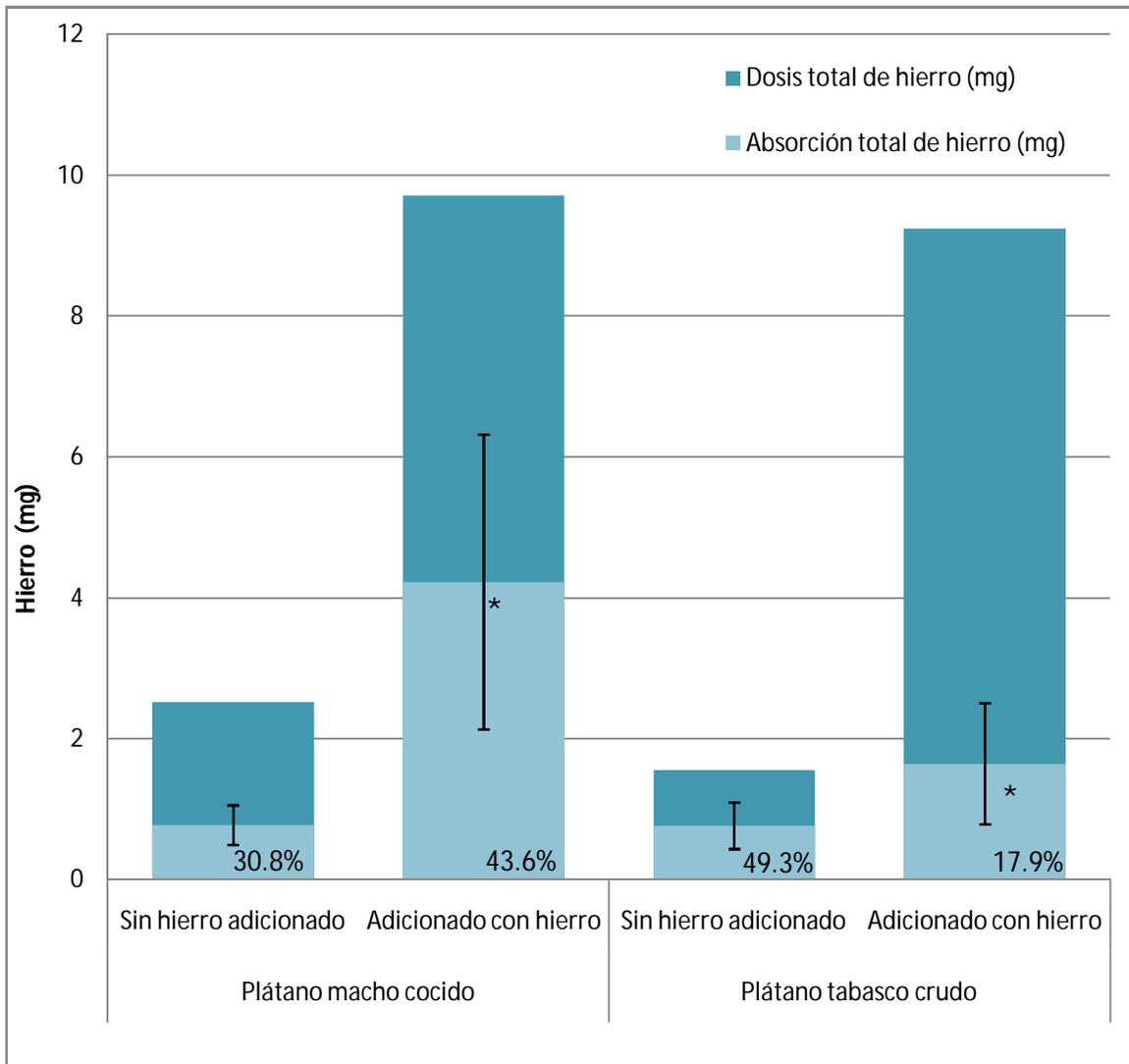


Figura 6. Absorción de hierro en mujeres después de consumir plátano tabasco crudo y plátano macho cocido durante el desayuno¹

¹ Promedios ± DS

* Absorción de hierro significativamente diferente por prueba t-student $p(<0.05)$ contra plátano sin hierro adicionado.

La composición química del plátano varía de acuerdo al grado de maduración. Cuando el plátano verde madura, el almidón es hidrolizado y transformado en sacarosa, glucosa y fructuosa (Ketiku 1973; Marriott, Robinson, and Karikari 1981), los cuales son rápidamente absorbidos en el intestino delgado de humanos sanos (Englyst and Cummings 1986). La disminución en el contenido de almidón puede ser una razón por la cual la absorción de hierro de plátano crudo sin hierro adicionado es alta. Sin embargo, la adición de hierro al plátano

crudo disminuye el porcentaje de absorción, probablemente por el aumento en la cantidad de hierro que limita su absorción. A pesar de esto, la absorción total de hierro es mayor en el plátano adicionado con hierro que sin adicionar.

El proceso de cocinado puede ser un factor importante para la absorción de hierro, ya que se observó una mayor absorción de hierro en el plátano cocido. Bresnahan et al (2012), encontraron que un proceso térmico de cocción de plátano aumenta la absorción de retinol en jerbos mongolianos, sugiriendo la presencia de un compuesto indigerible en el plátano crudo, el cual al someterse a un proceso térmico de cocción mejora la biodisponibilidad de retinol en plátano. Lo anterior sugiere que el proceso de cocción podría estar aumentando la solubilidad y la cantidad de almidón resistente en el plátano cocido y por lo cual la absorción podría ser mayor en comparación con el plátano crudo. El efecto del almidón resistente en la absorción de hierro no es consistente. Se ha observado que el almidón resistente mejora la absorción de minerales en ratas y humanos (Fuentes-Zaragoza et al. 2010). Algunos autores reportan un aumento en la absorción de calcio, magnesio, zinc, hierro y cobre en ratas alimentadas con dietas ricas en almidón resistente (Younes et al. 1995; Lopez et al. 2001). Sin embargo en humanos estos efectos parecen estar limitados a calcio (Trinidad, Wolever, and Thompson 1996; Coudray et al. 1997).

Son necesarios estudios posteriores que confirmen como la madurez y la cocción aumentan la absorción de hierro.

VI. CONCLUSIONES

La absorción total de hierro aumentó cuando se aumenta la cantidad de hierro en plátano crudo y plátano cocido. Sin embargo, la absorción de hierro total es mayor en el grupo que recibió plátano cocido lo cual sugiere que el proceso térmico de cocción mejora la absorción de hierro. Son necesarios estudios

posteriores que permitan conocer y determinar como la cocción del plátano aumenta la absorción de hierro.

La matriz del plátano podría ser un vehículo potencial para la modificación genética y de esta forma contribuir con un mayor aporte de hierro a la dieta.

Es importante mencionar que serán necesarios estudios adicionales para determinar la absorción de hierro de las líneas genéticamente modificadas con alto contenido de hierro, y para evaluar la eficacia de esta estrategia con la finalidad de mejorar el estado de hierro en poblaciones con una alta prevalencia de deficiencia de hierro.

VII. LITERATURA CITADA

- Abrams, Steven A. 1999. "Using Stable Isotopes to Assess Mineral Absorption and Utilization by Children." *The American Journal of Clinical Nutrition* 70 (December): 955–964.
- Adao, Regina C, and M Beatriz A Glória. 2005. "Bioactive Amines and Carbohydrate Changes During Ripening of 'Prata' Banana (*Musa Acuminata* X *M. Balbisiana*)." *Food Chemistry* 90: 705–711.
- Allen, L H. 1997. "Pregnancy and Iron Deficiency: Unresolved Issues." *Nutrition Reviews* 55 (4) (April): 91–101. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9197129>.
- . 2000. "Anemia and Iron Deficiency: Effects on Pregnancy Outcome." *The American Journal of Clinical Nutrition* 71 (May): 1280–1284.
- Allen, Lindsay, Bruno De Benoist, Omar Dary, and Richard Hurrell. 2006. "Guidelines on Food Fortification with Micronutrients". Geneva.
- Amaro, M A López, and F Cámara Martos. 2004. "Iron Availability: An Updated Review." *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 55 (8) (December): 597–606.
- Arias, Pedro, Cora Dankers, Pascal Liu, and Paul Pilkauskas. 2004. "La Economía Mundial Del Banano 1985-2002." *FAO*.
- Arvanitoyannis, Ioannis S., Athanassios G. Mavromatis, Garyfalia Grammatikaki-Avgeli, and Michaela Sakellariou. 2008. "Banana: Cultivars, Biotechnological

Approaches and Genetic Transformation.” *International Journal of Food Science & Technology* 43 (10) (October): 1871–1879.

Atkinson, Howard, James Dale, Robert Harding, Andrew Kiggundu, Karl Kunert, J M Muchwezi, Laszlo Sagi, and Altus Viljoen. 2003. “Genetic Transformation Strategies to Address the Major Constraints to Banana and Plantain Production in Africa”. Montpellier, France.

Baech, Sussi B, Marianne Hansen, Klaus Bukhave, Mikael Jensen, Sven S Sørensen, Lars Kristensen, Peter P Purslow, Leif H Skibsted, and Brittmarie Sandström. 2003. “Nonheme-iron Absorption from a Phytate-rich Meal Is Increased by the Addition of Small Amounts of Pork Meat.” *The American Journal of Clinical Nutrition* 77 (January): 173–9.

Baynes, Roy D. 1996. “Refining the Assessment of Body Iron Status.” *The American Journal of Clinical Nutrition* 64 (November): 793–794.

Beard, John L. 2001. “Iron Biology in Immune Function, Muscle Metabolism and Neuronal Functioning.” *Journal of Nutrition* 131: 568–580.

Binaghi, María J., Carola B. Greco, Laura B. López, Patricia A. Ronayne de Ferrer, and Mirta E. Valencia. 2008. “Biodisponibilidad de Hierro En La Dieta Infantil.” *Archivos Argentinos de Pediatría* 106 (5): 387–389.

Björn-Rasmussen, E, and L Hallberg. 1979. “Effect of Animal Proteins on the Absorption of Food Iron in Man.” *Nutrition and Metabolism* 23 (3): 192–202.

Bresnahan, Kara A, Sara A Arscott, Harjeet Khanna, Geoffrey Arinaitwe, James Dale, Wilberforce Tushemereirwe, Stephanie Mondloch, Jacob P Tanumihardjo, Fabiana F De Moura, and Sherry A Tanumihardjo. 2012. “Cooking Enhances but the Degree of Ripeness Does Not Affect Provitamin A Carotenoid Bioavailability from Bananas in Mongolian Gerbils 1 – 4.” *The Journal of Nutrition* 142 (16): 1–8.

Chen, Zhensheng, Ian J Griffin, Lora M Plumlee, and Steven a Abrams. 2005. “High Resolution Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry Allows Rapid Assessment of Iron Absorption in Infants and Children.” *The Journal of Nutrition* 135 (7) (July): 1790–5.

Conrad, Marcel E, and Jay N Umbreit. 2000. “Iron Absorption and Transport-an Update.” *American Journal of Hematology* 64 (August): 287–98.

Cook, James D, David A. Lipschitz, Laughton E M Miles, and Clement A. Finch. 1974. “Serum Ferritin as a Measure in Normal Subjects.” *American Journal of Clinical Nutrition* 27: 681–687.

- Cook, James D., and Clement A. Finch. 1979. "Assessing Iron Status of a Population." *The American Journal of Clinical Nutrition* 32: 2115–2119.
- Coudray, C, J Bellanger, C Castiglia-Delavaud, C Rémésy, Vermorel M, and Rayssiguier Y. 1997. "Effect of Soluble or Partly Soluble Dietary Fibres Supplementation on Absorption and Balance of Calcium, Magnesium, Iron and Zinc in Healthy Young Men." *European Journal of Clinical Nutrition* 51: 375–380.
- Dallman, Peter R. 1986. "Biochemical Basis for the Manifestations of Iron Deficiency." *Annual Review of Nutrition* 6: 13–40.
- DeMaeyer, E.M., P Dallman, J M Gurney, Leif Hallberg, S K Sood, and S G Srikantia. 1990. "Preventing and Controlling Iron Deficiency Anaemia through Primary Health Care: A Guide for Health Administrators and Programme Managers". Geneva.
- Diaz, Margarita, Jorge L Rosado, Lindsay H Allen, Steve Abrams, and Olga P García. 2003. "The Efficacy of a Local Ascorbic Acid-rich Food in Improving Iron Absorption from Mexican Diets: a Field Study Using Stable Isotopes." *The American Journal of Clinical Nutrition* 78 (September): 436–40.
- Dommarco, Juan Rivera, Christine Hotz, Sonia Rodríguez Ramírez, Armando García Guerra, Ana Beatriz Pérez Expósito, Homero Martínez, and Marco Aurelio González Unzaga. 2004. "Hierro." In *Recomendaciones de Ingestión de Nutrientes Para La Población Mexicana. Bases Fisiológicas*, 247–264. México: Médica Panamericana.
- Ekiz, Ceyda, Leyla Agaoglu, Zeynep Karakas, Nuray Gurel, and Işık Yalcin. 2005. "The Effect of Iron Deficiency Anemia on the Function of the Immune System." *The Hematology Journal* 5 (7) (January): 579–583.
- Englyst, Hans N, and John H Cummings. 1986. "Digestion of the Carbohydrates of Banana (*Musa Paradisiaca Sapientum*) in the Human Small Intestine." *American Journal of Clinical Nutrition* 44 (July): 42–50.
- Fairbanks, Virgil F. 1998. "Iron in Medicine and Nutrition." In *Modern Nutrition in Health and Disease*, edited by Maurice E. Shils, James A. Olson, Moshe Shike, and A. Catharine Ross, 9th ed., 193–222. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins.
- FAO. 2013a. "FAOSTAT Producción."
<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>.
- FAO. 2013b. "FAOSTAT Balances Alimentarios."
http://faostat3.fao.org/home/index_es.html?locale=es#DOWNLOAD.

- Forrelat, Mariela Barrios, Hortensia du Défaix Gómez Gautier, and Norma Delgado Fernández. 2000. "Metabolismo Del Hierro." *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia* 16 (3): 149–160.
- Fuentes-Zaragoza, E., M.J. Riquelme-Navarrete, E. Sánchez-Zapata, and J.a. Pérez-Álvarez. 2010. "Resistant Starch as Functional Ingredient: A Review." *Food Research International* 43 (4) (May): 931–942.
- Ganz, Tomas, and Elizabeta Nemeth. 2006. "Iron Imports. IV. Hepcidin and Regulation of Body Iron Metabolism." *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology* 290: 199–203.
- Gao, Y., C. Shang, M. A. Saghai Maroof, R. M. Biyashev, E. A. Grabau, P. Kwanyuen, J. W. Burton, and G. R. Buss. 2007. "A Modified Colorimetric Method for Phytic Acid Analysis in Soybean." *Crop Science* 47: 1797–1803.
- García, Miguel J. Beltrán, Gilberto Manzo Sánchez, Mario Orozco Santos, and Tetsuya Ogura. 2009. "Producción Bananera En México." <http://www.cyd.conacyt.gob.mx/232/Articulos/SigatokaNegra/Sigatoka3.html>.
- Gille, Gabriele, and Heinz Reichmann. 2011. "Iron-dependent Functions of Mitochondria-relation to Neurodegeneration." *Journal of Neural Transmission* 118 (March): 349–359.
- Gillooly, M, T H Bothwell, R W Charlton, J D Torrance, W R Bezwoda, a P MacPhail, D P Derman, L Novelli, P Morrall, and F Mayet. 1984. "Factors Affecting the Absorption of Iron from Cereals." *The British Journal of Nutrition* 51 (January): 37–46.
- Glenn, Gregorio. 2002. "Progress in Breeding for Trace Minerals in Staple Crops." *The Journal of Nutrition* 132: 500–502.
- Gutiérrez, JP, Juan Rivera-Dommarco, Teresa Shamah-Levy, Salvador Villalpando-Hernández, A Franco, L Cuevas-Nasu, M Romero-Martínez, and M Hernández-Ávila. 2012. "Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales." Cuernavaca México.
- Haas, Jere D, and Thomas Brownlie. 2001. "Iron Deficiency and Reduced Work Capacity: A Critical Review of the Research to Determine a Causal Relationship." *The Journal of Nutrition* 131: 676–690.
- Hallberg, Leif, Erik Bjorn-Rasmussen, Lars Garby, Rudee Pleehachinda, and Romsai Suwanik. 1978. "Iron Absorption from South-East Asian Diets and the Effect of Iron Fortification." *American Journal of Clinical Nutrition* 31: 1403–1408.

- Hallberg, Leif, Mats Brune, and Lena Rossander. 1989. "Iron Absorption in Man : Ascorbic Acid and Dose-dependent Inhibition by Phytate." *The American Journal of Clinical Nutrition* 49: 140–144.
- Hallberg, Leif, and Lena Rossander. 1984. "Improvement of Iron Nutrition in Developing Countries: Comparison of Adding Meat, Soy Protein, Ascorbic Acid, Citric Acid, and Ferrous Sulphate on Iron Absorption from a Simple Latin American-type of Meal." *The American Journal of Clinical Nutrition* 39 (4) (April): 577–83.
- Harvest Plus. 2004. "HarvestPlus."
- Hunt, Janet R. 2003. "High-, but Not Low-bioavailability Diets Enable Substantial Control of Women's Iron Absorption in Relation to Body Iron Stores, with Minimal Adaptation Within Several Weeks." *The American Journal of Clinical Nutrition* 78: 1168–1177.
- Hunt, Janet R. 2005. "Dietary and Physiological Factors That Affect the Absorption and Bioavailability of Iron." *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* 75 (6): 375–384.
- Hurrell, Richard, and Ines Egli. 2010. "Iron Bioavailability and Dietary Reference Values." *The American Journal of Clinical Nutrition* 91: 1461–1467.
- Hurrell, Richard F, Sean R Lynch, Trinidad P Trinidad, Sandra A Dassenko, and James D Cook. 1988. "Iron Absorption in Humans: Bovine Serum Albumin Compared with Beef Muscle and Egg White." *The American Journal of Clinical Nutrition* 47 (January): 102–107.
- Hurrell, Richard F, Sean R Lynch, Trinidad P Trinidad, Sandra A Dassenko, and James D Cook. 1989. "Iron Absorption in Humans as Influenced by Bovine Milk Proteins." *The American Journal of Clinical Nutrition* 49: 546–552.
- Hurrell, Richard F, Manju Reddy, and James D Cook. 1999. "Inhibition of Non-haem Iron Absorption in Man by Polyphenolic-containing Beverages." *The British Journal of Nutrition* 81 (April): 289–295.
- Hurrell, Richard F., Marcel-A Juillerat, Manju B Reddy, Sean R Lynch, Sandra A Dassenko, and James D Cook. 1992. "Soy Protein, Phytate, and Iron Absorption in Humans." *The American Journal of Clinical Nutrition* 56: 573–580.
- International Atomic Energy Agency. 2012. "Assessment of Iron Bioavailability in Humans Using Stable Iron Isotope Techniques". Vienna.

- J. Griffin, Ian. 2002. "Using Stable Isotopes and Isotope Ratio Mass Spectrometry to Study Mineral Metabolism in Humans." *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 17 (September 3): 1186–1193.
- Kastenmayer, Peter, Lena Davidsson, Pilar Galanz, Françoise Cherouvrier, Serge Hercberg, and Richard F. Hurrell. 1994. "A Double Stable Isotope Technique for Measuring Iron Absorption in Infants." *British Journal of Nutrition* 71 (03) (March 17): 411–424.
- Ketiku, Adegboyega. 1973. "Chemical Composition of Unripe (Green) and Ripe Plantain (*Musa Paradisiaca*)." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 24 (June): 703–7077.
- Layrisse, Miguel, Carlos Martínez-Torres, and Marcel Roche. 1968. "Effect of Interaction on Iron of Various Foods on Iron Absorption." *The American Journal of Clinical Nutrition* 21 (10): 1175–1183.
- Lehmann, Undine, Gisela Jacobasch, and Detlef Schmiedl. 2002. "Characterization of Resistant Starch Type III from Banana (*Musa Acuminata*)." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50 (August 28): 5236–5240.
- Lieu, Pauline T, Marja Heiskala, Per A Peterson, and Young Yang. 2001. "The Roles of Iron in Health and Disease." *Molecular Aspects of Medicine* 22: 1–87.
- Lohman, TG, AF Roche, and R Martorell. 1988. "Standardization Reference Manual." In *Human Kinetics*. Champaign, IL.
- Lonnerdal, Bo. 2003. "Genetically Modified Plants for Improved Trace Element Nutrition." *The Journal of Nutrition* 133: 1490–1493.
- Lopez, Hubert W, Marie-Anne Levrat_Verny, Charles Coudray, Catherine Besson, Virginie Krespine, Arnaud Messenger, Christian Demigne, and Christian Rémésy. 2001. "Class 2 Resistant Starches Lower Plasma and Liver Lipids and Improve Mineral Retention in Rats." *Journal of Nutrition* 131: 1283–1289.
- Lozoff, B. 2007. "Iron Deficiency and Child Development." *Food and Nutrition Bulletin* 28 (4): 560–571.
- Mackenzie, Bryan, and Michael D Garrick. 2005. "Iron Imports. II. Iron Uptake at the Apical Membrane in the Intestine." *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology* 289: 981–986.
- Marriott, John, Michael Robinson, and Simon K. Karikari. 1981. "Starch and Sugar Transformation During the Ripening of Plantains Ad Bananas." *Journal Science of Food Agriculture* 32: 1021–1026.

- Martínez-Salgado, Homero, Esther Casanueva, Juan Rivera-Dommarco, Fernando E. Viteri, and Héctor Bourges-Rodríguez. 2008. "La Deficiencia de Hierro y La Anemia En Niños Mexicanos . Acciones Para Prevenirlas y Corregirlas." *Boletín Médico Del Hospital Infantil de México* 65 (marzo-abril): 86–99.
- Martinez-Torres, C, and M Layrisse. 1970. "Effect of Amino Acids on Iron Absorption from a Staple Vegetable Food." *Blood* 35 (5) (May): 669–682.
- Martínez-Torres, Carlos, and Miguel Layrisse. 1971. "Iron Absorption from Veal Muscle." *The American Journal of Clinical Nutrition* 24: 531–540.
- McLean, Erin, Mary Cogswell, Ines Egli, Daniel Wojdyla, and Bruno de Benoist. 2009. "Worldwide Prevalence of Anaemia, WHO Vitamin and Mineral Nutrition Information System, 1993-2005." *Public Health Nutrition* 12 (4) (April): 444–454.
- Mcmahon, Lawrence P. 2010. "Iron Deficiency in Pregnancy." *Obstetric Medicine: The Medicine of Pregnancy* 3: 17–24. doi:10.1258/om.2010.100004.
- Minihane, Anne Marie, and Gerald Rimbach. 2002. "Iron Absorption and the Iron Binding and Anti-oxidant Properties of Phytic Acid." *International Journal of Food Sciences and Technology* 37: 741–748.
- Mohapatra, Debabandya, Sabyasachi Mishra, and Namrata Sutar. 2010. "Banana and Its By-product Utilisation : an Overview." *Journal of Scientific & Industrial Research* 69 (May): 323–329.
- Muñoz, Manuel, Isabel Villar, and Jose Antonio García-Erce. 2009. "An Update on Iron Physiology." *World Journal of Gastroenterology* 15 (37): 4617–4626.
- Nadadur, S. S., K. Srirama, and Anuradha Mudipalli. 2008. "Iron Transport & Homeostasis Mechanisms: Their Role in Health & Disease." *The Indian Journal of Medical Research* 128 (october) (October): 533–44. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19106445>.
- Nestel, Penelope, Howarth Bouis, J V Meenakshi, and Wolfgang Pfeiffer. 2006. "Biofortification of Staple Food Crops." *The Journal of Nutrition* 136: 1064–1067.
- Norma Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008. 2008. "Productos y Servicios. Cereales y Sus Productos. Cereales, Harinas de Cereales, Semolas o Semolinas. Alimentos a Base de: Cereales, Semillas Comestibles, de Harinas, Semolas o Semolinas o Sus Mezclas. Productos De". México.

- Paine, JA, CA Shipton, S Chaggar, RM Howells, MJ Kennedy, G Vernon, SY Wright, E Hinchliffe, and JL Adams. 2005. "A New Version of Golden Rice with Increased Pro.vitamin A Content." *Nature Biotechnology* 23: 482–487.
- Patterson, Kristine Y, and Claude Veillon. 2001. "Stable Isotopes of Minerals as Metabolic Tracers in Human Nutrition Research." *Experimental Biology and Medicine* 226 (4): 271–282.
- Petry, Nicolai, Ines Egli, Christophe Zeder, Thomas Walczyk, and Richard Hurrell. 2010. "Polyphenols and Phytic Acid Contribute to the Low Iron Bioavailability from Common Beans in Young Women." *The Journal of Nutrition* 140: 1977–1982.
- Pfeiffer, Wolfgang H., and Bonnie McClafferty. 2007. "HarvestPlus: Breeding Crops for Better Nutrition." *Crop Science* 47 (S3): 88–105.
- QUT. 2010. "Queensland University of Technology."
- Rivera-Dommarco, Juan, Teresa Shamah-Levy, Salvador Villalpando-Hernández, Teresita González de Cossio, Bernardo Hernández Prado, and Jaime Sepúlveda. 2001. "Encuesta Nacional de Nutrición 1999. Estado Nutricio de Niños y Mujeres En México." Instituto. Cuernavaca México.
- Rosado, Jorge L, P López, M Morales, E Munoz, and L H Allen. 1992. "Bioavailability of Energy, Nitrogen, Fat, Zinc, Iron and Calcium from Rural and Urban Mexican Diets." *The British Journal of Nutrition* 68 (1) (July): 45–58.
- Rosado, Jorge L, Patricia López, Olga P García, Javier Alatorre, and Claudia Alvarado. 2011. "Effectiveness of the Nutritional Supplement Used in the Mexican Oportunidades Programme on Growth, Anaemia, Morbidity and Cognitive Development in Children Aged 12-24 Months." *Public Health Nutrition* 14 (5) (May): 931–937.
- Sergei, Storozhenko, Veerle De Brouwer, Maarten Volckaert, Oscar Navarrete, Dieter Blancquaert, Guo-Fang Zhang, Willy Lambert, and Dominique Van Der Straeten. 2007. "Folate Fortification of Rice by Metabolic Engineering." *Nature Biotechnology* 25 (11): 1277–1279.
- Shamah-Levy, Teresa, Salvador Villalpando, Alejandra Jáuregui, and Juan a Rivera. 2012. "Overview of the Nutritional Status of Selected Micronutrients in Mexican Children in 2006." *Salud Pública de México* 54 (2): 146–151.
- Sharp, Paul. 2010. "Intestinal Iron Absorption: Regulation by Dietary and Siystemic Factors." *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* 80 (4-5): 231–242.

- Sharp, Paul, and Surjit-Kaila Srail. 2007. "Molecular Mechanisms Involved in Intestinal Iron Absorption." *World Journal of Gastroenterology* 13 (35) (September 21): 4716–4724.
- The World Bank. 2006. "Repositioning Nutrition as Central to Development: A Strategy for Large Scale Action." In Washington DC: The World Bank.
- Toxqui, L, A De Piero, V Courtois, S Bastida, and M P Vaquero. 2010. "Deficiencia y Sobrecarga de Hierro ; Implicaciones En El Estado Oxidativo y La Salud Cardiovascular." *Nutrición Hospitalaria* 25 (3): 350–365.
- Trinidad, Trinidad P, Tomas MS Wolever, and Lilian U Thompson. 1996. "Effect of Acetate and Propionate on Calcium Absorption from the Rectum and Distal Colon of Humans13." *American Journal of Clinical Nutrition* 63: 574–578.
- Tuntawiron, Malulee, Nopamon Sritongkul, Lena Rossander-Hultén, Rudee Pleehachinda, Romsai Suwanik, Mats Brune, and Leif Hallberg. 1990. "Rice and Iron Absorption in Man." *European Journal of Clinical Nutrition* 44: 489–497.
- USDA. 2011. "USDA National Nutrient Database for Standard Reference." <http://ndb.nal.usda.gov/>.
- Vaintraub, Iosif A, and Natalia A Lapteva. 1988. "Colorimetric Determination of Phytate in Unpurified Extracts of Seeds and the Products of Their Processing." *Analytical Biochemistry* 175 (November 15): 227–230.
- Wessling-Resnick, Marianne. 2006. "Iron Imports. III. Transfer of Iron from the Mucosa into Circulation." *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology* 290: 1–6.
- WHO/UNICEF/UNU. 2001. "Iron Deficiency Anaemia. Assessment, Prevention and Control: a Guide for Programme Managers." Geneva: WHO.
- Wong, William W, and Steven A. Abrams. 2003. "Production of Stable Isotopes for Nutrition-related Research." In *Stable Isotopes in Human Nutrition: Laboratory Methods and Research Applications*, 5–8. Cambridge USA: CABI.
- Younes, Hassan, Marie-Anne Levrat, Christian Demigné, and Christian Rémésy. 1995. "Resistant Starch Is More Effective Than Cholestyramine as a Lipid-Lowering Agent in the Rat." *Lipids* 30 (9) (September): 847–53.
- Zhang, Pingyi, Roy L. Whistler, James N. BeMiller, and Bruce R. Hamaker. 2005. "Banana Starch: Production, Physicochemical Properties, and Digestibility—a Review." *Carbohydrate Polymers* 59 (March): 443–458.

