



Doctoral Thesis

## **Biofortification optimizing iron absorption from beans and other staple foods**

**Author(s):**

Petry, Nicolai

**Publication Date:**

2011

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-006682299> →

**Rights / License:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH No. 19787

**BIOFORTIFICATION: OPTIMIZING IRON  
ABSORPTION FROM BEANS AND OTHER STAPLE FOODS**

A dissertation submitted to

ETH Zürich

for the degree of  
Doctor of Science

presented by

NICOLAI PETRY

Dipl. oeco. troph., Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Germany

born 09.08.1977

citizen of Germany

accepted on the recommendation of  
Prof. Dr. Richard F. Hurrell, examiner  
Dr. Ines Egli, co-examiner  
Prof. Dr. Manju Reddy, co-examiner

2011

## Summary

### Background

Micronutrient deficiencies are a major cause of malnutrition affecting more than two thirds of the world's population, and it is estimated that iron deficiency remains the most common micronutrient deficiency worldwide. Iron deficiency affects all population groups even though children and women of reproductive age are particularly vulnerable. Low iron status is particularly a problem in populations subsisting on plant-based diets that are low in animal tissue and high in iron absorption inhibitors and therefore low in bioavailable iron.

Biofortification, the process of increasing the content and/or bioavailability of essential nutrients such as iron in crops by traditional plant breeding and genetic engineering, is a promising approach to combat micronutrient deficiencies. By definition, for biofortification to be successful it is not sufficient to increase iron content in plants only. Rather it is also necessary to increase iron bioavailability, by either decreasing the level of absorption inhibitors or by increasing the level of absorption enhancers.

One way to increase iron bioavailability from staple crops such as beans is to decrease the level of phytic acid (PA) and polyphenols (PP), which have been shown to be strong inhibitors of absorption in the human body. Another approach might be to increase the level of inulin, a potential enhancer of iron absorption present in some cereal grains.

### Aim

With the overall aim of increasing the intake of bioavailable iron from beans and other staple crops by plant breeding strategies, this project assessed the impact of iron biofortified beans on human iron absorption and evaluated the relative importance of PP and PA on iron bioavailability from beans in humans. Moreover, the project evaluated if the consumption of inulin is beneficial for iron absorption.

## Design

*Manuscript 1 (studies 1-6):* The dose dependent effect of PP on human iron absorption was investigated in the first three iron absorption studies. Different amounts of bean hulls, as the source of PP were added to a non-inhibitory test meal and iron absorption was assessed by stable iron isotope techniques.

The inhibitory effect of PP and PA in beans was investigated either individually or combined (studies 4-6). Since PP are mainly present in the bean hull and PA exclusively in the cotyledon, beans were served either whole, dehulled, dephytinized or dehulled and dephytinized. The test meals were given in the form of sweetened, homogenized bean porridge. In study 4, the influence of bean PP on iron absorption in the presence of PA was evaluated by comparing iron absorption from beans with and without hulls; in study 5, the combined impact of PP and PA was investigated by comparing iron absorption from whole beans with dehulled, dephytinized beans and in study 6 the influence of PP on iron absorption in the absence of PA was evaluated by comparing dephytinized beans with dephytinized, dehulled beans.

*Manuscript 2 (studies 7-9):* The three iron absorption studies were made in Rwandese women (20 per study) of low iron status. Studies 7 and 8 compared iron absorption from high and low PP beans, similar in PA and iron, fed as a bean puree in a double meal design (study 7) or fed with rice and potatoes in a multiple meal design (study 8). Study 9 tested the performance of a biofortified high iron bean. Iron absorption from high and normal iron beans (9.1 or 5.2 mg Fe/100 g bean) with similar PP levels and a similar PA: iron molar ratio fed with either 170 g potatoes or 40 g rice (dry weight) was compared in a multiple meal design.

*Manuscript 3 (study 10):* The impact of inulin on human iron absorption and gut microbiota was studied in 35 subjects in a randomized crossover design. Participants received an inulin-oligofructose mixture or placebo in a random fashion in a first or second test period, given in divided doses (6g) after each meal (breakfast, lunch, dinner). Each test period lasted for 4 weeks, separated by a 2 week wash out period. To measure iron absorption Fe compounds were labeled with  $^{57}\text{Fe}$  and  $^{58}\text{Fe}$ , respectively, and added to a test meals served at the end of the third week of each four week feeding period.

## Results

*Manuscript 1 (studies 1-6):* Iron absorption was lowered by 14 % with 50 mg PP ( $p < 0.05$ ); and by 45 % with 200 mg PP ( $p < 0.001$ ), whereas the lowest PP concentration (20 mg) had no effect on iron absorption.

Mean iron absorption from whole bean porridge was 2.5 %. PP and PA removal increased absorption 3.6 fold ( $p < 0.001$ ) and removal of PP from dephytinized porridge increased absorption 2 fold ( $p < 0.001$ ). Between study comparisons indicated that dephytinization did not increase iron absorption in the presence of PP; but in their absence absorption increased 4.4 fold ( $p < 0.001$ ).

*Manuscript 2 (studies 7-9):* Mean fractional iron absorption from the low PP bean meal was 27 % higher than absorption from the high PP bean meal ( $P < 0.005$ ) in study 7.

In contrary to study 7 mean fractional iron absorption of participants in study 8 consuming the high and low PP bean with rice or potatoes was about 7 % from both meals and did not differ.

Mean iron absorption from the biofortified high iron bean was 60 % lower than from the normal iron bean ( $p < 0.001$ ), which resulted in total absorbed iron from the high and normal iron bean meals not being significantly different.

*Manuscript 3 (study 10):* Mean fractional iron absorption in the inulin phase was 15.2 % and did not differ significantly from iron absorption in the placebo phase (13.3 %). Inulin significantly reduced fecal pH ( $P < 0.001$ ) and significantly increased bifidobacteria population ( $P < 0.001$ ) and lactate ( $P < 0.001$ ). Inulin had no impact on fecal short chain fatty acid (SCFA) profile.

## Conclusion

1) The present findings clearly showed that bean PP have a dose dependent effect on human iron bioavailability in the absence of PA (studies 1-3). They furthermore demonstrated that both PA and PP inhibit iron absorption from beans within the bean matrix, whereas their inhibitory effect seemed not to be additive (studies 4-6). However, a moderate impact of bean PP on iron absorption was observed when

beans were served in a double meal design in a bean consuming population (study 7). This effect was not seen any more when beans were administered with rice and potatoes in a multiple meal design (study 8). These differing results might be due to the often observed overestimation of the effect of inhibitors in single meal studies. It is also possible that other meal components weakened the impact of PP and PA on iron absorption by reducing or chelating effects or simply by diluting the present inhibitors.

The results of study 9 raised the general question if a biofortified bean has the potential to significantly improve the iron status of a bean consuming population. The high iron bean in that study did not provide a greater amount of bioavailable iron when compared to a non-biofortified normal iron bean. The results indicate that the presence of PP and PA prevents the absorption of an additional amount of iron from high iron beans. This leads to the conclusion that, for beans to be a potential vehicle for iron biofortification, they must be high in iron and low in PP and PA.

2) Although inulin and oligofructose exhibited a positive effect on iron absorption in animals the study was not able to show the same effect in humans. Iron absorption was slightly higher during inulin consumption, albeit not significantly. It is assumed that inulin affects colonic iron absorption, which is rather low compared to duodenal iron absorption. Therefore an inulin induced change in colonic absorption might have remained undetected. However the bifidogenic effect of inulin was clearly demonstrated.

## Zusammenfassung

### Hintergrund

Mehr als 30 % der Weltbevölkerung leidet unter Mikronährstoffmangel und es wird angenommen, dass Eisenmangel weltweit der am häufigsten auftretende Mangel ist. Eisenmangel betrifft alle Bevölkerungsgruppen, wobei vor allem Kinder als auch Frauen im gebärfähigen Alter zu den meistgefährdeten Gruppen zu zählen sind. Eisenmangel ist vor allem dort ein Problem, wo die Nahrung der Menschen auf einseitiger Pflanzenkost basiert. Diese Kost besteht gewöhnlich nur zu einem geringen Anteil aus Fleisch und weist einen hohen Gehalt an Stoffen auf, die die Aufnahme von Eisen hemmen.

Biofortifizierung, das Erhöhen der Konzentration und/oder der Bioverfügbarkeit von essentiellen Nährstoffen in Feldfrüchten durch traditionelle Züchtung oder Gentechnik, ist ein neuer, vielversprechender Ansatz um Mikronährstoffmängeln entgegenzuwirken. Um die Erfolgsaussichten von Biofortifizierung zu optimieren, muss neben einer Erhöhung der Mikronährstoffkonzentration auch der Gehalt an Inhibitoren minimiert oder der Gehalt an Förderern der Eisenaufnahme maximiert werden.

Eine Möglichkeit, die Eisenbioverfügbarkeit von Grundnahrungsmitteln, wie z.B. Bohnen zu erhöhen, ist die Reduktion von Phytinsäure und Polyphenolen, beides starke Inhibitoren der Eisenaufnahme. Ein weiterer Ansatz wäre die Konzentrationserhöhung von Inulin, ein potentieller Förderer der Eisenaufnahme, vornehmlich zu finden in verschiedenen Getreidesorten.

### Ziel

Mit dem allumfassenden Ziel die Einnahme von Eisen aus Bohnen und anderen Grundnahrungsmitteln durch Strategien der traditionellen Pflanzenzüchtung zu erhöhen, befasste sich diese These mit dem Einfluss von biofortifizierten Bohnen auf die menschliche Eisenaufnahme und evaluierte den relativen Einfluss von Polyphenolen und Phytinsäure auf die Eisenbioverfügbarkeit von Bohnen im

Menschen. Zudem wurde ermittelt, ob Inulin der Eisenaufnahme im Menschen förderlich ist.

## **Studiendesign**

*Manuskript 1 (Studien 1-6):* In den Studien 1 bis 3 wurde der dosisabhängige Effekt von Polyphenolen auf die menschliche Eisenaufnahme untersucht. Verschiedene Mengen an Bohnenhüllen, die Quelle von Polyphenolen wurden einer nicht hemmenden Testmahlzeit zugesetzt und die Eisenabsorption wurde mittels stabiler Eisenisotopen Technik erfasst. In den Studien 4 bis 6 wurde der inhibierende Effekt von Polyphenolen und Phytinsäure, sowohl im Einzelnen als auch in Kombination untersucht. In Studie 4 wurde der Einfluss von Polyphenolen im Beisein von Phytinsäure, durch den Vergleich von Bohnen mit und ohne Bohnenhülle, auf die Eisenaufnahme, evaluiert. Studie 5 hatte zum Ziel, den kombinierten Einfluss von Polyphenolen und Phytinsäure auf die Eisenaufnahme zu untersuchen. Als Testmahlzeiten dienten ganze Bohnen, welche mit dephytinisierten Bohnen ohne Hülle verglichen wurden. In Studie 6 wurde dann der Einfluss von Polyphenolen in Abwesenheit von Phytinsäure auf die Eisenaufnahme evaluiert. Hierzu wurde die Absorption von dephytinisierten Bohnen mit dephytinisierten Bohnen ohne Hülle verglichen.

*Manuskript 2 (Studie 7-9):* Die drei Eisenisotopenstudien wurden in eisendefizienten ruandischen Frauen mit niedrigem Eisenstatus durchgeführt (20 pro Studie). In Studien 7 und 8 wurde die Eisenaufnahme von Bohnen mit hohem und niedrigem Polyphenolgehalt, sowie gleicher Phytinsäure- und Eisenkonzentration ermittelt. Die Bohnen wurden entweder als Bohnenpüree gereicht (Studie 7; "double meal design") oder mit Reis/Kartoffeln über mehrere Tage (Studie 8; "multiple meal design"). In Studie 9 wurde die Effektivität einer biofortifizierten Bohne mit hohem Eisengehalt getestet. Die Studie hatte ein "multiple meal design" und es wurde die Eisenabsorption von einer biofortifizierten Bohne mit hoher Eisenkonzentration zu einer Bohne mit normaler Eisenkonzentration verglichen (9.1 und 5.2 mg Eisen/100 g Bohnen). Die Bohnen wiesen den gleichen Gehalt an Polyphenolen und das gleiche molare Verhältnis von Phytinsäure zu Eisen auf. Die Testmahlzeiten bestanden aus Bohnen und 40 g Reis oder 170 g Kartoffeln.



*Manuskript 3 (Studie 10):* Der Einfluss von Inulin auf die menschliche Eisenaufnahme wurde in einer randomisierten, doppelt blinden Crossover-Studie untersucht. Die Teilnehmer erhielten entweder Inulin oder Placebo, 3 x täglich circa 6 g zu den Mahlzeiten. Jede Testphase hatte eine Dauer von 4 Wochen, separiert durch eine zweiwöchige Auswaschphase. Um die Eisenaufnahme zu messen, wurden mit Eisenisotopen versetzte Testmahlzeiten am Ende der dritten Woche jeder Testphase verabreicht.

## **Resultate**

*Manuskript 1 (Studien 1-6):* 50 mg Polyphenole reduzierten die Eisenaufnahme um 14 % ( $p < 0.05$ ), wobei 200 mg Polyphenole die Eisenabsorption um 45 % verringerten. Die niedrigste Polyphenolkonzentration (20 mg) hatte keinen Einfluss auf die Eisenaufnahme.

Die durchschnittliche Eisenabsorption von dem Brei aus ganzen Bohnen betrug 2.5 %. Durch das Entfernen von Polyphenolen und Phytinsäure wurde die Absorption 3.6-fach erhöht ( $p < 0.001$ ) und das Entfernen von Polyphenolen von zuvor dephytinisiertem Bohnenbrei erhöhte die Absorption zweifach. Vergleiche zwischen den Studien zeigten, dass Dephytinisierung in der Gegenwart von Polyphenolen nicht zu einer Erhöhung der Eisenaufnahme führte, aber in ihrer Abwesenheit stieg die Absorption um das 4.4-fache an ( $p < 0.001$ ).

*Manuskript 2 (Studie 7-9):* Die durchschnittliche Eisenabsorption von der Bohnenmahlzeit, welche die Bohne mit geringer Polyphenolkonzentration enthielt war 27 % höher als von der Mahlzeit mit der Bohne die eine hohe Polyphenolkonzentration aufwies ( $P < 0.005$ ).

Die durchschnittliche Eisenaufnahme, sowohl von der Bohne mit niedrigem als auch von der Bohne mit hohem Polyphenolgehalt war ungefähr 7 % und somit nicht signifikant unterschiedlich.

Die durchschnittliche Eisenabsorption von der Bohne mit hohem Eisengehalt war 60 % niedriger als von der Bohne mit niedrigem Gehalt ( $P < 0.001$ ), was in der gleichen Menge an absolut aufgenommenem Eisen resultierte.

*Manuskript 3 (Studie 10):* Die durchschnittliche Eisenaufnahme während der Inulin Konsumierung betrug 15.2 % und unterschied sich nicht signifikant von der Eisenaufnahme in der Placebophase (13.3 %). Die Gabe von Inulin führte zu einer signifikanten Reduktion des pH ( $P < 0.001$ ), zu einer signifikanten Erhöhung der Bifidobakterienpopulation und Laktat ( $P < 0.001$ ). Inulin hatte keinen Einfluss auf die Konzentration von kurzkettigen Fettsäuren.

## **Schlussfolgerungen**

Die durchgeführten Untersuchungen zeigen eindeutig, dass Bohnenpolyphenole einen dosisabhängigen Einfluss auf die Eisenaufnahme in Abwesenheit von Phytinsäure haben (Studien 1-3). Weiter konnte gezeigt werden, dass sowohl Phytinsäure als auch Polyphenole die Eisenaufnahme von Bohnen innerhalb der Bohnenmatrix beeinflussen, wobei dieser Effekt nicht additiv ist (Studien 4- 6). In einer Studie, die in einer bohnenverzehrenden Population durchgeführt wurde ("double meal design"), konnte ein moderater Effekt von Bohnenpolyphenolen auf die Eisenaufnahme beobachtet werden (Studie 7). Wurden die Bohnen allerdings mit Reis und Kartoffeln serviert ("multiple meal design"), konnte dieser Effekt nicht mehr nachgewiesen werden (Studie 8). Die unterschiedlichen Ergebnisse von Studie 7 und 8 könnten durch die schon des Öfteren beobachtete Überbewertung des Effektes von Inhibitoren und Förderern der Eisenaufnahme in Studien mit "single meal design" aufgetreten sein. Weiterhin könnten auch andere in den Mahlzeiten enthaltene Substanzen, durch Eisenreduktion, Chelatbildung mit Eisen oder Verdünnung der Inhibitoren, den Einfluss von Polyphenolen und Phytinsäure gemindert haben.

Aufgrund der Resultate von Studie 9 muss generell das Potential biofortifizierter Bohnen, den Eisenstatus in einer bohnenkonsumierenden Bevölkerung zu verbessern, in Frage gestellt werden. Die verwendete Bohne mit erhöhtem Eisengehalt dieser Studie stellte keine grössere Menge an bioverfügbaren Eisen zur Verfügung. Die Resultate der Studie weisen darauf hin, dass die Gegenwart von Polyphenolen und Phytinsäure die Aufnahme von zusätzlichem Eisen von der Bohne mit hohem Eisengehalt verhindert. Damit eine biofortifizierte Bohne das Potential hat sich positiv auf den Eisenstatus auszuwirken, muss sie sowohl einen hohen Eisengehalt, als auch gleichzeitig auftretende geringe Konzentrationen von Polyphenolen und Phytinsäure aufweisen.

Obwohl sowohl Inulin als auch Oligofruktose einen positiven Effekt auf die Eisenaufnahme von Tieren zeigten, war es uns nicht möglich denselben Effekt im Menschen zu zeigen. Die Eisenaufnahme während der Konsumierung von Inulin war leicht erhöht, jedoch war der Unterschied zur Eisenaufnahme während der Konsumierung von Placebo nicht signifikant. Es wird angenommen, dass Inulin die Eisenaufnahme im Dickdarm beeinflusst, diese jedoch im Vergleich zur Aufnahme im Duodenum eher gering ist. Deshalb besteht die Möglichkeit, dass eine von Inulin induzierte Verbesserung der Eisenaufnahme im Dickdarm nicht detektiert wurde. Es konnte jedoch der „bifidogene Effekt“ von Inulin gezeigt werden.