

Artículo Original

Cuantificación y Biodisponibilidad *In Vitro* de Hierro en harina de trigo y pan fortificado: Experiencia Ecuatoriana

Guillermo Fuenmayor, Kléver Sáenz, Marcia Racines, Edmundo Estévez, Diego Rentería, Abelel Robayo
Centro de Biomedicina, Unidad de Hematología y Nutrición, Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Central, Quito-Ecuador.

Resumen

Se realizó un estudio experimental, para determinar la cuantía y biodisponibilidad *in vitro* de hierro en harina de trigo sin fortificar y pan fortificado (30 mg $\text{SO}_4\text{Fe} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ / Kg). Se utilizaron técnicas recomendadas internacionalmente y validadas por el Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos (INTA) de la Universidad de Chile. La cuantía promedio de hierro encontrada en las muestras de harina sin fortificar fue de $1.139 \pm 0.056 \text{ mg}/100\text{g}$ de alimento, incrementándose a $4.1 \pm 0.01 \text{ mg}/100\text{g}$ luego de un proceso artesanal de fortificación. El porcentaje promedio de biodisponibilidad encontrado fue de 5.41 ± 0.13 . Estos resultados guardan concordancia con estudios similares realizados en harina ecuatoriana en el INTA. Este estudio constata el bajo contenido de hierro intrínseco de la harina de trigo consumida en el país ($1.139 \text{ mg Fe}/100\text{g}$), debido a su alto nivel de extracción, llegando a superar los niveles de restauración ($4.1 \text{ mg}/100\text{g}$), luego del proceso de fortificación. Además, se establece la factibilidad de realizar estudios de determinación de hierro en alimentos y de biodisponibilidad *in vitro*, como un mecanismo válido de monitoreo y control de este tipo de intervenciones nutricionales.

Palabras Clave: Hierro, Anemia, Fortificación, Biodisponibilidad *in vitro*, Intervención nutricional.

Summary

An experimental study was carried out to determine *in vitro* iron quantity and biodisponibility in non-fortified flour and fortified bread (30mg $\text{SO}_4\text{Fe} \cdot 7\text{H}_2\text{O}/\text{Kg}$). Internationally recommended techniques validated by the "Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos" from the "Universidad de Chile" were employed. The average quantity of iron found in the samples of non-fortified flour was $1.139 \pm 0.056 \text{ mg}/100\text{g}$, increasing to $4.1 \pm 0.01 \text{ mg}/100\text{g}$ after a handmade fortification process. The biodisponibility percentage found was 5.41 ± 0.13 . These results are similar to studies carried out on Ecuadorian flour in the INTA. This study verifies the low level of intrinsic iron content in the wheat flour consumed in the country ($1.139 \text{ mg Fe}/100\text{g}$) due to their high level of extraction, overcoming the restoration levels ($4.1 \text{ mg}/100\text{g}$) after the fortification process. Also, we settle down the feasibility of carrying out

studies of iron determination in foods and "in vitro" biodisponibility as a valid mechanism to monitor and control nutritional interventions of this type.

Key Words: Iron, Anemia, Fortification *in vitro*, Biodisponibility, Nutritional intervention.

Revista de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Central 1997; 22(1): 19-25.

Introducción

El problema nutricional más prevalente en el mundo, particularmente en los países en vías de desarrollo, constituyen las anemias nutricionales. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), del 15 al 20% (un billón de personas) sufren de esta carencia. En el Ecuador, se han reportado las siguientes prevalencias: 30% en las mujeres en edad fértil; 60% en mujeres embarazadas; 70% en niños de 6-12 meses; 40% en niños de 12 a 24 meses; 23% en preescolares; 36% en escolares y 30% en hombres adultos.^{1,2,20,43,44,50} Para mantener niveles óptimos de hierro es menester contar con una homeostasis entre los requerimientos corporales y las pérdidas de este oligoelemento, en definitiva, mantener un adecuado balance nutricional, el mismo que puede verse afectado por un aporte inadecuado o una absorción insuficiente del nutriente y/o por un aumento de los requerimientos o las pérdidas, elementos que pueden potencializarse o combinarse, determinando finalmente la presencia de una deficiencia de hierro, frente a la cual el organismo emplea en primer término las reservas corporales y cuando estas resultan insuficientes, se hace evidente una afectación de todas las funciones que este nutriente desempeña.^{3,8, 9,18,25,26,32}

Hierro y Biodisponibilidad

La principal fuente externa de hierro lo constituye la dieta, sin embargo, deben tomarse en cuenta las características de biodisponibilidad y el tipo de hierro que esta contenga.

La *biodisponibilidad del hierro* es la proporción de este nutriente utilizado por el organismo para satisfacer los procesos metabólicos normales, constituyéndose en un factor determinante en el "status" del hierro que depende, entre otros factores, del contenido de Fe de los alimentos (calidad y cantidad), de su coeficiente de absor-

Dirección para correspondencia: Dr. Guillermo Fuenmayor, Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Central, Centro de Biomedicina, Iquique y Sodiro, Teléfono 528690, 528810, Quito-Ecuador.

ción, de la acción combinada de otros nutrientes en la dieta, ya sea como facilitadores o inhibidores de la absorción, así como también de las reservas corporales de hierro.^{4,21,41,45}

Existen alimentos ricos en Fe como las carnes, las vísceras, el maíz, el fríjol y la quinoa, y alimentos pobres en este oligoelemento como los tubérculos (papas, ocas...) y los cereales (arroz, trigo...). Sin embargo, independientemente de la cantidad de este elemento contenido en los alimentos, su absorción depende directamente del tipo de Fe que este contenga, así, el **hierro hemínico** proveniente de los alimentos de origen animal, en especial de aquellos que contienen hemoglobina y/o mioglobina, donde se encuentra enlazado al anillo porfirínico (complejo Ferroporfirina), posee una biodisponibilidad que oscila entre el 10 y el 25%; en tanto que el **hierro no hemínico** presente en los alimentos de origen vegetal, en especial en cereales y frutas, se encuentra en forma de sales y su rango de absorción varía entre el 1 y el 5%.^{2,5,7}

El grado o coeficiente de absorción del hierro depende de múltiples factores como son: el estado de oxidación del elemento, la solubilidad del mismo, la presencia de facilitadores de la absorción como ciertos ácidos orgánicos (ascórbico, cítrico, láctico, málico, tartárico); los tejidos animales (proteínas, polipéptidos, péptidos); azúcares como la fructuosa; ciertos aminoácidos (cisteína, glicina, histidina); y el alcohol.^{4,45} También depende de la presencia de inhibidores de la absorción como es el caso de los compuestos fenólicos (taninos, polifenoles), fosfatos, fitatos, fibras vegetales, ciertas proteínas como la ovoalbúmina, proteínas vegetales, calcio, magnesio, cobre, cadmio y cobalto.^{21,41}

La absorción del hierro varía en función inversa a las reservas corporales y en función directa a la actividad eritropoyética.

El hierro se absorbe en su mayor parte en el tubo digestivo superior (duodeno y yeyuno) y un pequeño porcentaje de éste puede ingresar por los segmentos intestinales más caudales. De la luz del tubo digestivo pasa a través del epitelio intestinal hacia la sangre e implica las siguientes etapas: presentación a la superficie celular, entrada en la célula a través de la primera membrana (borde en cepillo o membrana luminal), transporte a través del citoplasma, salida de la célula atravesando la membrana baso-lateral y transporte en la sangre. (Figura I).

Desde el intestino el hierro puede ingresar de dos maneras: en forma de hierro hem o como sales de hierro fe-

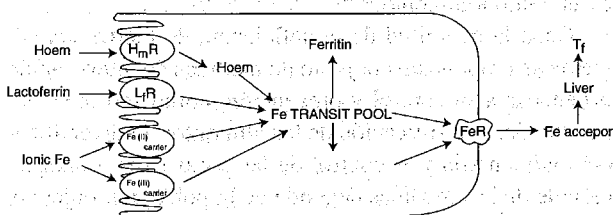


Figura I.- Tomado de Fairweather-Tait S., 1989

roso o férrico, así, los alimentos de origen animal como las hemoproteínas (hemoglobina, mioglobina, etc.), que contienen cuantías importantes de hierro hemínico, sufren la acción de proteasas y del ácido clorhídrico del jugo gástrico, produciendo la liberación del hem de su apoproteína, el anillo ferroporfirínico libre es captado por las células epiteliales gastrointestinales donde por acción enzimática, se degrada el anillo tetrapirrólico liberando el hierro. La absorción del hierro hem es influenciada muy poco por otros componentes de la dieta. Al contrario, la biodisponibilidad y absorción del hierro no hemínico son muy variables, su absorción depende de su estado de oxidación, de su solubilidad y de la presencia de quelantes, agentes reductores, etc. Los alimentos de origen vegetal (legumbres, tubérculos cereales, etc.) que contienen hierro no hemínico en forma de sales, ingresan al estómago en donde el pH ácido favorece la solubilización y reducción de hierro férrico a ferroso (en los alimentos el hierro se encuentra frecuentemente como Fe III); es más, la absorción del hierro no puede hacerse sino solamente de forma reducida (Fe II). En el duodeno el pH alcalino favorece la quelación del hierro férrico a sales insolubles de hidróxido férrico. Por acción de agentes reductores (ácido ascórbico), se facilita la absorción reduciendo el hierro del estado férrico al ferroso, el hierro ferroso (microquelatos solubles) y otras sustancias como el citrato, pueden mejorar la solubilidad del hierro inorgánico, facilitando su absorción. Los fitatos presentes en los cereales, pueden impedir su absorción, al formar complejos insolubles con el hierro.

La fijación y transporte de hierro en los enterocitos se efectúa probablemente gracias a una proteína de transporte intracelular. El proceso de fijación y transporte de hierro desde el lumen intestinal al plasma podría efectuarse según uno de los tres modelos descritos a continuación:

1. La apotransferrina plasmática (P-apoTf) entra en la célula intestinal por el lado seroso, liga el hierro férrico y retorna al plasma como transferrina diférrica (P-Tf (Fe₂)).
2. Otra apotransferrina sintetizada en la mucosa (M-apoTf) capta a 2 átomos de hierro férrico (M-Tf (Fe₂)) y los transfiere a la apotransferrina plasmática (P-apoTf) del lado baso-lateral del eritrocito.

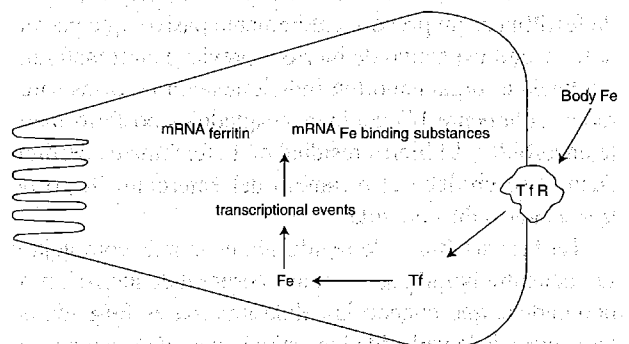


Figura II.- Tomado de Fairweather-Tait S., 1989

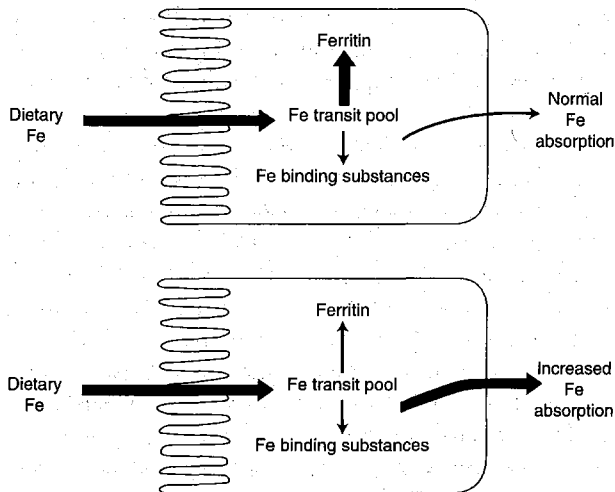


Figura III.- Tomado de Fairweather-Tait S., 1989

3. El hierro férrico es ligado por la apotransferrina mucosa (M-apoTf) y es esta misma proteína la que se encarga de transportar el hierro por la superficie serosa como (M-Tf (Fe₂)) hasta el plasma.

La absorción está regulada por un mecanismo todavía no bien dilucidado, pero se proponen varias teorías: (Figura II y III).

- A. Se hipotetiza que al formarse el enterocito éste recibe una carga de hierro proporcional a las reservas del organismo, dicha carga controlaría el ingreso de hierro al polo apical de la célula intestinal.
- B. Los enterocitos son informados de las reservas de hierro que tiene el organismo en forma periódica por intermedio de un mensajero humoral todavía no identificado.¹¹

En definitiva, los procesos absorptivos del hierro cursan por tres fases distintas: luminal, mucosa y sistémica. La fase luminal consiste en la exposición del hierro al borde en cepillo de la mucosa intestinal, donde se han descrito proteínas de anclaje específicas para este oligoelemento (Membrane Iron Bindings Proteins - MIBP), que son las responsables de su transferencia hacia el citosol celular.¹⁵

La fase mucosa de regulación de la absorción reside en el enterocito y ocurre en varias etapas: la captación desde la luz intestinal, una vía de depósito de ferritina y una vía rápida de tránsito hacia la circulación. La síntesis de ferritina es un proceso enteramente pasivo, que permite un secuestro activo de hierro y previene su transferencia hacia el organismo (en individuos con reservas saturadas, solamente 1/3 del hierro captado es posteriormente absorbido). El hierro residual de la ferritina es perdido cuando se produce el recambio del enterocito luego de tres a cuatro días de vida.¹⁵

La fase sistémica de regulación es la más compleja y se encuentra basada en el "status corporal de hierro", proponiéndose que cuando la célula mucosa es formada en las criptas de la vellosidad intestinal, una señal es incorporada en la célula neoformada dotándola de la capacidad de

movilizar hierro en cuantías determinadas, sin embargo, el mecanismo exacto de regulación es aún desconocido.⁶

La regulación celular del balance de hierro parece depender del efecto que ejerce el hierro almacenado sobre la síntesis de ferritina y receptores de transferrina. Este mecanismo regulatorio involucra los efectos de este micromineral sobre los elementos respondedores del mismo (Ironresponsive elementsIRE) en las regiones no transcritas (UTR) del ARNm de la ferritina y de los receptores de transferrina. Los IREs son segmentos no transcritos que han sido identificados en el RNAm que codifica el receptor de transferrina, ferritina y delta ALAsintetasa, ubicados en los extremos 5' y 3'. El RNAm que codifica los receptores de la transferrina, contiene 5 IREs en su extremo 3'UTR. El RNAm que codifica la ferritina y la delta ALAsintetasa contiene un IRE en el extremo 5'-UTR. El IRP (Proteína reguladora del hierro) constituye la estructura clave en el control del metabolismo celular del hierro. Esta actúa como un sensor molecular de los niveles de hierro en la célula e interviene uniéndose a los IREs con una alta afinidad cuando las células están depletadas de hierro. El óxido nítrico induce la actividad ligadora de las proteínas IRP a los segmentos IRE del RNAm. Todo este complejo mecanismo regularía la expresión de los receptores de transferrina, haciendo que esta sea inversamente proporcional en relación con las reservas corporales de hierro, ejerciendo una acción opuesta para el caso de la ferritina.^{15,40}

Medidas de Control para la Deficiencia de Hierro y Anemias Nutricionales

Las dietas de los países en vías de desarrollo han demostrado poseer entre un 90 a 95% de hierro no hemínico. Freire W,¹⁷ demostró que los promedios de consumo y adecuación de hierro en el Ecuador no alcanzan los niveles promedios satisfactorios debido fundamentalmente a una dieta donde predominan los cereales y sus derivados (maíz, arroz, trigo) y las raíces y tubérculos, por ser los alimentos de más fácil acceso, con el esperado impacto en términos de biodisponibilidad.

Por las características dietético-nutricionales antes mencionadas, nuestra población enfrenta un franco deterioro de su "status de hierro", en especial en los grupos considerados de riesgo (mujeres embarazadas, niños menores de un año y preescolares), donde pueden evidenciarse deterioros funcionales que se manifiestan como: peso bajo al nacer, prematuridad, disminución del rendimiento físico e intelectual llegando incluso a presentar alteraciones en el comportamiento.^{13, 14,22,29,30,34,35,39,42,46,48}

Dada la magnitud de la deficiencia de hierro, actualmente se propone un conjunto de medidas de intervención orientadas a su control y prevención, como son la suplementación, la fortificación de los alimentos, la diversificación alimentaria y el control de las parasitosis. La selección de dichas medidas depende de la población objetivo, de la distribución de la deficiencia en la población, de sus características socio culturales, de los recursos tecnológi-

cos, de los niveles de decisión política, del grado de organización de los servicios de salud y educación y del nivel de urbanización de la población, entre otros.^{12,16,20,27,28,31,33}

Fortificación de Alimentos

Este procedimiento se basa en la adición tecnológica de un nutriente a los alimentos, para mantener o mejorar la calidad de aporte alimentario de un grupo poblacional en el cual, la cantidad del nutriente incorporado es tradicionalmente insuficiente.

El objetivo de la fortificación es el de incrementar la densidad de un nutriente particular en un alimento seleccionado. A través de la fortificación de alimentos, la ingesta de hierro de una población puede incrementarse sin necesidad de inducir cambios en los hábitos alimentarios ni en la tipología. Las estrategias de fortificación pueden ser focalizadas (alimentos infantiles, complementos alimentarios para embarazadas) o no focalizadas (alimentos de consumo masivo).

La dificultad central de esta estrategia se encuentra ligada a la definición del "alimento vehículo" y a la forma de hierro utilizada para fortificar el alimento vehículo. Los organismos especializados han establecido un conjunto de normas técnicas y procedimientos para seleccionar el alimento vehículo y el fortificante, en concordancia con las características de los países que adoptan estas estrategias.^{25,27,28,31,38,47,49}

Los principales factores que influyen en la absorción de hierro del alimento fortificado son: el tipo de compuesto de hierro seleccionado: el fortificante más comúnmente utilizado es el compuesto de hierro soluble, como el sulfato ferroso (utilizado en la fortificación de harina de trigo y cereales infantiles); compuestos férricos ionizables; compuestos insolubles de hierro; compuestos complejos de hierro como el NaFeEDTA (sodium ferric ethylenediaminetetraacetic acid), es el fortificante recientemente incorporado al arsenal de productos de ésta naturaleza por sus buenas propiedades organolépticas y biodisponibilidad. El hierro-hem constituye una fuente alternativa a considerar por su alta biodisponibilidad y aceptabilidad, su biodisponibilidad relativa, la composición de la dieta y del régimen alimentario y el status de hierro de los sujetos beneficiarios de la intervención.²⁸

El efecto de la fortificación sobre el balance del hierro se establece a partir de la prevalencia de la deficiencia de hierro en la población objetivo y de la distribución de los requerimientos de hierro en la población total,²⁴ y pueden predecirse a partir de dos grandes factores 1) la estimación de la cantidad extra de hierro que será absorbida por la población objetivo y 2) por su efecto esperado sobre el balance de hierro en este grupo.

Numerosas investigaciones realizadas en países subdesarrollados han demostrado una importante eficacia y efectividad de la fortificación de los alimentos con hierro. Los efectos positivos de esta intervención se evidencian a largo plazo y su impacto sobre la hemoglobinosíntesis constituye una respuesta al cambio del status de hierro en

poblaciones con status férrico muy bajo, lo que explica la amplitud del impacto en el incremento de Hb entre 0,2 a 4 g/dl tanto en población seleccionada cuanto en población abierta.⁴⁶

Los alimentos utilizados con mayor frecuencia como vehículos de un programa de fortificación son los cereales básicos como el trigo, el arroz, el maíz; debido a su alto consumo en los países en desarrollo. En el Ecuador el consumo de harina de trigo es ampliamente difundido, 88 gramos por habitante por día, se procesa centralmente y tiene prestigio.³⁶

De acuerdo al informe presentado por la Agencia Internacional para el Desarrollo,³⁸ los alimentos que han sido fortificados con hierro hasta el momento incluyen el trigo, las harinas de trigo y de maíz, las fórmulas para lactantes, el arroz en las Filipinas, azúcar en Guatemala, sal en la India, Indonesia y Tailandia y leche descremada reconstituida y bizcochos en Chile. También se ha fortificado agua con hierro. Los alimentos que tienen colores intensos y sabores fuertes son particularmente indicados para la fortificación con sales de hierro, porque permiten el uso de compuestos de hierro más reactivos, tal es el caso de la salsa de pescado en Tailandia, polvo curry en Africa del Sur y bebidas como el "Kool Aid" en Egipto.

Fortificación con hierro de la harina de trigo

La fortificación de cereales de grano entero con compuestos solubles de hierro es difícil, debido a que los fortificantes son susceptibles de sufrir la oxidación grasa durante el almacenamiento y por lo tanto reducen el tiempo de vida media del cereal, sin embargo las harinas de baja extracción, que contienen menos grasa, ácido fítico y fibras son buenos vehículos alimentarios. El fortificante es polvo de hierro reducido cuando se espera una vida media prolongada y sulfato ferroso cuando la vida media es corta. Su potencia y dilución no es determinada, tiene buena estabilidad y los resultados de pruebas de campo sugieren que en los países desarrollados la harina fortificada con hierro reduce y previene la anemia. Tiene varios problemas técnicos sobre todo para la mezcla del fortificante con la harina como la agregación del mismo cuando se utilizan sistemas neumáticos de eyección del fortificante. Una limitación importante es que la harina de trigo consumida en los países en desarrollo es en su mayoría importada y además su consumo es mayor en los grupos sociales de altos ingresos.

En el Ecuador se ha realizado fortificación experimental de la harina de trigo con $\text{SO}_4\text{Fe} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, a razón de 30 mg/Kg. de harina, con la cual se produce pan y fideos, sin presentarse cambios organolépticos significativos en los productos finales. El Ministerio de Salud Pública, a través de su Instituto de Investigaciones para el Desarrollo de la Salud (IIDES), ha impulsado el Programa Integrado de Micronutrientes, con la finalidad de controlar las principales deficiencias de micronutrientes y específicamente la deficiencia de hierro. En el marco de este programa, el 10 de Agosto de 1996, en registro oficial

No 1008, se expide el reglamento de fortificación y enriquecimiento de la harina de trigo en el Ecuador con hierro, ácido fólico y vitaminas del complejo B.^{19,37}

Estudios de Absorción del Hierro Alimentario

A pesar de los extensos estudios realizados para conocer la absorción del hierro alimentario, es realmente poco lo que se conoce con relación a la naturaleza y disponibilidad del hierro de los alimentos. Los métodos originales para medir la absorción del hierro se basaron en la determinación química de todo el hierro que se encontraba en los alimentos a ser ingeridos, pero debido a que solo una pequeña proporción del hierro de la dieta se absorbe en los individuos normales, se requerían largos períodos de estudio para obtener datos significativos, los estudios eran tediosos para el sujeto de estudio y para el investigador y se obtenían resultados con baja sensibilidad y especificidad.

La introducción de isótopos radioactivos hizo posible marcar con hierro radioactivo un solo alimento de forma biosintética (marcación intrínseca); estudios con estos alimentos radiomarcados demostraron que la absorción desde alimentos individuales difiere marcadamente y que algunas de estas diferencias se deben a la asociación de facilitadores e inhibidores de la absorción de hierro. Sin embargo, debido a que la mayor parte de interacciones se producen cuando se ingieren varios alimentos en la misma comida, se tenía poca información acerca de la absorción del hierro desde una dieta completa. En algunos estudios una pequeña dosis de hierro radioactivo inorgánico fue administrada como bebida durante la ingestión de varios alimentos "standard", este modelo fue utilizado para medir la absorción del hierro en sujetos normales y en sujetos con patologías como aclorhidria y deficiencia de hierro, asumiendo que la absorción del hierro inorgánico indicaba la medida de la asimilación del hierro alimentario, la precisión del método nunca fue establecida.

Varios estudios colaborativos realizaron la ingesta de alimentos marcados biosintéticamente junto con una bebida que contenía un marcador extrínseco (hierro radioactivo), observándose que la absorción del marcador extrínseco fue idéntica a la del marcador biosintético.^{1,10,23}

La dificultad que presentan los estudios de este tipo se basa sobretodo en la utilización de marcadores isotópicos, es decir radiaciones, las cuales a pesar de que se utilizan en bajas dosis, no dejan de presentar riesgos para los sujetos de estudio. Actualmente se recomienda la realización de estudios in vitro, simulando la digestión gastro-intestinal y midiendo el paso de hierro desde el alimento hacia el interior de un tubo de diálisis.

El presente trabajo, se ha desarrollado con la finalidad de instalar y estandarizar la técnica para determinación de las cuantías de hierro en los alimentos y su biodisponibilidad "in vitro" (cuantitativa y cualitativa), así como desarrollar un proceso de transferencia e impulso tecnológico que nos permita determinar en el ámbito local, la biodisponibilidad de ciertos nutrientes, tomando como punto de partida al hierro.

Materiales y Métodos

El presente es un estudio experimental realizado en harina de trigo y en pan fortificado con $\text{SO}_4\text{Fe} \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ (Merck), a razón de 30 mg/Kg de harina (fortificación artesanal). Los procedimientos que se detallan a continuación se realizaron en la Unidad de Hematología y Nutrición del Centro de Biomedicina de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Central del Ecuador, utilizando los métodos recomendados por el Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos de la Universidad de Chile (INTA): método de Miller modificado para el estudio de biodisponibilidad "in vitro" y el método de digestión húmeda (AOAC) para la cuantificación de hierro en alimentos.

Procedimientos y Resultados

1. Estandarización de la técnica para determinar en forma cuantitativa el hierro contenido en alimentos, por método de digestión húmeda.
2. Determinación colorimétrica con estándares para construir la curva de calibración del Fe^{++} con batofenantrolina sulfonato, empleando una longitud de onda de 546nm, obteniéndose los siguientes puntos en la regresión lineal con 4 puntos conocidos. (Tabla I).

Tabla I. Curva de Calibración del Fe con Batofenantrolina Sulfonato (546nm)

Puntos En X, Y	Concentración standard (ug/ml)
0.061	1
0.1235	2
0.1855	3
0.2465	4

$$F(x) = 8.158985 \times 10^{-3} + (16.766 \times X)$$

Coefficiente de determinación (R^2) = 0.9999699
 Coeficiente de correlación (r) = 0.999985
 Error de estimación = 8.66907 $\times 10^{-3}$

3. Determinación en duplicado del contenido de hierro en tres muestras de harina "Estrella de OctubreMR. Tabla II

Tabla II. Cuantías de hierro (mg) por cada 100 g de harina sin fortificar

MUESTRAS	Fe (mg / 100 g)
1	1.198
2	1.086
3	1.132
X ± SD	1.139 ± 0.056

4. Panificación y fortificación artesanal con sulfato ferroso (30 mg / Kg. de harina) añadido durante el proceso de homogenización de la masa de panificación.
 5. Determinación por duplicado del contenido de hierro de 3 muestras de pan fortificado. Tabla III.
- Una vez estandarizada la técnica para el estudio in vitro

Tabla III. Cuantías de hierro (mg) por cada 100 g de pan fortificado

MUESTRAS	Fe (mg / 100 g)
1	4.11
2	4.10
3	4.09
X ± SD	4.1 ± 0.01

de la biodisponibilidad del hierro, empleando el método de Miller modificado por el Instituto de Nutrición y Tecnología de los alimentos (INTA - CHILE), se procedió a: 6. Determinación por duplicado del contenido de hierro en 3 muestras del digerido intestinal, a partir de 100g de pan fortificado previamente deshidratado. Tabla IV.

Tabla IV. Cuantías de hierro (mg) por cada 100 g de pan fortificado en fase de digestión intestinal

MUESTRAS	Fe (mg / 100 g)
1	0.854
2	0.911
3	0.876
X ± SD	0.880 ± 0.029

7. Determinación por duplicado del contenido de hierro en 3 muestras de dializado. Tabla V.

Tabla V. Cuantías de hierro (mg) por cada 100 g de pan fortificado en fase de dializado

MUESTRAS	Fe (mg / 100 g)
1	0.047
2	0.048
3	0.048
X ± SD	0.0476 ± 0.005

8. Determinación del porcentaje de hierro dializado desde la muestra de digerido intestinal hacia el interior del tubo de diálisis. Tabla VI.

Tabla VI. Porcentaje de Hierro dializado a partir de la fase intestinal

Muestras	Digerido Intestinal (mg Fe/100g)	Dializado (mg Fe)	Porcentaje de diálisis
1	0.854	0.047	5.50
2	0.911	0.048	5.26
3	0.876	0.048	5.47
X ± SD	0.880 ± 0.029	0.0476 ± 0.005	5.41 ± 0.130

Discusión

La fortificación de alimentos de consumo masivo constituye una de las estrategias de mayor éxito para prevenir las deficiencias nutricionales. El costo inicial de esta estrategia es modesto y el costo en términos de sustentabilidad es mucho menor que el de la suplementación. Sin

embargo, existen muchas dificultades en la fortificación de las dietas con hierro, siendo la más importante la elección de un fortificante que asegure un porcentaje adecuado de biodisponibilidad y que no altere las características organolépticas del vehículo empleado.⁹

En el caso del Ecuador y de acuerdo a las tendencias de consumo alimentario, uno de los vehículos más viables para este fin es la harina de trigo, debido a que ésta se utiliza en grandes cantidades ya sea como pan o pastas (fideos). Lamentablemente la producción local representa menos del 5% de la demanda nacional.^{19,37}

Este estudio constata el bajo contenido de hierro intrínscico de la harina de trigo consumida en el país (1.139 ± 0.56 mg Fe/100g), debido a su alto nivel de extracción. Luego de la fortificación, la harina incluso supera los niveles de restauración (4.1±0.01 mg/100g). Además, se establece la factibilidad de realizar estudios de determinación de hierro en alimentos y de biodisponibilidad in vitro, como un mecanismo válido de monitoreo y control de este tipo de intervenciones nutricionales.

El montaje y operacionalización de la técnica de determinación cuantitativa de hierro en alimentos, no mostraron ninguna dificultad. Los resultados obtenidos tanto de la harina sin fortificar como del pan fortificado son superiores a los obtenidos por el INTA (1.45 mg Fe/100g de muestra y 3.12 mg Fe/100g de muestra respectivamente), lo que puede deberse a un diferente grado de extracción entre la harina empleada en el INTA y la empleada por nosotros, pese a ser de la misma marca comercial.

La determinación colorimétrica con estándares para la obtención de la curva de calibración del Fe con batofenantrolina sulfonato, empleando una longitud de onda de 546nm, es óptima. No se empleó una longitud de onda de 535 nm por carecer de este filtro en nuestro espectrofotómetro. (Eppendorf PCP 6121).

El proceso de fortificación artesanal del pan, en la forma implementada en este trabajo, garantiza una buena distribución y homogenización del fortificante en el vehículo.

El contenido promedio de Fe en el digerido intestinal fue de 0.88±0.029 mg Fe/100g de muestra, dato que supera casi en siete veces al obtenido en el INTA (0.136 mg Fe/100g de muestra), debido probablemente al mayor contenido de hierro de la harina empleada por nosotros y a la fortificación artesanal implementada.

La cuantía promedio de hierro del dializado (0.0476±0.0005mg Fe), concuerda con los reportados por el INTA (0.048 mg Fe).

El porcentaje promedio de hierro dializado desde la muestra de digerido intestinal hacia el interior del tubo de diálisis fue 5.41±0.130, dato superior al encontrado en el INTA (3.5%), diferencia provocada seguramente por las mismas razones que provocaron la diferencia en la concentración de hierro del digerido intestinal.

Conclusiones

- La biodisponibilidad in vitro del hierro de los alimen-

tos, constituye una técnica de bajo costo, fácil implementación y de alta confiabilidad para determinar el aporte de este oligoelemento en alimentos fortificados y brinda una alta confiabilidad para establecer las cuantías de aporte con dietas fortificadas consumidas por sujetos o poblaciones sometidas a este tipo de intervenciones.

- Todo alimento ha emplearse como vehículo de fortificación, debe ser sometido previamente a pruebas de biodisponibilidad in vitro, con el fin de determinar las cuantías aportadas del micronutriente.
- La determinación de hierro en los alimentos fortificados, debe emplearse como un método de control de calidad a lo largo de intervenciones de este tipo, asegurando así la presencia de niveles óptimos de fortificante en el alimento y la adecuada distribución del mismo (homogenización) tanto en la materia prima como en sus productos terminales.

Bibliografía

- Acosta A, et al: Iron absorption from typical Latin American diets., *Am J Clin Nutr*, 1984; 39: 953-962.
- Asenjo JA, et al: Use of bovine heme iron concentrate in the fortification of biscuits. *Journal of food science*, 1985; 50: 795-799.
- Basante L, Racines-Orbe M, Fuenmayor G, Estévez E: Evaluación de la deficiencia de hierro y anemia ferropriva en población de alto riesgo. *Revista de la Facultad de Ciencias Médicas*, 1991; 16: 3-4.
- Briser H, Hallberg L: Effect of ascorbic acid on iron absorption. *Acta Med. Scan*, 1962; 171(376): 51-58.
- Callender S, et al: Absorption of hemoglobin iron. *Brit. J. Haematolog*, 1967; 3: 186.
- Conrad ME, Crosby WH: Intestinal mucosal mechanisms controlling iron absorption. *Blood Rev*, 1963; 22: 406.
- Conrad ME, et al: Food iron absorption in the human subject. III. Comparison of the effect of animal protein on non-heme iron absorption. *Am J Clin Nutr*, 1976; 29: 859.
- Cook JD, Skikne BS: New Approches to the assessment of iron Nutriture. In: Herberg, S, Galán P, et Dupin H (Eds): *Aspects actuels des carences en fer et en folates dans le monde. Colloque INSERM*, 1990; 197: 129-136.
- Cook JD, Reusser ME: Iron fortification: an update. IN: *American Journal of Clinical Nutrition*, 1983; 38.
- Cook JD, et al: Food iron absorption in measured by an extrinsic tag., *J Clin Invest*, 1972; 51: 805-815.
- Estévez E: Estimación de la carencia de hierro y anemia ferropriva en población de alto riesgo. Uso de Indicadores bioquímicos y hematológicos. Tesis de Especialidad. Universidad Central del Ecuador. Quito, 1990.
- Estévez E: La deficiencia de hierro y las anemias nutricionales en el Ecuador: Estado del arte, magnitud y soluciones. Primer Congreso Ecuatoriano de Biopatología Andina y Tropical. Academia Ecuatoriana de Medicina. Quito, 1995.
- Estévez E, Egas M, Pazmiño G, Herrera P, Fuenmayor G, Racines M, Sáenz K: Consecuencias funcionales de la deficiencia de hierro: Nuevas piezas en el rompecabezas de la función cognitiva. En: *Anemia por deficiencia de hierro en la región Andina. Definición y estrategias de intervención. Actas del seminario taller UMSA-SNS-IBBA-ORSTOM*. Ed. ORSTOM. La Paz, 1996.
- Estévez E, Herrera P, Fuenmayor G, Sáenz K: El status de hierro: Historia de las ideas y estado del arte. En: *Anemia por deficiencia de hierro en la región Andina. Definición y estrategias de intervención. Actas del seminario taller UMSA-SNS-IBBA-ORSTOM*. Ed. ORSTOM. La Paz, 1996.
- Fairbanks VF: Iron in Medicine and Nutrition. IN: Shils, M., Olson, J and Shike, M. *Modern Nutrition in health and disease*. 8ed. Ed. Lea & Febiger. EEUU, 1994.
- FAO: Estrategias para combatir las carencias de micronutrientes. Alimentación, Nutrición y Agricultura No 7, Roma, 1993.
- Freire W, et al: Diagnóstico de la situación alimentaria, nutricional y de salud de la población ecuatoriana menor de cinco años -DANS. CONADE-MSP. Quito, 1988.
- Freire WB: Hemoglobin as a predictor of response to iron therapy and its use in screening and prevalence estimates. *Am J Clin Nutr*, 1989; 50: 1442-1449.
- Fuenmayor G: Biodisponibilidad del hierro en alimentos ecuatorianos fortificados. Tesis de Especialidad (Ciencias Básicas Biomédicas). Universidad Central del Ecuador. Quito, 1997.
- Galloway R, McGuire J: Determinants of compliance with iron supplementation: supplies, side effects or psychology ?. *Soc Sci Med*, 1994; 39: 381-390.
- Gilloly M, et al: The effects of organic acids, fitates and polyphenols on the absorption of iron vegetables. *Br J Nutr*, 1983; 49: 331-342.
- Guillespie S, Kevany J: Controlling iron deficiency. ACC/SCN, 1991.
- Hallberg L, et al: The measurement of food iron absorption in man. *Br J Nutr*, 1979; 41: 283-289.
- Hallberg L: Factors Influencing the Efficacy of Iron Fortification and the Selection of Fortification Vehicles. In: Clydesdale, F., and Wierner, K. (Eds). *Iron Fortification of Foods*. The Nutrition Foundation. Academic Press Inc. Orlando, 1985.
- Hercberg S: La carence en fer en nutrition humaine. *Et Médicales Internatioales*. París, 1988.
- Hercberg S: Iron and folate deficiency anaemias Children in the tropics 186. *International Children's Center-Paris*, 1990.
- INACG: Combating iron deficiency anaemia through food fortification technology. Nutrition Foundation. Washington DC, 1990.
- INACG: Guidelines for the eradication of iron deficiency anaemia. The Nutrition Foundation. Washington, DC, 1977.
- INACG: Iron deficiency in infancy and childhood. A report of the INACG, the nutrition foundation. Washington DC, 1979.
- INACG: Iron deficiency in women. A report of the INACG, the nutrition foundation. Washington DC, 1981.
- INACG: Iron EDTA for Food Fortification. The Nutrition Foundation, Inc. Washington DC, 1993.
- INACG: Measurements of Iron Status. The Nutrition Foundation, Inc. Washington, DC, 1985.
- INACG: The design and analysis of iron supplementation trials. The Nutrition Foundation. Washington, DC, 1984.
- Levin H, Pollit E, Galloway R, McGuire J: Micronutrient deficiency disorders. In: Jamison D, Mosley W, Maesham A, Bobadilla J (eds). *Disease control priorities in developing countries*. New York: Oxford University Press, 1993.
- McGuire J: Addressing micronutrient malnutrition. Article adapted and edited from the paper "Best practices in addressing micronutrient malnutrition". Word Bank. In: *Focus on micronutrients*. SCN News 9, 1993.
- MSP: Programa Integrado de Micronutrientes. MSP. Quito, 1995.
- MSP: Fortificación de la harina de trigo. MSP. Quito, 1997.
- Nestel P: Food fortification in developing countries. USAID/VITAL. Washington DC, 1993.
- OPS/OMS: Ambiente, nutrición y desarrollo mental. Publicación científica No 450. Washington DC, 1983.
- Pantopoulos K, Weiss G, Hentze MW: Nitric oxide and the post transcriptional control of cellular iron traffic. IN: *Trends in Cell Biology*, 1994; 4(3): 82-85.
- Pizarro F, et al: Efecto de la canela y del té sobre la absorción del hierro no hémico. *Rev Chil Nutr*, 1988; 16(3).
- Pollit E: Malnutrition and infection in the classroom. UNESCO, 1990.
- Rodríguez A, et al: Deficiencia de vitamina A en provincias de pobreza crítica de Ecuador. Ministerio de Salud Pública. Quito, 1994.
- Sanghavi T: Nutrientes vitales. Vital 1991.
- Stekel A, et al: The rol of ascorbic acid in the bioavailability of iron from infant foods. *Int J Vitam Nutr Resp*, 1985; 27: 167-175.
- Stoltzfus R: Iron deficiency and strategies for its control. A report prepared for the office of nutrition agency for international development / Jhon Hopkins University, 1993.
- USAID/VITAL: Tercer taller regional sobre deficiencias de vitamina A y otros micronutrientes en América Latina y el Caribe. Recife, 1993.
- Viteri FE, Torún B: Anaemia and physical work capacity. *Clin Haematol*, 1974; 4(3): 609-626.
- Walter T, Hertrampf E, Pizarro F, et al: Effect of bovine-haemoglobin-fortified cookies on iron status of schoolchildren: a nation-wide program in Chile. *Am J Clin Nutr*, 1993; 57: 190-194.
- WHO-UNICEF-WB-CIDA-USAID-FAO-UNDP: *Proceedings of Ending Hidden Hunger (A Policy Conference on micronutrients malnutrition)*. Montreal, Quebec, Canadá, 1991.