

Fósforo fítico y actividad de fitasa en fórmulas infantiles basadas en cereales

Álvaro Ojeda, Iraidis Villavicencio, Zoraida Linares

Instituto de Producción Animal. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela.
Maracay, INIA- CENIAP. Maracay. Venezuela

RESUMEN. El ácido fítico es un ácido orgánico presente en granos de cereales. El fósforo contenido en su molécula (P_{Fi}) no es absorbible por una baja solubilidad, aunque su biodisponibilidad puede incrementarse por la actividad de enzimas fitasas (AFi). Con el objetivo de cuantificar el contenido de P_{Fi} y AFi en suplementos elaborados a partir de cereales y destinados a infantes lactantes, se seleccionaron cinco fórmulas de amplia distribución en mercados locales, identificadas de acuerdo a los cereales base de su composición como: A (arroz), T (trigo), ATS (arroz, trigo y aislado de soya), ATM (arroz, trigo y maíz) y ATMS (arroz, trigo, maíz y aislado de soya). Se tomaron cinco muestras por fórmula, cada una correspondiente a un envase (400 a 500 g) elaborado en lotes diferentes y con fecha de vencimiento posterior al muestreo. La proteína cruda varió de 16,8 a 7,2%, con el mayor valor para ATS, y los menores para T y ATM ($P < 0,01$). El extracto etéreo mostró un rango de 0,31 a 0,75%, mientras la relación calcio:fósforo entre 1,6 en ATM y 1,1 para el resto. El P_{Fi} representó el 61,5% del fósforo total en T, con diferencias ($P < 0,01$) respecto al resto ($39,9 \pm 6,8\%$). Sólo se detectó AFi en ATM, T y ATS (570, 300 y 152 U/kg, respectivamente). Se concluye que la composición química se ajustó a lo reportado por los fabricantes, con un elevado contenido de P_{Fi} y una AFi fundamentalmente asociados a la presencia de trigo en las fórmulas.

Palabras clave: Fósforo, ácido fítico, fitasa, fórmula infantil

SUMMARY. Phytic phosphorus and phytase activity in cereal-based infant formulas. Phytic acid is an organic acid present in cereal grains. The phosphorus inside its molecule (P_{Phy}) is not available because of its low solubility, though the bioavailability could be increased by the activity of phytase enzymes (PhyA). With the purpose of quantifying the P_{Phy} and PhyA in supplements manufactured from cereals and intended for lactating infants, five formulas of wide distribution in local markets were selected and identified depending on the main vegetable ingredients as A (rice), T (wheat), ATS (rice, wheat and soy isolate), ATM (rice, wheat and maize) and ATMS (rice, wheat, maize and soy isolate). Five samples were taken from each formula, each one corresponded to a commercial brand (400 to 500 g), coming from different batches and before their expiration date. The crude protein ranged from 7.2 to 16.8%, with the highest value for ATS and the lowest for T and ATM ($P < 0.01$). Ether extract varied from 0.31 to 0.75%, while the calcium:phosphorus ratio from 1.6 for ATM, to 1.1 for the rest. The P_{Phy} was 61.5% of the total phosphorus in T, with differences ($P < 0.01$) compared to the other formulas ($39.9 \pm 6.8\%$). PhyA was only detected in ATS, T and ATM (152, 300 and 570 U/kg, respectively). The chemical composition complied with the manufacturer report, with a high content of P_{Phy} and PhyA associated to the wheat presence in the formula.

Key words: Phosphorus, phytic acid, phytase, infant formulas

INTRODUCCIÓN

El ácido fítico (myo-inositol hexafosfato) es considerado un metabolito secundario de amplia distribución en productos vegetales, tales como granos de cereales, leguminosas, oleaginosas y algunos tubérculos (1). Aunque se refiere su efecto positivo como antioxidante, anticancerígeno y en la prevención de enfermedades coronarias (2), los grupos ácidos presentes en su molécula facilitan la formación de sales de cinc, hierro (Fe^{2+} y Fe^{3+}), calcio, magnesio, cobalto

y manganeso, las cuales presentan baja solubilidad en las condiciones de pH intestinal, lo que compromete la biodisponibilidad de estos minerales, así como la del fósforo presente en el quelato ó fitato (1,3). Adicionalmente, se ha comprobado que el ácido fítico también genera una disminución en la digestibilidad de lípidos, almidón y proteínas (4).

En virtud a sus características nutricionales, alta disponibilidad relativa y tradiciones alimentarias, los cereales conforman un grupo básico de alimentos en la dieta de la población latinoamericana (5), y usual-

mente constituyen la primera fracción sólida que se incorpora a la ración de los niños como complemento durante la fase de lactancia (6). Sin embargo, el ácido fítico se halla presente en elevadas concentraciones en los granos de cereales (1-2%), señalándose como responsable de la pobre utilización de 50 al 80% del fósforo total, en virtud de hallarse éste en forma de fósforo fítico (PFI) (7).

La desfosforilación del ácido fítico genera isómeros con un menor número de fosfatos y variada capacidad quelatante, y en algunos casos, permite la obtención de myo-inositol (4,6). Aunque este proceso puede ocurrir por vía no enzimática durante el procesamiento agroindustrial, la hidrólisis a través de myo-inositol hexafosfatohidrolasas o fitasas, ya sea como constituyentes de los granos (intrínsecas) o adicionadas al producto (exógenas), ha demostrado su eficacia al reducir el efecto antinutricional del ácido fítico (8). Adicionalmente, una mayor eficiencia en el uso del fósforo contenido en la dieta disminuiría su excreción al medio ambiente, reduciendo así el impacto ambiental derivado de los procesos de eutrofización en corrientes y reservorios de aguas (6).

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la composición química, contenido de fósforo fítico y actividad de fitasa en algunas fórmulas comerciales basadas en cereales empleadas como complemento a la dieta de infantes lactantes en Venezuela.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras

A partir de una visita a diferentes establecimientos dedicados a la venta de alimentos para consumo masivo en la ciudad de Maracay, Venezuela, se seleccionaron las cinco fórmulas para infantes lactantes de mayor presencia en los anaqueles. De acuerdo a la descripción del fabricante, todas las fórmulas seleccionadas estuvieron elaboradas básicamente con base en granos de cereales, y recomendadas para su incorporación en alimentación infantil a partir del 6^{to} mes de edad.

En función a sus constituyentes vegetales básicos, las fórmulas seleccionadas se identificaron como: A (arroz), T (trigo), ATS (arroz, trigo y aislado de soya), ATM (arroz, trigo y maíz) y ATMS (arroz, trigo, maíz y aislado de soya). De acuerdo a información nutricional aportada por el fabricante, es señalada la presencia de gluten en T y ATM, mientras que sólo T

presenta materias primas de origen lácteo entre sus componentes (Tabla 1).

TABLA 1 Componentes de las fórmulas infantiles

Componentes	Fórmulas				
	A	T	ATS	ATM	ATMS
Harina de arroz	+		+	+	+
Harina de trigo		+	+	+	+
Aislado de soya			+		+
Harina de maíz				+	+
Sólidos no grasos de leche		+			
Grasa láctea		+			
Extracto de malta				+	
Aceite vegetal		+			
Azúcar		+		+	
Sal		+			
Etilvainillina	+	+	+		+
Premezcla minerales ¹	+	+	+	+	+
Premezcla de vitaminas ²	+	+	+	+	+

¹ De acuerdo a fabricantes, cada 100 g de fórmula incluyen: 390-500 mg calcio, 250-360 mg fósforo, 80-176 mg sodio y 15 mg hierro.

² De acuerdo a fabricantes, cada 100 g de fórmula contienen: 3000-3500 UI vitamina A 220-300 UI vitamina D 1,0 mg vitamina B1 1,2 mg vitamina B2 75 mg vitamina C 10 mg Niacina y 36 µg Ácido Fólico.

De cada fórmula se colectaron cinco muestras, constituida cada una por un envase de metal, sellado al vacío y con capacidad neta de 400 a 500 g. Adicionalmente, se consideró que procedieran de diferentes locales comerciales y lotes de elaboración, así como fecha de vencimiento posterior al momento de la toma de muestra.

Análisis químicos

Los contenidos de materia seca a 105°C, cenizas, proteína cruda, fibra cruda y extracto etéreo, se evaluaron según lo descrito por la AOAC (9). El contenido de materia orgánica se estimó como la diferencia entre la materia seca (105°C) y el contenido de cenizas. Las fracciones de calcio (Ca) y fósforo total (P) fueron determinadas por espectrofotometría de absorción atómica de acuerdo a metodologías descritas por Fick et al. (10) y Fiske y Subarrow (11), respectivamente.

Para la determinación del contenido de PFI se realizó la extracción del fitato con HCl 1,2%, y la solución resultante se hizo circular a través de una resina de intercambio iónico, eluyendo primero el P inorgánico, y posteriormente el fitato, cuantificando colorí-

métricamente el PFi (12).

La actividad de fitasa (AFi) fue registrada en 1 g de muestra diluida en una solución tampón tris-HCl (0,02 M) a un pH de 7,5; la cual fue posteriormente homogeneizada y centrifugada a 400 rpm durante 30 minutos (13). De acuerdo al método empleado, una unidad de fitasa (U) fue definida como la cantidad de fósforo inorgánico (μ moles P/kg) liberado por minuto a partir de una solución de fitato de sodio 5 mM a una tasa de 1 μ mol/min, pH de 5,5 y 37°C. A los fines del presente estudio, se consideró la existencia de actividad de fitasa cuando el valor obtenido fue superior a 100 U/kg (14).

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado, considerando cada fórmula infantil como un tratamiento, con cinco repeticiones cada una. El análisis de la información se realizó utilizando el procedimiento GLM (General Linear Models) del software estadístico SAS (15). En aquellas variables que presentaron dife-

rencias significativas ($P < 0,05$) se efectuaron las comparaciones entre medias mediante la Prueba de Tukey.

RESULTADOS

En la Tabla 2 se presenta la composición química de las fórmulas infantiles. Con la excepción del contenido de fibra cruda ($0,34 \pm 0,1\%$), las restantes variables presentaron diferencias estadísticas.

La proteína cruda varió ampliamente ($P < 0,01$), con el mayor registro para ATS (16,8 %), y el menor para T y ATM ($7,41 \pm 0,3\%$). El extracto etéreo presentó un rango de 0,31 a 0,75%, con los mayores valores para A y ATMS ($0,73 \pm 0,04\%$), fórmulas con un nivel medio equivalente a 2,1 veces los obtenidos en ATS y ATM. El mayor ($P < 0,01$) contenido de calcio correspondió a ATM (0,57%) y el menor a T (0,38%), mientras las restantes fórmulas presentaron poca variación en este parámetro ($0,46 \pm 0,04\%$). La relación calcio: fósforo osciló entre 1,6 y 1,1.

TABLA 2 Composición química y relación calcio:fósforo de las fórmulas infantiles

Fórmula	Fracciones (g/100 g)						
	Materia seca	Materia orgánica	Proteína cruda	Fibra cruda	Extracto etéreo	Calcio	Relación calcio:fósforo
A	92,2 ^c	98,3 ^a	8,2 ^c	0,35	0,70 ^a	0,42 ^{cd}	1,4 ^{ab}
T	97,7 ^a	98,0 ^a	7,2 ^d	0,26	0,52 ^{ab}	0,38 ^d	1,1 ^c
ATS	93,3 ^c	97,3 ^b	16,8 ^a	0,31	0,31 ^b	0,49 ^b	1,1 ^c
ATM	95,6 ^b	97,4 ^b	7,6 ^{dc}	0,45	0,37 ^b	0,57 ^a	1,6 ^a
ATMS	93,2 ^c	97,2 ^b	15,5 ^b	0,35	0,75 ^a	0,47 ^{cb}	1,2 ^{bc}
EE	0,49	0,1	0,96	0,02	0,05	0,01	0,04
P	0,011	0,001	0,001	0,17	0,001	0,001	0,001

EE: Error estándar de la media

a,b,c,d Letras distintas en una misma columna indican diferencias ($P < 0,01$)

TABLA 3 Contenido de fósforo total, fósforo fítico y actividad de fitasa de las fórmulas infantiles

Fórmula	Fósforo total (PT, g/100 g)	Fósforo fítico (PFi, g/100 g)	PFi/PT ¹ (g/100 g)	Act. de fitasa ² (U/kg)
A	0,31 ^c	0,12 ^c	39,2 ^{bc}	65 ^{dc}
T	0,34 ^{bc}	0,21 ^a	61,5 ^a	300 ^b
ATS	0,46 ^a	0,22 ^a	47,5 ^b	152 ^c
ATM	0,37 ^{bc}	0,11 ^c	31,0 ^c	570 ^a
ATMS	0,39 ^b	0,16 ^b	41,7 ^{bc}	50 ^d
EE ³	0,01	0,01	2,58	45
P	0,001	0,001	0,001	0,001

¹ PFi/PT: Proporción del fósforo total en la forma de fósforo fítico

² Actividad de fitasa medida como la cantidad de fósforo inorgánico (μ moles P/kg) liberado por minuto a partir de una solución de fitato de sodio 5 mM a una tasa de 1 μ mol/min, pH de 5,5 y 37°C.

³ EE: Error estándar

a,b,c,d Letras distintas en una misma columna indican diferencias ($P < 0,01$)

En la Tabla 3 se muestran el contenido de fósforo total, PFi y AFi de las fórmulas infantiles. ATS presentó el mayor ($P < 0,01$) contenido de fósforo total ($0,46\%$), con pocas variaciones para el resto ($0,35 \pm 0,04\%$). En general, un $44,2 \pm 11,5\%$ del fósforo total se presenta en la forma de PFi, aunque este valor alcanzó $61,5\%$ para el caso de T, mientras en el resto de las fórmulas el PFi tuvo una menor ($P < 0,01$) participación relativa respecto al fósforo total ($39,8 \pm 7,3\%$). Los mayores valores de AFi correspondieron a ATM y T (570 y 300 U/kg, respectivamente), mientras que A y ATMS no presentaron actividad para dichas enzimas.

DISCUSIÓN

La composición química de las fórmulas evaluadas se ajustó a lo esperado según los ingredientes declarados por los fabricantes, así como a lo señalado en la Tabla de Composición de Alimentos Industrializados (16).

Tradicionalmente los cereales son incorporados de modo temprano en la ración de infantes lactantes en virtud de considerarse una fuente de energía (80 kcal/ 100 g), ácidos grasos esenciales, minerales y vitaminas, particularmente tiamina (1). Sin embargo, es conocida su limitación en cuanto al contenido y balance de aminoácidos esenciales, especialmente triptófano y lisina, ambos de particular importancia en fórmulas dirigidas a los primeros meses de vida, donde los requerimientos de proteína por kilogramo de peso llegan a ser tres veces superiores a los considerados para la edad adulta (6). Lo anterior permite suponer uno de los motivos para incorporar el aislado de soya en ATS y ATMS, y generar de este modo, complementos con mayor participación de proteína cruda.

El contenido de PFi se localizó en el rango referido (7) para los granos de cereales ($0,08$ a $0,18\%$) y de oleaginosa ($0,37\%$) empleados en las fórmulas consideradas, y es similar a lo señalado por diversos autores para fórmulas destinadas a la alimentación infantil, quienes indican valores de $0,18$ (18); $0,19$ (17); $0,23$ (6) y $0,25\%$ (1). Es de resaltar que el contenido de PFi en estos complementos es el resultado no sólo de los cereales que integran los alimentos, sino también de las diferentes estrategias tecnológicas empleadas durante el procesamiento agroindustrial, tales como molienda, remojo, germinación, fermentación, descascarillado y autoclave, las cuales son dirigidas a reducir el impacto

nutricional de los metabolitos secundarios (6,18).

En lo referente a la participación del PFi en el fósforo total, los valores obtenidos se encuentran dentro de lo señalado en la literatura para los granos de cereales (45 - 73%) y de oleaginosa (65%) empleados en la elaboración de las fórmulas evaluadas, y sugieren limitantes a la biodisponibilidad del fósforo presente en dichos productos comerciales (7).

El consumo de alimentos con alto contenido de fitatos ha sido correlacionado con un pobre estatus de hierro y cinc, por lo que las dietas para infantes son usualmente fortificadas con dichos minerales. A pesar de lo anterior, un estudio conducido en Suecia con 300 niños de 6 a 12 meses de edad con una ingesta adecuada de minerales, reveló una elevada frecuencia de aparición de anemia y deficiencias de hierro y cinc, lo que hace suponer un efecto de los fitatos, independientemente de las estrategias de suplementación mineral de tales alimentos (19).

Si bien la literatura no presenta resultados acerca de AFi en fórmulas infantiles, algunos autores (6,7) señalan que de las materias primas identificadas por los fabricantes como ingredientes, sólo presentan AFi el trigo (1565 - 2078 U/kg) y el arroz y sus subproductos (112 - 134 U/kg). La amplia actividad de fosfatohidrolasas que exhibe el grano de trigo permite suponer una mayor participación relativa de este cereal en las fórmulas identificadas como T, ATM y ATS, quienes en su conjunto mostraron los mayores registros para esta variable.

La hidrólisis del *myo*-inositol hexafosfato por medio de fitasas es el método más eficiente para reducir el efecto antinutricional de este metabolito (8). Debido a la baja AFi en el tracto digestivo de monogástricos y la limitada participación en la ración de fitasas intrínsecas, la incorporación de fitasas exógenas, fundamentalmente de origen microbiano (*Bacillus subtilis*, *Saccharomyces sp.* o *Aspergillus sp.*), ha demostrado ser una alternativa en la industria de alimentos balanceados para animales, aunque su uso aun no está autorizado para el desarrollo de estrategias de alimentación funcional de seres humanos (3,6,7).

CONCLUSIONES

Se concluye que la composición química, contenido de fósforo fítico y actividad de fitasa se ajustan a lo estimado de acuerdo a los componentes indicados por los fabricantes de las fórmulas infantiles comer-

ciales consideradas en el presente estudio, con una importante fracción del fósforo total en forma de fitatos, y una actividad de fitasa asociada a la presencia de trigo en las fórmulas.

REFERENCIAS

1. Febles CI, Arias A, Hardisson A, Rodríguez-Álvarez C, Sierra A. Phytic acid level in infant flours. *Food Chem* 2001; 74:437-441.
2. Thompson LU. Potential health benefits and problems associated with antinutrients in foods. *Food Res Int* 1993; 26:131-149.
3. Hurrell RF, Reddy MB, Juillerat MA, Cook JD. Degradation of phytic acid in cereal porridges improves iron absorption by human subjects. *Am J Clin Nutr* 2003; 77:1213-1219.
4. Frias J, Doblado R, Antezana JR, Vidal-Valverde C. Inositol phosphate degradation by the action of phytase enzyme in legume seeds. *Food Chem* 2003; 81:233-239.
5. Alonso ME, Ávila JL, Calcagno MP. Los Cereales en el Trópico Suramericano. Técnicas Modernas de Conservación. Venezuela: Universidad de Los Andes. Fundación Empresas Polar. Publicaciones ViceRectorado Académico-CODEPRET-CDCHT; 2009.
6. Frontela C. Efecto de la adición de fitasa sobre la biodisponibilidad mineral in vitro en papillas infantiles. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria: Universidad de Murcia. España [en línea] 2007, [citado 2012-08-14]. Disponible en Internet: <http://digitum.um.es/xmlui/bitstream/10201/2113/1/FrontelaSaseta.pdf>.
7. Godoy S, Chicco C, Meschy F, Requena F. Phytic phosphorus and phytase activity of animal feed ingredients. *Interciencia* 2005; 30:24-28.
8. Afinah S, Yazid AM, Anis MH, Shuhaimi M. Phytase: application in food industry. *Int Food Res J* 2010; 17:13-21.
9. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Official Methods of Analysis 16th Ed. Washington D.C.; 1999.
10. Fick K, McDowell P, Miles N, Wilkinson J, Funk J, Conrad J. Métodos de Análisis de Minerales Para Tejidos de Plantas y Animales. 2da Ed. Florida: Universidad de Florida; 1979.
11. Fiske CH, Subarrow Y. The colorimetric determination of phosphorus. *J Biol Chem* 1925; 66:375-400.
12. Harland BF, Oberleas D. A modified method for phytate analysis using an ion-exchange procedure: application to textured vegetable proteins. *Cereal Chem* 1977; 54:827-832.
13. Bitar K, Reinhold H. Phytase and alkaline phosphatase activities in intestinal mucosa of rat, chicken, calf and man. *Biochem Biophys Acta* 1972; 268:442-452.
14. Eeckhout W, De Paepe M. Total phosphorus, phytate-phosphorus and phytase activity in plant feedstuffs. *Anim Feed Sci Technol* 1994; 47:19-29.
15. SAS. User's guide. 4th Ed. EUA: Statistical Analysis System Institute, Inc; 1994.
16. Bejarano E, Bravo M, Huamán M, Huapaya C, Roca A, Rojas E. Tabla de Composición de Alimentos Industrializados. Perú: Ministerio de Salud. Instituto Nacional de Salud. Centro Nacional de Alimentación y Nutrición [en línea] 2002, [citado 2012-08-17]. Disponible en Internet: http://www.nutrinfo.com/archivos/ebooks/tabla_composicion_alim_peru.pdf. ISBN 9972-857-32-8.
17. Kana MM, Gouado I, Mananga MJ, Asongni WD, Amvam PH, Oberleas D, Tetanye E. Trace elements in foods of children from Cameroon: A focus on zinc and phytate content. *J Trace Elem Med Biol* 2012; 26:201-204.
18. Hurrell RF, Reddy MB, Juillerat MA, Cook JD. Degradation of phytic acid in cereal porridges improves iron absorption by human subjects. *Am J Clin Nutr* 2003; 77:1213-1219.
19. Lind T, Lönnerdal B, Persson LÅ, Stenlund H, Tennefors C, Hernell O. Effects of weaning cereals with different phytate contents on hemoglobin, iron stores, and serum zinc: a randomized intervention in infants from 6 to 12 mo of age. *Am J Clin Nutr* 2003; 78:168-175.

Recibido: 05-09-2012

Aceptado: 13-11-2012