

24  
116



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE QUIMICA**

**COMPROBACION ANALITICA DEL ENRIQUECIMIENTO CON  
HIERRO EN ALIMENTOS PROCESADOS**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A**

**MARTHA ALICIA SANCHEZ MARTINEZ**



MEXICO, D. F.

1986

**EXAMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUIMICA**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

UNAM



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

	Págs.
I. INTRODUCCION .....	1.
II. GENERALIDADES .....	5.
III. MATERIAL Y METODOS .....	16.
IV. RESULTADOS Y DISCUSION .....	24.
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	34.
VI. BIBLIOGRAFIA .....	36.

## I. INTRODUCCION

## INTRODUCCION

A través de las encuestas de nutrición se conoce que la dieta del mexicano es desequilibrada y pobre (2,4), dando como resultado una mayor ingestión de cereales, entre los cuales destaca el maíz, y una menor ingestión de alimentos de origen animal como la carne y la leche. En lo que respecta al consumo de vitaminas y minerales, las principales deficiencias observadas a nivel nacional, sobre todo en el medio rural, son la vitamina A, riboflavina, ácido ascórbico, hierro y calcio (19).

El hierro es de particular interés ya que a pesar de que la cantidad que debe absorberse diariamente para cubrir los requerimientos fisiológicos, por lo general es menor que la presente en la dieta, es raro encontrar excesos de hierro en la población y por el contrario, la deficiencia de hierro afecta a un gran número de personas en el mundo (23).

En México el consumo de hierro total en los diferentes grupos y zonas del país es alto, especialmente de hierro de origen vegetal (18). Sin embargo, algunos estudios epidemiológicos (13,21) han demostrado que existe un gran porcentaje de anemia. La prevalencia de la anemia en mujeres es del 20 al 30%, en hombres es menos, del 6 al 15%, y en niños es del 8 al 15%. La frecuencia de la anemia en preescolares es del 21% y en la mujer embarazada de 33%, se observa pues que la frecuencia de la anemia es alta especialmente en los grupos más vulnerables (niños lactantes y mujeres embarazadas).

Por lo tanto en México la anemia se considera un problema de salud pública.

Muchos factores contribuyen a este problema como el bajo consumo de hierro procedente de alimentos de origen animal, el consumir alimentos excesivamente refinados, influencias tradicionales en la selección y preparación de alimentos y el consumir menor cantidad de calorías. Las hemorragias crónicas por parasitosis en los niños y el sangrado anormal en las mujeres, son factores que también contribuyen a la alta prevalencia de la anemia.

Una dieta completa y balanceada obviamente es muy importante para satisfacer los requerimientos diarios de hierro, pero es aún más la cantidad y disponibilidad de éste dentro de los alimentos. Debe distinguirse el hierro de alimentos vegetales y el proveniente de alimentos de origen animal. En los vegetales se encuentra en forma no hemínica y en los alimentos de origen animal en forma hemínica. El hierro hemínico es más absorbible que el no hemínico (1). El mayor valor nutritivo del hierro hemínico está ampliamente demostrado, algunos autores (10) han encontrado que en los alimentos de origen vegetal marcados con Fe 55 y Fe 59 la absorción tuvo un rango de 1 a 5%, con excepción de la soya, que fue del 11%. En los alimentos de origen animal el rango fue de 7 a 22%.

La absorción del hierro no hemínico aumenta con el ácido ascórbico (9, 17), fructosa (5), pescado y carne (19).

Por otro lado ciertos componentes en los alimentos como

taninos (café, té), fitatos (salvado), fosfatos, oxalatos y fosfoproteínas (yema de huevo), disminuyen la absorción del hierro no hemínico. Estos fenómenos están relacionados con el estado químico del hierro en el lumen y no por algún cambio en la mucosa (1, 5, 9, 23).

La anemia severa en embarazadas aumenta la morbilidad y mortalidad en las mujeres y representa grandes riesgos para el feto, ya que incrementa la proporción de recién nacidos de bajo peso y con desarrollo fisiológico deficiente (23,15). La capacidad para el trabajo disminuye ya que hay una reducción en la concentración de hemoglobina y esto disminuye la capacidad de oxigenación de la sangre, bajando por lo tanto, la cantidad de oxígeno en los tejidos durante el ejercicio (23). La incapacidad física sobreviene cuando la demanda de oxígeno en los tejidos no es satisfecha.

Para solucionar este problema se han utilizado varias estrategias, algunas de ellas son las siguientes:

#### 1.- La Suplementación Terapéutica.

En donde hay una alta prevalencia de la anemia por deficiencia de hierro, la única manera de mejorar la situación en un período corto de tiempo es por medio de la suplementación. En casos de carencia reconocida, en embarazadas y en niños desde los 6 meses, debe administrarse hierro en comprimidos o en solución, en forma de sulfato, fumarato o gluconato de hierro (18).

## 2.- Educación en nutrición.

La educación es una medida indicada para prevenir la anemia. Se debe hacer hincapié en consumir una dieta completa, variada y balanceada. Debe haber incremento en el consumo de alimentos de origen animal y de frutas cítricas ya que éstos favorecen la absorción de hierro.

## 3.- Enriquecimiento.

En donde la prevalencia y severidad de la anemia no es tan grave, se tiene más tiempo para corregir la deficiencia de hierro. En estos casos, el enriquecimiento de alimentos puede usarse para este fin (23).

Actualmente hay una mayor tendencia de los fabricantes a practicar el enriquecimiento con hierro especialmente en alimentos infantiles. Esto se debe a que la dieta de los primeros dos años de vida está constituida fundamentalmente por leche, cuyo contenido de hierro es bajo y no alcanza a cubrir los requerimientos de hierro del infante. El uso de fórmulas enriquecidas con hierro es deseable durante los primeros 6 meses de edad. Los cereales enriquecidos pueden introducirse a la dieta a los 3 ó 4 meses de edad.

Este trabajo tiene como finalidad conocer qué alimentos están enriquecidos con hierro y cuantificar sus niveles de adición. Esto es de especial interés debido a la poca información que se tiene en México al respecto.



## II. GENERALIDADES

## GENERALIDADES

### HIERRO

#### PRIMEROS ESTUDIOS (3)

En 1838, Berzelius, un famoso químico sueco, concluyó que el hierro de la hemoglobina hacía posible que la sangre absorbiera una gran cantidad de oxígeno. El hierro en sus varias formas ha sido utilizado como agente terapéutico para la anemia, pero solamente se vió que tenía una relación directa en la dieta cuando en 1889 Bunge informó de un caso de anemia que se desarrolló en un hombre joven sujeto a una dieta exclusiva de leche. Bunge notó también que los ratones desarrollaban anemia si eran sometidos a una dieta de leche y que las sales de hierro puras no podían curar la anemia pero que la yema de huevo sí lo hacía. Erróneamente concluyó que algún enlace entre el hierro y la proteína del huevo era el responsable para la eficacia de esta cura. Treinta y cinco años después, Hart y sus asociados, en la Universidad de Wisconsin, reportaron que las ratas blancas presentaban anemia al ser alimentadas con una dieta de leche, que la anemia no se eliminaba con sales de hierro solas, pero que la ceniza de lechuga era un remedio efectivo. Encontraron que la sustancia desconocida presente en la ceniza de lechuga era cobre. Al adicionar restos de cobre a las sales de hierro puras se tenía un remedio adecuado para curar la anemia por deficiencia en hierro.

## DISTRIBUCION (1, 3, 8)

La cantidad de hierro en el organismo del hombre adulto es aproximadamente de 50 mg por kilogramo, o sea, un total de 3.5 g; en la mujer es alrededor de 35 mg por kilogramo, o un total de 2.3 g. Aproximadamente del 70% al 80% del hierro está funcionando y el resto se conserva almacenado como ferritina o hemosiderina en el hígado, el bazo y la médula del hueso. En los hombres sanos, la reserva de hierro es de aproximadamente 1000 mg, pero en las mujeres durante la menstruación, no llega a 200 ó 400 mg.

Del hierro que funciona, el 80% está en forma de hemoglobina y el resto en la mioglobina y en las enzimas que se encuentran constituidas de éste elemento. El hierro circula en el plasma enlazado a la B-globulina transferina también conocida como siderofilina. Normalmente, la saturación de la transferina con hierro varía del 20% al 40%. La concentración del hierro en el plasma de los hombres varía de 50 a 180 mcg por 100 ml y en las mujeres de 40 a 135 mcg por 100 ml.

## FUNCIONES (3, 23)

La hemoglobina es el componente principal de los glóbulos rojos y concentra la mayor parte del hierro del cuerpo. Actúa como un transportador del oxígeno de los pulmones a los tejidos e indirectamente propicia el retorno del dióxido de carbono a los pulmones.

La mioglobina es un complejo de proteína-hierro que se encuentra en el músculo donde se almacena algo del oxígeno para ser utilizado de inmediato por la célula. Las enzimas, como las catalasas, los citocromos en el transporte del ión hidrógeno y la xantina oxidasa, contienen hierro como parte integral de la molécula. Se requiere hierro como cofactor de otras enzimas.

#### METABOLISMO (3, 7, 8)

La cantidad de hierro que se absorberá en el tracto intestinal está gobernada por a) La necesidad corporal de hierro, b) Las condiciones que existen en el lumen intestinal y c) La mezcla de alimentos que se ingiera.

La absorción del hierro está meticulosamente regulada por la mucosa intestinal de acuerdo con las necesidades corporales. Al aumentar la eritropoyesis se produce una eliminación de hierro del complejo hierro-transferina de la circulación, y la disminución de la saturación de la transferina origina, a su vez, un aumento en la cantidad de hierro que se absorbe. Por tanto, los niños en crecimiento, las mujeres embarazadas y los individuos anémicos, tendrán velocidades de absorción de hierro más alta que los individuos normales.

En soluciones ácidas, los iones ferroso y férrico no existen en estado libre, pero son hidratados como  $\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$  y  $\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}$ . A medida que el pH aumenta se van formando los hidróxidos de hierro correspondientes,  $\text{Fe}(\text{OH})_2$  y  $\text{Fe}(\text{OH})_3$ .

Estos hidróxidos son más insolubles con el incremento de pH. A pH 7, por ejemplo, el hierro ferroso se precipitaría como un gel verde pálido de  $\text{Fe}(\text{OH})_2$  teniendo una solubilidad de  $10^{-1}$  M. El hierro férrico es mucho más insoluble que el ferroso, precipitándose como  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  de color oscuro con solubilidad de  $10^{-16}$  M a pH 7. En el medio ácido del estómago que tiene un pH = 1, el hierro está en forma hidratada y soluble. Al pasar al medio alcalino del intestino delgado, podríamos esperar que casi todo el hierro se precipite. Pero es evidente que la precipitación extensiva no ocurre ya que es en el intestino delgado (duodeno), en donde se absorbe casi todo el hierro ingerido. Se puede evitar la precipitación del hierro a pH alcalino, si éste se une a un agente a complejante. La formación de complejos puede volver al hierro más disponible para la absorción siempre y cuando el complejo formado no sea muy estable. Muchos componentes de los alimentos son ligandos efectivos como por ejemplo las proteínas, aminoácidos, ácidos carboxílicos (ácido ascórbico), azúcares y fosfatos. El jugo gástrico y otras secreciones digestivas, favorecen la liberación del hierro y su unión a estos agentes a complejantes.

La aclorhidria, que se observa en muchas personas de edad avanzada y también en la anemia perniciosa, reduce la absorción del hierro.

La cantidad de hierro que se absorbe de los alimentos varía considerablemente, pero en el adulto sano el promedio está entre 5% y 10%. En los alimentos de origen animal, la

absorción varía entre 10% y 30%, mientras que en los de origen vegetal puede ser tan baja como 2%.

### TRANSPORTE Y UTILIZACION (3)

El hierro en el plasma proviene de tres fuentes a) La absorción en el tracto gastrointestinal; b) La liberación de las reservas corporales y c) La liberación por ruptura de la hemoglobina que tiene lugar constantemente. Dentro de un período de 24 horas el movimiento de hierro es de aproximadamente 27 a 28 mg. Solamente de 1 a 1.5 mg de éste proviene de la absorción.

El hierro es retirado del plasma a la médula del hueso para la síntesis de la hemoglobina que es una sustancia compleja compuesta de una proteína básica, la globina, unida a un grupo prostético heme. La molécula de heme consta de protoporfirina que tiene un átomo de hierro reducido en su centro; cuatro moléculas de heme unidas a la globina forman la hemoglobina. El cobre tiene un papel catalítico en la incorporación del hierro a la molécula de protoporfirina.

### EXCRESION (3, 23)

La excreción diaria del hierro corporal en los adultos es aproximadamente de 0.1 mg en la orina y de 0.3 a 0.5 en el lumen intestinal. También se pierden pequeñas cantidades de hierro en la traspiración y por exfoliación de la piel. Las pérdidas de hierro durante la menstruación varían de 0.3 a 1.0 mg en una base diaria, pero cerca del 5% de las mujeres

tienen pérdidas superiores a 1.4 mg diarios. Por tanto, en las mujeres, las pérdidas totales de hierro son de 1 a 2 mg diarios. La mayor parte del hierro en las heces representa el hierro no absorbido de la dieta, o sea, el 90% del consumo.

#### REQUERIMIENTOS DIARIOS (3, 8)

El hierro dietético tiene la función de a) reemplazar las pérdidas diarias de todos los individuos; b) proporcionar un volumen sanguíneo cada vez mayor y un aumento en la cantidad de hemoglobina en niños en crecimiento; c) reemplazar las diversas pérdidas durante la menstruación; d) para el desarrollo del feto y para evitar la anemia en las mujeres embarazadas y durante la lactancia y e) para proporcionar una reserva de hierro que esté disponible en caso de que se presente una pérdida de sangre.

A continuación se enumeran las cantidades de hierro necesarias para reemplazar pérdidas y cubrir los requisitos de varios grupos por edades.

#### REQUERIMIENTOS DIARIOS DE HIERRO (3)

Edades	Requerimiento dietético (mg)
Hombres normales y mujeres fuera del período de menstruación	10
Mujeres durante el período de menstruación	18
Mujeres embarazadas	20
Adolescentes	18
Niños	10 - 15
Infantes	6 - 15

## FUENTES ALIMENTICIAS (3, 22)

Las carnes magras, las verduras de hojas verde-oscuro, los cereales y panes de grano entero o enriquecidos, son los alimentos de la dieta diaria de los cuales puede obtenerse hierro. La leche, el queso y demás productos lácteos son fuentes pobres de hierro; hecho que explica el porqué las dietas infantiles deben enriquecerse con hierro a una edad temprana. El hígado, otras carnes de vísceras, las frutas secas, las leguminosas, los mariscos y las melazas, son alimentos ricos en hierro.

## EFECTOS DEL DESEQUILIBRIO (3, 8, 23)

Anemia. La anemia por deficiencia de hierro se caracteriza por un bajo nivel de glóbulos rojos y de hemoglobina en la sangre y por células pequeñas y pálidas (microcíticas, hipocrómicas). Los infantes, los niños preescolares, los adolescentes y las mujeres embarazadas son especialmente susceptibles. Un suministro inadecuado de hierro, la absorción deficiente del mismo por el intestino delgado y las pérdidas de sangre son algunas causas de la anemia. El desarrollo de la anemia sigue esta secuencia: a) reducción en los niveles de reserva de hierro (ferritina y hemosiderina), sin presentarse otras anomalías; b) agotamiento de las reservas de hierro, restricción en la síntesis de hemoglobina. El porcentaje de saturación de la transferrina cae del valor normal de 30% a menos de 15% y la concentración de protoporfirina en los glóbulos rojos asciende a más de 70 mcg/100 ml; c) la concentración



de hemoglobina en la sangre disminuye, ocurren cambios en la morfología de las células rojas, especialmente microcitos y hipocrómia.

Signos Físicos. Incluyen palidez, respiración corta y fatiga después de un ejercicio ligero. Algunas veces están presentes dolores de cabeza, mareos y pérdida de apetito. A medida que aumenta la gravedad de la anemia, se reduce la oxigenación de los tejidos.

Incidencia. La Organización Mundial de la Salud ha recomendado que una concentración de hemoglobina menor de 11 g/100 ml se usa para definir la anemia en niños de 6 meses de edad a 6 años, un nivel inferior de 12 g/100 ml para las mujeres y menor a 14 g/100 ml para hombres y un nivel de hematocrito menor de 34%. Sobre estas bases, la incidencia de la anemia en todo el mundo es alta. Sin embargo, si en el criterio se incluyen también síntomas físicos y cambios cardiorespiratorios claramente asociados con cambios en glóbulos rojos y hemoglobina, la incidencia es mucho menor.

Las mujeres jóvenes son susceptibles a la anemia por consumo dietético bajo, junto con pérdidas aumentadas de hierro en la menstruación. Aunque los niveles de hemoglobina no son bajos, las reservas de hierro a menudo son mínimas, de manera que cualesquiera demanda adicionales, como en el embarazo, no pueden cubrirse.

Prevención. Una dieta que es adecuada en otros aspectos, proporciona sólo aproximadamente 6 mg de hierro por 1000 calorías. Por tanto, la dieta típica que suministra 1700 a 2300

calorías para mujeres, no cubrirá el requerimiento recomendado de hierro de 18 mg. Además muchas mujeres jóvenes en sus intentos de conservar su figura, consumen dietas de las que se han eliminado algunas de las fuentes buenas de hierro, por ejemplo, panes y cereales enriquecidos y de grano entero. Es necesario emplear dos métodos para evitar la anemia por deficiencia de hierro. Se recomienda mayor enriquecimiento de los alimentos comúnmente utilizados como harinas y productos de harina. A través de la educación en nutrición debe enfatizarse la importancia de incluir alimentos ricos en hierro en la dieta, especialmente en mujeres jóvenes y madres.

#### ENRIQUECIMIENTO DE ALIMENTOS CON HIERRO (1, 6, 8, 23)

La cantidad de hierro aprovechable puede incrementarse mediante el enriquecimiento de alimentos con este mineral. En regiones donde la cantidad de hierro biodisponible contenida en la dieta tradicional, es inadecuada para cubrir los requerimientos de la mayoría de la población, el enriquecimiento puede teóricamente, proveer suficiente hierro adicional en la dieta para mantener el balance de hierro en la población. Esperándose con ésto, que el estado nutritivo de la población sea mejor, dando como resultado un mejor desarrollo físico e intelectual de cada individuo. En el enriquecimiento pueden emplearse diferentes sales de hierro, deben preferirse aquellas que realmente sean asimilables, que no produzcan cambios indeseables en el vehículo y que tenga una gran estabilidad en contacto con el vehículo por períodos largos de tiempo.

Desafortunadamente, muchos compuestos de hierro, especialmente los que realmente se absorben, son altamente reactivos y producen cambios indeseables en los alimentos fortificados.

Al escoger la forma de hierro para el enriquecimiento, se deben de tomar en cuenta las siguientes propiedades químicas del compuesto de hierro.

- Las sales de hierro (II) pueden oxidarse a formas coloridas de óxido de hierro (III).
- Las sales de hierro pueden reaccionar con compuestos fenólicos tales como taninos y producir colores azul-negro.
- Los compuestos de hierro pueden incrementar la actividad de las enzimas oxidativas que producen pérdidas de color e imparte sabores y olores desagradables.

También deben considerarse las siguientes propiedades físicas:

- Los productos con alta densidad, como las sales de hierro, pueden hacer difícil su incorporación al alimento a enriquecer y provocar una mala distribución del hierro en el vehículo.
- El color y sabor de los compuestos de hierro pueden ser indeseables y ser incorporados al alimento.
- Las características de solubilidad de los compuestos de hierro pueden no ser compatibles con el vehículo.

A pesar de todas estas propiedades físicas y químicas que pueden causar problemas en el vehículo, esto dependerá mucho de las condiciones del procesamiento, almacenamiento y distribución de los alimentos enriquecidos.

Estos efectos pueden minimizarse usando vehículos con bajo contenido de humedad (sal 1%, harina 5%), manteniendo el pH ácido, usando bajas temperaturas de almacenamiento y/o usando agentes quelantes.

Actualmente hay estudios excelentes que demuestran que las formas solubles y disociadas de las sales ferrosas son mejor absorbidas. Las sales ferrosas más preferibles son: Sulfato, Succinato, Lactato, Fumarato y Gluconato.

Las sales férricas son menos preferibles para el enriquecimiento debido a su baja solubilidad y a la alta tendencia que tienen de formar complejos muy estables que impiden la liberación y absorción del hierro. A pesar de esto, han tenido un uso extendido debido a que químicamente son inertes y de bajo precio.

#### Vehículo para el enriquecimiento

El vehículo escogido para el enriquecimiento con hierro, debe tener las siguientes características:

- 1.- Debe ser consumido en cantidades adecuadas por la población que más necesita del nutrimento.
- 2.- Debe ser capaz de tolerar la adición de hierro y mantenerse estable bajo condiciones extremas de almacenamiento.
- 3.- Deben preferirse los vehículos con bajo contenido de humedad para minimizar las reacciones oxidativas y enzimáticas provocadas por la presencia de hierro.

### III. MATERIAL Y METODOS

## MATERIAL Y METODOS

Muestras

Los productos comerciales en los cuales se determinó el contenido de hierro fueron:

	COMPANIA
1.- Leche Sveltes -----	Nestlé
2.- Fórmula Láctea S.26 -----	Wyeth-Vales
3.- Fórmula Láctea S.ma -----	Wyeth-Vales
4.- Fórmula Láctea Pelargón -----	Nestlé
5.- Fórmula Láctea Nan -----	Nestlé
6.- Fórmula Láctea Nesbrum -----	Nestlé
7.- Cereal de Avena -----	Gerber
8.- Cereal de Arroz Precocido -----	Gerber
9.- Cereal Proteinado Precocido -----	Gerber
10.- Cerelac -----	Nestlé
11.- Harina de Arroz -----	Tres Estrellas
12.- Corn Flakes -----	Kellogg's
13.- Zucaritas -----	Kellogg's
14.- Choco Krispis -----	Kellogg's
15.- Smak -----	Kellogg's
16.- Donitas -----	Kellogg's
17.- Fruti Lupis -----	Kellogg's
18.- Rice Krispis -----	Kellogg's
19.- Corn Pops -----	Kellogg's
20.- Corn Klakes -----	Maizoro
21.- Nevaditos -----	Maizoro

22.- Cereal Tostado de Arroz -----	Maizoro
23.- Cal-C-Tose (fresa) -----	Productos Roche
24.- Cal-C-Tose (chocolate) -----	Productos Roche
25.- Cal-C-Tose (plátano, chocolate, vainilla) -----	Productos Roche
26.- Milo -----	Nestlé
27.- Choco Milk (chocolate) -----	Richardson Vicks
28.- Choco Milk (canela) -----	Richardson Vicks
29.- Choco Milk (nuez malteada) -----	Richardson Vicks
30.- Licuado Instante (plátano) -----	Richardson Vicks
31.- Licuado Instante (fresa) -----	Richardson Vicks
32.- Licuado Instante (chocolate) -----	Richardson Vicks
33.- Quik (fresa) -----	Nestlé
34.- Quik (chocolate) -----	Nestlé
35.- Chocavena -----	La Azteca
36.- Tang (limón) -----	General Food
37.- Tang (jamaica) -----	General Food
38.- Tang (naranja) -----	General Food
39.- Tang (durazno) -----	General Food
40.- Kool-Aid (naranja) -----	General Food
41.- Kool-Aid (piña) -----	General Food
42.- Kool-Aid (uva) -----	General Food
43.- Kool-Aid (limón) -----	General Food
44.- Kool-Aid (fresa) -----	General Food
45.- Kool-Aid (frutas) -----	General Food
46.- Pasta -----	Triggonni
47.- Pasta -----	Gamesa

A excepción de los cereales Maizoro, Quik chocolate y pasta Gamesa, todos los alimentos analizados están enriquecidos con hierro.

#### METODO

Los métodos colorimétricos y de absorción atómica son los más comunmente usados para la determinación de hierro. A pesar de que los métodos de absorción atómica son más rápidos, se han preferido los métodos colorimétricos ya que estos involucran instrumentación menos costosa, y dan una sensibilidad muy grande cuando los reactivos cromogéneos son empleados apropiadamente.

Para el análisis de hierro en este estudio, se escogió el método colorimétrico del alfa dipiridilo debido a sus siguientes propiedades:

- Su sensibilidad lo hace apropiado para la determinación de hierro en alimentos y materiales biológicos.
- El complejo se forma con el ión ferroso (ferrobipiridina), es extremadamente estable y la intensidad del color es proporcional a la cantidad de hierro.
- El rendimiento del método es relativamente libre de interferencias.

Este método propone dos tipos de preparación de la muestra: Cenizas Secas y Digestión Húmeda, resultando éste último el más adecuado, ya que se obtuvo una recuperación de hierro de un 98%. En cambio por el método de cenizas secas sólo se recupera el 80%.



Reactivos.

- 1.- Solución de alfa-dipiridilo: Disuelva 0.1 g de alfa-dipiridilo en agua desmineralizada y diluya a 100 ml.
- 2.- Solución Estándar de hierro (0,01 mg Fe/ml): Disuelva 3.512 g de  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  en agua desmineralizada. Agregue dos gotas de HCl y diluya a 500 ml. Lleve 10 ml de esta solución a 1 litro.
- 3.- Solución de clorhidrato de hidroxilamina: Disuelva 10 g de clorhidrato en agua y diluya a 100 ml.
- 4.- Regulador de acetatos: Disuelva 8.3 g de acetato de sodio anhidro en agua desmineralizada. Agregue 12 ml de ácido acético y diluya a 100 ml.
- 5.- Solución de acetato de sodio (2M): Disuelva 272 g de  $\text{NaOAc} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  y disuelva a un litro.
- 6.- Acido Clorhídrico 1:1
- 7.- Acido Nítrico conc.
- 8.- Acido Sulfúrico conc.

La determinación del contenido de hierro se realizó en dos fases:

- 1.- Destrucción de materia orgánica utilizando el método de vía húmeda (16).

## 2.- Cuantificación espectrofotométrica del contenido de hierro como complejo hierro-dipiridilo.

Los pasos principales de ambas fases se describen a continuación:

### Fase 1.

Pesar de 2 a 5 g de muestra y colocarla en un matraz Kjeldahl de 300 ml. Colocar en el matraz algunas perlas de ebullición, añadir 10 ml de agua desmineralizada mezclar, adicionar con pipeta 2.5 ml de ácido sulfúrico conc. y mezclar. Añadir 10 ml de ácido nítrico conc. y comenzar el calentamiento a fuego lento en campana. Seguir calentando hasta que cese el desprendimiento de humos rojizos de óxido nítrico y la muestra empiece a carbonizarse, dejar enfriar. Añadir 5 ml de ácido nítrico conc. y calentar. La adición de ácido nítrico se prolonga hasta que la muestra ya no se carbonice y se presenten los vapores de  $SO_3$ . La solución en el matraz debe ser incolora o ligeramente amarilla (en total se gastan de 30 a 40 ml de ácido nítrico en aproximadamente 2 hrs.). Dejar enfriar y agregar 10 ml de agua y calentar hasta el desprendimiento de humos blancos, dejar enfriar. Adicionar 10 ml de agua y filtrar por un papel de 11 cm de diámetro en un matraz volumétrico de 100 ml aforar.

### Fase 2.

De la solución filtrada tomar una alícuota de 10 ml y colocarla en un matraz aforado de 25 ml, agregar 1 ml de solución de clorhidrato de hidroxilamina. Después de unos

minutos agregar 5 ml de solución de acetato de sodio 2 M y 2 ml de alfa-dipiridilo, aforar. Mezclar, dejar reposar más de 5 minutos y leer la absorbancia en un espectrofotómetro Gilford 250, a 510 nm, correr un blanco con los reactivos y hacer la corrección. El dato así obtenido se transforma a cantidad total de hierro en el digerido a partir de una curva de referencia realizada con soluciones de concentración conocida.

### Curva Patrón.

En matraces aforados de 100 ml poner de la solución estándar de hierro 0, 5, 10, 20, 25, 30, 40 y 50 ml, adicionar a cada matraz 2 ml de HCl conc. y aforar a 100 ml con agua desmineralizada. Colocar en matraces aforados de 25 ml 10 ml de cada dilución y proceder a desarrollar color.

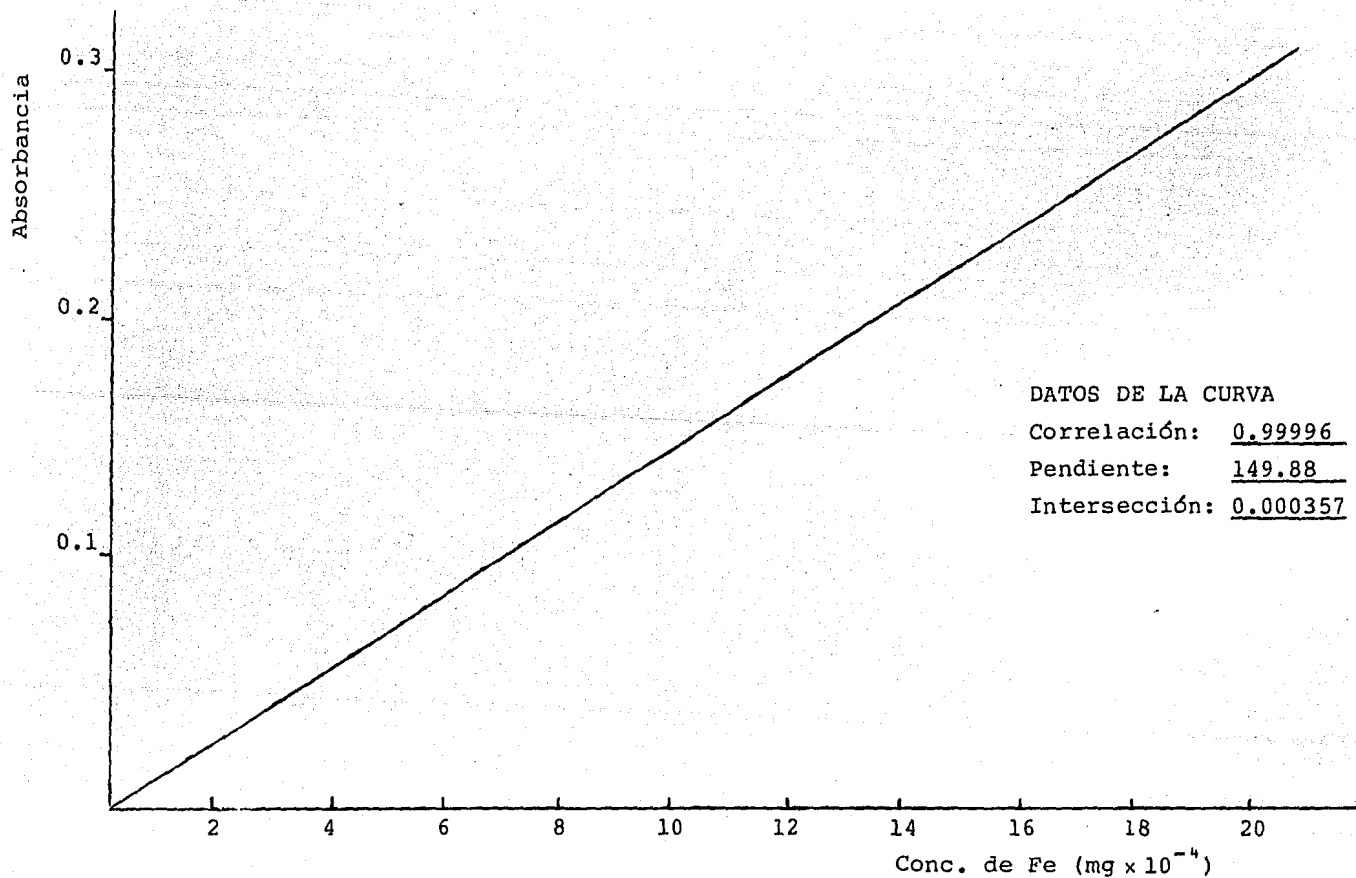
Se coloca en cada matraz 1 ml de solución de clorhidrato, 5 ml de buffer de acetatos y 2 ml de alfa-dipiridilo mezclando después de cada adición de reactivo. Leer a 510 nm en espectrofotómetro.

### Resultados de la curva patrón.

ml de sol. estándar*	Conc. de hierro (mg)‡	Absorbancia (510nm)
5	0.0002	0.030
10	0.0004	0.060
20	0.0008	0.122
25	0.001	0.151
30	0.0012	0.179
40	0.0016	0.240
50	0.002	0.300

\* 1 ml de sol. estándar equivale a 0.01 mg de Fe.

CURVA PATRON DE HIERRO



\* La concentración de hierro se obtuvo mediante la siguiente fórmula:

$$\frac{0.01 \text{ mg Fe } (n)}{100} \times \frac{10}{25} = n \times 0.00004 \text{ mg}$$

n = mililitros de solución estandar.

La cantidad de hierro en el digerido se transformó a mg por 100 g de producto de la siguiente forma:

$$\frac{\text{Hierro del problema}}{\text{(mg en el digerido)}} \times 100 \\ \text{Peso (g) de muestra}$$

Hierro del problema = mg de hierro obtenido  $\times$  250 (factor de dilución).  
en la curva

Se hicieron varias curvas tipo para establecer las condiciones óptimas en la determinación espectrofotométrica del complejo colorido, y de los resultados obtenidos se seleccionó la mejor gráfica en base a la reproducibilidad de los datos, correlación, intersección y pendiente de la curva.

Tanto el material de vidrio como el agua utilizada estuvieron libres de hierro. El agua queda libre de hierro pasando agua destilada por un sistema desmineralizador'. Para eliminar la presencia de hierro el material de vidrio se coloca en ácido clorhídrico diluido al 50% durante 2 horas. Se enjuaga varias veces con agua desmineralizada hasta eliminar el exceso de ácido. El material se cubre con papel aluminio y se seca en una estufa a 100°C.

' Como por ejemplo: Deeminizer Water Crystalab.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSION

CUADRO I

CONTENIDO DE HIERRO EN LECHEs MODIFICADAS Y ALIMENTOS INFANTILES (mg/100g). RESULTADOS PROMEDIO DEL TRIPLICADO Y SU REPRODUCIBILIDAD.

Producto	Promedio	% de Variación
Leches Modificadas		
Sveltes	12.72	1.5
S.26	8.62	6.7
Sma	9.85	5.5
Pelargón	5.56	10.0
Nan	6.29	9.0
Nesbrum	9.09	6.4
Alimentos Infantiles		
Cereal de Avena	19.76	5.3
Cereal de Arroz	23.01	11.0
Cereal Proteinado	23.01	5.8

CUADRO II

CONTENIDO DE HIERRO EN CEREALES (mg/100 g). RESULTADOS PROMEDIO DEL TRIPLICADO Y SU REPRODUCIBILIDAD.

Producto	Promedio	% de Variación
Cereales		
Cerelac	7.91	8.9
Harina de Arroz	6.35	5.8
Corn Flakes	6.44	7.0
Zucaritas	8.01	3.4
Choco Krispis	5.63	7.1
Smak	7.81	10.8
Donitas	13.09	6.4
Fruti Lupis	5.62	4.5
Rice Krispis	9.96	6.9
Corn Pops	6.55	6.5
Corn Flakes*	0.96	10.0
Nevaditos*	1.39	2.8
Cereal Tostado de Arroz*	0.99	2.0

\* Estos alimentos no están enriquecidos con hierro.

## CUADRO III

CONTENIDO DE HIERRO EN LICUADOS INSTANTANEOS (mg/100 g). RESULTADOS PROMEDIO DEL TRIPLICADO Y SU REPRODUCIBILIDAD.

Producto	Promedio	% de Variación
Licuados Instantáneos		
Cal-C-Tose (fresa)	12.00	10.7
Cal-C-Tose (chocolate)	21.06	5.8
Cal-C-Tose (combinado)	12.18	9.3
Milo	10.26	2.5
Choco Milk (chocolate)	8.35	11.0
Choco Milk (canela)	7.68	1.9
Choco Milk (nuez)	8.45	9.3
Licuado Instante (plátano)	13.71	10.4
Licuado Instante (chocolate)	13.10	8.8
Licuado Instante (fresa)	14.07	2.1
Quik (fresa)	8.73	9.0
Quik (chocolate)*	4.52	8.2
Chocavena	9.14	4.5

\* Este alimento no está enriquecido con hierro.

## CUADRO IV

CONTENIDO DE HIERRO EN BEBIDAS EN POLVO Y PASTA (mg/100 g). RESULTADOS PROMEDIO DEL TRIPLICADO Y SU REPRODUCIBILIDAD.

Producto	Promedio	% de Variación
Bebidas en Polvo		
Tang limón	5.63	5.8
Tang jamaica	3.06	8.1
Tang naranja	4.22	8.2
Tang durazno	5.19	9.2
Kool-Aid naranja	113.93	9.9
Kool-Aid piña	41.91	8.4
Kool-Aid uva	19.99	6.4
Kool-Aid limón	59.09	5.9
Kool-Aid fresa	55.55	8.6
Kool-Aid frutas	59.35	6.4
Pastas		
Triggonni	4.48	9.3
Gamesa*	1.31	3.7

\* Este alimento no está enriquecido con hierro.



## CUADRO V

COMPARACIÓN DEL CONTENIDO DE HIERRO (mg/100 g) REPORTADO POR LOS FABRICANTES Y LOS REPORTADOS EN ESTE ESTUDIO.

Producto	Dato de Etiqueta (1)	Este Estudio (2)	Relación (2.1)
<u>Leches Modificadas</u>			
Sveltes	12.00	12.72	1.06
S26	8.63	8.62	0.99
Sma	8.18	9.85	1.20
Pelargón	5.50	5.56	1.01
Nan	6.00	6.29	1.04
Nesbrum	9.00	9.09	1.01
<u>Cereales</u>			
Cerelac	6.25	7.91	1.26
Harina de Arroz	5.10	6.35	1.24
<u>Licuadao Instantáneos</u>			
Milo	10.00	10.26	1.02
Choco Milk (chocolate)	5.80	8.35	1.44
Choco Milk (canela)	5.80	7.68	1.32
Choco Milk (nuez)	5.80	8.45	1.45
<u>Bebidas en Polvo</u>			
Tang Limón	9.62	5.63	0.58
Tang jamaica	9.62	3.06	0.31
Tang naranja	9.62	4.22	0.43
Tang durazno	3.70	5.19	1.40
Kool-Aid naranja	230.00	113.93	0.49
Kool-Aid piña	230.00	41.91	0.18
Kool-Aid uva	230.00	19.99	0.08
Kool-Aid limón	230.00	59.09	0.25
Kool-Aid frutas	230.00	59.35	0.25
Kool-Aid fresa	230.00	55.55	0.24

## CUADRO VI

DIFERENCIA ENTRE EL CONTENIDO DE HIERRO ENCONTRADO Y EL REPORTADO POR EL FABRICANTE EN LECHE MODIFICADAS. RESULTADO DE LA PRUEBA DE t PAREADA.

Producto		Promedio (mg/100 g)	Diferencia de los promedios	Prueba de t pareada
Sveltes	Teórico	12.00	0.72	Es significativa
	Encontrado	12.72		
S.26	Teórico	8.63	0.01	No significativa
	Encontrado	8.62		
SMA	Teórico	8.18	1.67	Es significativa
	Encontrado	9.85		
Pelargón	Teórico	5.50	0.06	No significativa
	Encontrado	5.56		
Nan	Teórico	6.0	0.29	No significativa
	Encontrado	6.29		
Nesbrum	Teórico	9.00	0.09	No significativa
	Encontrado	9.09		

## CUADRO VII

DIFERENCIA ENTRE EL CONTENIDO DE HIERRO ENCONTRADO Y EL REPORTADO POR EL FABRICANTE EN CEREALES Y LICUADOS INSTANTANEOS. RESULTADO DE LA PRUEBA DE t PAREADA.

Producto		Promedio (mg/100 g)	Diferencia de los promedios	Prueba de t pareada
Cerelac	Teórico	6.25	1.66	Es significativa
	Encontrado	7.91		
Harina de arroz	Teórico	5.10	1.25	Es significativa
	Encontrado	6.35		
Milo	Teórico	10.00	0.26	No significativa
	Encontrado	10.26		
Choco Milk (1)	Teórico	5.8	2.55	Es significativa
	Encontrado	8.35		
Choco Milk (2)	Teórico	5.8	1.88	Es significativa
	Encontrado	7.68		
Choco Milk (3)	Teórico	5.8	2.65	Es significativa
	Encontrado	8.45		

(1) sabor chocolate, (2) sabor canela, (3) sabor nuez malteada.

## CUADRO VIII

DIFERENCIA ENTRE EL CONTENIDO DE HIERRO ENCONTRADO Y EL REPORTADO POR EL FABRICANTE EN BEBIDAS EN POLVO. RESULTADO DE LA PRUEBA DE  $t$  PAREADA.

Producto		Promedio (mg/100 g)	Diferencia de los promedios	Prueba de $t$ paread
Tang	Teórico	9.62	-5.32	Es significativa
	Encontrado	4.30		
Kool-Aid	Teórico	230.00	-171.70	Es significativa
	Encontrado	58.30		

## CUADRO IX

TIPO DE SAL DE HIERRO UTILIZADA PARA EL ENRIQUECIMIENTO\*

Producto	Compuesto
Leches Modificadas	
Nan	Sulfato Ferroso
Pelargón	Sulfato Ferroso
Nesbrun	Sulfato Ferroso
Alimentos Infantiles	
Cereal de Arroz	Hierro Reducido
Cereal de Avena	Hierro Reducido
Cereal Proteinado	Hierro Reducido
Cereales	
Cereales Kellogg's	Fosfato Férrico
Licuados Instantáneos	
Quik	Pirofosfato Férrico
Chocavena	Fosfato Férrico
Licuido Instante	Pirofosfato Férrico
Cal-C-Tose	Fosfato Férrico

\* Dato de Etiqueta

## RESULTADOS

En total se realizaron 181 digestiones. Las primeras 40 digestiones permitieron establecer las condiciones más apropiadas para llevar a cabo la digestión. Las digestiones restantes corresponden al análisis por triplicado de las 47 muestras.

Para el mejor manejo de los datos las muestras se clasificaron en 6 grupos: 1) Leches Modificadas, 2) Alimentos Infantiles, 3) Cereales, 4) Licuados Instantáneos, 5) Bebidas en Polvo y 6) Pastas.

En los cuadros I, II, III y IV se muestra el promedio del contenido de hierro de los productos analizados, así como el porcentaje de variación de las determinaciones. La reproducibilidad se evaluó entre las determinaciones triplicadas hechas a cada producto.

En el cuadro V se presenta el contenido de hierro obtenido en este estudio en comparación con el anotado por el fabricante. En este cuadro sólo se incluyen los productos en los que el fabricante proporciona el dato de contenido de hierro. En los cuadros VI, VII y VIII se indican las diferencias existentes entre el contenido de hierro encontrado y el teórico. Para evaluar las diferencias se utilizó la prueba de  $t$  pareada con un nivel de significancia del 5%. Finalmente en el cuadro IX se muestra el dato que proporcionan algunos fabricantes en cuanto al tipo de sal de hierro que adicionan a sus productos.

## DISCUSION DE RESULTADOS

Se observa que el porcentaje de variación de casi todas las muestras analizadas (cuadros I, II, III y IV), es menor del 10%. En promedio la desviación es de 6.9%. En base a esto se puede considerar al método usado como bueno ya que su precisión es mayor del 90%. El contenido de hierro (mg/100 g de producto) en promedio es de 7.80 en fórmulas lácteas de 12.72 en Sveltes, de 21.93 en alimentos infantiles, de 7.53 en cereales, en licuados instantáneos Choco Milk, Milo, Quik y Chocavena el nivel de enriquecimiento es semejante y en promedio es de 8.71. En Cal-C-Tose y Licuado Instante el contenido de hierro es mayor, en Licuado Instantes es de 13.62 y en Cal-C-Tose sabor fresa y combinado de 12.10. Cal-C-Tose sabor chocolate contiene más hierro que las otras variedades (21.06) probablemente debido a que la cocoa que contiene está incrementando la cantidad de hierro presente. La cantidad de hierro es en bebidas en polvo tipo Tang de 4.52, en bebidas en polvo tipo Kool-Aid es de 47.17 con excepción del Kool-Aid sabor naranja, y por último, la cantidad de hierro en pasta enriquecida es de 4.48. Se puede ver también que los cereales enriquecidos (Kellogg's), contienen de 5 a 10 veces más hierro que los no enriquecidos (Maizoro). La pasta para sopa adicionada de hierro contiene 3.5 veces más hierro que las no enriquecidas y por último una bebida sabor chocolate enriquecida con hierro tiene de 2 a 3 veces más hierro que la no enriquecida.

En el cuadro V puede observarse que en todos los alimentos, a excepción de los del quinto grupo, la cantidad de hierro encontrada fue superior (de 1 a 46%) al teóricamente agregado por el fabricante.

En las leches modificadas (cuadro VI), puede verse que a excepción de S.26, todas las muestras tienen un contenido de hierro ligeramente superior al teórico. Se observa también que sólo en Sveltes y S.MA esta diferencia es significativa, aún así, las diferencias en estos alimentos no son grandes, de modo que no hubo diferencia significativa entre el dato encontrado versus el teórico al ser evaluadas en forma global con la prueba de t pareada ( $T = 1.81$ , no significativa). En Cerelac, Harina de Arroz y Licuados Instantáneos (cuadro VII), el contenido de hierro encontrado es mayor al teórico, la diferencia del dato encontrado versus el teórico es significativa. Dos hechos podrían explicar éste fenómeno:

- 1) Una contaminación del producto durante el proceso o
- 2) Una información nutricional equivocada de la etiqueta.

A continuación se discute brevemente estas dos posibilidades.

#### Caso Nº 1

Esta explicación no es muy factible ya que como se puede observar, la diferencia que existe entre el contenido de hierro encontrado y el teórico, es muy similar entre alimentos del mismo grupo; una contaminación difícilmente incrementaría el contenido de hierro en forma tan proporcional.

### Caso Nº 2

En estos productos se especifica la cantidad de hierro que hay por 100 g de alimento. Posiblemente aquí hay un error y lo que se está reportando realmente es la cantidad de hierro que se adiciona por 100 g de alimento. Esto explicaría el porqué se obtienen datos más elevados que los teóricos ya que algunos ingredientes de estos alimentos contribuyen con cierta cantidad de hierro; como la cocoa en Choco Milk y la Harina de Trigo en Cerelac. También debe considerarse que la Harina de Arroz no enriquecida contiene 1.3 mg de hierro por 100 g de harina; si sumamos esta cantidad con la reportada en la etiqueta, se obtiene 6.4 mg de hierro por 100 g de producto que es muy similar a la cantidad encontrada (6.35 mg/100 g).

En bebidas en polvo sucede lo contrario, el contenido de hierro encontrado es inferior al teórico, y la diferencia existente entre estos dos datos es significativa. Esto nos indica el poco control de calidad que existe en estos alimentos en cuanto a la adición de hierro, sobre todo en Kool-Aid en donde la cantidad de hierro es tan baja que un vaso preparado de acuerdo a las instrucciones del sobre, proporciona sólo un 2.3% del requerimiento diario de hierro.

Finalmente podemos ver (cuadro IX) que los alimentos que están destinados a lactantes y niños presentan formas de hierro más absorbibles.



## V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

## CONCLUSIONES

- 1.- Las leches modificadas y los alimentos infantiles son los productos que tienen mayor control en la adición del hierro, son buenas fuentes de este mineral y la forma de hierro adicionada de acuerdo al fabricante, es de las más absorbibles.
- 2.- Los cereales, los licuados instantáneos y la pasta Trigoni, también son alimentos ricos en hierro pero la sal adicionada es poco absorbible (sales Férricas).
- 3.- En bebidas en polvo tipo Tang y Kool-Aid el enriquecimiento con hierro se está llevando a cabo en niveles muy bajos, por lo que no representan una buena fuente de hierro.
- 4.- Desde el punto de vista de satisfacción de requerimientos de hierro, la población que consume alimentos enriquecidos está en ventaja de la que no lo hace.

## RECOMENDACIONES

Considero que debe de incrementarse el enriquecimiento de alimentos que realmente se encuentren distribuidos en toda la población sobre todo en las comunidades rurales en donde el consumo de hierro es menor. Desde este punto de vista,

las harinas de cereales, el azúcar y la sal, son vehículos apropiados para el enriquecimiento.

Debe de existir un mejor control de calidad en bebidas en polvo tipo Tang y Kool-Aid para que el enriquecimiento con hierro sea efectivo.

También se recomienda que para el enriquecimiento con hierro sólo se usen sales ferrosas por ser más absorbibles.

## VI. BIBLIOGRAFIA

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Bothwell, T.H., Charlton, R.W. Iron Metabolism in Man. Black Well Scientific Publications. Oxford London Edinburgh Melbourne.
- 2.- Chávez, A. 1980. La Alimentación y los Problemas Nutricionales. Pub. L-39, Div. de Nutrición, I.N.N. México, D. F.
- 3.- Corinne, H. 1982. Fundamentos de Nutrición Normal. Cía. Editorial Continental, S.A. de C.V. México, Segunda Impresión.
- 4.- Cortés, C.D. 1982. Elaboración de un Anteproyecto de Reglamento para Alimentos Enriquecidos. Tesis Facultad de Química, UNAM.
- 5.- Crosby, W.H. 1986. Control of Iron Absorption by Intestinal Luminal Factors. American Journal of Clinical Nutrition 21, 10.
- 6.- Dudley, S. Titus, Ph. D. Mallinckrodt, Inc., 6321-USA: The Technology of Iron Fortification. D.S. Titus.
- 7.- Finch, C.A., Monsen, E.R. 1977. Iron Nutrition and the Fortification of Food with Iron. J. Am. Mod. Assoc. 219 1462.
- 8.- J. Foman. 1976. Nutrición Infantil. Nueva Editorial Interamericana, S.A. de C.V. Segunda Edición.
- 9.- Kenneth, L., Fergus, M. 1978. Iron Sources Used in Food Processign. Critical Review in Food Science and Nutrition 11, 2.
- 10.- Layrisse, M. 1970. La absorción del Hierro de los Alimentos. Bol OPS. 68: 93-98.
- 11.- Layrisse, M., Martínez, C. y Roche, M. 1968. The effect of Interaction of Various Food on Iron Absorption. Amer. J. Clin. Nut. 21: 1175-1185.
- 12.- Loría, A., Montalbán-Ruíz, Piedras, J. 1974. Contenido de hierro de Alimentos Industrializados. Rev. Invest. Clín. 26: 141-151.
- 13.- Loría, A., Sánchez-Medal, L., García-Viveros, J., Piedras, J. 1971. Anemia Nutricional II. Deficiencia de Hierro en Niños Menores de 7 Años de Edad y de Baja Condición Socioeconómica. Rev. Invest. Clín. 23: 1.

- 14.- Loría, A., Villanueva, M. 1979. Contenido de Hierro de Frutas antes y después de su Transformación Industrial. Rev. Invest. Clín. 31: 21-27.
- 15.- Martínez, P. 1985. Consecuencias Sociales de la Mala Nutrición. Cuadernos de Nutrición, 8 Nº 4.
- 16.- Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 1984. Fourteenth Edition.
- 17.- Paul R. Mc. Cardy, M.D., Raymundo J. Dern, M.D. 1968. Some Therapeutic Implications of Ferrous Sulfate-Ascorbic Acid Mixture. Clín. Nut. 21, 4.
- 18.- Pérez, H.C., Chávez, V.A., Madrigal, H. 1971. El Problema Nutricional del Hierro en México. Salud. Publ. Méx. 13:71.
- 19.- Pérez, H.C. 1971. Recopilación sobre el Consumo de Nutrientes en Diferentes Zonas de México. 2.- Consumo de Vitaminas y Minerales. Arc. Latinoamer. Nut. 21, 2.
- 20.- Sánchez, M.L., y Col. 1957. Frecuencia de la Anemia en la Ciudad de México. Rev. Invest. Clín. Méx. 9:127-146.
- 21.- Sandell. Colorimetric Determination of Traces of Metals. Third Edition. Interscience Publishers, Inc.
- 22.- Valor Nutritivo de los Alimentos Mexicanos. 1983. Tablas de Uso Práctico Publicaciones de la División de Nutrición L-12, 9ª Edición. INN México.
- 23.- WHO Technical Report Series. Nº 580, 1975. (Control of Nutritional Anaemia. With Special Reference to Iron Deficiency; Report of on IAEA/USA/ID/WHO. Joint Meeting).