



Archivos Latinoamericanos de Nutrición

ISSN 0004-0622 *versión impresa*

ALAN v.50 n.3 Caracas set. 2000



Análisis in vitro de la disponibilidad del hierro en el arroz fortificado

Gabriela F. Romera. Angela Zuleta . María Inés Sarchi y María Elena Sambucetti

Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina

RESUMEN.

Con el objeto de determinar la disponibilidad *in vitro* del hierro en el arroz blanco fortificado con este mineral y el efecto inhibitorio del ácido fítico presente en el salvado en cantidades semejantes a las que se puede encontrar en el arroz integral, se analizaron muestras de arroz comercial blanco fortificado con hierro electrolítico (ABF) y arroz simil integral fortificado. Este se logró mediante mezclas de ABF más salvado de arroz en concentraciones de 4,76% y 9,09% en las muestras ABF2 y ABF3 respectivamente. Antes y después de ser sometidas a una hidrólisis con fitasa se determinó: Hierro total por espectrofotometría de absorción atómica, disponibilidad del hierro por el método *in vitro* de Kapsokefalou y Miller modificado por Valencia y col., fibra dietaria y ácido fítico según AOAC. Los resultados mostraron que el agregado de salvado deprimió la disponibilidad del hierro, 9,65%; 4,04%; y 1,82% para ABF, ABF2 y ABF3 respectivamente. Estos resultados pueden atribuirse en su mayor parte al contenido en ácido fítico, ya que después de su hidrólisis se obtuvieron valores máximos no significativamente diferentes de 28,20%; 27,95% y 25,30% para las mismas muestras. El contenido de fibra de las muestras disminuyó con el tratamiento con fitasa en las muestras ABF2 y ABF3, respectivamente. Sin embargo de acuerdo al análisis de regresión múltiple realizado, la fibra no influiría en los resultados mientras que el ácido fítico sería el responsable principal de la inhibición de la disponibilidad del hierro. Se concluye que en el arroz integral a pesar de su mayor contenido en hierro con respecto al arroz blanco, requeriría un nivel de fortificación más elevado que éste debido a su mayor contenido de ácido fítico .

Palabras clave: Arroz, ácido fítico, arroz fortificado con hierro. disponibilidad del hierro.

SUMMARY.

In vitro assessment of iron availability on fortified rice. Cereals are rich in fiber but also in phytate which is considered the principal inhibitor of mineral availability. On this basis, iron availability of fortified rice, and the inhibitory effect of bran phytate was studied in: white rice fortified with electrolytic iron (ABF) from commercial origin; and mixtures of ABF plus 4,76%

and 9,09% of rice bran (ABF2 and ABF3 respectively) to simulate brown rice. Samples were analysed before and after phytic acid hydrolysis with phytase: Dietary fiber and phytic acid were assessed according AOAC; iron availability, expressed as dialisable iron by the *in vitro* method of Kapsokafalou and Miller modified by Valencia et al.; iron content was assessed by AAS. Results showed that added bran depressed iron availability, 9,65%; 4,04% and 1,82% as expected (ABF, ABF2 and ABF3 respectively). After phytic acid hydrolysis iron availability reached 28,20%; 27,95% and 25,30% for the same samples. These values were not different. After phytic acid hydrolysis, fiber content of ABF2 and ABF3 were lower than before. However multiple regression analysis of the data showed that fiber had not influence on iron availability and that phytic acid would be the principal responsible of it. These results indicate that brown rice should have a higher level of iron fortification than in white rice or be combined with other foods that improve iron availability as meats, vegetables or fruits.

Key words: Rice, phytic acid, iron fortified rice, iron availability.

Recibido: 09-03-2000 Aceptado: 22-05-2000

INTRODUCCION

La recomendación de aumentar la ingesta de fibra es una de las más difundidas en las dos últimas décadas, y aceptadas en casi todos los países con el fin de mantener o mejorar la salud.

Una de las fuentes de fibra que ha cobrado mayor popularidad es la de los cereales. Con ese fin se dispone de granos enteros o integrales, que contienen alrededor de 3,60 a 13,50g de fibra por 100g, o sus tegumentos externos, pericarpio y aleurona, conocidos como salvados, con concentraciones de fibra de alrededor de 19 a 42g por 100g. Los productos más pulidos y refinados contienen una menor concentración, 1,50 a 6,50g por 100g, Sin embargo, pueden aportar cantidades significativas en función de su peso en la dieta (1-3).

Se ha señalado que la fibra aparte de sus efectos beneficiosos, podría disminuir el aprovechamiento de los minerales (4- 6). Sin embargo estudios más recientes llevados a cabo *in vitro* y en humanos, señalan a los fitatos como a los principales causantes de la disminución de la biodisponibilidad del hierro y cinc de los alimentos (7-13). El ácido fítico posee una fuerte capacidad quelante con cationes multivalentes, especialmente di y trivalentes como hierro, cinc, calcio y cobre con los que forma complejos insolubles a pH cercano a la neutralidad. La disminución de la absorción de hierro que produce el consumo de dietas con elevado contenido de ácido fítico puede ser eliminada cuando la dieta contiene suficiente cantidad de componentes que estimulan la absorción contrarrestando el efecto inhibitor del ácido fítico, tales como el ácido ascórbico y la carne (14).

El arroz integral es uno de los cereales cuyo aporte de fibra es más significativo, teniendo en cuenta la fracción importante que representa en las dietas de países con gran consumo. Pero a su vez su contenido en ácido fítico es mayor que el del arroz blanco o pulido debido a que en los cereales, los fitatos se concentran en los tegumentos externos junto a la fibra.

En cuanto al contenido de hierro, el arroz blanco aporta escasamente 0,5 mg por 100g (1), lo que justifica su enriquecimiento por el agregado de hierro elemental hasta 7mg/100g, como suele realizarse en la práctica en nuestro país. El arroz integral no se fortifica, puesto que contiene más hierro de forma natural, 1,4 mg/100g (1), sin embargo la presencia de una mayor cantidad de ácido fítico reduciría su aporte efectivo de manera tal que posiblemente también merecería ser

fortificado.

Este trabajo se ha realizado con el objeto de determinar la disponibilidad in vitro del hierro en el arroz blanco fortificado con hierro electrolítico y el efecto inhibitorio del ácido fítico presente en el salvado en cantidades similares a las que se puede encontrar en el arroz integral.

MATERIALES Y METODOS

Diseño experimental

A muestras de arroz blanco fortificado con hierro de origen comercial, y con cantidades crecientes de salvado se les determinó el hierro dializado antes y después de haber sido sometidas a una hidrólisis enzimática del ácido fítico. También se analizó el contenido de ácido fítico, fibra y hierro para relacionarlos con la disponibilidad de este último.

Materiales

Se emplearon muestras de los siguientes materiales: Arroz blanco (grano largo) fortificado con hierro electrolítico (70% de partículas $< 20\mu$), de origen comercial (ABF).

Arroz integral fortificado: como este producto no se encuentra en el comercio se prepararon mezclas de ABF con dos niveles de salvado de arroz del mismo origen

ABF2 : 10 g de ABF + 0,5g de salvado

ABF3: 10 g de ABF + 19 de salvado

Al expresar como porcentaje el contenido de salvado en las mezclas, las muestras ABF, ABF2 y ABF3 contenían 0%; 4,76% y 9,09% respectivamente.

Las mezclas se prepararon para cada una de las determinaciones de modo de asegurar una distribución homogénea de los componentes.

El salvado contenía: 30,45g de fibra; 10 mg de hierro 5,96 g de ácido fítico por 100g.

Tratamiento de las muestras: Las muestras de arroz fueron molidas en un molinillo doméstico (Moulinex) provisto de cuchilla de titanio. Las mezclas ABF, ABF2 y ABF3 fueron cocidas en agua desionizada de acuerdo a la proporción arroz:agua (1:2,5) aconsejada por la firma comercial, a 250°C en un calentador Heindolph MR 2002, hasta consumición total del agua.

Métodos

- Hierro total, por absorción atómica previa mineralización en mezcla $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ (60:40). Se determinó en el salvado y en las muestras ABF, ABF2 y ABF3. En las muestras con hidrólisis enzimática no se consideró necesario debido a que el aporte de hierro de la solución fitasa es insignificante. Las determinaciones se hicieron por quintuplicado
- Fibra dietaria total, de acuerdo al método AOAC 985.29 (15). Los valores obtenidos fueron corregidos, por su contenido de almidón residual, de manera tal que representaran

únicamente al material que forma parte de las paredes celulares (16). Para ello, el residuo obtenido en la determinación de fibra fue gelatinizado con agua (100°C 20 min.), tratado con KOH 2M, e incubado con amiloglucosidasa (pH 4.75, 60°C, 30 min.), filtrado, secado y luego pesado. Los análisis se hicieron por triplicado.

- Acido fitico, según el método AOAC 966.11 (15}. Para ello se extrajeron las muestras (10-11g) con 200 ml ácido clorhídrico al 2,4%.
- Hidrólisis del ácido fítico. La muestra cruda de ABF (10g), fue suspendida en 25 ml de agua desionizada incubada (15h, pH5,5a55°C) con 60 mg de fitasa de trigo (Sigma P 1259) en un baño de agua con agitación continua.

Debido al mayor contenido de ácido fítico de las muestras ABF2 y ABF3, para poder hidrolizarlo fue necesario activar la fitasa endógena además de agregar posteriormente fitasa de trigo (10), en mayor cantidad que para ABF. Para ello, las muestras se suspendieron en 25 ml de agua desionizada, se incubaron a pH 5.5, 24 horas temperatura ambiente, con agitación constante; se agregaron 80 mg de fitasa y se aplicaron las mismas condiciones de incubación que las empleadas con la muestra ABF.

Para frenar la actividad enzimática, todas las muestras una vez hidrolizadas se sometieron a un cocimiento en las condiciones señaladas anteriormente. Los análisis se hicieron por triplicado.

- Disponibilidad del hierro, según el método de M. Kapsokfalou y D. Miller (17) modificado por M.E. Valencia y col. (18). A las muestras (10-11 g), se les agregó ácido clorhídrico 6N de manera tal de obtener 100 g de una suspensión homogénea de pH 2 que a continuación se incubó con 3,2 mL de una suspensión de pepsina (SigmaP-7000) en ácido clorhídrico 0,1 N(4g: 100 mL) a 37 °C durante dos horas, con agitación.

Dos alícuotas de 15 g del digerido pepsínico se vertieron en recipientes en los cuales se había colocado previamente bolsas de diálisis (Spectrapore, cut-off de peso molecular 6000-8000) que contenían 18,75 mL de solución tampón PIPES (sal disódica del ácido piperazine-N, N-bis2 etano sulfónico; Sigma P-3768) 0,5 M pH 6.3. Las muestras se incubaron en baño de agua a 37° C con agitación hasta que el digerido alcanzó pH 5. Luego se agregaron 3,75 mL de una mezcla de 0,5g de pancreatina porcina (Sigma P-1750) y 3g de bilis (Sigma B-8631) en 250 mL de NaHCO₃ 0,1 N y se incubaron durante 90 minutos más. El pH de la solución tampón PIPES a utilizar fue establecido tras ensayos previos sobre la matriz alimentaria en estudio hasta obtener un pH final de 6,2±0,1 al final de la segunda incubación.

Se retiraron las bolsas de diálisis, y sus contenidos se llevaron a un volumen de 25 mL con agua desionizada. El hierro dializado se midió directamente por absorción atómica. El hierro total se midió sobre tres alícuotas de 5 g del digerido pepsínico mineralizados con 10 mL de una mezcla nitroperclórica (60:40). Simultáneamente se leyeron blancos de reactivos.

Como hierro disponible in vitro se considera al hierro dializado que se obtuvo de la relación:

$$\% \text{ hierro dializado} = \frac{D}{P \times F} \times 100$$

Donde

D= Hierro dializado (g)

P= Peso de la muestra digerida (g)

F= Hierro total en la muestra digerida (g)

Los análisis se realizaron por triplicado

Análisis estadístico

Los valores medios de contenido de fibra, ácido fítico y la disponibilidad del hierro se compararon mediante el análisis de varianza de un factor (ANOVA). Para los tests a posteriori se utilizó el test de comparaciones múltiples de Tukey- Cramer.

Para establecer la relación entre la disponibilidad del hierro y el contenido de fibra y de ácido fítico, se ajustó un modelo de regresión múltiple. A continuación, con los valores promedios correspondientes, se calculó la recta de regresión que relaciona al logaritmo del % de hierro dializable con el principal agente inhibitorio.

Los estudios estadísticos se realizaron mediante el paquete estadístico SPSS 7 (19).

RESULTADOS

En la [Tabla 1](#) se muestra el contenido de hierro, fibra y ácido fítico en el arroz con distintas cantidades de salvado antes y después de haber sido sometidos a la incubación con fitasa.

TABLA 1

Contenido de hierro, fibra, ácido fítico, y disponibilidad del hierro en las muestras de arroz antes y después de la hidrólisis con fitasa.

Muestras	Hierro mg/100g	Fibra g/100g	Ac. Fítico mg/100g	Hierro dializable %
ABF (Salvado:0%)	6,81±1,761	1,50±0,06 ^a	325±59 ^a	9,65±1,62 ^a
ABF + fitasa	_____	1,52±0,04 ^a	ND	28,20±2,60 ^d
ABF2 (Salvado: 4,76%)	7,14±1,15	2,84±0,09 ^b	560±46 ^b	4,04±1,10 ^b
ABF2+remojo +fitasa	_____	2,32±0,18 ^c	22±12 ^c	27,95±2,70 ^d

ABF3 (Salvado: 9,09%)	7,80±0,91	4,39±0,02d	671±27d	1,82±0,28c
ABF3+remojo +fitasa	_____	3,78±0,03e	28±16c	25,30±7,40d

1: Valor promedio ± DS. Los resultados se expresaron en base húmeda (11 g/100g)

ND: No detectable

Letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre los valores ($p>0,05$)

La concentración de hierro en ABF, 6,81 mg/100g, comprende el contenido natural de hierro del arroz blanco pulido, 0,24 mg /100g, valor determinado en otras muestras de ese tipo de arroz, más la fortificación con hierro electrolítico realizado en el establecimiento elaborador. En las muestras ABF2 y ABF3 aumentó ligeramente en función del contenido de hierro del salvado agregado, 7,14 y 7,80 mg /100g, respectivamente.

Como era de esperar, la concentración de fibra determinada en ABF, 1,50 g/100g, aumentó significativamente por el agregado de salvado alcanzando valores de 2,84 y 4,39 g/100g en ABF2 y ABF3 respectivamente. Cuando se realizó el tratamiento enzimático para hidrolizar al ácido fítico, la concentración de fibra no varió en la muestra ABF ($p>0,05$). En las muestras a las que se les agregó salvado, la fibra disminuyó significativamente ($p<0,001$) un 18% y un 14% para las muestras ABF2 y ABF3 respectivamente.

La concentración de ácido fítico también aumentó en ABF2 y ABF3 por el aporte realizado por el salvado, llegando a valores de 560 y 671 mg/100g para las muestras ABF2 y ABF3 respectivamente.

Los resultados de la incubación con fitasa mostraron que las condiciones empleadas en la muestra ABF, que contenía 325 mg /100g, fueron óptimas ya que la hidrólisis del ácido fítico fue total. En las muestras con mayor cantidad de ácido fítico, a pesar de haber activado a la fitasa endógena con una incubación previa y de haber agregado una mayor cantidad de fitasa de trigo quedó un residuo de 22 y 28 mg /100g en las muestras ABF2 y ABF3, respectivamente. El hierro dializable disminuyó en forma significativa ($p<0,05$) a medida que aumentó la presencia de salvado, de manera tal que los resultados obtenidos fueron 9,65 %, 4,04 % y 1,82 % del hierro total para ABF, ABF2 y ABF3 respectivamente, con concentraciones de ácido fítico que variaron entre 325 y 671 mg/ 100g.

La hidrólisis del ácido fítico produjo notables incrementos del hierro dializable lo que permitió comprobar su efecto inhibitorio. Se obtuvieron valores semejantes ($p>0,05$) de hierro dializado en las muestras que fueron sometidas a hidrólisis con fitasa, 28,20%, 27,95%, y 25,30% para los arroces ABF, ABF2 y ABF3 con concentraciones de ácido fítico que oscilaron entre 0 y 28 mg/100g.

El análisis de regresión múltiple entre los valores de disponibilidad del hierro y las concentraciones de fibra y ácido fítico dio la siguiente ecuación

$$y=1,557-0,045 x_1 -0,0015 x_2 \quad r^2 = 0,90$$

donde:

y = log. hierro disponible (%),

x_1 = Fibra (g /100g) y

x_2 = Acido fítico (mg/100g)

La regresión resultó altamente significativa ($p<0,001$). El coeficiente correspondiente a la fibra no fue significativamente diferente de 0 ($p>0,25$), por el contrario el coeficiente que corresponde al ácido fítico fue altamente significativo ($p<0,001$). El modelo explica que el 89% de la variación de la disponibilidad del hierro se debe al ácido fítico.

En la [Figura 1](#) se puede observar la recta estimada que describe la relación entre el logaritmo del porcentaje de hierro dializado y la concentración de ácido fítico, que responde a la ecuación:

$$\text{Log hierro dializado (\%)} = 1,47 - 0,0017 \text{ ácido fítico (mg/ 100 g)} \quad r^2 = 0,98$$

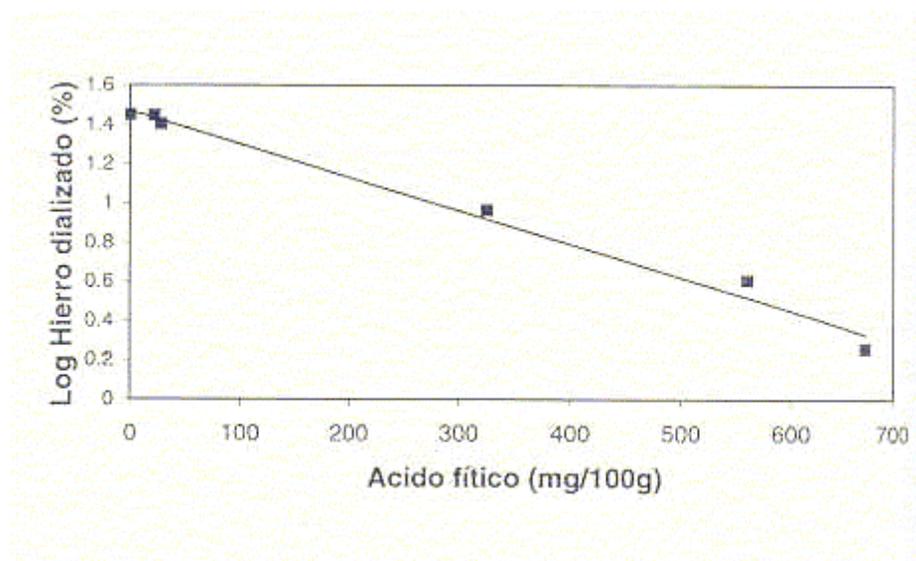
La regresión resultó altamente significativa ($p<0,001$).

DISCUSION

Los granos de cereales son particularmente ricos en ácido fítico y éste constituye más de 180% del fósforo total. La mayor concentración se encuentra en los tegumentos externos, pericarpio y aleurona. En el arroz, el ácido fítico presente en el salvado, representa el 80% del total (20).

FIGURA 1

Variación del logaritmo del hierro dializado en función de la concentración del ácido fítico
(valores promedios)



La cantidad de tegumentos que queda en el grano y que es reflejado en el valor de fibra, varía aún para el arroz blanco, de acuerdo a la tecnología y a la variedad de arroz como así también con el método utilizado para la determinación de fibra. Así es que para el arroz integral se encuentran en la Tabla de composición de alimentos del Reino Unido valores entre 1,9 y 3,8 g/100g según se hayan determinado por el método de Englyst o el de Southgate (1) y 2,27 g/100g en las Tablas de composición de alimentos de Alemania (2); mientras que para el arroz integral nacional se obtuvo un valor de 5,37 g/ 100g por el método de AOAC 985.29, que pasó a 4,14 g/100g cuando se corrigió por el almidón residual (16). Luego las mezclas diseñadas para simular arroz integral fortificado ABF2 y ABF3, cubrirían los posibles niveles de fibra en el arroz integral.

Paralelamente al contenido de fibra, varía la cantidad de ácido fítico encontrándose valores para arroz blanco de 84. 120 mg/100g (9) y 270mg/100g (21); para arroz integral 565mg/ 100g (9) y 890mg/100g (2). Los valores determinados en las muestras que simulaban arroz integral alcanzaron niveles dentro del rango previsto.

Este trabajo contribuye a demostrar el efecto depresor del ácido fítico sobre la disponibilidad del hierro en el arroz, al aumentar ésta entre 3 y 12 veces cuando se hidrolizó el ácido fítico más allá del 96% de su contenido, llegando a 22mg/100g. Estos resultados coinciden con los de otros autores (10) que trabajaron con otros cereales en los que señalan que el ácido fítico debe ser degradado hasta un nivel menor a 0,5 μ M/ g (0,330 mg/g), para eliminar el efecto sobre la disponibilidad del hierro. Brune y col. obtuvieron en humanos valores altos de absorción, alrededor de 24%, con alimentos panificados que contenían entre 21 y 29 mg de ácido fítico (13).

A pesar de los numerosos trabajos realizados todavía es incierta la incidencia que tiene la fibra en la inhibición de la biodisponibilidad de los minerales debido a la diversidad que presenta su composición en los diferentes alimentos, a su asociación con otros compuestos y a la metodología empleada en los ensayos (22). En este trabajo se observó que aunque la incubación con fitasa disminuyó el contenido de fibra en las muestras con agregado de salvado, los valores obtenidos para fibra no influyeron en la dializabilidad del hierro, Brune y col.(13) llegaron a la misma conclusión cuando analizaron el efecto de la fibra y del ácido fítico sobre la biodisponibilidad del hierro de panes con distinta cantidad y origen de fibra en humanos. Por

otra parte, la disminución del contenido de fibra encontrada, respondería a la hidrólisis sufrida por los fitatos que según Frolich y Nyman (23) estarían parcialmente unidos a la fibra soluble.

Con respecto al hierro, los mismos autores señalan que el hierro endógeno del trigo se encuentra retenido en mayor proporción por la fibra insoluble, a diferencia de la avena en la que la mayor parte está unida a la fracción soluble rica en β -glucanos. Dado que por su composición la fibra del arroz se asemeja a la del trigo, se podría pensar que el hierro endógeno estaría retenido de la misma forma por la fibra insoluble. Es de señalar que el contenido de hierro endógeno de las muestras de arroz analizadas osciló entre 3% y 14,5% del total, correspondiendo el resto, 85,5-97%, al hierro electrolítico sobre el que posiblemente se observó el efecto del ácido fítico.

Finalmente, se puede concluir que en el arroz integral el incremento de hierro aportado por el salvado es muy pequeño como para contrarrestar el poder inhibitorio del ácido fítico del mismo origen. Por lo tanto para que este tipo de arroz realice un aporte de hierro a la dieta se debería fortificar con un nivel mayor al empleado en la fortificación del arroz blanco o combinarse con una cantidad adecuada de alimentos que estimulen la absorción del hierro como carnes, verduras y frutas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Dra. Mirta E. Valencia por su valiosa colaboración en la revisión crítica del manuscrito

REFERENCIAS

1. McCance & Widdowsons. The composition of foods .5th ed. Royal Society of Chemistry, Ministry of Agriculture, Fisheries and Foods,UK.1993.
2. Souci Fachmann Kraut. Die Zusammensetzung der Lebensmittel Nährwert- Tabellen. 5th ed..Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart.1994.
3. Mazzei Puchulu Rochaix. Tabla de composición química de alimentos. 2a ed. CENEXA-FEIDEN, Argentina. 1995.
4. Mod RR, Ory RL, Morris NM and Normand FL. Chemical properties and interactions of rice hemicellulose with trace minerals in vitro.J.Agr. Food Chem. 1981;29,449-454.
5. Mod RR, Ory R, Morris NM and Normand FL. In vitro interactions of rice hemicellulose with trace minerals and their release by digestive enzymes. Cereal Chem. 1982;59 (6) 538- 542.
6. García López JS and Lee K. Iron binding by fiber is influenced by competing minerals. J Food Sc. 1985;50:424-428.1985.
7. Hallberg L, Rossander L, and Skanberg AB. Phytates and the inhibitory effect of bran on iron absorption in man. Am J Clin Nutr. 1987;45: 988-996.
8. Hallberg L and Rossander L..Iron absorption jin man : ascorbic acid and dose- dependent inhibition by phytate. Am.J Clin Nutr. 1989;49: 140-144.

9. Tuntawiron M, Sritogkul N, Rossander L, Pleehachinda R, Suwanik R, Brune M and Hallberg L. Rice and iron absorption in man. *European J Clin Nutr.*1990;44: 489-497.
10. Sandberg AS and Svanberg U. Phytate hydrolysis by phytase in cereals; effects on in vitro estimation of iron availability. *J Food Sc* 1991;56 (5),1330-1333.
11. Hurrell RF. Bioavailability of iron. *European J Clin Nutr.* 51 ,Suppl. 1 ,S4-S 8 .1997
12. Davidsson L, Galan P, Cherouvrier F, Kastenmayer P, Juillerat M-A, Hereberg S and Hurrell RF. Bioavailability in infants of iron from infant cereals: effect of dephytinization. *Am J Clin Nutr.* 1997;65:916-920.
13. Brune M, Rossander-Hutén L, Hallberg L, Glerup A and Sandberg A-S. Iron absorption from bread in humans: inhibiting effects of cereals fiber phytate and inositol phosphates with different numbers of phosphate proups. *J Nutr.*1992;122 (3) 442-449.
14. Zhou JR and Erdman JW. Phytic acid in health and disease. *Critical Review in Food Science and Nutrition*,1995;35 (6):495- 508.
15. Official Methods of Analysis. 15th.Ed,AOAC, Arlington, V A. 1990.
16. Sambucetti ME and AZuleta. Resistant starch in dietary fiber values measured by the AOAC method in different cereals. *Cereal Chem.*1996;73 (6): 759-761.
17. Kapsokefalou M, Miller D. Effectes of mear and selected food components on the valence of non-heme iron during in *vitro* degestion.*J Food Sci.* 1991;56: 352-355.
18. Valencia ME, Wolfgor R, Rodriguez V, y Pellegrino N. Evaluación de cereales fortificados como aportadores de hierro. *Revista de la Sociedad Argentina de Nutrición* 1996;7 (2): 33-37.
19. SPSS.75.Paquete estadístico y Guía del Usuario. SPSS Inc. Chicago.1997.
20. ODe11 BL, Boland AR de and Koirtyohann SR. Distribution of phytate and nutritionally important elements among the morphological components of cereal grains. *J Agr Food Chem.* 1972;20 (3): 718-721.
21. Harland BF and Oberleas D. Anion exchange method for determination of phytate in foods: Collaborative study. *J .Off Anal Chem.* 1986;69: 667-670.
22. Torre M, Rodriguez A. R. y Saura-Calixto F. Effects of dietary fiber and phytic acid on mineral availability. *Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition* 1991;1(1): 1-22.
23. Frolich W. and Nyman M. Minerals, phytate and dietary fiber in different fractions of oat-grain. *J Cereal Sc.* 1988;7, 73-82.

Fax: (58.212)286.00.61

 e-Mail
pahef@paho.org