

## SALES DEL ÁCIDO ETILENDIAMINOTETRAACÉTICO: UNA ALTERNATIVA EN LA FORTIFICACIÓN DE ALIMENTOS CON HIERRO.

### ETHYLENEDIAMINETETRAACETIC ACID FERRIC SODIUM SALT (FENAEDTA) – AN ALTERNATIVE FOR FOOD FORTIFICATION WITH IRON

CAGNASSO CAROLINA ELISA, LOPEZ LAURA BEATRIZ, VALENCIA MIRTA EVA.

Cátedra de Bromatología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Junín 956 2do. Piso. Buenos Aires. Argentina.

Contacto: Bioq. Carolina Cagnasso  
Junín 956, piso 2. Cátedra de Bromatología  
1113 – Buenos Aires – Argentina  
4964-8242  
15-3704-0314  
[ccagnasso@gmail.com](mailto:ccagnasso@gmail.com)

#### RESUMEN

La fortificación de alimentos para el consumo masivo es una importante estrategia para mejorar la situación nutricional de las poblaciones. En particular la deficiencia de hierro (Fe) reviste gran importancia y la principal causa de su deficiencia es la baja ingesta y/o biodisponibilidad de este mineral en la dieta.

La biodisponibilidad depende tanto de factores exógenos como endógenos (secreciones digestivas, estado de los depósitos y velocidad de eritropoyesis, entre otros). Entre los factores exógenos encontramos a los componentes de la dieta con presencia de inhibidores como fitatos, fosfatos, polifenoles u otros minerales y de promotores como ácido ascórbico, citrato y proteínas cárnicas. Para que la fortificación con minerales sea efectiva debe seleccionarse una combinación de un compuesto de fortificación con un alimento-vehículo que sea segura y aceptable por la población a la que está dirigida. No debe afectar adversamente la calidad organoléptica y la vida útil del alimento y debe proveer Fe en una forma estable y biodisponible. A nivel internacional, diversas organizaciones promueven el uso, en países en desarrollo, de la sal férrica sódica del ácido etilendiaminotetraacético (FeNaEDTA) como fortificante. La ventaja principal del uso del FeNaEDTA en la fortificación de alimentos es que el Fe está protegido, en el tracto gastrointestinal, de los inhibidores de absorción del Fe de los alimentos. El NaFeEDTA es un compuesto único que hace que el Fe esté disponible en presencia de diversos factores inhibitorios, y puede ser incorporado en muchos alimentos sin efectos organolépticos adversos, ya sea sabor, olor o color. Asimismo la combinación de EDTA y una sal soluble de Fe es otra alternativa estudiada (más económica) con el fin de mejorar la disponibilidad de Fe aunque esta combinación puede producir mayores cambios organolépticos que el FeNaEDTA. El NaFeEDTA es particularmente atractivo por su estabilidad química frente a períodos largos de almacenamiento o de altas temperaturas.

English

Português

ETHYLENEDIAMINETETRAACETIC ACID  
FERRIC SODIUM SALT (FENAEDTA) –  
AN ALTERNATIVE FOR FOOD FORTIFICATION  
WITH IRON

#### SUMMARY

*Food fortification represents a good strategy to increase nutritional quality in at-risk groups. Iron deficiency in particular has a great importance and the main cause of*

SALES DO ÁCIDO  
ETILENODIAMINOTETRAACÉTICO:  
UMA ALTERNATIVA NA FORTIFICAÇÃO DE  
ALIMENTOS COM FERRO

#### RESUMO

*A fortificação de alimentos para o consumo massivo constitui uma boa estratégia para melhorar a situação nutricional das populações. A deficiência de ferro (Fe) é*

*its deficiency is the low intake and/or bioavailability of this mineral in the diet. Bioavailability depends on exogenous and endogenous factors (digestive secretions, state of the deposits, rate of erythropoiesis, among others). Among the exogenous factors we can find the presence of inhibitors such as phytates, phosphates, polyphenols or other minerals, and of promoters such as ascorbic acid, citrate and meat proteins. In order to be effective, food fortification with minerals has to take into account the combination of the fortification-compound and the food-vehicle. This combination should be safe and adequate for the target population and it should not affect in a negative way the organoleptic quality and the shelf life of the product. It also has to contain an iron compound in a stable form with high bioavailability. Several organizations promote the use of ethylenediaminetetraacetic acid ferric sodium salt (FeNaEDTA) as a food fortifier in developing countries. The main advantage of the use of FeNaEDTA for food fortification is that iron becomes protected in the digestive system from the inhibitors of iron absorption. FeNaEDTA is a unique compound that allows Fe availability in presence of diverse inhibitory factors, and which can be incorporated in many foods without causing adverse organoleptic effects on taste, aroma, or color. Another useful and more economical strategy is the use of other EDTA salts, such as sodium or calcium salts, combined with FeSO<sub>4</sub> to achieve similar results, although this combination may lead to more organoleptic changes than with FeNaEDTA. FeNaEDTA has a good chemical stability during long storage periods or high temperatures.*

*um problema de especial importância e se atribui principalmente à baixa ingestão ou biodisponibilidade deste mineral na dieta.*

*A biodisponibilidade depende tanto de fatores exógenos quanto de endógenos (secreções digestivas, estado dos depósitos e velocidade de eritropoiese, entre outros). Entre os fatores exógenos, encontram-se os componentes dietéticos com presença de inibidores, como fitatos, fosfatos, polifenóis ou outros minerais, e de promotores, como ácido ascórbico, citrato e proteínas de carne. Para que a fortificação com minerais seja eficaz, é preciso combinar um composto de fortificação com um alimento-veículo. Essa combinação deve ser segura e aceitável para a população-alvo, não deve afetar negativamente a qualidade organoléptica e a vida útil do alimento e deve fornecer Fe em uma maneira estável e biodisponível. Diversas organizações internacionais promovem o uso do sal férrico sódico do ácido etilenodiaminotetracético (FeNaEDTA) como fortificante em países em desenvolvimento. A vantagem principal do uso do FeNaEDTA na fortificação alimentar consiste em que o Fe é protegido, no trato gastrointestinal, dos inibidores de absorção do Fe dos alimentos. FeNaEDTA é um composto único que possibilita a disponibilidade do Fe em presença de diversos fatores inibitórios e que pode ser incorporado em muitos alimentos sem causar efeitos organolépticos adversos, seja sabor, cheiro ou cor. Outra alternativa útil e mais econômica, projetada para melhorar a disponibilidade do Fe, consiste na combinação de EDTA e um sal solúvel de Fe. No entanto, pode gerar mais alterações organolépticas do que o FeNaEDTA.*

## INTRODUCCIÓN

El Informe Mundial de Salud 2000<sup>1</sup> identificó deficiencias de yodo, hierro (Fe), vitamina A y zinc (Zn) entre los factores de riesgo más serios del mundo. En particular la deficiencia de Fe tiene su mayor impacto en la salud y bienestar físico e intelectual de niños en edad preescolar y mujeres en edad de procreación, aunque también afecta a otros grupos poblacionales.<sup>2</sup> La anemia ferropénica se encuentra presente en todos los países del mundo pero es más severa y generalizada en los países en vías de desarrollo. La causa de esto se debe, en gran parte, a los tipos de alimentos que se consumen, ya que sus dietas se basan principalmente en cereales, legumbres y vegetales. Estos alimentos contienen sustancias, como los fitatos que inhiben la absorción y la utilización biológica del Fe.<sup>3</sup> Esto se agrava particularmente en los países donde la ingesta de Fe es baja, ya que la dieta suele estar basada en maíz, arroz, trigo, frijol y papas, con un consumo relativamente bajo de alimentos de origen animal. En América Latina y el Caribe la prevalencia de anemia en mujeres embarazadas y en los niños de edad prees-

colar es de aproximadamente 40 y 25%, respectivamente, e incluso se han calculado niveles más altos de hasta 60% en mujeres embarazadas de algunas islas del Caribe.<sup>4</sup> Tanto los niños como las mujeres representan grupos de riesgo ya que poseen altos requerimientos en relación con su ingesta calórica.<sup>3</sup> La anemia ferropénica en el embarazo es un factor de riesgo de mortalidad materna<sup>5</sup>, parto prematuro y morbi-mortalidad perinatal.<sup>3</sup>

## ABSORCIÓN DE Fe DE LOS ALIMENTOS: PROMOTORES E INHIBIDORES.

La absorción intestinal de Fe suele tomarse como sinónimo de biodisponibilidad, existiendo tres tipos de factores que la afectan: los luminales, los de las mucosas y los corporales. Dentro de los factores luminales (únicos sobre los que haremos mención en este artículo) encontramos factores endógenos (secreciones digestivas) y exógenos (de la dieta). Los factores exógenos dependen a su vez, entre otro, de la naturaleza

del hierro presente en los alimentos en función de los cuales podemos dividirlos en dos categorías de Fe dietario: el Fe hemínico y el Fe no hemínico. El Fe hemínico es de elevada biodisponibilidad, se absorbe entre un 20-25%, es poco afectado por los otros constituyentes del alimento y se encuentra en la hemoglobina y en la mioglobina del tejido animal.<sup>3,6,7</sup> El Fe no hemínico se encuentra en una forma inorgánica y tiene un origen heterogéneo: Fe derivado de alimentos vegetales, Fe inorgánico contaminante, Fe de la carne que no está en forma de hemo y fortificantes de Fe inorgánico agregados a la dieta. Este tipo de Fe interacciona con las secreciones digestivas y con el pH estomacal es disociado de ligandos de bajo peso molecular y, según el potencial redox, llega al duodeno como férrico o ferroso. Los iones ferrosos tienden a formar a pH mayor a 3, hidróxidos hidratados altamente insolubles o complejos con otros componentes de la dieta que pueden inhibir o promover la absorción del mismo. Dentro de los inhibidores de la absorción encontramos a los fosfatos, fitatos, polifenoles, algunas proteínas, constituyentes de la fibra y ácidos grasos. Por el contrario, dentro de los promotores de la absorción, encontramos algunos aminoácidos, hidratos de carbono y ácidos orgánicos como málico, cítrico, láctico y ascórbico. El ácido ascórbico (AA) merece una mención especial por su doble efecto promotor, por un lado como agente reductor y como agente complejante.<sup>7</sup> La deficiencia nutricional de Fe es entonces el resultado de la incapacidad del ser humano de absorber el Fe desde la dieta para alcanzar los requerimientos corporales. Esto ocurre principalmente cuando los requerimientos están aumentados por el crecimiento, la menstruación, el embarazo o por una pérdida de sangre patológica (parasitosis); y la absorción es inadecuada debido a la inhabilidad del cuerpo para extraer todo el Fe que necesita de los alimentos. Aún en las condiciones que son más favorables para la absorción de hierro, sólo el 30% del hierro es absorbido. Esto es consecuencia de la incapacidad del cuerpo para extraer el hierro que necesita de los alimentos y no por un mecanismo fisiológico de control.<sup>3</sup>

Si bien la fortificación de alimentos es una estrategia para aumentar la ingesta de Fe en poblaciones de riesgo hay que tener en cuenta que, desgraciadamente, los factores que afectan al Fe presente en los alimentos son los mismos que afectan a las sales de Fe agregadas a los mismos.<sup>3</sup>

A nivel internacional, diversas organizaciones promueven el uso, en países en desarrollo, de la sal férrica sódica del ácido etilendiaminotetraacético (FeNaEDTA) como fortificante. La ventaja principal del uso del FeNaEDTA en la fortificación de alimentos es que el hierro está protegido, en el tracto gastrointestinal, de los inhibidores de absorción del hierro de los alimen-

tos, como los fitatos y los polifenoles.<sup>8</sup> Otra estrategia propuesta es la utilización de la sal disódica de EDTA (Na<sub>2</sub>EDTA) o cálcica disódica (CaNa<sub>2</sub>EDTA) como promotor de la absorción de hierro cuando éste es agregado como sulfato ferroso.<sup>9</sup>

## **METABOLISMO Y TOXICOLOGÍA DE LAS SALES DE EDTA**

El EDTA se absorbe un 5% o menos, en su mayoría unido al Fe o a otro metal. El EDTA absorbido se excreta rápida y completamente por la orina y, en consecuencia, no se acumula en el cuerpo. En el rango de dosis recomendadas para la fortificación no es tóxico. Menos del 1% del complejo FeNaEDTA se absorbe intacto. Este Fe no es utilizado por el cuerpo y el complejo es completamente eliminado por orina.<sup>3</sup> Hay evidencia convincente de que el Fe quelado por el EDTA está disponible para su absorción a través de las vías fisiológicas que se encargan de regular la absorción de Fe una vez que el mismo se ha disociado del complejo con el EDTA.<sup>10</sup>

### **Toxicología**

Se ha aceptado que si bien los estudios de toxicidad se realizan sobre un complejo de EDTA en particular, como éste se disocia completamente en el tracto gastrointestinal, los resultados obtenidos con algún compuesto de EDTA son relevantes para los demás.<sup>11</sup> El FeNaEDTA presenta una muy baja toxicidad oral aguda siendo su Dosis Letal 50 (LD50)= 10g /kg peso corporal obtenida en ratas.<sup>12</sup> La toxicidad oral LD50 del CaNa<sub>2</sub>EDTA para ratas, conejos y perros fue de 10, 7 y 12 g/kg de peso por día, respectivamente.<sup>13</sup> En el caso de la toxicidad crónica el estudio de Oser (1963) estableció la Ingesta Diaria Admisible (IDA) aceptada por JECFA (*Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*) hasta hoy en día de 2,5 mg/kg/día.<sup>14</sup> En este estudio, 4 grupos de ratas (n= 50 en cada grupo) se alimentaron con dietas que contenían de 0 a 250 mg de CaNa<sub>2</sub>EDTA/kg de peso por día durante 2 años. Este trabajo también incluyó el estudio de la reproducción durante 4 generaciones. No se observaron diferencias en la ganancia de peso, la utilización del alimento, glucemia, nitrógeno no proteico sérico, calcio sérico, composición de la orina, peso e histopatología del hígado, bazo, riñón, corazón, glándulas adrenales, tiroides y gónadas. No se vio afectada la fertilidad, la lactancia ni el destete. La mortalidad y la aparición de tumores no fueron dosis dependiente. No se observaron efectos en la calcificación de los huesos, dientes o en la actividad de la enzima xantín oxidasa hepática que contiene molibdeno, ni en la anhídrido carbónica sérica que contiene zinc. Resultados similares se obtuvieron con el estudio en perros.<sup>13</sup> Aplicando un factor de seguridad de 100, a la máxima

dosis evaluada en el trabajo (250 mg/kg de peso corporal /día) se estableció la IDA para este complejo.<sup>13,14</sup> Posibles efectos carcinogénicos, teratogénicos y genotóxicos parecerían estar relacionados con la depleción de iones metálicos.<sup>15</sup> No hay evidencias de que los compuestos de EDTA sean carcinogénicos en sí mismos en las dosis evaluadas. Un estudio de Swenerton y Hurley (1971) donde se alimentaron ratas preñadas con dosis muy altas de Na<sub>2</sub>EDTA (hasta 30g de Na<sub>2</sub>EDTA /kg de dieta) provocaron una alta incidencia de fetos malformados en las dosis más elevadas. El aumento en la dieta de la concentración de Zn (de 100 a 1000 mg de Zn /kg de dieta) previno estos efectos teratogénicos.<sup>16</sup>

### Interacción con el Zinc

En los trabajos de campo realizados con FeNaEDTA en dosis fisiológicas no se observaron efectos adversos ni cambios en el status de Zn (en plasma y orina). En lo que respecta a los alimentos, el EDTA no aumenta la absorción de Zn cuando los inhibidores de la absorción están ausentes.<sup>3</sup> No obstante como se describe más adelante, dependiendo de la relación entre el Zn y el Fe, el EDTA también posee un efecto positivo sobre la biodisponibilidad del Zn, otorgando de esta manera un beneficio doble en alimentos que contienen inhibidores. En un trabajo de Hurrell et al.<sup>17</sup> se evaluó la absorción, excreción y retención de Zn con diferentes relaciones EDTA:Zn. En dicho trabajo se observó que cuando la relación se encuentra entre 7:1 y 19:1 aumentan en forma significativa la absorción, la excreción y la retención de Zn. Con una relación 37:1 también aumentaron la absorción, la excreción y la retención de Zn pero esta última fue menor que en la relación 19:1. No se observaron efectos con la relación 3,7:1. Swenerton y Hurley observaron que con relaciones EDTA:Zn de 58:1 se produjeron malformaciones en fetos de ratas. Sin embargo, al agregar Zn en cantidad suficiente para lograr una relación 5,8:1 no se observaron los efectos teratogénicos. De esta manera se concluye que el efecto teratogénico estaba dado por una depleción en la absorción del Zn y no por el EDTA en sí mismo.<sup>16</sup> Los estudios con radioisótopos en humanos mostraron que el hierro puede inhibir la absorción de Zn y viceversa cuando estos elementos se ingieren en solución acuosa pero no cuando están presentes en un alimento.<sup>18</sup> Como se mencionó anteriormente dependiendo de la relación EDTA:Zn se ve aumentada la absorción de Zn.<sup>17-20</sup>

### Interacción con otros metales.

Para todos los metales analizados (inclusive el Zn) parece haber una relación mínima para que se observen efectos promotores de la absorción y una concentración máxima por sobre la cual no se observa un

aumento en la promoción de la absorción.<sup>3</sup>

El EDTA no causa modificaciones en la absorción o en la excreción de calcio<sup>17,18,21</sup>, cobre<sup>17,21</sup>, selenio, arsénico, rubidio y sodio<sup>19,20</sup>, magnesio.<sup>21</sup> Tampoco afecta, hasta una relación molar EDTA:manganeso de 12,7:1 la absorción o excreción de este metal.<sup>22</sup> Sí se observaron efectos sobre la absorción de cobalto, pero no predispone a la deficiencia del mismo ya que en la dieta este metal se absorbe principalmente como cianocobalamina.<sup>19,20</sup>

Se necesita mayor evaluación sobre la influencia del EDTA en concentraciones dietarias sobre el plomo, mercurio, cadmio y aluminio ya que la mayor parte de los trabajos están orientados a explorar la influencia del EDTA sobre estos metales durante las terapias de quelación.<sup>23</sup>

### ESTUDIOS DE BIODISPONIBILIDAD DE MINERALES

La biodisponibilidad se refiere a la cantidad de Fe que se absorbe de los alimentos para ser utilizado en las funciones y los procesos metabólicos normales y es afectada tanto por factores alimentarios como por la condición fisiológica de la persona. Los factores alimentarios se refieren a los inhibidores o promotores de la absorción del Fe presentes en los alimentos que se han mencionado anteriormente. Los factores relacionados con el consumidor tienen que ver con el estado nutricional vinculado con el Fe de la persona. La concentración ácida del jugo gástrico también influye en la absorción del Fe inorgánico, y ésta puede ser importante en aquellos casos en que se usa Fe poco soluble en agua. Este factor podría ser importante en niños pequeños en comparación con adolescentes y adultos y lo mismo podría regir para adultos con trastornos generales gástricos que producen una baja acidez en el estómago. Es fundamental conocer los factores que influyen en la absorción de hierro para diseñar un programa eficaz de fortificación.<sup>8</sup>

### Metodologías *in vivo*

Las pruebas en humanos necesitan de diseños complejos, de la utilización de isótopos estables o radioactivos (incrementando mucho el costo y no siendo de amplio acceso para todos los laboratorios) y de aprobación por parte de comités de ética.<sup>3</sup> No obstante, constituyen una herramienta invaluable para obtener valores absolutos de la absorción de distintos minerales. Se han realizado gran cantidad de trabajos entre 1977 y 2008 con distintas matrices alimentarias. Respecto de los estudios realizados con FeNaEDTA, se ha reportado que este fortificante es generalmente entre 2 a 4 veces mejor absorbido que el FeSO<sub>4</sub>, en una variedad de alimentos a base de cereales y legumbres. No promueve la oxidación lipídica y es estable durante el procesamiento y almacenamiento de los alimentos.<sup>24</sup>

Al utilizar la estrategia de promover la absorción de Fe con el agregado de  $\text{CaNa}_2\text{EDTA}$  o  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  se debe tener en cuenta la fuente del Fe a agregar. Mientras que se han obtenido resultados positivos con el Fe intrínseco y  $\text{FeSO}_4$  no se obtuvieron los mismos resultados cuando se combinaba el EDTA con: fumarato ferroso (cereales infantiles)<sup>25</sup>, Fe reducido<sup>26,27</sup> (evaluado en tortillas a base de maíz), ni con pirofosfato férrico (en cereales infantiles de trigo).<sup>24</sup>

Otro aspecto fundamental a considerar es el alimento vehículo de la fortificación, ya que distintas matrices alimentarias poseen distintos efectos sobre la biodisponibilidad de nutrientes. Por ejemplo, y respecto del agregado de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  y  $\text{FeSO}_4$  en cereales infantiles de trigo en una relación EDTA:  $\text{FeSO}_4$  de 0,33:1; 0,67:1 y 1:1 el aumento de la biodisponibilidad de Fe con respecto al alimento sin el agregado de EDTA fue de 2,5, 5,6 y 5,5 veces mayor, respectivamente. En cereales infantiles a base de trigo-soja las mismas relaciones EDTA: $\text{FeSO}_4$  fueron de 2,5; 3,2 y 4,1 veces mayores, respectivamente, que el control sin EDTA.<sup>24</sup>

En alimentos a base de arroz la absorción aumentó 5 veces respecto del control (sin agregado de EDTA) cuando la relación de EDTA:Fe fue de 0,5:1 y solamente se duplicó cuando la relación EDTA:Fe fue de 1:1.<sup>24,28</sup>

En este mismo trabajo se evaluaron cereales a base de trigo, trigo/soja y quínoa. Por lo general la absorción de Fe siempre fue mayor en los cereales de trigo que en los de trigo/soja y estos dos mayores que los de quínoa. La absorción de Fe utilizando  $\text{FeSO}_4$  y fumarato ferroso fue similar en todos los casos y la absorción de Fe utilizando  $\text{FeNaEDTA}$  fue entre 2 y 4 veces mayor que con  $\text{FeSO}_4$ .<sup>24</sup>

En un estudio realizado en Perú se evaluó el agregado de ácido ascórbico o  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  en una bebida en polvo a base de cereales, leche, soja, harina extrudida de arroz y trigo. Con relaciones ácido ascórbico:Fe de 0,6:1 y 1,6:1 se obtuvieron absorciones del 5,1% y 8,2%, respectivamente. En el caso del agregado de EDTA en una relación 0,7:1 se obtuvo un 4,1% de absorción. Por lo que el  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  podría servir para reemplazar el efecto promotor del ácido ascórbico cuando la estabilidad de esta vitamina es un problema.<sup>29</sup>

En otro estudio realizado sobre pan egipcio, la absorción del Fe aumentó de 2,1% a 5,3% agregando cantidades equimolares de  $\text{NaFeEDTA}$  en lugar de  $\text{FeSO}_4$ .<sup>30</sup> Se ha observado que cuando la relación EDTA:Fe es mayor a 1 hay una marcada disminución de la absorción de hierro. En ausencia de inhibidores la absorción de Fe del  $\text{FeSO}_4$  es igual o mayor que la del EDTA.<sup>31</sup>

### Metodologías *in Vitro* para estimar la disponibilidad de Fe

Las técnicas *in vitro* son rápidas, relativamente simples y menos costosas que las técnicas *in vivo* y permiten un mejor control de las variables experimentales.<sup>32,33</sup> Se han desarrollado diversos métodos para estimar la fracción del mineral o elemento traza que está disponible para la absorción. Este tipo de metodologías incluye la evaluación de la dializabilidad y la captación mineral por cultivos celulares de la línea CaCo-2. Estas técnicas sirven principalmente para la comparación de fortificantes entre sí o para la selección de las combinaciones, relaciones óptimas entre fortificante, promotores, etcétera.<sup>3</sup>

A pesar de que la digestión *in vitro* (dializabilidad o técnicas con cultivos celulares CaCo-2) no puede reflejar con exactitud la complejidad de los sistemas naturales la información obtenida de estos sistemas respecto de los efectos de las enzimas y el pH puede ser aplicado a situaciones *in vivo*.<sup>31</sup>

Dyner et al. (2007) en un estudio de dializabilidad de minerales evaluaron la influencia del agregado de 20% de harina de amaranto a fideos elaborados con harina de trigo. Por un lado el amaranto aumenta el valor nutricional del alimento pero, al obtenerse la harina por molienda del grano entero, también aumenta el aporte de factores no nutritivos como los fitatos. En dicho estudio el reemplazo de 20% de harina de trigo por harina de amaranto disminuyó significativamente la dializabilidad tanto de Fe, como de Zn y Ca. El agregado de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  en relaciones EDTA:Fe de 0.3:1 y 0.7:1 recompuso la dializabilidad de Fe y Zn, respectivamente (comparado con la pasta 100% trigo). No obstante la dializabilidad de Ca no pudo igualarse a la del control aún en una relación 1:1 (EDTA:Fe).<sup>34</sup>

Respecto de los ensayos realizados con cultivos celulares en un trabajo de Wortley (2005) se evaluaron 14 formas de hierro comparándolas con Fe elemental utilizando el modelo de células CaCo-2. En este estudio se observó que la producción de ferritina por células CaCo-2 enfrentadas al  $\text{FeNaEDTA}$  fue entre 3 a 4 veces la producción de ferritina del control.<sup>35</sup>

Múltiples estudios sugieren el efecto protector que posee el EDTA en alimentos con alto contenido de fitatos. Por otro lado, el EDTA no puede solucionar completamente el problema de la inhibición por polifenoles.<sup>24,35</sup> Si bien cuando se analizaron muestras (cereales para desayuno) con el agregado de café la disponibilidad de hierro disminuyó en forma significativa, esta disminución fue menos drástica en las muestras que se encontraban fortificadas con  $\text{NaFeEDTA}$  en lugar de  $\text{FeSO}_4$ .<sup>35</sup> Resultados similares se obtuvieron cuando se evaluaban una dieta infantil (papilla semisólida) con pan fortificado con distintas fuentes de Fe ( $\text{FeSO}_4$ , bis-

glicinato ferroso o NaFeEDTA) y distintas bebidas (agua, mate, leche, mezcla mate:leche, té, bebida cola y bebida a base de polvo para preparar bebida sin alcohol sabor naranja). En todos los casos se observó una disminución en la dializabilidad de Fe con el agregado de mate, té y mate:leche.<sup>36</sup>

### EL FeNaEDTA COMO FORTIFICANTE

El NaFeEDTA es un compuesto único que hace que el Fe esté disponible en presencia de diversos factores inhibitorios, y puede ser incorporado en muchos alimentos sin efectos organolépticos adversos, ya sea sobre el sabor, el olor o el color. Este complejo representa una adición importante al arsenal de Fe ya que puede ser utilizado en dietas con alto contenido de cereales o leguminosas, donde no sería conveniente utilizar los compuestos convencionales de hierro.<sup>3</sup>

Cuando el NaFeEDTA es ingerido en alimentos con alto contenido de fitatos el EDTA protege al hierro de sus efectos manteniéndolo en una forma biodisponible soluble. En el ambiente ácido del estómago humano la unión del Fe con el EDTA está favorecida. Cuando el ambiente se torna más alcalino el hierro se intercambia con el calcio, con el cobre o con el zinc. Por lo tanto, el EDTA funciona protegiendo al Fe, en el estómago, de los factores inhibitorios de la absorción y liberándolo en el extremo proximal del duodeno. El Fe es mejor absorbido cuando la relación EDTA:Fe es de 0,25 a 1 como se ha mencionado anteriormente. La acción protectora del EDTA es independiente de si es agregado como FeNaEDTA o como Na<sub>2</sub>EDTA.<sup>3</sup>

El NaFeEDTA es particularmente atractivo por su estabilidad química frente a períodos largos de almacenamiento o altas temperaturas.<sup>3</sup>

Si bien la combinación de EDTA con FeSO<sub>4</sub> es más económica, la utilización de FeNaEDTA produce menos cambios organolépticos.<sup>24</sup>

El EDTA también mejora la absorción del Fe intrínseco de los alimentos, pero no es apropiado para alimentos donde la biodisponibilidad de hierro es intrínsecamente satisfactoria o ha sido mejorada por la adición de otros promotores de la absorción tales como ácido ascórbico.<sup>3</sup>

Por otro lado, los efectos de agregar FeNaEDTA como fortificante de distintos tipos de alimentos deben ser evaluados antes de su utilización, ya que los efectos pueden ser altamente variables y no predecibles con facilidad. Puede producir cambios de color en algunos alimentos como el té, el café, el cacao<sup>37</sup>, y en bananas y chocolate.<sup>38</sup> Por el contrario, no promueve la oxidación de los lípidos en cereales almacenados ni la formación de precipitados en alimentos que son ricos en péptidos libres como la salsa de soja y la salsa de pescado.<sup>37</sup> La mayor desventaja de utilizar FeNaEDTA es que es más costoso que otros fortificantes de hierro.<sup>39</sup>

Los alimentos a base de cereales son particularmente difíciles de fortificar ya que contienen cantidades significativas de ácido fítico, un potente inhibidor de la absorción de hierro. Además, cuando compuestos de hierro soluble como el sulfato, son agregados a alimentos a base de cereales, estos se enrancian durante el almacenamiento debido a la oxidación de grasas catalizada por Fe. Como resultado de estos problemas organolépticos muchos alimentos a base de cereales se fortifican con hierro elemental, sin embargo este compuesto presenta la desventaja que, en el mejor de los casos, se absorbe solamente la mitad que el FeSO<sub>4</sub>.<sup>24</sup>

Una manera de sobrepasar el efecto inhibitorio del ácido fítico es agregar ácido ascórbico. Sin la adición de esta vitamina, la absorción de Fe proveniente de FeSO<sub>4</sub> en alimentos a base de cereales puede ser tan baja como 1%. El problema con el ácido ascórbico es que se degrada fácilmente durante el procesado del alimento y durante el almacenamiento, si el alimento no se encuentra en un envase diseñado para preservar al alimento del oxígeno y de la humedad.<sup>24</sup>

Las fuentes de Fe con mayor biodisponibilidad pueden llevar al desarrollo de fórmulas infantiles con menor contenido de Fe. Mas aún, fórmulas con nuevos fortificantes y menor contenido de hierro pueden tener menos potencial pro oxidativo y resultar en una mayor absorción de elementos traza.<sup>31</sup>

### UTILIZACIÓN DE SALES DE EDTA EN ALIMENTOS.

Muchos países autorizan el uso de EDTA en alimentos. Principalmente el motivo de su uso es como agente secuestrador para prevenir la decoloración, la turbidez, la rancidez y/o la pérdida de textura de los alimentos.<sup>3</sup> La Unión Europea permite su agregado únicamente en cangrejo enlatado, camarones, pickles, hongos enlatados, cerezas glaceadas y salsas, en concentraciones que van de 75mg/Kg a 275mg/Kg. No están permitidas en alimentos destinados a infantes o niños. Otros países como Estados Unidos, Malasia y las Filipinas, permiten el agregado de EDTA en un grupo de alimentos mucho mayor. En el caso particular de EEUU, el Na<sub>2</sub>EDTA o CaNa<sub>2</sub>EDTA puede ser agregado a 34 alimentos en concentraciones, dependiendo del alimento, de hasta 800 mg/kg como es el caso de protos en conserva.<sup>3</sup>

En Latinoamérica el panorama es variado. En Brasil, por ejemplo, se permite el uso de CaNa<sub>2</sub>EDTA y Na<sub>2</sub>EDTA en bebidas sin alcohol, salsas, sopas y caldos deshidratados y listos para consumir, agua gasificada; y CaNa<sub>2</sub>EDTA únicamente en alimentos grasos, hortalizas en conservas (batatas), margarinas, cremas vegetales, entre otros, con concentraciones que van desde 35mg/Kg hasta 100mg/Kg.<sup>40-44</sup> En Argentina se permite el agregado de CaNa<sub>2</sub>EDTA en aderezos (mayonesas,

mostazas, ketchup, salsa golf), margarinas y helados, y de ambas sales en bebidas sin alcohol (listas para consumir o para diluir) y chicles. Las concentraciones varían desde 35mg/Kg hasta 100mg/Kg.<sup>45</sup> En Chile, a los mismos alimentos autorizados en Argentina se le agregan los encurtidos, bebidas alcohólicas, legumbres, crustáceos y moluscos en conservas, entre otros, en concentraciones de entre 25mg/Kg y 250mg/Kg y solamente se encuentra permitido el uso de CaNa<sub>2</sub>EDTA.<sup>46</sup>

Por lo general se recomienda el uso de CaNa<sub>2</sub>EDTA en lugar de Na<sub>2</sub>EDTA para prevenir el secuestro de Ca.<sup>3</sup>

Hay que tener en cuenta que el EDTA posee una Ingesta Diaria Admisible (IDA) de 0-2,5 mg/kg/día como CaNa<sub>2</sub>EDTA.<sup>14</sup> Por lo tanto, se debe considerar la Ingesta Diaria Potencial (IDP) de este aditivo no sólo para controlar los niveles de adición aprobados por la legislación, si no frente a la posibilidad de utilizar FeNaEDTA como fortificante de alimentos.

Respecto de las Ingestas Diarias en EEUU, el valor reportado de IDP promedio fue de 0,25mg/kg (1993)<sup>3</sup>, para Brasil de 0,18mg/Kg (2002), en Chile de 0,40mg/Kg (2002), en México de 0,48mg/Kg (2002) [47] y para Argentina fue de 0,04mg/Kg (2007).<sup>48</sup>

Dependiendo del país varía el alimento que representa el principal aportador de EDTA. Por ejemplo en Brasil, los principales aportadores son los condimentos para ensaladas, en Chile las bebidas sin gas y en Argentina las bebidas sin alcohol y las mayonesas.<sup>47,48</sup> Por este motivo, es importante evaluar la IDP en cada región y el impacto que tendría la fortificación de un determinado alimento, ya que estos se encuentran altamente influenciados por los hábitos alimentarios de las distintas zonas.

## PROGRAMAS DE FORTIFICACIÓN Y RECOMENDACIONES.

A pesar de que los programas de fortificación están en ejecución desde hace varios años y que en el año 2003, 22 países ya estaban fortificando harina de trigo, maíz o ambas por lo menos con hierro y otros nutrientes, la contribución a la reducción de la anemia ferropénica de las poblaciones ha sido insignificante.<sup>4</sup> Por este motivo es importante contar con buenos programas de fortificación de alimentos. Un aspecto esencial del proceso que debe ser tomado en cuenta es el tipo y la cantidad de compuesto de Fe que se utilice como fortificante. Es por ello que es necesario especificar los factores a considerar para la selección de los compuestos de hierro, en cuanto a la biodisponibilidad, las características organolépticas, la compatibilidad tecnológica y el costo. Estos programas pueden fallar por el uso de compuestos de hierro subóptimos (es decir, compuestos con baja biodisponibilidad o que ocasionan cambios organolépticos inadmisibles

en los alimentos), un bajo nivel de fortificante, almacenamiento y empaquetado inadecuado, deficiente control de calidad, consumo bajo de alimentos fortificados con Fe, consumo de alimentos inhibidores de la absorción de hierro y trastornos de salud preexistentes que inhiben la absorción de hierro, entre otros cambios. Reunir una base de evidencias científicas sólidas que impidan el uso de compuestos de hierro subóptimos constituye una medida importante para mejorar la fortificación con este mineral.<sup>4</sup> Por ejemplo, en las recomendaciones para la harina de maíz nixtamalizada encontramos que se debería fortificar con FeNa<sub>2</sub>EDTA o el doble de la cantidad de hierro a partir de FeSO<sub>4</sub> encapsulado o fumarato ferroso encapsulado o no. Se deben agregar compuestos de hierro para alcanzar la ingesta nutricional recomendada prevista y hasta el nivel máximo que los alimentos puedan tolerar sin causar cambios organolépticos inadmisibles.<sup>8</sup>

Respecto de las recomendaciones que elaboró el Taller de Fortificación de Harina de Trigo: Georgia, USA. en Marzo de 2008,<sup>49</sup> estas ratifican las recomendaciones realizadas por el grupo en su primer informe técnico realizado en Cuernavaca, México en 2004. Sin embargo admiten que la mayoría de los países no las han implementado. Estos reportes recomiendan la fortificación de harinas de extracción baja y alta a nivel nacional sólo con fortificantes con hierro biodisponibles (FeSO<sub>4</sub>, fumarato ferroso o hierro electrolítico en harina de baja extracción, y FeNaEDTA en harina de alta extracción). Estas recomendaciones son ampliamente consistentes con las "Guías sobre Fortificación de Alimentos con Micronutrientes" recientemente publicadas por OMS/FAO.<sup>39</sup> Los miembros del grupo de trabajo también estuvieron de acuerdo en que la fortificación de harina con niveles adecuados de las formas más biodisponibles de hierro mejorará el nivel de hierro de poblaciones, con muy poco riesgo de efectos adversos. Los estudios de eficacia indican que el consumo diario de 7,1 mg de hierro como FeSO<sub>4</sub> (equivalente a 7,1 mg de hierro como fumarato de hierro; 4,6 mg hierro como NaFeEDTA o 10 mg de hierro electrolítico) a través de productos de harina fortificada mejorará el nivel de hierro en mujeres en edad de procrear. Esos beneficios sobre la salud pública también se podrían lograr en harinas de alta extracción -o harinas de baja extracción sin un proceso de fermentación de levadura - fortificando con el mismo nivel de NaFeEDTA.<sup>49</sup>

Si el consumo de harina de trigo y maíz es lo suficientemente elevado y por distintas circunstancias no se pueden utilizar otros fortificantes, se puede utilizar el polvo de Fe electrolítico. Para el resto de las situaciones, el orden preferido de fortificantes con hierro para estas harinas es NaFeEDTA, sulfato ferroso y fumarato ferroso.<sup>49</sup>

## Bibliografía

- 1- Organización Mundial de la Salud. 2000, Informe Mundial de Salud 2000 – Sistemas de salud: Como mejorar su funcionamiento. Ginebra, CH. Disponible en: <http://www.who.int/whr/2000/es/index.html> Acceso noviembre 2009.
- 2- Stoltzfus RJ, Mullany L, Black RE., Anemia por deficiencia de hierro. Ezzati M, Lopez AD, Rodgers A, Eds. 2004. Ginebra, CH, Organización Mundial de la Salud;163.
- 3- International Nutritional Anemia Consultative Group (INACG), Iron EDTA for Food Fortification. Nutrition Foundation 1993, New York, NY.
- 4- Organización Panamericana de la Salud. Fortificación de harinas con hierro, ácido fólico y vitamina B12. Informe reunión regional. 2004. Washington D.C.
- 5- Black RE, Allen LH, Bhutta ZA, et al. Maternal and child undernutrition: global and regional exposures and health consequences. *Lancet* 2008; 371, 243
- 6- NHMRC & NZMOH. Nutrient Reference Values for Australia and New Zealand: Including Recommended Dietary Intakes 2006. Department of Health and Ageing, Canberra. Disponible en: <http://www.nhmrc.gov.au/files/nhmrc/file/publications/synopses/n35.pdf>. Acceso: Noviembre 2009.
- 7- Portela ML. Vitaminas y Minerales en Nutrición 2º Edición, Editorial La Prensa Médica Argentina 2003. Buenos Aires, Argentina
- 8- Instituto Internacional de Ciencias de la Vida. Compuestos de hierro para la fortificación de alimentos: Guías para América Latina y el Caribe, 2002, Disponible en: [www.paho.org](http://www.paho.org) Acceso: Noviembre 2009.
- 9- Hurrell FR. Fortification: Overcoming technical and practical barriers. *J Nutr* 2002; 132, 806-812.
- 10- MacPhail A. P., Bothwell T. H., Torrance J. D., et al. Factors affecting the absorption of iron from Fe(III)EDTA., *Br. J. Nutr* 1981, 45, 215.
- 11- Heimbach J, Rieth S, Mohamedshah F, et al. Safety assessment of iron EDTA [sodium iron (Fe<sup>3+</sup>) ethylenediaminetetraacetic acid]: summary of toxicological, fortification and exposure data., *Food Chem Tox* 2000; 38, 99-111.
- 12- Whittaker P, ali SF, Iman SZ, Dunkel VC. Acute toxicity of carbonyl iron and sodium iron EDTA compared with ferrous sulfate in young rats. *Reg Tox Pharm* 2002, 36, 280-286.
- 13- Oser BL, Oser M, Spencer HC. Safety evaluation studies of calcium EDTA. *Appl Pharmacol* 1963; 5, 142-62.
- 14- JECFA. Annex 4: Acceptable daily intakes [Ethylenediaminetetraacetate, disodium and calcium disodium salts]. In: *Toxicological Evaluation of Certain Food Additives with a Review of General Principles and of Specifications*. Prepared by the 17th Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Geneva (Switz.): World Health Organization (WHO); 1974, WHO Technical Report Series, 539, 35.
- 15- National Cancer Institute. Bioassay of trisodium ethylenediaminetetraacetate trihydrate (EDTA) for possible carcinogenicity. *Carcinogenesis. Tech Report Series. N 11*, 1977. US Department of Health, Education and Welfare. Public Health Service, National Institute of Health, Bethesda, Maryland U.S.
- 16- Swenerton H, Hurley LS. Teratogenic effects of a chelating agent and their prevention by zinc. *Science* 1971; 173, 62-64.
- 17- Hurrell RF, Ribas R, Davidsson L. Sodium iron EDTA as a food fortificant: influence on zinc, calcium and copper metabolism in the rat. *Br J Nutr* 1994; 71, 85-93.
- 18- Davidsson L, Kastenmayer P, Hurrell R. F. Sodium iron EDTA (NaFe(III)EDTA) as a food fortificant: the effect on the absorption and retention of zinc and calcium in women. *Am. J. Clin. Nutr* 1994; 60, 231-237.
- 19- Igarashi K, Sasaki A, Yoda Y, et al. Effect of sodium iron ethylenediaminetetraacetic acid on the absorption of various trace elements in anemic rats. *RIKEN Rev* 2001; 35, 50-54.
- 20- Igarashi K, Nakanishi Y, Hirunuma R, et al. Multitracer study on the uptake of various trace elements in anemic rats: influence of NaFeEDTA and ferrous sulfate. *Nutr Res* 2006; 26, 173-179.
- 21- Davidsson L, Ziegler E, Zeder C, et al. Sodium iron EDTA [NaFe(III)EDTA] as a food fortificant: erythrocyte incorporation of iron and apparent absorption of zinc, copper, calcium and magnesium from complementary food based on wheat and soy in healthy infants. *Am J Clin Nutr* 2005; 81, 104-109.
- 22- Davidsson L, Almgren A and Hurrell R. Sodium iron EDTA [NaFe(III)EDTA] as a food fortificant does not influence absorption and urinary excretion of manganese in healthy adults. *J Nutr* 1998; 128, 1139-43.
- 23- Foreman H. Use of chelating agents in treatment of metal poisoning (with special emphasis on lead). *Fed Proc* 1961; 20, 191-96.
- 24- Hurrell R, Reddy M, Burri J, et al. An evaluation of EDTA compounds for iron fortification of cereal-based foods. *Br J Nutr* 2000; 84, 903-910.
- 25- Fidler M, Davidsson L, Zeder C, et al. Iron absorption from ferrous fumarate in adult women is influenced by ascorbic acid but not by Na<sub>2</sub>EDTA. *Br J Nutr* 2003; 90, 1081-85.



- 26- SUSTAIN. Storage, sensory and bioavailability evaluations of iron fortified corn masa flour. Final report august, 2000. [www.sustaintech.org](http://www.sustaintech.org). Acceso: Noviembre 2009.
- 27- Walter T, Pizarro F, Boy E, et al. The poor bioavailability of elemental iron in corn masa flour is not affected by disodium EDTA. *J Nutr* 2004; 134, 380-383.
- 28- MacPhail AP, Patel RC, Bothwell TH, et al. EDTA and the absorption of iron from food. *Am. J. Clin. Nutr* 1994; 59, 644-648.
- 29- Davidsson L, Walczyk T, Zavaleta N, et al. Improving iron absorption from a Peruvian school breakfast meal by adding ascorbic acid or Na<sub>2</sub>EDTA. *Am J Clin Nutr* 2001; 73, 283-287.
- 30- el Guindi M, Lynch SR, Cook JD. Iron absorption from fortified flat breads. *Br J Nutr* 1988, 49, 205-13.
- 31- Dominguez R, Barreiro T, Sousa E, et al. Study of the effect of different iron salts used to fortify infant formulas on the bioavailability of trace elements using ICP-OES. *International Dairy Journal* 2004; 14 (12), 1081-87 .
- 32- MacPhail P, C Patel R, Bothwell T, et al. EDTA and the absorption of iron from food. *Am J Clin Nutr* 1994; 59, 644-864.
- 33- Wienk KJ, Marx JJ and Beynen AC. The concept of iron bioavailability and its assessment. *Eur J Nutr* 1999; 38, 51-75.
- 34- Dwyer L, Drago S, Pellegrino N y col. Effect of sodium EDTA on the availability and potential contribution of iron, zinc and calcium from pasta made with wheat and amaranth flours. *Proceedings of the International Conference on Cereals and cereal products* 2007;133.Rosario, Argentina
- 35- Wortley G, Leusner S, Good C, et al. Iron availability of fortified processed wheat cereal: a comparison of fourteen iron forms using an in vitro digestion/human colonic adenocarcinoma (CaCo-2) cell model. *Br J Nutr*2005; 93, 65-71.
- 36- Binaghi M; Cagnasso C; Samillán S y col. Libro de actas, IX Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de los Alimentos 2007. Buenos Aires, Argentina.
- 37- Bothwell TH, MacPhail AP. The potential role of NaFeEDTA as an iron fortificant. *Int J Vitam Nutr Res* 2004; 74, 421-434.
- 38- Hurrell R. Preventing iron deficiency through food fortification. *Nutr Rev* 1997; 55, 210-222.
- 39- WHO/FAO. Guidelines on food fortification with micronutrients. In: Allen, L., de Benoist, B., Dary, O., and Hurrell, R. eds. 2006. Disponible en : [www.who.int/nutrition/publications/micronutrients/guide\\_food\\_fortification\\_micronutrients.pdf](http://www.who.int/nutrition/publications/micronutrients/guide_food_fortification_micronutrients.pdf) Acceso: Noviembre 2009
- 40- Brasil, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução Nº33, Regulamento Técnico que aprova o uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos 12- Sopas e caldos. *Diario Oficial da União*, 2001, Brasília.
- 41- Brasil., Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução Nº382, Regulamento Técnico que aprova o uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos 13- Molhos e condimentos. *Diario Oficial da União*, 1999, Brasília.
- 42- Brasil. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução Nº387, Regulamento Técnico que aprova o uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos 5- Balas, confeitos, bombons, chocolates e similares. *Diario Oficial da União*, 1999, Brasília.
- 43- Brasil. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução Nº387, Regulamento Técnico que aprova o uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos 16.2.2- Bebidas não gaseificadas. *Diario Oficial da União*, 1999, Brasília.
- 44- Brasil. Ministério da Saúde, Conselho Nacional de Saúde. Resolução Nº 4 de 1988: aprova a revisão das Tabelas I, III, IV e V referente a Aditivos Intencionais, bem como os Anexos I, II, VII, todas do Decreto N1 55.871 de 1995. *Diario Oficial da União*, 1995, Brasília.
- 45- Código Alimentario Argentino. 2009, Disponible en: <http://www.anmat.gov.ar/codigoa/caa1.asp> Acceso: Mayo 2010.
- 46- Decreto Supremo Nº 977 del Ministerio de salud de Chile. Disponible en: <http://www.elemental.cl/redalimenteria/DS%20977.pdf> Acceso: Mayo 2010
- 47- Fisberg RM, Torres EAFS, Morimoto JM, et al.. Estimativa do consumo de EDTA em escolares. *Nutrire: Rev Soc Bras Alim Nutri* 2002; 24 ,71-83.
- 48- Cagnasso CE, López LB, Rodríguez VG, et al. Estimación de la ingesta potencial de ácido etilendiaminotetraacético en niños y adolescentes argentinos, influencia de la fortificación de cereales para desayuno con la sal férrica de este ácido. *Rev Chil Nutr* 2007, 34, 143-149.
- 49- Iniciativa para la Fortificación de Harina (FFI). Informe del Taller de Fortificación de Harina de Trigo. 2008, Georgia USA. Disponible en: [http://www.sph.emory.edu/wheatflour/atlanta08/Atlanta\\_Summary\\_Report\\_Oct%2007.pdf](http://www.sph.emory.edu/wheatflour/atlanta08/Atlanta_Summary_Report_Oct%2007.pdf) - Acceso Mayo 2010