

**Universidad Nacional Agraria
La Molina**

Escuela de Post-Grado
Especialidad de Nutrición



**Absorción de hierro no-hemínico
de dietas comunes de
ablactancia mediante una
técnica *in vitro***

*Tesis para optar el Grado de
Magister Scientiae*

Doris Hilda Delgado Pérez

LIMA - PERU
1998

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POST GRADO
ESPECIALIDAD DE NUTRICION**

**ABSORCION DE HIERRO NO-HEMINICO DE DIETAS COMUNES
DE ABLACTANCIA MEDIANTE UNA TÉCNICA *IN VITRO***

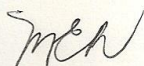
TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAGISTER SCIENTIAE

DORIS HILDA DELGADO PÉREZ

SUSTENTADA Y APROBADA ANTE EL SIGUIENTE JURADO



Ph. D. Victor Guevara C.
PRESIDENTE



Ph. D. Mariano Echevarria R.
PATROCINADOR



M. Sc. Jorge Lembcke D.
CO-PATROCINADOR



Ph. D. Carlos Gómez B.
MIEMBRO

DEDICATORIA

A mis padres, Zoraida y Lauro, fuentes inagotables de amor, apoyo y comprensión, por hacerme ser humano de valor.

A mis hermanos, Alberto, Gladys, Jorge y Fernando, por su constante apoyo moral y ejemplo de superación.

AGRADECIMIENTO

La autora de esta tesis expresa su agradecimiento al Divino Hacedor la oportunidad de investigar y adquirir más conocimientos.

Al Instituto de Investigación Nutricional por el apoyo y facilidades brindadas en el uso de sus laboratorios, al M. Sc. Kervan Rivera quien dirige el Laboratorio de Bioquímica Nutricional y a todo el personal que labora en dicho laboratorio por su gran acogida y orientación.

A la Agencia Internacional de Energía Atómica y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, (CONCYTEC), por su apoyo en el financiamiento de esta investigación.

Al Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos de la Universidad de Chile por brindarme la oportunidad de realizar el análisis de hierro de las muestras, previa capacitación, y al Dr. Fernando Pizarro, por su especial colaboración para la realización de este trabajo y por sus valiosas enseñanzas en el procedimiento de la técnica in vitro.

A la Dra. Nelly Zavaleta, por su incondicional apoyo en el diseño y supervisión del estudio, sin el cual no hubiese sido posible la realización del presente trabajo.

A los Doctores Jorge Lembcke y Mariano Echevarría, patrocinadores de la tesis, por su valiosa asesoría y consejos por elevar el nivel profesional del graduado en la Universidad Nacional Agraria, La Molina.

A los miembros del jurado: Dr. Víctor Guevara y Dr. Carlos Gómez, por sus recomendaciones para hacer de este, un trabajo de calidad.

A todos mis profesores de la Universidad Nacional Agraria, que me ayudaron a profundizar y mejorar mis conocimientos.

CONTENIDO

I	INTRODUCCIÓN	10
II	REVISIÓN DE LITERATURA	12
	II.1 Hierro	12
	II.2 Hierro corporal	13
	II.3 Absorción de hierro	16
	II.4 Promotores de la absorción de Fe no hemínico.....	20
	II.5 Inhibidores de la absorción de Fe no hemínico.....	22
	II.6 Necesidad de hierro del infante	25
	II.7 Ablactancia (Alimentación complementaria).....	27
	II.8 Método para determinar disponibilidad de hierro.....	29
III	MATERIALES Y MÉTODOS	32
	III.1 Lugar de experimentación	32
	III.2 Selección de las dietas	32
	III.3 Estructuración de las dietas	34
	III.4 Preparación de las dietas	38
	III.5 Método de digestión in vitro	39
	III.6 Materiales	42
	III.7 Determinación de hierro total	43
	III.8 Determinación del hierro dializable	45
	III.9 Fórmula para calcular el hierro dializable	46

III.10	Diseño experimental	46
III.11	Valor Nutricional teórico de las dietas	47
IV	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	50
V	CONCLUSIONES	65
VI	RECOMENDACIONES	66
VII	RESUMEN	67
VIII	BIBLIOGRAFÍA	68
IX	APENDICE	76

INDICE DE CUADROS

	<u>Página</u>
CUADRO 1 Variación del hierro corporal durante el primer año de vida	27
CUADRO 2 Dietas estudiadas de los cuatro grupos	33
CUADRO 3 Primer grupo de siete dietas con alimentos comunes	35
CUADRO 4 Segundo grupo de tres dietas con alimentos comunes y fideos fortificados.....	36
CUADRO 5 Tercer grupos de dietas con un producto lácteo fortificado	36
CUADRO 6 Cuarto grupo de cuatro dietas con mezcla de alimentos extruidos y fortificados con Fe	38
CUADRO 7 Composición química calculada de las 16 dietas por 100 g de la parte comestible.....	49
CUADRO 8 Promedio de niveles de hierro total determinadas por el método colorimétrico de las dietas estudiadas.....	51
CUADRO 9 Porcentaje teórico del requerimiento de hierro de los infantes aportado por una ración de las dietas estudiadas.....	64

INDICE DE GRÁFICOS

	<u>Página</u>
GRAFICO 1 Esquema de digestión in vitro	40
GRAFICO 2 Efecto del ácido ascórbico sobre el hierro no hemínico, in vitro, dietas con alimentos comunes	53
GRAFICO 3 Efecto del hierro hemínico y el ácido ascórbico sobre la disponibilidad de hierro no hemínico, de dietas con alimentos comunes	55
GRAFICO 4 Efecto del ácido ascórbico y el té sobre la disponibilidad de hierro no hemínico in vitro de dietas con alimentos comunes y fortificado	57
GRAFICO 5 Porcentaje de disponibilidad de hierro no hemínico in vitro, dietas lácteas fortificadas	59
GRAFICO 6 Porcentaje de disponibilidad de hierro no hemínico, dietas con alimentos extruidos y fortificados	61

INDICE DEL APENDICE

- CUADRO 1** Análisis de variancia de la disponibilidad de hierro del primer grupo de estudio (D1 al D7) en un bloque completamente al azar con muestreo
- CUADRO 2** Análisis de variancia de la disponibilidad de hierro del segundo grupo de estudio (D8 al D10) en un bloque completamente al azar con muestreo
- CUADRO 3** Análisis de variancia de la disponibilidad de hierro del tercer grupo de estudio (D11 al D12) en un bloque completamente al azar con muestreo
- CUADRO 4** Análisis de variancia de la disponibilidad de hierro del cuarto grupo de estudio (D13 al D16) en un bloque completamente al azar con muestreo
- CUADRO 5** Porcentaje de disponibilidad de hierro no hemínico determinadas por el método in vitro de las dietas estudiadas

I. INTRODUCCIÓN

La deficiencia de hierro y la anemia ferropénica afectan a la población en general, especialmente a niños y mujeres en edad fértil tanto en países desarrollados como en los subdesarrollados. Esta deficiencia, aún sin manifestación de anemia, produce serias limitaciones en el desarrollo físico y mental del niño, que de no ser corregida influirá en las posibilidades que tengan de alcanzar su potencial de desarrollo.

Las causas de anemia ferropénica en los niños son múltiples e incluyen, bajo contenido de hierro dietario, baja biodisponibilidad de éste, infecciones y rápido crecimiento. En los países subdesarrollados, las infestaciones por giardia, uncicaria y otros parásitos también contribuyen a las altas tasas de prevalencia de las anemias.

La baja ingesta de hierro dietario es debido a la limitada biodisponibilidad en numerosos alimentos que son potencialmente buenas fuentes de hierro. Por otro lado, las dietas de los ablactantes son monótonas basadas en hierro no hemínico proveniente de cereales y tubérculos, y consideradas de baja biodisponibilidad. La biodisponibilidad del hierro no hemínico en la comida está en función de su forma química y de la presencia de algunos componentes de la dieta que pueden actuar como facilitadores o como inhibidores de su absorción.

Se han realizado numerosos estudios de disponibilidad de hierro, pero la mayoría de estos se han realizado a partir de un sólo alimento y utilizando marcadores isotópicos. Los resultados sugieren que el efecto de los modificadores sobre la disponibilidad se ve

sobredimensionado cuando se estudian alimentos aislados. Por eso la necesidad de realizar estudios en mezclas de alimentos.

El método extrínseco es el más preciso para medir la disponibilidad de hierro en las dietas de humanos, usando marcadores radioactivos o estables. Sin embargo, esta técnica es de alto costo, requiere laboratorios especializados y además toma mucho tiempo para evaluar un gran número de alimentos. El método in vitro muestra ventajas para cuantificar la disponibilidad de hierro, y puede predecir la tendencia de disponibilidad de las dietas estudiadas, y además es sencillo y de bajo costo. No tiene las dificultades presentes en los estudios en humanos y es factible de ser realizado en laboratorios no especializados.

El presente estudio tiene por objetivo determinar la absorción de hierro no hemínico usando una técnica in vitro para evaluar su biodisponibilidad en dietas comunes de ablactantes.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 HIERRO

El hierro es un nutriente esencial para la mayoría de los procesos de oxidación-reducción, y constituye el átomo central en la estructura de la hemoglobina. En el interior de la célula el hierro y otros microminerales constituyen parte de varias enzimas que catalizan reacciones de oxidación. Forma parte de la mioglobina, en el músculo, actuando como un reservorio de oxígeno y como constituyente de los citocromos y también participa en el transporte de electrones en el metabolismo energético de la célula. En las plantas, participa en la reducción del hidrógeno para la síntesis de los carbohidratos y como parte de la clorofila en los procesos fotosintéticos. (Murray, *et. al.*, 1994, McDowell 1992, O'Donnell *et. al.*, 1997).

Los requerimientos de hierro son de 10 a 15 mg/día en niños de 1 a 3 años, hasta 18 mg/día en adolescentes, en mujeres de 11 a 50 años 18 mg/día y unos 5-6 mg/día adicionales durante el segundo y tercer trimestre del embarazo (RDA, 1989). Este micronutriente, a pesar de ser fácil de encontrar en las dietas aún mal balanceadas, resulta sin embargo, en que su deficiencia es ampliamente distribuida en niños y mujeres en edad fértil, tanto en países industrializados como en países en vías de desarrollo. (INACG, 1985)

La mayor prevalencia de anemia por carencia de hierro ocurre entre los 6 y 24 meses de edad, coincidiendo con el crecimiento rápido del cerebro y con las

habilidades cognitivas y motoras del niño. (Murray, et. al., 1994, McDowell 1992, Cameron et al., 1983, O'Donnell et. al., 1997).

2.2 HIERRO CORPORAL

La cantidad total de hierro de un individuo depende del peso, composición corporal, concentración de hemoglobina y volumen de los compartimientos de depósitos. En términos generales se puede considerar que un individuo tiene hierro entre 25 y 55 mg/kg de peso corporal en el organismo, dependiendo de su edad y composición corporal. Alrededor del 80% del hierro orgánico se encuentra en la forma de hemoglobina. El resto está en el hígado como reserva y en menor medida en el riñón, bazo y otros órganos.

El hierro total del organismo circula entre distintos compartimientos en ciclo cerrado y eficiente. Del total de hierro movilizándose a diario, existe pequeñas porciones de pérdidas fecales microscópicas de sangre, en la orina y sudor. La reposición de esta pequeña cantidad perdida se realiza a través de la ingesta. A pesar de que la porción de hierro absorbible de alimentos es muy baja, el intestino regula eficientemente la cantidad de hierro que se retiene, mediante un complejo mecanismo de protección contra el exceso de hierro.

Desde el punto de vista didáctico el hierro corporal se encuentra en dos compartimientos: (1) En el almacenaje, constituido por la ferritina y la hemosiderina, considerado como reservas corporales de hierro, ellas mantienen constantes la cantidad de hierro del compartimiento funcional, ante los pequeños desbalances entre

ingesta y pérdidas. La cantidad de almacenaje va variando cuando los depósitos están vacíos y se comienza a desarrollar la anemia. La ferritina y la apoferritina tienen 24 cadenas polipeptídicas cuyo peso molecular es de 450 000. En adultos normales, el hígado tiene 50% de ferritina y 50% de hemosiderina. Se cree que la hemosiderina representa a la ferritina en varios estados de degradación. (2) El compartimiento funcional está conformado por numerosos compuestos de hierro entre los que se encuentran la transferrina, enzimas que requieren hierro, como grupo prostético la hemoglobina, la mioglobina y los citocromos. La transferrina es un compuesto que tiene solamente el 0,1% del hierro corporal cuyo peso molecular es de 74 000. Su función es transportar hierro del sistema retículo endotelial e intestinal a la médula ósea para síntesis de hemoglobina.

La tasa en la cual la transferrina lleva hierro depende de la relativa cantidad de mono o transferrina diférrica y de la tasa de producción de glóbulos rojos. El incremento de transferrina diférrica y el aumento de la tasa de eritropoyesis aumentan el abastecimiento de hierro a la célula.

La hemoglobina, es la más abundante de las proteínas hemínicas, tiene 65% del hierro corporal y en un adulto contiene aproximadamente 3.5 g de hierro. Es un cuarteto de 4 cadenas de globina, cada una asociada a un grupo hemínico, que contiene un átomo de hierro ferroso, cuyo peso molecular es de 66 000. Constituye más del 95% de las proteínas del glóbulo rojo y suma por encima del 10% del peso total de la sangre. Su función principal es el transporte de oxígeno vía sanguínea de los pulmones a los tejidos. (McDowell, 1992).

La mioglobina, otra de las proteínas con un grupo prostético heme forma el pigmento rojo del músculo. Transporta y almacena oxígeno para ser utilizado durante la contracción, tiene un peso molecular de 17 800. Su estructura es similar a las unidades monoméricas de hemoglobina.

Los citocromos son enzimas de transporte de electrones y están localizados en las mitocondrias así como en otras membranas celulares. Los citocromos A, B, C, están ubicados en las crestas de las mitocondrias y contienen el grupo prostético hemínico (hierro-porfirina). El cambio de la forma reducida a la oxidada del citocromo es esencialmente el cambio en el átomo de hierro ferroso a férrico, lo cual corresponde a la transferencia de un electrón desde la sustancia que se oxida y produce ATP.

El hierro como ion funcional se encuentra: en enzimas no hemínicas, como por ejemplo, las proteínas sulfuro-hierro, las metaloflavoproteínas, entre ellas tenemos: deshidrogenasa nicotinamida adenina dinucleótido (NADH), deshidrogenasa succinica, oxidasa xantina y en enzimas que son dependientes del hierro. Estas no tienen hierro en su composición pero requieren hierro como factor o activador, entre ellas tenemos a la pirolasa triptófano, carboxinasa fosfenol piruvato; y en enzimas que contienen hierro, pero la forma del hierro no es conocida, por ejemplo a la deshidrogenasa α glicerofosfato.

Una de las principales diferencias en el metabolismo de hierro entre niños y adultos es el grado de dependencia de tienen los niños al hierro dietético de alimentos. En adultos, aproximadamente el 95% del hierro necesario para la síntesis de hemoglobina proviene de la recirculación del hierro de los glóbulos rojos destruidos, dependiendo solamente del 5% de hierro alimentario. En cambio en el infante, menor

de un año de edad, en razón de su velocidad de crecimiento y de la necesidad de aumentar la masa globular, depende en un 30% de la ingesta de hierro, con una tasa de reutilización que es proporcionalmente menos importante con respecto al total del requerimiento. (Dallman *et. al.*, 1980; FAO/OMS, 1990; Cook, 1990).

2.3 ABSORCIÓN DE HIERRO

La absorción de hierro es de gran interés por su alta frecuencia de anemia atribuida a su baja biodisponibilidad en las dietas. El término de biodisponibilidad describe el porcentaje de hierro en el alimento que es absorbido y utilizado para propósitos fisiológicos como formación de células rojas. La biodisponibilidad de hierro proveniente de las leguminosas, oleaginosas, cereales son baja. El rango es de 1 al 10%. Pero cuando el hierro proviene de carnes su biodisponibilidad es considerablemente más alta que los alimentos vegetales. El hierro no hemínico de las carnes, pescado, pollo e hígado pueden estar cerca al 20% de disponibilidad y el hierro hemínico de las carnes solamente pueden estar alrededor del 30% de biodisponibilidad. Todo el hierro en las plantas es hierro no-hemínico y mucho del hierro presente en las carnes es también hierro no hemínico. La fuente de alimentos donde el hierro es más biodisponible es en leche humana. (Murray *et. al.*, 1994; Brody, 1992).

Hay dos clases de componentes de hierro en la dieta en relación con los mecanismos de absorción - hierro hemínico, proveniente de hemoglobina o mioglobina y hierro no-hemínico, derivado principalmente de cereales, frutas, y

vegetales. (Hallberg, 1981). La absorción de estas dos clases de hierro está influenciada de manera diferente por los factores dietarios.

El proceso de absorción de hierro puede ser dividido en tres etapas: (1) captación de hierro, (2) transporte intraenterocito, y (3) almacenamiento y transporte extra enterocito. Durante la fase intestinal de la digestión, el hierro se enlaza a sitios específicos de la membrana de la mucosa, donde es internalizado y luego, retenido en la célula de la mucosa o transportado a la membrana basolateral, donde se une a la transferrina plasmática. El proceso de absorción de hierro esta controlado por factores intraluminales, mucosales y somáticos. Una multitud de factores intraluminales afectan la cantidad de hierro disponible para absorción, bien sea como inhibidores o promotores. Factores mucosales influyen la extensión de la superficie de la mucosa y la motilidad intestinal. Los factores somáticos que influyen en la absorción de hierro incluyen la eritropoyesis y la hipoxia. (Murray et. al., 1994, Brody, 1992)

EL hierro inorgánico (ferroso, Fe^{+2} y férrico, Fe^{+3}) por acción del ácido clorhídrico del estómago se convierte todo a su forma reducida, ferroso. Algunas sustancias como el ácido ascórbico, ciertos aminoácidos y azúcares que pueden conformar quelatos de hierro de bajo peso molecular facilitan la absorción intestinal del hierro. Se ha postulado que en la secreción gástrica existe un factor estabilizador, probablemente un quelato endógeno, que impide la precipitación del hierro por el pH alcalino del intestino. Esta hipótesis explica por qué en individuos con aclorhidria o gastrectomizados disminuye la absorción del hierro. (Murray et. al. 1994; Brody, 1992; O'Donnell et. al. 1997).

Aunque el hierro puede absorberse a lo largo del intestino, su absorción es principalmente en el duodeno. Las membranas de la mucosa intestinal tienen la facilidad de atrapar el hierro (iron-binding) y facilitar su pasaje al interior de la célula. En las membranas del borde del cepillo existe un receptor específico que lo transporta al interior de la célula. Este receptor es una proteína de la membrana que está conformada por tres monómeros de 54 kilodaltons cada uno. La apotransferrina en el citosol intestinal aumenta la velocidad y eficiencia de la absorción de hierro. Se sabe que la concentración de apotransferrina en el citosol intestinal aumenta la velocidad y eficiencia de la absorción de hierro. También se conoce que la concentración de apotransferrina aumenta cuando disminuyen los depósitos y esto podría ser uno de los factores vinculados con el aumento de la absorción de hierro en los estados deficitarios de hierro. En el interior del citosol la ceruloplasmina oxida el Fe^{+2} a Fe^{+3} y éste es captado por la apotransferrina, transformándose en transferrina. El hierro que excede la capacidad de transporte intracelular de la transferrina es depositado en forma de ferritina intracelular y si bien una pequeña parte puede ser liberada posteriormente a la circulación, la mayor parte de éste queda dentro del enterocito hasta que muere con la célula luego de tres a cuatro días de vida media.

La absorción del hierro hemínico es diferente. El hierro hemínico atraviesa la membrana celular como hemoglobina o mioglobina, una vez que las proteasas endoluminales o de la membrana del enterocito hidrolizan a la globina. En el citosol la enzima, la hemo-oxigenasa, libera el hierro de la estructura tetrapirrólica. Una menor proporción del grupo heme puede ser transferida directamente a la circulación portal. El porcentaje de absorción de hierro heme también aumenta en situaciones de

deficiencia, pero en menos proporción que lo que acontece con el hierro inorgánico. En este caso todos los factores que facilitan o interfieren con la absorción del hierro inorgánico no modifican la absorción del hierro hemínico.

Estos delicados mecanismos regulatorios de la mucosa intestinal determinan que a medida que aumenta la ingesta de hierro, el porcentaje de absorción disminuye proporcionalmente. Existiendo una relación lineal entre el logaritmo de hierro absorbido y el logaritmo de dosis de hierro ingerido. Se ha estimado que, cada vez que se duplica la dosis de hierro, el hierro absorbido aumenta en 1.6 veces. (O'Donnell *et. al.*, 1997).

A pesar de intensas investigaciones, no se ha identificado la sustancia humoral de la mucosa intestinal y las necesidades de hierro. Esta relación entre ambos se pone de manifiesto cuando aumentan las necesidades de hierro, en la segunda mitad del embarazo, o cuando se estimula por cualquier mecanismo la síntesis de glóbulos rojos o como sucede en la anemia o en la hipoxia crónica, o también cuando las necesidades disminuyen en la sobrecarga de hierro, en individuos politransfundidos. . (O'Donnell *et. al.*, 1997).

Exista o no esta hipotética sustancia, el enterocito juega un papel central en la regulación de la absorción del hierro. Los enterocitos cuando nacen en las criptas de las vellosidades intestinales contienen una cantidad de hierro proveniente de la transferrina. Esta cantidad de hierro regula la cantidad que ingresa a la célula. El hierro del enterocito ingresa a la circulación de acuerdo con las necesidades de hierro (grado de saturación de la transferrina). El hierro que no ingresa, permanece en la célula hasta su descamación intestinal. (McDowell, 1992; Clydesdale, 1983).

En los últimos años, los conocimientos acerca de la absorción de hierro de las dietas se ha incrementado. Se han propuesto nuevos métodos para medir su absorción de los alimentos en una dieta completa y se han identificado varios componentes de la dieta como facilitadores o inhibidores de la absorción del hierro (Shils y Young, 1988). Por lo tanto la biodisponibilidad del hierro de una comida es el resultado de varios factores conocidos y desconocidos.

La ingesta de hierro hemínico en una comida es relativamente en pequeña cantidad, aún cuando la dieta es rica en carne el contenido es solamente de 10 a 15% del total de hierro ingerido (Shils y Young, 1988, Hallberg, 1984).

Se ha demostrado que las dietas en los países en desarrollo usualmente contienen pequeñísimas cantidades de hierro hemínico. El hierro no hemínico es la principal fuente del hierro dietario (INACG, 1990).

2.4 PROMOTORES DE LA ABSORCIÓN DEL HIERRO NO-HEMINICO

Ácido Ascórbico,

Es un promotor de la absorción de hierro, actúa manteniendo el hierro en forma soluble cuando el pH luminal aumenta una vez que el contenido gástrico pasa al duodeno. Cuando el hierro se encuentra en estado férrico es soluble solamente a pH ácido. El hierro férrico tiene una valencia coordinada de 6. En soluciones acuosas, los iones metálicos se unen unos a otros a través de uniones acuosas. Si el pH aumenta, los iones hidróxido se tornan disponibles y se forman polímeros metálicos o

precipitados de hidroxilo metálico. Por encima de un pH 4 precipita casi todo el hierro como una solución de cloruro férrico. Sin embargo si se agrega ácido ascórbico al cloruro férrico soluble en una solución ácida, se forma un complejo de ácido ascórbico y hierro que permanece soluble en un amplio rango de valores. (Conrad and Shade, 1968, citado en O'Donnell *et. al.*, 1997).

En un estudio, se encontró que el contenido de ácido ascórbico en la naranja puede incrementar la absorción de hierro hasta tres veces cuando se adiciona 100 ml de jugo de naranja, y por encima de siete veces cuando se añade una fruta fresca como la papaya. Sin embargo en una comida estándar se encontró, que se triplicó la absorción de 4% a 13%. (Layrise *et. al.*, 1974).

Tejidos animales,

Los alimentos de origen animal son importantes constituyentes dietarios no solamente por su alta disponibilidad de hierro hemínico si no también por ser mejoradores de la absorción de hierro no hemínico. Entre ellos tenemos: la carne bovina, pollo, pescado, cordero, hígado y carne de cerdo. (Cook y Monsen, 1976). Pero a diferencia del ácido ascórbico, el aumento en el porcentaje de absorción es baja cuando se ofrecen cantidades crecientes de proteína tisular.

En estudios con sustitutos proteicos equivalentes a tejido animal, en comidas semipurificadas, se incremento de dos a cuatro veces la absorción de hierro. (Cook y Monsen, 1976); un gramo de carne es aproximadamente equivalente a 1 mg de ácido ascórbico en el efecto del mejoramiento. En la fortificación de hierro como clohidrato férrico añadidos en cantidades de 5 a 60 mg a tres comidas, maíz, carne y una mezcla de maíz/carne. La absorción relativa de la comida de maíz se incrementa de 0,10 a

0,34 mg y de la comida de la carne de 1,11 a 3,27 mg de hierro. (Cook y Monsen, 1976; Hurrell *et. al.*, 1989).

Ácidos orgánicos,

Existen otros ácidos orgánicos menos estudiados que el ácido ascórbico que parecen tener efectos similares con comidas simples. Gillooly (1983) midió la absorción del hierro de 17 comidas vegetales. Todos los vegetales que se asociaron con hierro de buena biodisponibilidad contenían cantidades apreciables de uno a más de los ácidos orgánicos cítrico, málico o ascórbico. Al agregar ácido cítrico, málico o tartárico a una comida basado en arroz, mejoró la absorción de hierro de 2 a 4 veces (Gillooly *et. al.*, 1984, Ballot *et. al.*, 1987). La alta absorción del maíz y de la cerveza de sorgo en el África sub-sahariana, se debe a la presencia de ácido láctico (Dallman *et. al.*, 1980).

2.5 INHIBIDORES DE LA ABSORCIÓN DE HIERRO NO HEMINICO

Polifenoles:

Los taninos presentes en la dieta reducen la absorción del hierro no hemínico, debido a la formación de compuestos insolubles, tanatos de hierro, los cuales no son absorbidos por el organismo. Se ha encontrado que el té es un inhibidor potente, observándose que al añadir una taza de té a las comidas, se pudo disminuir desde 11,5% a 2,5% la absorción de hierro no hemínico. (Disler *et al.*, 1975). Otras pruebas

con isótopos, en dietas a partir de cereales y la adición de té, se encontraron niveles bajos de absorción (1%) y cuando se eliminó el té de la dieta la absorción subió al 3% y al agregar carne a esta misma dieta el nivel de absorción de hierro fue 8% y la adición de 2 g de ácido ascórbico la incremento a 15% (Cook, 1990). Los polifenoles se encuentran presentes en otras infusiones populares como el café y los mates. El efecto inhibitor del café es en menor potencia comparada con el té. (Morck *et. al.*, 1983) , el factor que inhibe el café al hierro todavía no ha sido definido pero se presume que pueda deberse a la formación de compuestos polifenoles. Los polifenoles parecen ser equivalentes en importancia a los fitatos como inhibidores en la absorción del hierro no hemínico. La magnitud de la inhibición varía en forma inversamente al contenido de polifenoles (Gillooly *et. al.*, 1983). Se piensa que los polifenoles actúan a través de la formación de complejos entre los grupos hidroxilo de los compuestos fenólicos y las moléculas de hierro haciendo al hierro no disponible para la absorción.

Proteínas,

Es el único macronutriente que tiene el efecto inhibitor sobre la absorción de hierro. Mientras que los tejidos animales mejoran la absorción del hierro no hemínico, algunas proteínas de origen animal o vegetal ejercen un efecto inhibitorio. Cuando se agregan a una comida semipurificada - consistente en almidón de maíz hidrolizado y aceite de maíz - fuentes proteicas, de origen animal como la leche entera, caseinato y proteínas derivadas del suero de la leche, queso, huevo entero y clara de huevo o la albúmina sérica bovina purificada, disminuyen la absorción entre 10 a 50% del valor

obtenido con la comida base (Cook y Monsen, 1976; Hurrell *et. al.*, 1988, 1989; Cook *et. al.*, 1991). La albúmina sérica bovina fue la menos inhibidora mientras que las proteínas del suero fue la más inhibidora. Dos otras proteínas vegetales que también tuvieron marcado efecto inhibitorio fueron, el gluten y la proteína de soya. (O'Donnell *et. al.*, 1997).

Se ha observado que con dietas semipurificadas con albúmina de huevo, el porcentaje de absorción de hierro no hemínico fue sólo 1% y cuando la ovoalbúmina se eliminó de la comida el porcentaje de absorción subió cerca al 10%. (Monsen, *et. al.*, 1978). Así mismo, se realizaron otros estudios para comprobar si la inhibición no era sólo por la albúmina de huevo, se utilizó proteína de soya en harinas o purificadas y se encontró el mismo efecto inhibitorio en dietas ajustadas a las mismas cantidades de hierro. Además cuando a estas dietas se agregaron un promotor, como ácido ascórbico, encontraron que la absorción de las dietas con soya subió de dos a cinco veces comparándose con las dietas con albúmina de huevo. (Morck *et. al.*, 1983).

Fibra,

Los componentes de la fibra ligan al hierro, sin embargo existen pocas evidencias de que la fibra tenga un importante rol en la absorción de hierro. La desfitización enzimática del salvado anula casi totalmente su efecto inhibitorio (Hallberg y Rossander, 1987).

Se ha postulado que la fibra tiene un efecto inhibitorio sobre la absorción del hierro, estudios realizados con diferentes clases de fibra, pectina, celulosa y salvado

observaron que la fibra tuvo un menor efecto de inhibición sobre la absorción del hierro no hemínico. (Cook y Reusser, 1983).

Calcio,

El agregar calcio a una comida en forma de leche o sal inorgánica, disminuye la absorción de hierro no hemínico en humanos. Este efecto inhibitorio es moderado y complejo, los mecanismos por los cuales interfiere con la absorción de hierro no se conocen en su totalidad. (O'Donnell *et al.*, 1997, Hallberg *et. al.*, 1992). Existen varias causas que pueden explicar la inhibición del calcio sobre la absorción de hierro. Esta puede estar localizada en el contenido gastrointestinal, influenciada por el balance entre los ligantes de promotores o inhibidores. También puede estar relacionada a la reducción de la motilidad intestinal, reduciendo el área funcional para la absorción de hierro o la reducción del flujo sanguíneo mucosal. El calcio tiene su efecto al lado de los receptores de las células mucosales llevando a una reducción en captación del hierro. Otra posibilidad es que sea el daño en el transporte de hierro a través de la célula mucosal hacia el plasma. Así mismo, se encontró que el calcio altera la absorción de hierro hemínico y no hemínico al nivel de la célula mucosal. (Hallberg *et. al.*, 1992).

2.6 NECESIDAD DE HIERRO DEL INFANTE

Un infante nace con aproximadamente 75 mg de hierro por kilo de peso corporal. La variación de hierro corporal durante el primer año de vida se resume en el Cuadro 1.

Después del nacimiento, existen cambios en el metabolismo de hierro y en la tasa de eritropoyesis, la que se puede dividir en tres etapas. La primera etapa, comprende las primeras 6 a 8 semanas y está caracterizada por una declinación paulatina de los niveles de hemoglobina, ocasionados por una abrupta caída en la eritropoyesis, por aumento en el tenor de oxígeno tisular de la vida extrauterina. Como consecuencia de estos cambios en la eritropoyesis, la concentración de hemoglobina disminuye de 17 g/l en el momento del nacimiento hasta 11 g/l aproximadamente en las primeras semanas de vida. Esta disminución determina que exista un aporte extra de hierro para afrontar el aumento de masa corporal. El resto de hierro no utilizado aumenta los depósitos para satisfacer las demandas de la siguiente etapa. En ella, la cantidad de hierro absorbida de los alimentos ingeridos no es significativa, probablemente, como consecuencia de los altos niveles en los depósitos. (Dallman, 1980). La segunda etapa, alrededor del segundo al cuarto mes de edad, caracterizada por un aumento en la eritropoyesis traducido en aumento de los eritroblastos en la médula ósea y de reticulocitos en sangre periférica. Por esta razón el valor medio de hemoglobina se eleva hasta 12,5 g/dl en promedio. La tercera etapa, comienza alrededor del cuarto mes, se caracteriza por la dependencia progresiva del hierro proveniente de la dieta para mantener una eritropoyesis adecuada.

La mayoría de los alimentos en este período, incluida la leche materna, tienen relativamente baja cantidad de hierro. Este es el período en el cual la suplementación con hierro es importante para disminuir la prevalencia de deficiencia. (Dallman, 1980; WHO, 1988; Walter *et. al.*, 1990).

En resumen, en esta etapa de vida del infante, desde los 6 meses al año de edad, como consecuencia de la caída baja en los depósitos de hierro y la dependencia del suministro de hierro en los alimentos, se presentan mayores probabilidades de deficiencia de hierro, por lo tanto es necesario el consumo de dietas con alta biodisponibilidad de hierro. En este período es necesario absorber 1 mg de hierro al día para mantener un estado nutricional adecuado de este nutriente.

CUADRO 1: VARIACIÓN DEL HIERRO CORPORAL DURANTE EL PRIMER AÑO DE VIDA

EDAD (PESO)	HIERRO CORPORAL (mg)			
	DEPÓSITOS	MIOGLOBINA	HEMOGLOBINA	TOTAL
NACIMIENTO (3,5 Kg)	60	15	175	250
4 MESES (6 Kg)	30	30	190	250
12 MESES (10 Kg)	50	50	320	420

* Fuente: Dallman P., 1980

2.7 ABLACTANCIA (ALIMENTACIÓN COMPLEMENTARIA)

Es el aporte de un complemento alimentario a la energía y nutrientes proporcionados por la leche humana, y se recomienda iniciar esta complementación alimentaria a partir de 4 a 6 meses de edad.

Este complemento está definido como un alimento manufacturado o preparado caseramente, que complementa a la leche materna. La principal razón de la ablactancia es complementar la alimentación láctea con nutrientes y establecer

buenos hábitos alimentarios y nutricionales. (Cameron y Hofvander et. al., 1983; Creed et. al., 1995). En nuestro país, se recomienda el inicio de la ablactancia a partir de los seis meses de edad, con la finalidad de evitar los riesgos de infecciones y complementar con energía y nutrientes a la leche humana.

Las investigaciones alimentarias realizadas en áreas urbano marginales de Lima, encontraron como principal componente energético dietario a los cereales en niños de 10 a 12 meses de edad y en segundo lugar a la leche materna. (Creed, 1990). En cambio, en estudios realizados en la zona de Cuzco, el principal alimento energético, en la dieta del niño fue un tubérculo. (Calderón et. al., 1989). Asimismo los estudios en las áreas rurales mostraron que los tubérculos (papa, chuño, oca, olluco) y cereales (quinua, cebada, arroz, trigo y maíz) fueron las fuentes de energía más predominantes en la dieta de niños de hogares rurales de la sierra sur. (Sánchez Griñan, 1991).

Es esta etapa de ablactancia lo más importante es que la dieta tenga adecuadas proporciones, con balance óptimo entre nutrientes y energía. Los alimentos elegidos en la dieta deben estar disponibles, a bajo costo y de uso frecuente en la familia, recomendándose la utilización de mezclas de alimentos.

El procedimiento para el desarrollo de una dieta de ablactancia es: (1) decidir cuanta energía, proteínas y otros nutrientes importantes van proporcionar la dieta, (2) escoger el alimento "base", este es de preferencia un cereal. Escoger uno o dos alimentos "suplementarios" de proteínas, (3) decidir la cantidad de alimento "base" y del alimento que proporcione la proteína para asegurarse que el volumen va ser adecuado para la capacidad gástrica del niño, (4) calcular el valor de energía de la

mezcla base, (5) escoger los suplementos de alimento que proporcionan vitaminas y minerales. Estos alimentos son especialmente los vegetales de color verde o amarillo naranja y las frutas. Escoger un suplemento de energía para el total de la mezcla, el ingrediente no debe pasarse del 25 al 30% del total de calorías, (6) escoger una forma de preparación que no demande mucho trabajo ni tenga un costo elevado. (Cameron y Hofvander, 1983).

2.8 METODO PARA DETERMINAR DISPONIBILIDAD DE HIERRO

TÉCNICA IN VITRO

La técnica *in vitro* es una alternativa para medir la disponibilidad de hierro en mezclas de alimentos, por ser simple, rápida y económica. (Miller *et. al.*, 1981). En los últimos años se han realizado muchos estudios utilizando la técnica *in vitro* para estimar el hierro dializable o disponible, muchos de ellos utilizan la simulación de las condiciones gastrointestinales y el éxito con este método requiere de una atención cuidadosa del comportamiento del hierro en la solución, (Monsen *et. al.*, 1978, Kapsokfalou y Miller, 1991; Smith, 1983; Soria, 1993; Glanh *et. al.*, 1981).

Cuando compararon la medición de la absorción de hierro mediante la técnica *in vitro* y *in vivo* en humanos no hubo diferencias significativas; esto se atribuyó al estado de hierro normal de la población estudiada. (Bjorn-Rasmussen *et. al.*, 1976; Turland *et. al.*, 1990). Otro estudio realizado utilizando una técnica isotópica *in vitro*,

con el alimento marcado con hierro intrínseco o extrínseco en humanos, se encontraron similares resultados (Miller *et. al.*, 1981).

Una descripción de la solución química del hierro, nos puede ayudar para establecer los cuidados en el experimento de una técnica *in vitro*: Las sales ferrosas y férricas son solubles en soluciones ácidas acuosas, cuando el pH se eleva, el hierro férrico hidratado y el hierro ferroso hidrolizado forma polímeros de gran peso molecular que precipitan. (Sprio, 1974, citado en Miller *et. al.* 1981). Esta polimerización y precipitación que resultan en una disminución del hierro disponible puede ser retardada o prevenida por ligantes quelantes como el ácido ascórbico, ácido cítrico, amino ácidos o péptidos (Bates, 1,967, citado en Miller *et. al.*, 1981).

La preparación de hierro soluble quelante, puede ser efectuada por la mezcla de hierro y ligantes en una solución a bajo pH, con subsecuente ajuste ascendente del pH (Saltman, 1976). Una secuencia similar de eventos ocurre cuando el alimento sale del estómago e ingresa al duodeno. Sin embargo, aún en la presencia de quelantes ligantes, la adición de una base fuerte puede causar precipitación. Además los pasos de ajuste de pH, es crucial cuando tratamos de reproducir la digestión gastrointestinal del hierro del alimento (Miller *et. al.*, 1981).

Se ha propuesto un método para cuantificar la disponibilidad de hierro, que se basa en la determinación del hierro presente en los alimentos, utilizando una solución de pepsina y ácido clorhídrico simulando al jugo gastrointestinal, (propuesto por Jacos y Greenman, 1969 y Ranhotra *et. al.*, 1971). Debido a que existe una mayor proporción de absorción del hierro dietario en el intestino delgado y no en el estómago, este método *in vitro* no hace determinaciones verdaderas de disponibilidad

del hierro (Miller *et. al.*, 1981). Además en el pH alcalino del intestino, la solubilidad del hierro decrece considerablemente y en este pH alcalino la porción de hierro ionizable puede ser muy baja. Se ha encontrado que el porcentaje de hierro ionizable en pH 7,5 en dietas estudiadas por el método *in vitro* e *in vivo* la existencia de una alta correlación del porcentaje de absorción de hierro. Basadas en estas observaciones se proponen que la determinación de hierro ionizable a un pH 7,5 puede ser usada como una medida relevante de la biodisponibilidad de hierro no hemínico en los alimentos. (Narasinga *et. al.*, 1978). Por otro lado, los pocos estudios en el país sobre la disponibilidad de hierro en dietas, a excepción de un trabajo de Acosta *et. al.*, 1984, que comparó la absorción de hierro entre dietas típicas de América Latina y encontró que se absorbe más hierro en las dietas del desayuno Peruano y Venezolano (dietas con combinación cereal - leche) que en los desayunos de otros países latinoamericanos.

Para conocer la disponibilidad de hierro de dietas con alimentos comunes y fortificados con hierro, preparados caseramente o manufacturados, se utilizará en este estudio una técnica *in vitro* validada y estandarizada. El método fue desarrollado y utilizado por Miller *et. al.*, 1981 y modificado por Kapsokefalou y Miller en 1991, basándose en el nivel de hierro soluble y de bajo peso molecular contenido en una dieta después de una digestión gastrointestinal simulada.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 LUGAR DE EXPERIMENTACIÓN

El presente estudio se ha desarrollado en el Laboratorio de Bioquímica del Instituto de Investigación Nutricional, Lima - Perú. La preparación de las dietas se realizó en el laboratorio dietético y los dializados en el laboratorio de bioquímica.

Las mediciones de hierro se realizaron en el laboratorio de Hematología del Instituto Nacional de Tecnología de Alimentos (INTA) de la Universidad de Chile, Santiago de Chile, Chile.

3.2 SELECCION DE LAS DIETAS

Para la selección de las dietas se consideró usar alimentos comunes y mezclas de alimentos extruidos que son los más utilizados en la etapa de ablactancia y a estas mismas dietas se añadió promotores e inhibidores de la absorción de hierro. En total se eligieron 16 dietas, divididas en cuatro grupos experimentales.

En el Cuadro 2, se presenta el diseño de las dietas, se clasificaron en cuatro grupos. El primer grupo de dietas con alimentos comunes, D1 al 7, fueron dietas con mezcla vegetal, a las que se añadió un alimento de origen animal fuente de hierro no hemínico, alimentos de origen animal con hierro hemínico y un alimento que contenía ácido ascórbico.

CUADRO 2: DIETAS ESTUDIADAS DE LOS CUATRO GRUPOS

Primer grupo de dietas con alimentos comunes

Mezcla vegetal + hierro no hemínico. D1
Mezcla vegetal + hierro hemínico. D2, D3, D4 y D5
Mezcla vegetal + hierro hemínico + ácido ascórbico D6
Mezcla vegetal + hierro no hemínico + ácido ascórbico D7

Segundo grupo de dietas con alimentos comunes y fideos fortificados con hierro no hemínico

Mezcla vegetal + Alimento fortificado con hierro no hemínico D8
Mezcla vegetal + Alimento fortificado con hierro no hemínico + Acido Ascórbico D9
Mezcla vegetal + Alimento fortificado con hierro no hemínico + Inhibidor (Té) D10

Tercer grupo de dietas con un alimento lácteo fortificado con hierro no hemínico

Leche Entera de vaca fortificada con hierro no hemínico D11
Leche Entera de vaca fortificada con hierro no hemínico + cereal D12

Cuarto grupo de dietas con mezcla de alimentos extruidos y fortificado con hierro no hemínico

Mezcla de cereales extruidos fortificado con hierro no hemínico D13, D14
Mezcla de cereales y leguminosas extruidas fortificada con hierro no hemínico D15, D16

El segundo grupo de dietas con alimentos comunes y fideos fortificados, D8, D9 y D10, fueron dietas con una mezcla vegetal y un alimento fortificado con hierro no hemínico. A esta misma dieta se le agrego un alimento fuente de ácido ascórbico ó una infusión de té.

El tercer grupo con un alimento lácteo fortificado, D11 y D12, fueron una dieta con leche entera fortificada con hierro no hemínico con o sin la adición de un cereal.

El cuarto grupo de dietas con mezcla de alimentos extruidos y fortificado con hierro no hemínico, D13, D14, D15, D16, fueron dietas con una producto extruido fortificado con hierro conteniendo una mezcla de cereales extruidos con y sin leguminosas. Las dietas fueron fortificadas con diferentes tipos de hierro. (Sulfato ferroso o fumarato).

3.3 ESTRUCTURACION DE LAS DIETAS

Las dietas proporcionaron más de 200 Kcal por ración, 10% de las calorías fueron provenientes de proteínas. El ácido ascórbico proveniente de una fruta fue de 30 mg por ración y 200 ml de té (inhibidor). La cantidad de hierro fue proporcionada por el alimento como ingrediente en una ración. Para determinar la dilución adecuada para los dializados, se realizaron pruebas preliminares de preparación de la dieta llegando a la conclusión de utilizar 350 ml de agua por dieta y 240 ml para las dietas con mezclas de alimentos extruidos

En el primer grupo, D1 al D7, se incluyeron los siguientes alimentos: papa amarilla, (Solanum goniocalyx) zapallo macre (Cucurbita máxima Duchesne), aceite vegetal y agua potable, estos ingredientes se usaron en cantidades similares en todas las dietas. A la primera dieta se le adicionó leche entera en polvo (D1), a las siguientes se le agregó hígado de pollo (D2), carne de pollo la pechuga (D3), carne de vacuno molida (D4), pescado bonito, solo la pulpa (D5); y a las dietas D6 y D7 se les añadió mandarina en jugo (Citrus reticulata Blanco). (Cuadro 3).

CUADRO 3: PRIMER GRUPO DE SIETE DIETAS CON ALIMENTOS COMUNES

INGREDIENTES	D 1	D 2	D 3	D 4	D 5	D 6	D 7
Papa amarilla, g	80	80	80	80	80	80	80
Zapallo macre, g	40	40	40	40	40	40	40
Aceite vegetal, g	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
Leche en polvo, g	7,6	-	-	-	-	-	7,6
Hígado de pollo, g	-	30	-	-	-	30	-
Carne de pollo pulpa(*), g	-	-	30	-	-	-	-
Carne de vacuno molida, g	-	-	-	30	-	-	-
Pescado bonito pulpa, g	-	-	-	-	30	-	-
Mandarina jugo, ml	-	-	-	-	-	62	62
Volumen de agua, ml	350	350	350	350	350	290	290

(*) Pechuga de pollo

En el segundo grupo, D8 a D10, estas dietas fueron preparadas con un alimento fortificado con Fe y alimentos comunes: fideo fortificado (Cabello de Angel, en caja), papa amarilla, (Solanum goniocalyx), zapallo macre (Cucurbita máxima Duchesne), aceite vegetal, leche entera en polvo (sin fortificar). Se diferenciaron

por la adición de jugo de mandarina (D9) y té (D10), para tener la dilución adecuada tuvieron agua del caño. (Cuadro 4).

En el tercer grupo, dietas D11 y D12, tuvieron los siguientes ingredientes: azúcar blanca, leche fortificada (Nido Crecimiento del Laboratorio Nestle) y agua corriente (D11). Y a la otra dieta se le agregó avena aplastada y aceite vegetal (D12). (Cuadro 5).

CUADRO 4: SEGUNDO GRUPO DE TRES DIETAS CON ALIMENTOS COMUNES Y FIDEOS FORTIFICADO CON HIERRO NO HEMÍNICO

INGREDIENTES	D 8	D 9	D 10
Fideos fortificados, g	20	20	20
Papa amarilla, g	75	75	75
Zapallo macre, g	40	40	40
Aceite vegetal, g	4	4	4
Leche en polvo, g	7,6	7,6	7,6
Mandarina jugo, ml	-	62	-
Volumen de Té, ml	-	-	200
Volumen de agua, ml	350	290	150

CUADRO 5: TERCER GRUPO DE DOS DIETAS CON UN PRODUCTO LACTEO FORTIFICADO CON HIERRO NO HEMÍNICO

INGREDIENTES	D 11	D 12
Avena aplastada, g	20,0	-
Aceite vegetal, g	3,5	-
Azúcar blanca, g	4,0	4,0
Leche fortificada con Fe, g	33,0	33,0
Volumen de agua, ml	350	240

El cuarto grupo, dietas D13 al D16, denominadas papillas a partir de alimentos procesados por extrusión y fortificados con micronutrientes, entre ellos Fe, en las cuatro dietas estudiadas se utilizó el producto industrial sin adición de otro alimento y para formar las papillas se utilizó agua corriente. La papilla 1 (D13), fue el producto comercial Nestum del Laboratorio Nestle, con los siguientes ingredientes: harina de arroz, de trigo y de maíz extruido con la adición de vitaminas y minerales. La papilla 2 (D14) fue el producto comercial Cerevita del Laboratorio Nestlé, contenía los siguientes ingredientes: harina de arroz, de trigo y de maíz extruido así como vitaminas y minerales. La papilla 3 (D15) , producto del Ministerio de Salud de distribución gratuita del Gobierno Peruano, con los siguientes ingredientes arroz extruido y dextrinado, cebada extruida, soya extruida, leche modificada, manteca, azúcar, canela en polvo, vitaminas y minerales. La papilla 4 (D16), producto del Ministerio de Presidencia de distribución gratuita del Gobierno Peruano, con los ingredientes extruidos: arroz, soya, kiwicha, harina de habas y harina de arveja con leche entera en polvo, azúcar, fructuosa, malto dextrina y proteína aislada de soya, fortificada con vitaminas y minerales. (Cuadro 6).

CUADRO 6: CUARTO GRUPO DE CUATRO DIETAS CON MEZCLA DE ALIMENTOS EXTRUIDOS Y FORTIFICADOS CON HIERRO NO HEMINICO

INGREDIENTES	D 13	D 14	D 15	D 16
Papilla 1, g	40	-	-	-
Papilla 2, g	-	30	-	-
Papilla 3, g	-	-	45	-
Papilla 4, g	-	-	-	45
Volumen de agua, ml	240	240	350	250

3.4 PREPARACIÓN DE LAS DIETAS

Los alimentos fueron obtenidos comercialmente y utilizando un mismo lote en el transcurso de todo el estudio. De acuerdo al protocolo de diseño de las dietas los ingredientes fueron pesados, pelados y picados en trozos grandes y cocinados en agua corriente a temperatura de ebullición, con excepción de algunos de ellos, como leche, mandarina, azúcar y aceite. Variando el tiempo de cocción de acuerdo a la dieta que en promedio fue de 15 minutos.

Los alimentos después de estar cocidos fueron homogenizados en una licuadora y durante este proceso se fue añadiendo los componentes de la dieta que no necesitaban cocción como el aceite, azúcar, etc., ajustándose la cantidad de agua de acuerdo a la consistencia determinada.

Las dietas con producto precocidos, mezcla de alimentos extruidos, se prepararon de acuerdo a las indicaciones del producto. Se procedió de la siguiente forma: primero se pesó un volumen para una ración (determinada en el rótulo) y luego se adicionó agua corriente hervida tibia, moviéndose constantemente hasta formar una

papilla y ajustándose la consistencia deseada con agua hervida fría, luego se dividió en seis alícuotas.

Todas las dietas fueron congeladas a menos 20° C, en envases de polietileno para su posterior análisis.

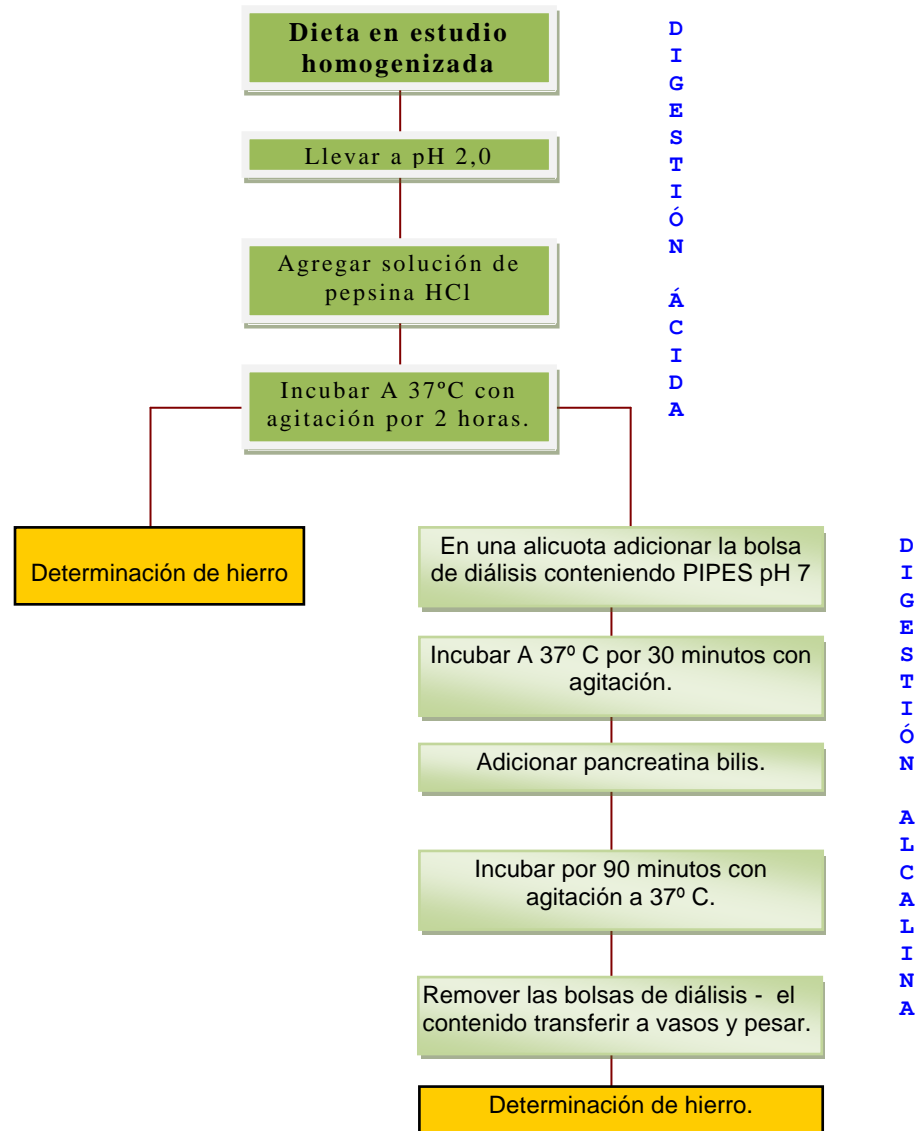
3.5 METODO DE DIGESTION IN VITRO

El método de digestión *in vitro* utilizado en el estudio fue el desarrollado por Miller. (Miller *et. al.* 1981) y modificado por Kapsokefalou y Miller 1991. El método se basa en el hierro soluble y de bajo peso molecular contenido en una dieta después de una digestión gastrointestinal simulada. Las dietas (mezclas de alimentos) son previamente homogenizadas y expuestas a pepsina a pH 2 (dos horas), después de un ajuste del pH a niveles intestinales se prosigue con la digestión mediante la adición de pancreatina y sales biliares (90 minutos). El hierro de la mezcla se difunde a través de la membrana semipermeable. Se determina la concentración de hierro dializable. (Gráfico 1).

Primera Digestión Acida

- Se descongelaron las dietas por incubación en baño María con agitación a 37° C.
- En tres alícuotas de 80 g de la dieta homogenizada, se llevó a pH 2 con ácido clorhídrico 6 N y se añadió solución de pepsina 2 ml y se mezcló.
- Se incubó la mezcla a 37° C en un baño maría con agitador durante 2 horas.

**GRAFICO 1
ESQUEMA DE DIGESTION - IN VITRO***



* Miller et. al. 1981, modificado por Kapsokefalou y Miller en 1991

- Se removieron alícuotas suficientes para el análisis de hierro (30 ml aproximadamente). Y se congelaron los digeridos no utilizados, para su posterior determinación de hierro no hemínico.

Segunda digestión alcalina:

- Se pesaron por duplicado alícuotas de 15 g de cada digerido con pepsina-HCl en matraz de 250 ml, teniendo en total seis alícuotas.
- Se cortaron segmentos de las membranas de diálisis, de 10 cm de largo, lo suficiente para contener 18,75 ml de solución PIPES (Piperazine-N, N'bis-ethane sulfonic) 0,15 N.
- Se pesaron las bolsitas conteniendo cada una de ellas la solución PIPES 0,15 N.
- Las bolsitas se colocaron en un matraz, luego se selló con parafilm y se incubó en baño maría con agitación a 37° C hasta que el pH se acerque alrededor de 5 (aproximadamente en 30 minutos).
- Se añadió 3,75 ml de bilis-pancreatina a cada matraz, continuándose la incubación por una hora y media más.
- Al final de este período de incubación, se removieron las membranas de diálisis y se enjuagaron bien con agua deionizada. Luego se pesó y se midió el pH, que estuvo entre $6,3 \pm 0.1$. Luego estos dializados se trasladaron inmediatamente a un frasco de plástico para congelarlos para su posterior análisis del contenido de hierro dializable.

3.6 MATERIALES

- Agua destilada y deionizada utilizada durante todo el experimento.
- Material de vidrio libre de hierro, tratado de la siguiente manera: Enjuague en agua corriente, lavado con detergente líquido, enjuague con agua corriente y luego con agua deionizada, inmersión en solución de ácido nítrico al 50% durante 24 horas, enjuague con agua deionizada y secado en estufa.

Materiales para la digestión:

- Solución pepsina-HCl: 2 g de pepsina (de mucosa de porcino, Sigma P-7000) disueltos en HCl 0,1 N y llevados a 25 ml con HCl.
- Solución Pancreatina-Bilis: 0,5 g de pancreatina de páncreas de porcino (Sigma P-1750), y 3,0 g de extracto de bilis de porcino (Sigma P-8631), disueltos en bicarbonato de sodio (NaHCO_3) 0.1N y llevados a 250 ml
- Solución PIPES: buffer PIPES 0,5 N (piperazine-N, N'-bis-2-ethane-sulfonic acid) sal disódica (Sigma P3768) disuelto en agua destilada deionizada. Se ajusto el pH con HCl 6N para llevarlo a 7,3.
- Membranas de diálisis mwco 6 000-8 000 (Spectrum Laboratory), fueron cortadas en segmentos de 10 cm de longitud y se remojo en agua destilada deionizada antes de su uso.

Materiales para la determinación de hierro:

- Solución estándar de hierro (100 μg Fe/ml), 100 mg de Fe (hierro electrolítico, Sigma 976-50), en 10 ml de HCl 37% (Merck). Se enrasó a 1 l con agua destilada deionizada, a partir de esta solución stock se preparó una solución estándar de 1 mg de hierro por mililitro.
- Buffer acetato/acético pH 4,75: 45 g de acetato de sodio (Merck) se disolvió en 100 ml de agua destilada deionizada y se llevó a pH 4,75 con ácido acético glacial (Merck).
- Solución de batofenantrolina de sulfonato: se pesó 0,2 g de batofenantrolina sulfonato (Sigma) se disuelve y enrasa a 100 ml con agua deionizada destilada y posteriormente se agrega 1 ml de ácido tioglicólico.
- Acido sulfúrico (H_2SO_4) p. a. 95 a 97% Merck.
- Ácido perclórico (HClO_4) p. a. 70% Merck
- Amoniacó p. a. 25% Merck
- 16 dietas.

3.7 DETERMINACION DEL HIERRO TOTAL:

- **Extracción de hierro de las dietas y de los digeridos:**

Se pesó en la balanza analítica cantidades de muestras que contengan aproximadamente entre 40 a 50 μg Fe/100 g. La muestra pesada se depositó en un matraz kjeldahl de 100 ml, se agregó 4 a 6 perlitas de vidrio, con el fin de

evitar que se rompa el matraz, luego se agregó 8 ml de ácido sulfúrico. Se utilizó como blanco 5 ml de agua destilada deionizada.

Posteriormente se calentaron las muestras en un micro digestor a 340° C, rotando el matraz, hasta que el aspecto del contenido se tornó oleoso y sin partículas sólidas, se enfrió y se agregó 1 ml de ácido perclórico, se calentó nuevamente aproximadamente a 200°C, hasta que la solución se tornó transparente e incolora, a causa de la evaporación de la materia orgánica con CO₂ y agua.

Después se transfirió a un matraz volumétrico de 100 ml cuidando de no perder nada de la muestra. Para evitar esto se colocó un papel por el borde del matraz kjeldahl con 5 ml de agua doblemente deionizada. Luego se transfirió el agua de los lavados al matraz volumétrico y se agregó al kjeldahl 4 gotas de ácido tioglicólico y 2 ml de amoniaco, finalmente se transvasó al matraz volumétrico y se repitieron los enjuagues con agua destilada deionizada.

- Al matraz volumétrico con la solución de la muestra se agregó dos gotas de solución etanólica al 1% y como indicador 4-nitrofenol y se neutralizó cuidadosamente bajo hielo con NH₃ hasta que se produjo el viraje de color a transparente amarillo, indicando el cambio a pH 4,75. Finalmente se enrasó 100 ml con agua deionizada.
- **Determinación colorimétrica:** Previamente a la lectura de las muestras se realizó una estandarización con el espectrofotómetro con la finalidad de determinar la longitud de onda máxima de lectura de la reacción.

La determinación colorimétrica se preparó con una serie de tubos para obtener una curva de calibración de concentración de hierro y determinación de hierro presente en las muestras analizadas.

Se agitaron los tubos en el Vortex y se dejaron a temperatura ambiente durante 30 minutos y se leyó en espectrofotómetro Coleman Junior II, contra tubo en blanco a 540 nm de longitud de onda.

Para la determinación de hierro de la muestra se tomaron 5 ml de alícuotas de los matraces volumétricos y se pusieron en tubos libres de hierro, se agregó 1 ml de buffer de acetato de sodio acético y 0.2 ml de batofenantrolina. Se agitó en Vortex y se dejó a temperatura ambiente durante 30 minutos y se leyó en el espectrofotómetro contra el tubo blanco leyendo a 540 nm de longitud de onda.

3.8 DETERMINACION DEL HIERRO DIALIZABLE NO HEMINICO

- En un tubo de prueba de 5 ml con tapa esmerilada se midió 3 ml del digerido enzimático con pepsina y se añadió 0,5 ml de sustancia reductora.
- Se tapó herméticamente y se agitó en Vortex.
- Después de haber agitado se añadió 1 ml de buffer de acetato acético.
- Se tapó y se volvió a agitar.
- Se agregó 0,2 ml de solución betafenantrolina .
- Se agitó en vortex y se centrifugó.

- Luego de añadir a cada tubo el reactivo de color y después de 10 minutos se leyó la absorbancia a 535 nm.

3.9 FORMULA UTILIZADA PARA CALCULAR EL HIERRO DIALIZABLE

$$\text{Fe dializable} = \frac{\text{ug Fe dializado}}{\text{ug Fe digerido}} \times 100$$

3.10 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó el diseño de muestreo al azar con seis repeticiones por dieta en cada grupo de dietas.

El primer grupo experimental agrupó a siete dietas, cada una con alimentos comunes diferenciándose entre ellos por el agregado de diferentes alimentos fuente de hierro hemínico y ácido ascórbico.

El segundo agrupó a tres dietas, cada una tuvo un alimento fortificado con hierro no hemínico. El tercero agrupó a dos dietas, cada una tuvo un alimento lácteo fortificado con hierro no hemínico. El cuarto agrupó a cuatro dietas, con mezcla de alimentos extruidos y fortificados con hierro no hemínico.

Se utilizó la prueba de ANVA y de Tukey para realizar la comparación entre los promedios de las dietas en cada grupo. (SAS, 1988).

El modelo aditivo lineal para el análisis de los grupos experimentales fue:

$$Y_{ijk} = U + T_i + E_{ij} + S_{ijk}$$

donde :

U	=	Media general
T_i	=	Efecto del tratamiento
E_{ij}	=	Error experimental
S_{ijk}	=	Error muestral

3.11 VALOR NUTRICIONAL TEÓRICO DE LAS DIETAS

Se calculó la composición química teórica de las 12 dietas utilizando la Tablas Peruanas de Composición de Alimentos (Collazos, et. al., 1996). Y de las dietas 13 al 16, se consideró el valor nutricional señalado en el envase del producto comercial. Las cantidades teóricas de hierro hemínico, no hemínico y hierro absorbible se calcularon basándose en la metodología sugerida por Monsen et. al., 1978, que a continuación se describe la metodología:

- Utilizando las Tablas peruanas de composición de alimentos se calculo el contenido de hierro y ácido ascórbico de cada ingrediente de la dieta, para el cálculo del hierro absorbible se consideró lo recomendado, 40% del hierro de carnes, pescados y pollos como hierro hemínico, con una absorción del 23%. El 60% restante se consideró como hierro no hemínico y su disponibilidad dependerá de la cantidad de carne y ácido ascórbico de cada dieta.

En el Cuadro 7, se presenta la composición química por 100 g de la parte comestible de las 16 dietas estudiadas.

Las dietas 1, 7 y 8, con alimentos comunes tienen menor cantidad teórica de hierro absorbido, en cambio las dietas con alimentos fortificados con Fe tienen mayor cantidad teórica de hierro absorbible.

La dieta 13, denominada papilla 1 tiene un nivel de fortificación de 19 mg de fumarato de hierro/100 g, y la ración recomendada de consumo es de 40 g, la papilla 2 (dieta 14) tiene un nivel de fortificación de 12 mg de fumarato de hierro/100 g (ración recomendada de consumo 30 g), la papilla 3 (dieta 15) tiene 6,4 mg de sulfato ferroso/ 100 g, la ración recomendada de consumo es de 45 g y la papilla 4 (dieta 16) tiene 10 mg de sulfato ferroso de Fe/100 g (45 g de ración recomendada).

CUADRO 7: COMPOSICIÓN QUÍMICA CALCULADA DE LAS 16 DIETAS POR 100 g DE LA PARTE COMESTIBLE

DIETA	AGUA ml	ENERGIA Kcal	PROT g	CHO g	GRASA G	Ca mg	P mg	Vit C mg	Fe TOTAL Mg	Fe HEM mg	Fe NOHEM mg	Fe ABS mg
D1	72.9	122.87	3.00	4.29	15.79	60.75	88.40	7.75	0.42	0.00	0.43	0.01
D2	75.86	105.80	5.13	1.88	13.09	12.44	63.97	9.99	1.41	1.06	0.35	0.26
D3	75.92	114.20	4.78	1.88	14.19	12.64	70.62	6.18	0.64	0.29	0.35	0.17
D4	76.96	101.50	5.39	1.88	12.51	13.03	72.18	6.18	1.02	0.66	0.35	0.26
D5	76.8	99.15	5.17	1.88	12.33	13.62	79.80	7.13	0.88	0.53	0.35	0.13
D6	79.93	85.90	3.86	3.77	9.50	14.29	50.77	20.87	1.01	0.76	0.25	0.28
D7	78.19	96.09	1.08	1.5	9.78	7.94	25.27	4.95	0.28	0.00	0.28	0.01
D8	63.64	174.04	4.28	14.89	13.61	70.37	90.64	6.69	0.63	0.00	0.41	0.01
D9	71.15	134.75	3.24	21.50	1.49	58.01	67.46	22.82	0.48	0.00	0.48	0.53
D10	27.12	74.16	1.82	6.34	5.80	29.99	38.62	2.85	0.22	0.03	0.22	0.02
D11	4.63	465.79	15.95	56.07	14.26	427.19	459.44	31.74	6.19	0.00	6.19	0.67
D12	2.75	475.76	18.71	53.31	21.02	668.67	525.70	51.67	7.83	0.00	7.83	0.78
*D13	4.00	373.00	9.70	81.80	1.00	370.00	310.00	85.00	19.00	0.00	19.00	1.90
**D14	3.00	380.60	7.00	85.90	1.00	220.00	90.00	35.00	12.00	0.00	12.00	1.20
***D15	2.50	363.60	12.07	47.39	14.01	720.00	360.00	22.50	5.40	0.00	5.40	0.54
***D16	2.50	405.79	15.71	61.01	16.00	200.00	200.00	50.00	10.00	0.00	10.00	1.00

* Ración recomendada 40 g

** Ración recomendada 30 g

***Ración recomendada 45 g

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

RESULTADOS DEL HIERRO TOTAL

Los resultados de hierro total de las dietas experimentales se presentan en el Cuadro 8.

En el Primer Grupo, se observa que la dieta 3, papa-zapallo-carne de pollo pulpa tuvo el nivel más bajo ($p < 0,05$) de hierro total 0,135 mg/100 g, seguidas por la dieta 7, papa-zapallo-leche-mandarina, 0,176 mg/100 g, la dieta 1 papa-zapallo-leche 0,216 mg/100g, la dieta 2 papa-zapallo-hígado de pollo 0,747 mg/100 g , la dieta 6 papa-zapallo-hígado-mandarina 0,436 mg/ 100 g, la dieta 5, papa-zapallo-pescado, 0,305 mg/100g y la dieta 4, papa-zapallo-carne de vacuno 0,194 mg/ 100 g . De este primer grupo podemos observar que las dietas que contenían hígado tuvieron la mayor cantidad de hierro total ($p < 0,05$) en comparación con las otras dietas, pero hubo una diferencia entre ellas, esto puede atribuirse a que no se hizo un compósito de hígados para estas dos dietas, estos productos fueron obtenidos en diferentes momentos.

En el segundo grupo de estudio, la dieta con un alimento fortificado con hierro no hemínico, como fue el fideo, tuvo diferentes valores de hierro total, la dieta 8, fideos fortificados + papa-zapallo-leche, tuvo 0,247 mg/100 g; la dieta 10, fideos fortificados + papa-zapallo-leche + infusión de té tuvo 0,271 mg/100 g; y la dieta 9, fideos fortificados + papa-zapallo-leche + jugo de mandarina tuvo 0,196 mg/100 g. Como se puede observar los resultados de hierro total fueron diferentes en las tres dietas, a pesar de haber utilizado un mismo lote de fideos fortificados durante todo el estudio. Estos resultados se parecen a los esperados en forma teórica.

En el tercer grupo de estudio, la dieta 12, leche fortificada con hierro no hemínico (Nido Crecimiento, Laboratorio Nestle) tuvo 0,879 mg/100g y la dieta 11 leche fortificada con hierro no hemínico (Nido crecimiento, Laboratorio Nestle) más avena tuvo 0,840 mg/100 g. Estas dos dietas resultaron con altas cantidades de hierro debido al nivel alto de fortificación (7,83 mg de Fe/100 g).

En el cuarto grupo de estudio, la dieta 16, papilla 4 (Distribución Gratuita del Gobierno) tuvo el menor nivel de hierro total, 0,639 mg/100 g , seguida de la dieta 14, papilla 2 (Cerevita, Laboratorio Nestlé) con 1,225 mg/100 g, la dieta 15, papilla 3 (Distribución gratuita del gobierno) tuvo 1,152 mg/100 g y la más alta (p<0,05) de hierro total fue la dieta 13, papilla 1 (Nestum, Laboratorio Nestlé) con 1,734 mg/ 100 g. Estos resultados confirmaron los niveles de fortificación indicados en el producto de las cuatro papillas del cuarto grupo de las dietas estudiadas.

CUADRO 8: PROMEDIO DE NIVEL DE HIERRO TOTAL DETERMINADOS POR EL METODO COLORIMETRICO DE LAS 16 DIETAS ESTUDIADAS

DIETA	GRUPOS DE ESTUDIO	Fe* mg /100 g	DS**
PRIMERO			
D1	Papa-zapallo + leche en polvo	0.216	0.12
D2	papa-zapallo + hígado pollo	0.747	0.07
D3	papa-zapallo + carne pollo, pulpa	0.135	0.02
D4	papa-zapallo + carne vacuno molida	0.194	0.01
D5	papa-zapallo + pescado	0.305	0.03
D6	papa-zapallo + hígado de pollo + mandarina	0.436	0.04
D7	papa-zapallo + leche + mandarina	0.176	0.02
SEGUNDO			
D8	Fideos fortificado-papa-zapallo-leche	0.247	0.08
D9	fideos fortificado-papa-zapallo-leche + mandarina	0.196	0.07
D10	fideos fortificado-papa-zapallo-leche + té	0.271	0.02
TERCER			
D11	Leche fortificada + avena	0.840	0.06
D12	leche fortificada	0.879	0.17
CUARTO			
D13	papilla 1 fortificada (Nestum)	1.734	0.07
D14	papilla 2 fortificada (Cerevita)	1.225	0.05
D15	papilla 3 fortificada (Distribución gratuita del Gobierno)	1.152	0.17
D16	papilla 4 fortificada (Distribución gratuita del Gobierno)	0.639	0.13

* Promedio de 4 muestras analizadas

**DS = desviación estándar

DISPONIBILIDAD DE HIERRO NO HEMINICO:

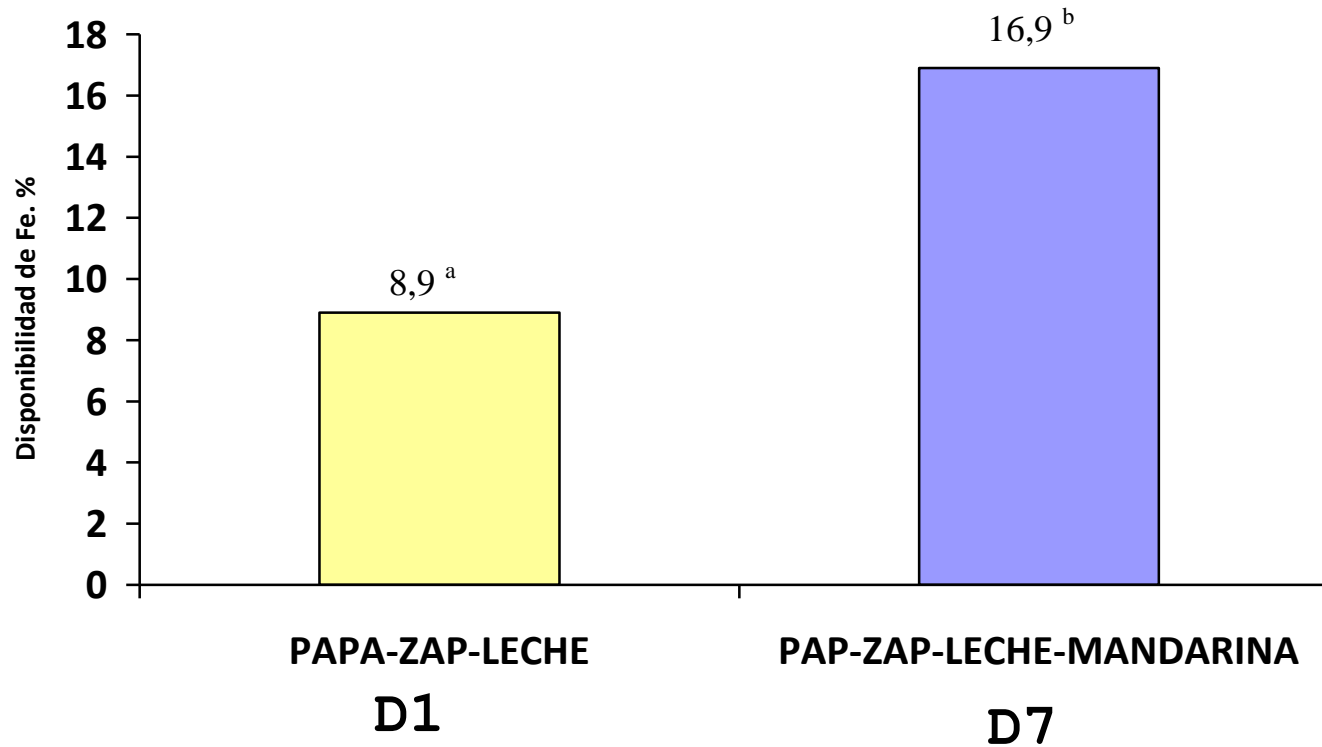
Los resultados de la disponibilidad de hierro no hemínico de las dietas experimentales se presentan en el Anexo (Cuadro 5).

GRUPO 1

La disponibilidad de hierro no hemínico (hierro dializable) de las dietas del primer grupo, del 1 al 7, elaboradas con alimentos comunes sin fortificar se presentan en el Gráfico 2 y Gráfico 3.

En el Gráfico 2, se observa la duplicación de la absorción de hierro no hemínico entre la dieta 1 (papa-zapallo-leche) con un nivel de disponibilidad de hierro 8,9 %, estadísticamente menor ($p < 0,05$) que la dieta 7 (papa-zapallo-leche-mandarina) con nivel de disponibilidad de hierro de 16,9%; esto se debió a la adición de 30 mg de ácido ascórbico en 62 ml de mandarina, promotor de la absorción de hierro. Este efecto favorecedor de la absorción de hierro observado con la mandarina ha sido demostrado en varios estudios reportados por Wolfson *et. al.*, 1996 y de Ballot *et. al.*, 1987, en donde demuestran que añadiendo 70 mg y 110 mg de ácido ascórbico promueven la absorción del hierro (Rossander, *et. al.*, 1979, Hallberg, 1981, Hallberg, 1984), así mismo el efecto favorecedor esta relacionado con la dosis. En otro estudio en humanos en donde se adicionó 100 g y 200 g de plátano y también 50 g y 100 g de papaya, la absorción de hierro fue mayor con las cantidades más altas de estas frutas. (Ballot, *et. al.*, 1987).

GRAFICO 2: EFECTO DEL ÁCIDO ASCÓRBICO SOBRE LA DISPONIBILIDAD DEL HIERRO NO HEMÍNICO. IN VITRO, DIETAS CON ALIMENTOS COMUNES*



Los valores indicados corresponden a la media de la disponibilidad de Fe de las dieta con Leche y con un favorecedor (las letras diferentes son estadísticamente significativas)

- Datos estimados de 12 observaciones.
- ANVA (F cal= 49,21 p<0,0001)

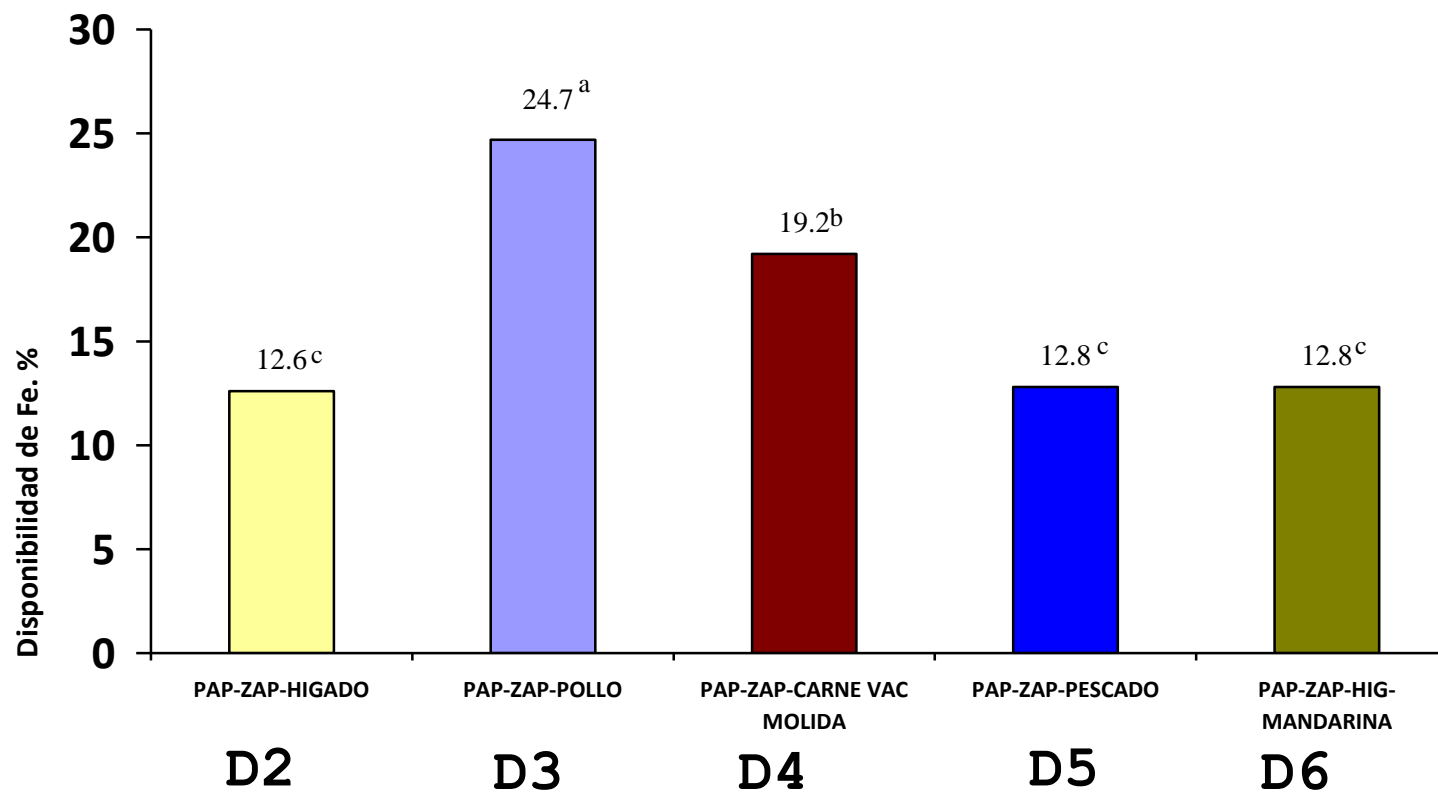
En el Gráfico 3, se muestran los resultados de las dietas con carne el nivel de disponibilidad de la dieta 3 (papa-zapallo-pollo) fue de 24,7%, estadísticamente mayor ($p < 0,05$) que las dietas 2, 5 y 4, que contenían papa-zapallo-hígado de pollo, papa-zapallo-pescado y papa-zapallo-carne de vacuno con disponibilidades de hierro de 12,6%, 12,5% y 19,2% respectivamente.

Estos datos nos corroboran el efecto favorecedor de los tejidos animales, sin embargo, no fueron tan altos como los reportados en ellos discrepando con estudios realizados por Cook y Monsen (1976), donde encontraron un incremento de la disponibilidad de hierro en la dieta de dos a cuatro veces más cuando estuvo presente el tejido animal en la dieta.

En este mismo grupo de estudio podemos observar que los niveles de disponibilidad de hierro de la dieta 2, (papa-zapallo-hígado) y la dieta 6 (papa-zapallo-hígado-mandarina) no tuvieron diferencias significativas (12,6% y 12,8% respectivamente), demostrando que el ácido ascórbico de la mandarina no tuvo efecto sobre el hierro hemínico.

Varios estudios realizados con hierro marcado han confirmado el efecto favorecedor de los tejidos musculares, desde que Layrisse *et. al.* (1968) demostraron que cuando adicionaba músculo con marcadores intrínsecos a una comida con leguminosas este duplicaba la absorción de hierro. Así mismo Martínez *et. al.* (1970) demostraron que este efecto favorecedor esta en relación con la cantidad de cisteína presente en los tejidos de la carne de res, cordero, pollo, pescado, cerdo e hígado.

GRAFICO 3: EFECTO DEL HIERRO HEMÍNICO Y DEL ÁCIDO ASCÓRBICO SOBRE LA DISPONIBILIDAD DEL HIERRO NO HEMÍNICO, DIETAS CON ALIMENTOS COMUNES*



LOS VALORES INDICADOS CORRESPONDEN A LA MEDIA DE LA DISPONIBILIDAD DE FE DE LAS DIETAS CON ALIMENTOS COMUNES DE ABLACTANCIA. EXISTIÓ DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE LAS DIETAS CON HÍGADO Y CARNES (LAS LETRAS DIFERENTES SON ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVAS)

*DATOS ESTIMADOS DE 12 OBSERVACIONES.

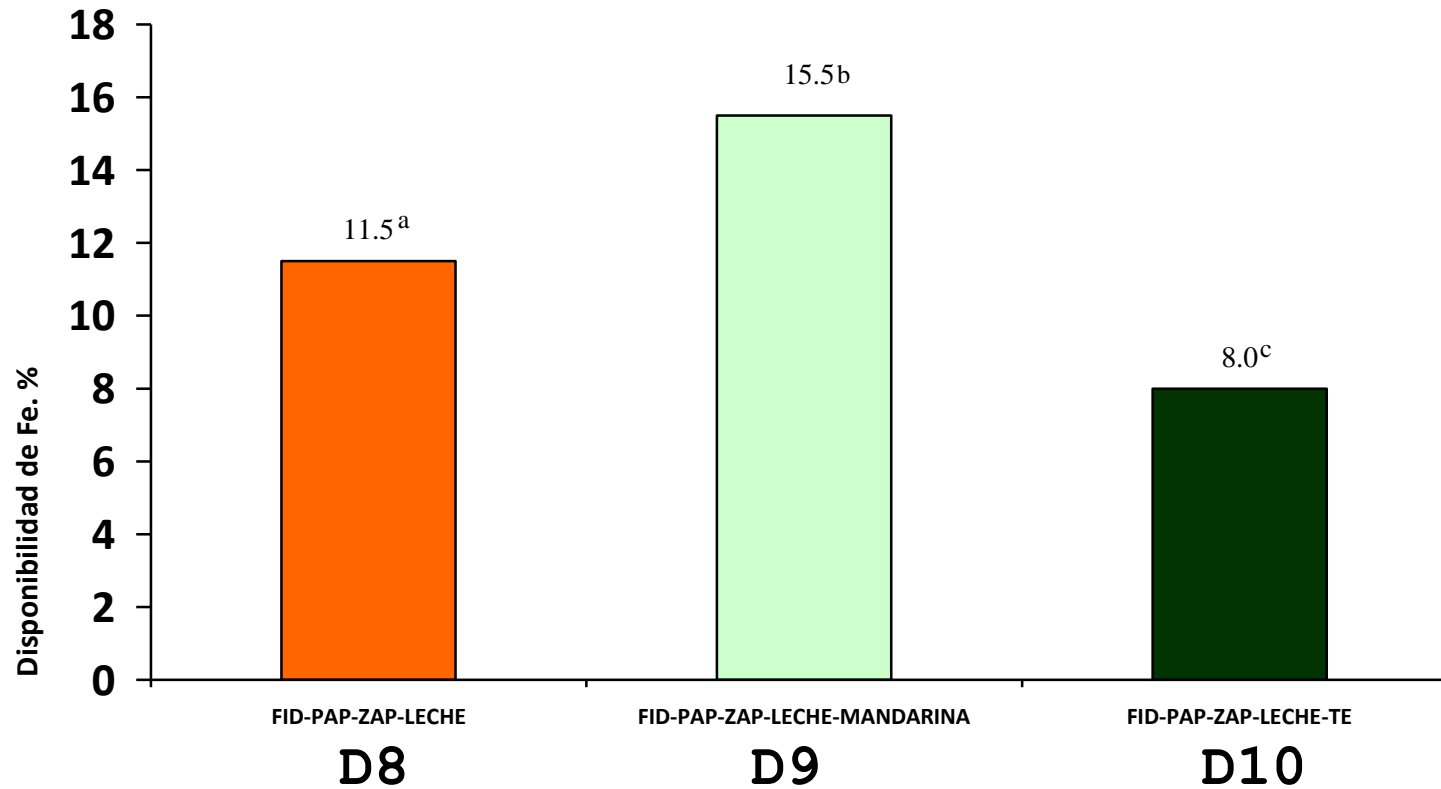
ANVA (F cal= 49,21 p<0,0001)

El potencial de la cisteína es en quelar al hierro y de convertir de hierro férrico a hierro ferroso, lo que podría explicar el efecto favorecedor sobre la absorción de hierro de los péptidos que contienen cisteína.

GRUPO 2

Los resultados del segundo grupo, se muestra en el Gráfico 4, donde la dieta 8, con fideo fortificado con sulfato ferroso resultó tener un nivel de disponibilidad del 11,5%, pero cuando se agrega un favorecedor de la absorción de hierro como el ácido ascórbico en 62 ml de mandarina, dieta 9, ésta se incrementó a 15,5% ($p < 0,05$), demostrando también en este grupo de dietas que el ácido ascórbico con nivel del 30 mg favoreció la disponibilidad del hierro no hemínico, esta variación es atribuible al cambio de la forma química del hierro férrico a ferroso, al convertirse en un compuesto de menos peso molecular es posible de traspasar la membrana de diálisis. En cambio, la dieta 10, con un inhibidor como el té resulta una disponibilidad de hierro dializable no hemínico de 8,0%, estadísticamente menor que las otras dos dietas ($p < 0,05$), este efecto fue demostrado primariamente con una comida de arroz, donde se demuestra claramente que el té tiene un efecto inhibidor. Comparando el resultado de la dieta 10 con estudios anteriores, podemos observar que esta disminución fue en un nivel menor que el encontrado por Disher *et. al.*, (1975), quienes hallaron que la disminución fue de 4 veces menor de 11,5 a 2,5% cuando adicionó una taza de té a una comida de panes y un porcentaje similar a la reportada por Morck *et. al.*, (1983). Este efecto inhibidor del té con el hierro es debido a la presencia de teína que forma un compuesto de gran peso molecular, que no logra atravesar la membrana.

GRAFICO 4: EFECTO DEL ÁCIDO ASCÓRBICO Y EL TÉ SOBRE LA DISPONIBILIDAD DEL HIERRO NO HEMÍNICO, IN VITRO DE DIETAS CON ALIMENTOS COMUNES Y FORTIFICADO*



* DATOS ESTIMADOS DE 12 OBSERVACIONES. LOS VALORES INDICADOS CORRESPONDEN A LA MEDIA Y LAS LETRAS INDICAN DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS.

ANVA (F cal= 456,21 p<0,0001)

de diálisis. Este mismo procedimiento sucede en la pared del intestino, donde se forman compuestos insolubles y por lo tanto inabsorbibles.

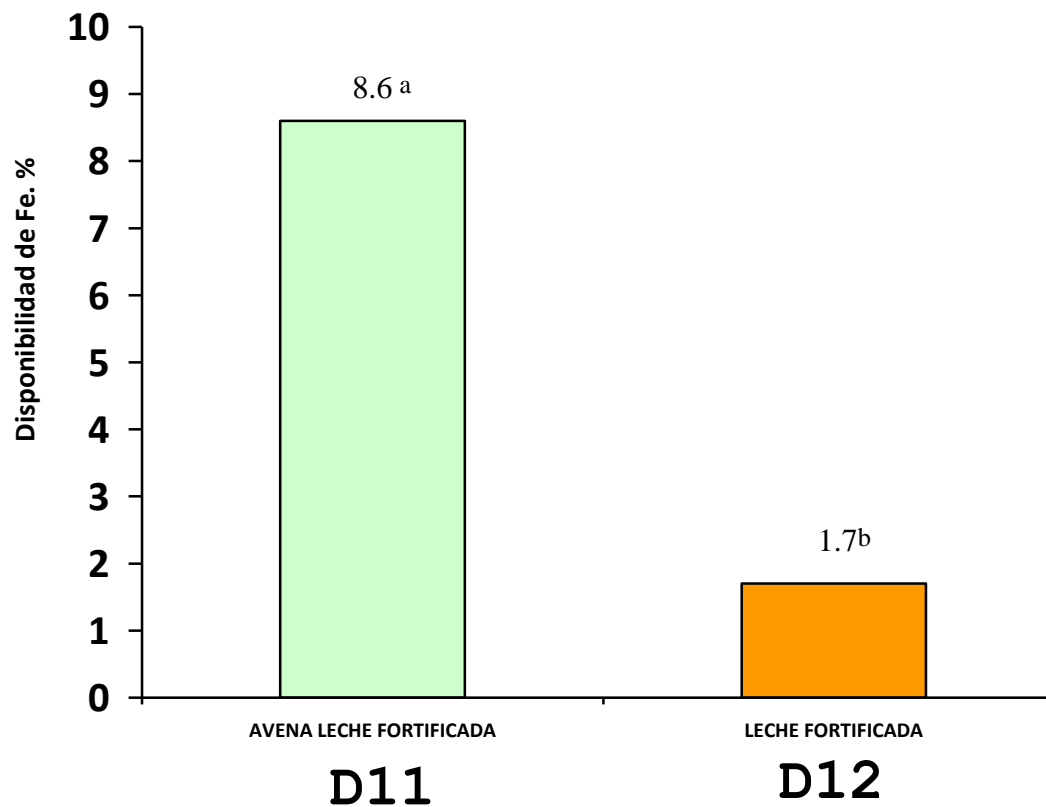
GRUPO 3

En el Gráfico 5 se observa los resultados de las dos dietas con fórmula láctea.

La dieta 12, fórmula láctea fortificada con hierro no hemínico resultó tener una fracción de hierro dializable de 1,7%, un valor bajo en comparación a los reportados por otros estudios y la dieta 13 preparada a partir de la misma fórmula que la dieta 12 a la que se agregó avena hubo una fracción de hierro dializable de 8,6%. Estos resultados fueron inesperados, dado que se esperaba observar un efecto negativo de la avena sobre la fracción de hierro dializable.

Se asume que podría ser por la forma química del compuesto de hierro fortificado, en este caso no se cuenta con información sobre el compuesto de hierro usado en la fortificación en esta fórmula, también a la presencia de altas cantidades de calcio en la fórmula láctea (668,67 mg/100 g) y a la capacidad quelante que tienen las proteínas lácteas, tornándolo insoluble, inhibiendo su diálisis y absorción. Los datos de la literatura sobre disponibilidad de hierro en fórmulas infantiles basadas en leche de vaca indican valores de absorción de 4,5% y 10% (Sketel *et. al.* 1986), tradicionalmente se acepta una absorción de hierro de un 4% desde fórmulas fortificadas con 12 mg de hierro por litro (Dalman, 1988). Comparando con otro estudio *in vitro* podemos observar que encontraron fracciones de hierro dializados superior al 5%, un mayor porcentaje que la disponibilidad encontrada en nuestro estudio. (Soria, 1993)..

GRAFICO 5: PORCENTAJE DE DISPONIBILIDAD DE HIERRO NO HEMÍNICO DE DIETAS LACTEAS FORTIFICADAS *



LOS VALORES INDICADOS CORRESPONDEN A LA MEDIA DE LA DISPONIBILIDAD DE FE DE LAS DIETAS CON ALIMENTOS LACTEOS FORTIFICADOS. EXISTIÓ DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE LAS DOS DIETAS (LAS LETRAS DIFERENTES SON ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVAS)

*DATOS ESTIMADOS DE 12 OBSERVACIONES.

ANVA (F cal= 435,91 p<0,0001)

Sin embargo es importante resaltar el estudio de Soria (1993) fue en fórmulas maternizadas y no en leche entera, las cuales tienen un mayor porcentaje de favorecedores.

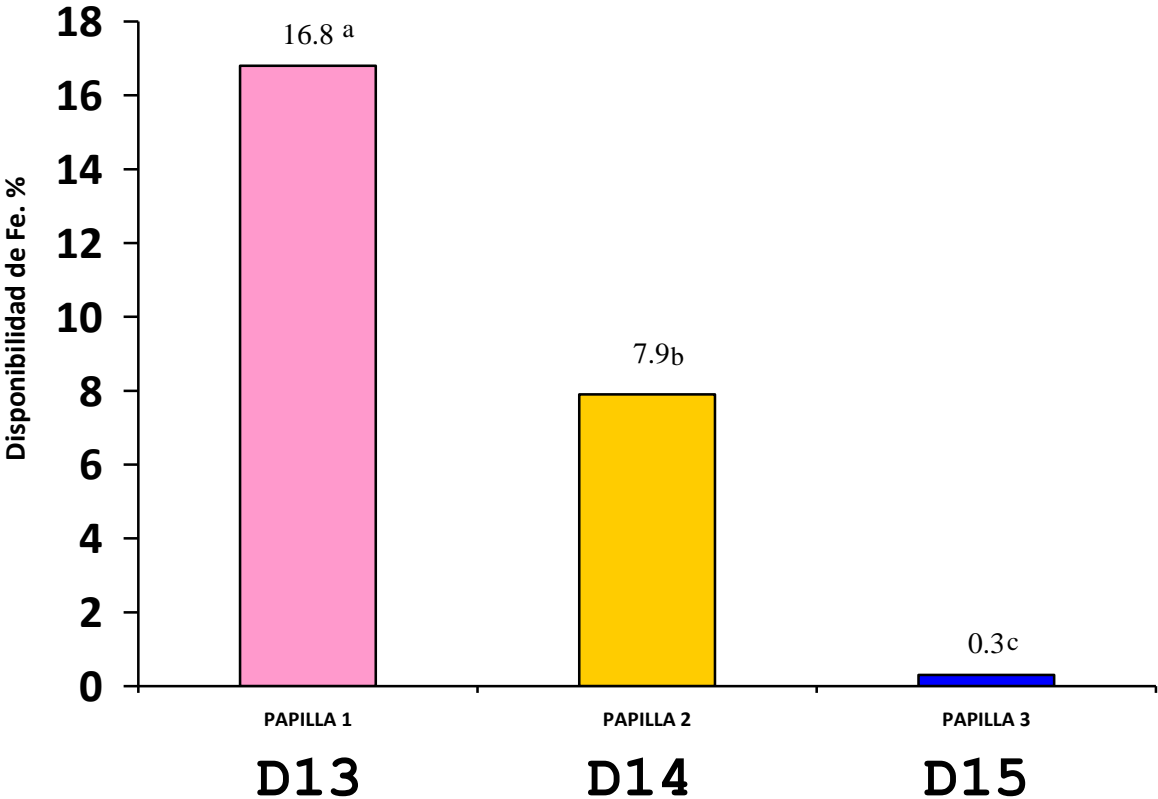
Y los estudios reportados por Wolfor (1996) demostró que la disponibilidad del hierro en dietas con avena sola fue de 0,3%, y dietas con avena más otro cereal fue de 11,7%, este alto valor encontrado se observó con la presencia del ácido ascórbico en la dieta. Este resultado inesperados obtenidos en la dieta 11 deberán ser revaluados en el futuro.

GRUPO 4

Los resultados del cuarto grupo de estudio, se muestran en el Gráfico 6, la dieta 13 (la papilla 1) elaborada a partir de extruidos de harina de arroz, de trigo y maíz (Nestum. Laboratorio Nestlé) tuvo una más alta disponibilidad de hierro no hemínico, estadísticamente significativa ($p < 0,05$) en comparación con la dieta 14 (papilla 2) elaborada con extruidos harina de arroz, de trigo y maíz (Cerevita, laboratorio Nestlé) (16,8 % y 7,9 % respectivamente).

La papilla 3 (Distribución gratuita por el Gobierno), dieta 15, cereales extruidos como arroz dextrinado, cebada y leche modificada, soya, manteca, azúcar, canela, vitaminas y minerales) tuvo un nivel bajo (0.4%) altamente significativo de fracción de hierro dializable ($p < 0.05$) en comparación con las otras tres papillas..

GRAFICO 6: PORCENTAJE DE DISPONIBILIDAD DE HIERRO NO HEMÍNICO, IN VITRO, DIETAS CON ALIMENTOS EXTRUIDOS Y FORTIFICADOS *



LOS VALORES INDICADOS CORRESPONDEN A LA MEDIA DE LA DISPONIBILIDAD DE FE DE DIETAS CON MEZCLA DE ALIMENTOS EXTRUIDOS Y FORTIFICADOS CON FE. EXISTIÓ DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE LAS DIETAS CON HÍGADO Y CARNES (LAS LETRAS DIFERENTES SON ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVAS)

*DATOS ESTIMADOS DE 12 OBSERVACIONES.
ANVA (F cal= 192.95 p<0,0001)

La papilla 4 (distribución gratuita del gobierno peruano), dieta 16, el valor de disponibilidad de hierro no hemínico obtenido en esta dieta es anormalmente alto por lo tanto no se incluye en el análisis.

El nivel bajo encontrado en la Papilla 3 (dieta 15) se presume a la presencia de inhibidores del hierro no hemínico, esta papilla tiene adición de fosfato dicalcico de 800 mg/100g y baja cantidad de promotores de la absorción del hierro no hemínico, como es el ácido ascórbico, 25 mg/100 g.

Se ha demostrado que el efecto inhibidor de la absorción de hierro no hemínico por el calcio es potente, especialmente cuando es suministrado como un compuesto orgánico o cuando se encuentra en la misma composición del alimento, como el caso de la leche o queso; y su efecto inhibitorio depende de la cantidad de calcio consumido, sobre el tamaño y la composición de la comida. Así mismo se ha encontrado que la inhibición de la absorción de hierro, en dosis por encima de 300 mg de Ca añadido como clorhidrato de calcio tuvo una reducción del 50 al 60% la absorción del hierro. (Hallberg, *et. al.*, 1992).

En cambio el efecto favorecedor de las vitaminas agregadas a estos productos fortificados es atribuible al ácido ascórbico, además de cumplir un rol nutricional, potencia la biodisponibilidad de hierro. El ácido ascórbico es un compuesto fuertemente reductor y además es capaz de formar complejos de hierro ferroso, que mantienen al hierro en forma soluble. La capacidad reductora del ácido ascórbico es especialmente efectiva a pH bajo donde el potencial redox del sistema ácido ascórbico/hierro permite la reducción de Fe^{+++} a Fe^{++} . (Clydesdale, 1983).

Con estos resultados de disponibilidad de hierro de las 16 dietas, e puede predecir la tendencia de la respuesta de absorción de hierro cuando se consume una ración, pero esta

extrapolación a situaciones reales se debe establecer con prudencia. Con los datos experimentales de disponibilidad de hierro de las dietas, se ha calculado el porcentaje teórico que cubriría los requerimientos de hierro de los infantes (1 mg/día de Fe, según FAO/OMS 1985) si consumiese una ración de las dietas estudiadas.

En el Cuadro 9, observamos los porcentajes teóricos del requerimiento de hierro de los infantes aportados por una ración de las dietas estudiadas. Entre las dietas del Grupo 1, dietas con alimentos comunes con hierro hemínico o con hierro no hemínico, la dieta 2, papa + zapallo + leche en polvo + jugo de mandarina, hipotéticamente cubriría el 14,38% de requerimiento de hierro del infante, a pesar de haber tenido un porcentaje de disponibilidad de hierro no hemínico (12,6%), esto se debe alto contenido de hierro total en la dieta.

Las dietas del Grupo 2, con un alimento fortificado con hierro no hemínico, la dieta 9, fideo fortificado + papa-zapallo-leche + jugo de mandarina cubriría el 6,35% de los requerimientos.

Las dietas del grupo 3, los porcentajes de disponibilidad de hierro no hemínico son bajos a pesar de que su contenido de hierro inicial fue alto.

En el caso de la dieta 16, papilla 4, y la dieta 2, papa-zapallo + hígado de pollo estarían cubriendo el 15,56% y 14,38% de los requerimientos de hierro del infante.

Las dietas con un nivel bajo de aporte al requerimiento de hierro del infante fueron la dieta 1, papa – zapallo – leche en polvo y la dieta 12, leche fortificada con hierro no hemínico llegarían a cubrir sólo el 2,52% y 0,86% respectivamente.

**CUADRO 9: PORCENTAJE TEORICO DEL REQUERIMIENTO DE
HIERRO* DE LOS INFANTES APORTADO POR UNA RACION
DE LAS DIETAS ESTUDIADAS**

DIETA	PORCENTAJE DEL REQUERIMIENTO
PRIMER GRUPO	
D1 papa - zapallo + leche en polvo	2,52
D2 papa - zapallo + hígado pollo	14,38
D3 papa - zapallo + carne pollo pulpa	5,14
D4 papa - zapallo + carne vacuno molida	5,80
D5 papa - zapallo + pescado	5,87
D6 papa - zapallo + hígado pollo + jugo mandarina	11,94
D7 papa - zapallo + leche polvo + jugo mandarina	5,71
SEGUNDO GRUPO	
D8 fideos fortificado - papa - zapallo – leche	4,27
D9 fideos fortificado - papa - zapallo – leche + jugo mandarina	6,35
D10 fideos fortificado - papa - zapallo – leche +té	3,23
TERCER GRUPO	
D11 leche fortificada + avena	2,80
D12 leche fortificada	0,86
CUARTO GRUPO	
D13 papilla 1 fortificada (Nestum)	11,72
D14 papilla 2 fortificada (Cerevita)	2,90
D15 papilla 3 fortificada (Distribución gratuita del Gobierno)	0,21
D16 papilla 4 fortificada (Distribución gratuita del Gobierno)	15,56

* % del Requerimiento = 1 mg / día , según FAO/OMS 1985

V. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en que se realizó el presente estudio se puede extraer las siguientes conclusiones:

1. La disponibilidad de hierro no hemínico de dietas con hígado (hierro hemínico) fue similar con la dieta con hígado (hierro hemínico) más ácido ascórbico proveniente de una fruta cítrica (mandarina). El agregado de uno o dos favorecedores de la absorción de hierro no hemínico como fue el ácido ascórbico y el hierro hemínico tuvo efectos similares.
2. La dieta 15, con ingredientes extruidos y fortificadas con hierro, papilla 3 (extruidos de arroz, soya, cebada, canela, azúcar, manteca, leche en polvo, , fortificada con vitaminas y minerales), resultó ser la dieta más deficiente en disponibilidad de hierro no hemínico atribuible a los altos contenidos de calcio elevados y menores niveles de fortificación con vitamina C.
3. Todos los valores obtenidos de este estudio nos indica la tendencia de la disponibilidad de hierro no hemínico en las 16 diferentes dietas o mezclas de alimentos que no necesariamente van tener los mismos niveles de disponibilidad en el ser humano.

VI. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda adicionar a la dieta 1, papa – zapallo - leche un favorecedor sea un alimento de origen animal o una fruta cítrica, pero no ambos.
2. En la dieta 15, se debe disminuir el nivel de fortificación del fosfato de calcio y aumentar el nivel del ácido ascórbico para aumentar la disponibilidad de hierro presente en las dietas.
3. Utilizar alimentos que contengan hierro hemínico o ácido ascórbico en la dieta de los ablactantes, para facilitar la disponibilidad de hierro no hemínico en la dieta.
4. Descartar el uso de infusión de té en las dietas de los ablactantes, para evitar la inhibición de la absorción de hierro no hemínico presente en la dieta.

VII. RESUMEN

Los alimentos más utilizados en la dieta de niños ab lactantes, son cereales y tubérculos. Los alimentos fortificados son los que contienen cereales, cuyo consumo se ha incrementado en los últimos años, así como su distribución gratuita a las poblaciones de mayor riesgo en zonas de mayor pobreza. El objetivo de este trabajo fue medir el porcentaje de absorción de hierro no hemínico mediante una técnica *in vitro*. Se diseñaron 16 dietas, las cuales se dividió en cuatro grupos de estudio, diferenciándose entre ellas por su contenido de fuente de hierro hemínico y no hemínico, adición de promotores o inhibidores de la absorción del hierro no hemínico. Se utilizó el método *in vitro* de Miller, modificado en 1991, para determinar la absorción de hierro no hemínico. Siendo el indicador utilizado el hierro disponible. La disponibilidad de hierro no hemínico varió entre 0,3 % a 52,8 %, evidenciándose la importancia de la mezcla adecuada de alimentos, la relación molar de hierro: ácido ascórbico, el compuesto de hierro fortificado y el nivel de inhibidores. Aunque la extrapolación de los datos hallados *in vitro* a situaciones reales en humanos no es de la misma magnitud, se puede concluir que, las diferentes cantidades de hierro de las dietas, el nivel de fortificación así como los diferentes niveles de disponibilidad encontradas, una ración de la dieta 2, *papa - zapallo - hígado de pollo* cubriría el 14% de los requerimientos de hierro del infante. En las otras dietas su aporte sería prácticamente nulo. Por ello el consumo de un alimento de origen animal en pequeñas cantidades y el desarrollo de adecuadas mezclas de alimentos fortificados, teniendo en cuenta la biodisponibilidad del nutriente agregado facilitarían la absorción de hierro no hemínico en la dieta.

VIII. BIBLIOGRAFIA

- ACOSTA, A. AMAR M., CORNBLUTH.SZARFARE, S.C. 1984. Iron absorption from typical Latin American diets. *Am. J. Clin. Nutr.* 39:953-62.
- BALLOT, D., BAYNES, R., BOTHWELL, T., GILOOLY, M., MACFARLANE, B., MCPHAIL, A., LYONS, G., DERMAN, G., BEZWODA, W., TORRANCE, J. AND BOTHWELL, J., 1987. The effects of fruit juices and fruit on the absorption of iron from a rice meal. *Brit. J. Nutr.* 57:331-343.
- BJÖRN-RASMUSSEN, E., HALLBERG L., MAGNUSSON B., ROSSANDER L., VANBERG B. and ARVDSSON B. 1976. Measurement of iron absorption from composite meals. *Am. J. Clin. Nutr.* 29:772-778.
- BRODY, T., 1992. *Nutritional Biochemistry*, Academic Press, 7th Edition.
- BROWN, R., KLEIN, A., SIMMONS, W. AND HURRELL, R., 1990. The influence of Jamaican herb teas and other polyphenol-containing beverages on iron absorption in the rat. *Nutr. Res.* 10:343-353.
- CALDERON, V., TUPAYACHI, J., Y WINDISEN, P. 1989. Hábitos y actitudes alimentarias en los distritos de Chincheros y Huancarani. Serie Materiales de Investigación del COPACA. Doc. n° 3.
- CAMERON, M. AND HOFVANDER, Y. 1983. *Manual on feeding infants and young children*, Oxford University Press, N.Y., Third Ed.

- CLYDESDALE, F., 1983. Physicochemical determinants of iron bioavailability. *Food Tech.* 133-138.
- COLLAZOS, C., ALVISTUR, E., VASQUEZ, J., QUIROZ, A., HERRERA, NIZA., ROBLES, N., ARIAS, M., VIÑAS, E., URQUIETA, R., DIAS, C., ROCA, A., FACHING, A., HERNANDEZ, E., WHITE, P., BRADFIELD, R., WHITE, H., HEGSTED, M. 1996. *Tablas Peruanas de Composición de Alimentos* CENAN, MINSA. Sétima Ed.
- COOK, J. AND REUSSER, M. 1983. Iron fortification: an uptake, *Am. J. Clin. Nutr.* 38:648-659.
- COOK, J. 1990. Adaptation in iron metabolism, *Am. J. Clin. Nutr.* 51:301-8.
- COOK, J. D., MONSEN, E. R. 1976. Food iron absorption in human subject. III Comparison of the effect of animal proteins on nonheme iron absorption. *Am. J. Clin. Nutr.* 29:859-867.
- COOK, J. AND MONSEN, E. 1977. Vitamin C, the common cold and iron absorption. *Am. J. Clin. Nutr.* 30:235-241.
- COOK, J., DASSENKO, S., AND LYNCH, S., 1991. Assessment of the role of non-heme iron availability in iron balance. *Am. J. Clin. Nutr.* 54:717-722.
- CREED H., FUKUMOTO, M., UGAZ, M., 1995. *Alimentación Infantil: resultados de una campaña educativa en la comunidad.* Instituto de Investigación Nutricional. 33 pg.

- CREED, H. 1990. Aspectos Metodológicos y análisis de los patrones de alimentación infantil. En Análisis de los Indicadores de Salud Materno Infantil en Perú. Reporte final, AID.
- DALLMAN, R., SIIMES, M. AND STEKEL, A. 1980. Iron deficiency in infancy and Childhood. *Am. J. Clin. Nutr.* 33:86-118.
- DISLER, P. LYNCH, S., CHARTON, R., TORRANCE, J., BOTHWELL, T., WALKER, R., AND MAYER, F. 1975. The effect of tea on iron absorption. *Gut* 16,193-200.
- FAO/OMS. 1990. Necesidades de Vitamina A, Hierro, Folato y vitamina B12. Informe Técnico FAO No 23 Roma, Italia.
- GILLOOLY, M. 1983. The effects of organic acids, phytates and polyphenols on the absorption of iron from vegetal *Br. J. Nutr.* 49:331-342.
- GILLOOLY, M., BOTHWELL, T., CHARLTON, R., TORALL, P., MAYER, F. 1984. Factors affecting the absorption of iron from cereals. *Br. J. Nutr.*, 51:37-46.
- GLAHN, R., AGNGLOFF, M. van CAMPEN, D., MILLER, D., HALLBERG L. 1981. Bioavailable nutrient density a new concept applied in the interpretation of food iron absorption data. *Am. J. Clin. Nutr.* 34:2242-7.
- HALLBERG, L. 1981. Bioavailability of dietary iron in man. *Ann. Rev. Nutr.* 1:123-47.

- HALLBERG, L. 1984. IRON in Present Knowledge in Nutrition. The Nutrition Foundation Inc, Washington D.C. p. 457.
- HALLBERG, L. AND ROSSANDER, L. 1982. Effects of diferent drinks on the absorpction of non-heme iron from compsite meals. Hum. Nutr. Appl. 36:116-123.
- HALLBERG, L., ROSSANDER-HULTHEN, L., BRUNE, M. and GLEERUP, A., 1992. Calcium and iron absorption: mechanism of action and nutritional importance. Eur. J. Clin. Nutr. 46: 317-327.
- HURREL, R., LYNCH S., TRINIDAD, T., DASSENKO, S., COOK, J., 1988. Iron absorpction in humans: bovine serum albumin compared with beef muscle and egg white. Am. J. Clin. Nutr. 47:102-7.
- HURREL, R., LYNCH S., TRINIDAD, T., DASSENKO, S., COOK, J., 1989. Iron absorpction in humans: as influenced by bovine milk proteins. Am. J. Clin. Nutr. 49: 546-556.
- INTERNATIONAL NUTRITIONAL ANEMIA CONSULTATIVE GROUP, INACG 1985. The prevalence of anemia in the world. Washington, DC, WHO Report. The Nutrition Foundation.
- INTERNATIONAL NUTRITIONAL CONSULTATIVE GROUP, INACG. 1990. Combating iron deficiency Anemia through food fortification technology, An action plan, INACG.
- JACOS, A., GREENMAN, D., 1969. Availability of food iron Br. Med. J. 1:675-6.

- KANE, A., MILLER, D., 1984. In vitro estimation of the effects of selected proteins on iron bioavailability Am. J. Clin. Nutr. 39:393-401
- KAPSOKEFALOU, M. AND MILLER, D. 1991. Effects of meat and selected food components on the valence of non heme iron during in vitro digestion. J. Food Sci.; 56:352-358.
- LAYRISSE, M., MARTINEZ-TORRES, C., AND ROCHE, M. 1974. Effect of amino acids on iron absorption. Am. J. Clin. Nutr. 21:1175-1183.
- LAYRISSE, M., MARTINEZ-TORRES, C., AND ROCHE, M. 1968. Effect of interactions of various food on iron absorption. Am J Clin Nutr 21:1175-1183.
- MARTINEZ-TORRES, C., ROCHE, E. LAYRISSE, M., 1981. Effect of cysteine on iron absorption in man. Am J Clin Nutr. 34:322-7.
- McDOWELL, L.R. 1992. a. Minerals in Animal and Human Nutrition. Academic Press, San Diego, California.
- MILLER, D., SCHRICKER, B.R., RASMUSSEN, R.R. and van CAMPEN, D. 1981. An in vitro method for estimation of iron availability from meals. Am. J. Clin. Nutr. 34:2248-2256.
- MONSEN, E., HALLBERG, L., LAYRISSE, M., HEGSTED, D., COOK, J., MERTZ, W., AND FINCH, C. 1978. Estimation of available dietary iron Am. J. Clin. Nutr. 31:134-141.
- MORCK, T., LYNCH, S., COOK, J., 1983. Inhibition of food iron absorption by coffee. Am. J. Clin. Nutr. 37: 416-420.

- MURRAY, R., GRANNER, D., MAYES, P., RODWELL, U., 1994. Bioquímica de Harper. Publishing Division on Pretince Hall. 13th.
- NARASINGA, B. and PRABHAVATHI, T. 1978. And in vitro Method for predicting the bioavailability of iron from foods. Am. J. Clin Nutr. 31:169-175.
- O`DONNELL, A., VITERI, F., CARMUEGA, E. 1997. Deficiencia de Hierro, desnutrición oculta en América Latina. CESNI. Centro de Estudios Sobre Alimentación Infantil.
- O`DELL B., 1984 Biovailability of trace elements. Nutr. Rew. 42:301-308
- RANHOTRA, G., HEPBURN, F., BRADLEY, W., 1971. Availability of iron in enriched bread. Cereal Chem 48: 377-84.
- ROSSANDER, L., HALLBERG, L., BJÖRN-RAMUSSEN, E. 1979. Absorption of iron from breakfast meals. Am. J. Clin. Nutr. 32: 2484-2489.
- RDA, RECOMMENDED DIETARY ALLOWANCE, 1989. 10th Ed. Food and Nutrition Board, National Academy of Sciences. Washington, D. C.
- SALTMAN, P., HEGENAUER, J., CHRISTOPHER, J., 1976. Tired blood and rusty livers. Ann Clin Lab Sci 6:167-176.
- SANCHEZ GRIÑAN, M. 1991. Estudios de consumo de alimentos en el Perú. Seminario Nacional de la Red SISVAN. pg. 68-86.

- SAS. 1988. SAS User's guide. Statistical Analysis System Institute, INC, Cary, N. C. 1028 p.
- SHILS, M.E. AND YOUNG, V.R. 1988. Modern Nutrition in Health and disease. Lead and Febiger.
- SMITH, K. T. 1983. Effects of chemical environment on iron bioavailability measurements. Food Technol 37:115-120.
- SORIA, A. 1993. Absorción intestinal de hierro: estudio de la disponibilidad in vitro de Alimentos. Tesis para optar el Grado de Magister en Ciencia Biológicas, con mención en Fisiología. Universidad de Chile.
- SKETEL, A., OLIVARES, M. PIZARRO, F. CHADUD, P., LOPEZ, I., AMAR, M., 1986 Absorption of fortification iron from milk formulas in infants. Am. J, Clin. Nutr.; 43:917-922.
- TURLAND, J., SMITH, R., KRETSCH, M., REYES, W., SHAH, A., 1990. Milk's effect on the bioavailability of iron from cereal-based diets in young women by use of in vitro and vivo methods. Am. J. Clin. Nutr. 52:373-8.
- WALTER, T., OLIVARES, M., AND HERTRAMPF, E. 1990. Field trials of food fortification with iron: the experience of Chile. In:Iron Metabolism in infants, pp 127-155, (B. Lönnerdal), CRC Press: Boca Raton.

- WOLFSOR, R., RODRIGUEZ, V., PELLEGRINO, N. y VALENCIA, M.,
1996. Evaluación de cereales fortificados como aportadores de
hierro. Revista de la Sociedad Argentina de Nutrición. 7:2 35-37.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION TECHNICAL REPORT, 1988.
Requirements of vitamin A, iron, folate, vitamin B12. Report n° 23
of a Joint FAO/WHO. Expert Consultation. Rome.

IX. APENDICE

**CUADRO 1: ANALISIS DE VARIANCIA DE LA DISPONIBILIDAD DE HIERRO DEL
PRIMER GRUPO DE ESTUDIO (D1 al D7) EN UN BLOQUE
COMPLETAMENTE AL AZAR CON MUESTREO**

FUENTE	G.L	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F calc.	Pr > F
Repeticiones	5	28.81194	5.76239	.85	0.5241
Dietas	6	1996.16935	332.69489	49.21	0.0001*
Repeticiones*dietas	30	202.8369	6.7612	130.08	0.0001
Error de muestreo	42	2.18300	0.5198		
TOTAL	83	2230.00120			

R2 = 0.999021

C.V. = 1.48

Dieta = Fuente de hierro dializable.

Encontrándose alta significación entre dietas ($p < 0.01$).

**CUADRO 2 ANALISIS DE VARIANCIA DE LA DISPONIBILIDAD DE HIERRO DEL SEGUNDO
GRUPO DE ESTUDIO (D8 al D10) EN UN BLOQUE COMPLETAMENTE AL
AZAR CON MUESTREO**

FUENTE	G.L	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F calc.	Pr > F
Repeticiones	5	18.136047	3.627209	9.68	0.0014
Dietas	2	341.904622	170.952311	456.23	0.0001
Repeticiones *dietas	10	3.74704	0.37470	20.94	0.0001
Error de muestreo	18	0.322050	0.017892		
TOTAL	35	364.109764			

R2 = 0.999116

C.V. = 1.15

Dieta = Fuente de hierro dializable.

Encontrándose alta significación entre dietas ($p < 0.01$).

CUADRO 3: ANALISIS DE VARIANCIA DE LA DISPONIBILIDAD DE HIERRO DEL TERCER GRUPO DE ESTUDIO (D11 al D12) EN UN BLOQUE COMPLETAMENTE AL AZAR CON MUESTREO

FUENTE	G.L	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F calc.	Pr > F
Repeticiones	5	13.555988	0.311198	0.48	0.7826
Dietas	1	284.901504	284.901504	435.91	0.0001
Repeticiones * dietas	5	3.267921	0.653584	59.21	0.0001
Error de muestreo	12	0.132450	0.011038		
TOTAL	23	289.857863			

R2 = 0.999543

C.V. = 2.34

Dietas = Fuente de hierro dializable.

Encontrándose alta significación entre dietas ($p < 0.01$).

CUADRO 4: ANALISIS DE VARIANCIA DE LA DISPONIBILIDAD DE HIERRO DEL CUARTO GRUPO DE ESTUDIO (D13 al D16) EN UN BLOQUE COMPLETAMENTE AL AZAR CON MUESTREO

FUENTE	G.L	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F calc.	Pr > F
Repeticiones	5	180.4205	36.0841	1.08	0.4127
Dietas	3	19424.6748	6474.8916	192.95	0.0001
Repeticiones * dietas	15	503.3666	33.5578	15.51	0.0001
Error de muestreo	24	51.9386	2.1641		
TOTAL	47	20160.4005			

R2 = 0.997424

C.V. = 7.55

Dietas = Fuente de hierro dializable.

Encontrándose alta significación entre dietas ($p < 0.01$).

CUADRO 5: PORCENTAJE DE DISPONIBILIDAD DE HIERRO NO LAS DIETAS ESTUDIADAS

DIETA	PORCENTAJE* DE DISPONIBILIDAD
PRIMER GRUPO	
D1 papa - zapallo + leche en polvo	8,9 ± 0,7
D2 papa - zapallo + hígado pollo	12,6 ± 0,3
D3 papa - zapallo + carne pollo pulpa	24,7 ± 3,5
D4 papa - zapallo + carne vacuno molida	19,2 ± 2,0
D5 papa - zapallo + pescado	12,8 ± 1,8
D6 papa - zapallo + hígado pollo + jugo mandarina	12,8 ± 1,6
D7 papa - zapallo + leche polvo + jugo mandarina	16,8 ± 1,3
SEGUNDO GRUPO	
D8 fideos fortificado - papa – zapallo – leche	11,5 ± 0,8
D9 fideos fortificado - papa – zapallo – leche + jugo mandarina	15,5 ± 1,0
D10 fideos fortificado - papa – zapallo – leche +té	8,0 ± 0,9
TERCER GRUPO	
D11 leche fortificada + avena	8,6 ± 0,5
D12 leche fortificada	1,7 ± 0,6
CUARTO GRUPO	
D13 papilla 1 fortificada (Nestum)	16,8 ± 0,6
D14 papilla 2 fortificada (Cerevita)	7,9 ± 0,9
D15 papilla 3 fortificada (Distribución gratuita por el Gobierno)	0,3 ± 0,1
D16 papilla 4 fortificada (Distribución gratuita por el Gobierno)	52,8 ± 7,9

*Promedio de 6 repeticiones y 2 submuestras