

Tesis de Posgrado

Sobre el contenido en ácido fítico de trigos argentinos de distintas variedades

García Arca, Ernestina América

1958

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

García Arca, Ernestina América. (1958). Sobre el contenido en ácido fítico de trigos argentinos de distintas variedades. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0965_GarciaArca.pdf

Cita tipo Chicago:

García Arca, Ernestina América. "Sobre el contenido en ácido fítico de trigos argentinos de distintas variedades". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1958. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0965_GarciaArca.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

Sobre el contenido en ácido fítico de trigos argentinos
de distintas variedades .

Resumen del trabajo de tesis
para optar al título de
Doctora en Química

Ernestina A. García Arca

Año 1958.

Res. de Tesis! 965

Se presenta una revisión bibliográfica al día de estudios relativos al problema nutricional planteado por la presencia de ácido fítico en los alimentos ya que, como es sabido, dicho ácido interfiere en la absorción del calcio y del hierro por precipitar en estos elementos en el tracto intestinal, siendo además el fósforo de su molécula inutilizable para el organismo.

Se dan valores de contenidos en ácido fítico y fósforo total de trigos argentinos de las cosechas 1953/54 y 1954/55, determinados en muestras standard de diferentes variedades cosechadas en las distintas subregiones de la zona triguera del país. De la primera de las citadas cosechas, se analizaron las variedades Massaux No. 5, Klein Lucero, Klein Cóndor y Benvenuto 3085, correspondientes a las subregiones I y V Sur; de la segunda de esas cosechas, se estudiaron las variedades Massaux No. 5, Klein Lucero, Buck Quequén, Klein Cometa y Benvenuto 3085, cosechadas en cada una de las siete subregiones que integran la zona triguera argentina.

Considerando las variedades estudiadas de la cosecha 1954/55, puede establecer de un modo general que la más rica en ácido fítico y en fósforo total fue la Buck Quequén, mientras que la más pobre en ambos contenidos fue la Klein Lucero.

Considerando las distintas subregiones, es posible comprobar que, en general, para el año agrícola 1954/55, las variedades cosechadas en la subregión V Sur presentaron los mayores contenidos en fósforo total, mientras que las cosechadas en la subregión V Norte fueron las más ricas en ácido fítico, siendo los trigos de la subregión III los más pobres en ambos contenidos.

Es de hacer notar que las variedades cosechadas en la subregión V Sur (que eran las más ricas en fósforo total) presentaron en general, los menores contenidos de fósforo fítico expresado como porcentaje del fósforo total.

Independientemente de los factores variedad y subregión de

cultivo, los valores máximos obtenidos para los contenidos de fósforo fítico y fósforo total en los trigos de la cosecha 1954/55 fueron respectivamente 0,444 gr (o sea 1,576 gr de ácido fítico) y 0,563 gr (o sea 1,291 gr de P_2O_5) por 100 gr de muestra seca. Los valores mínimos correspondientes fueron 0,216 gr (o sea 0,766 gr de ácido fítico) y 0,313 gr (o sea 0,718 gr de P_2O_5) por 100 gr de trigo seco.

Expresando los valores hallados en términos de fósforo fítico y fósforo total por ciento, se puede establecer que el primero de esos contenidos era, en promedio, un 77 % del segundo.

Se presentan gráficos relacionando: a) Los valores de fósforo total y cenizas. b) Los valores de ácido fítico y fósforo total. c) Los valores de calcio y ácido fítico.

Estos gráficos se han trazado en cada caso, para cada variedad considerándola en las distintas subregiones, y para cada subregión teniendo en cuenta las diferentes variedades en ella cosechadas.

De los mismos puede concluirse que, considerando las distintas variedades el contenido en fósforo total fué en general proporcional al de cenizas. En cuanto a las demás relaciones nada puede establecerse al respecto en forma definida; sería necesario para ello disponer de un número considerable de valores correspondientes a otros tantos análisis.

Para la determinación de ácido fítico se recurrió al procedimiento de W.Heubner y H.Stadler modificado por R. Casares y L. Moreno, y para la de fósforo total, el método oficial de la Association of Official Agricultural Chemists para harinas.

En lo referente a la primera de las citadas técnicas, se puede afirmar que, si bien es factible que no permita una valoración exactamente cuantitativa (por requerir la titulación de una solución con formación de un precipitado coloidal de decantación lenta), se trata de un método sencillo y rápido, con el que se obtie

nen valores concordantes, resultando apropiado para determinación en serie con fines comparativos como los que ocuparon este estudio.

Ernestina A. Garcia Arca

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

Sobre el contenido en ácido fítico de trigos argentinos
de distintas variedades.

Tesis para optar al título de
Doctora en Química

Ernestina A. García Arca

TESIS: 965

Año 1958

965

Mi gratitud al distinguido Doctor en Química Pedro Cattáneo por haber patrocinado el presente trabajo, así como por sus sabias directivas y consejos.

Agradesco también a todas aquellas personas que me brindaron su apoyo moral e material, y a la Doctora Inés P. de Soares Telles que me facilitó las muestras para el análisis y me permitió realizar este estudio en el laboratorio que ella dirige, dependiente de la División de Aplicaciones Tecnológicas de la Dirección de Producción de Granos y Forrajes del Ministerio de Agricultura y Ganadería de la Nación.

A NEW NAME.

INTRODUCCION

En el presente trabajo se determinó el contenido en ácido fítico y fósforo total de trigos argentinos de distintas variedades, cultivadas en las diferentes subregiones de la zona triguera del país. Para la primera determinación se empleó el método de W. Neubner y H. Stadler modificado por R. Casares y L. Moreno, y para la segunda, el método oficial de la Association of Official Agricultural Chemists para el dosaje de fósforo en harinas.

Se discutieron los valores de ambos contenidos, vinculándolos entre sí y con respecto a las distintas variedades de trigo y subregiones de cosecha.

Fue también de interés conocer si existía alguna relación entre el contenido en cenizas y fósforo total de las mismas muestras, y entre el de ácido fítico y calcio, esto último dada la acción nociva de ese ácido en la absorción del citado elemento.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

COMPOSICIÓN MINERAL DEL GRANO DE TRIGO

El trigo, *Triticum* sp. pertenece a la familia de las Gramíneas. El grano maduro o fruto es un cariopse. El pericarpo y los restos de las tegumentos seminiales se adhieren tan fuertemente que no resulta fácil separarlos en la madurez (33).

El grano de trigo consta de tres partes principales cada una diferenciada anatómicamente y químicamente de las otras. Son: el embrión o germen, situado en un extremo del grano como una masa pequeña y amarilla, fácilmente distinguible; el endosperma, que forma la mayor parte del grano entero y provee el alimento para la planta embrionaria durante la germinación; la capa de salvado, que comprende las envolturas externas del grano y la subyacente capa, conteniendo las células proteicas que cubren la semilla completa y protegen el embrión y el endosperma de daño durante el período de reposo en la existencia de la semilla. Correspondiendo a las funciones especiales de cada una de estas tres partes, hay profundas diferencias en la naturaleza química de las sustancias que las componen y por lo tanto, amplias diferencias en su valor nutritivo (68).

El contenido en minerales de una planta depende: 1o.) de la especie y de la variedad a las cuales pertenece; 2o.) de la composición del suelo en que crece; 3o.) del clima y en general de todas las influencias meteorológicas. En razón de la plasticidad extraordinaria de los vegetales, la acción de esos tres factores puede producir variaciones considerables del equilibrio mineral del protoplasma vegetal. Por eso, según Legata y Munné, "las cifras encontradas en un análisis están lejos de tener un valor absoluto y definitivo y no son válidas más que para la variedad estudiada en un suelo dado y en un año determinado,

y no para la especie en general".

En concordancia con los productos de plantas, el grano de trigo muestra generalmente una considerable amplitud en su composición.

Según M. Le Prof y P. Schrumpp-Pierron (49), cada especie poseería en principio una afinidad especial, cualitativa y cuantitativa, para los diversos minerales del suelo, siendo entre éstos los más variables el calcio, magnesio, potasio, sodio y fósforo.

Además de la afinidad global de una planta por los distintos minerales, se comprobó una afinidad especial de algunos de sus tejidos por las mismas sales. Por ejemplo, las diferencias de mineralización que se encontró entre los granos y la paja del trigo, eran sensibles sobre todo para el calcio y el magnesio. En cuanto al grano de trigo sus capas corticales estaban mucho más mineralizadas que el germen.

Los citados autores consideraron posible que se produjese una sustitución parcial de una base por otra según que el suelo la contuviera en exceso o en muy poca cantidad. En este orden de ideas constataron hechos muy extraños; así, las plantas de un mismo campo podían mostrar divergencias de mineralización, y de año en año, la misma planta, en la misma tierra, con los mismos abonos, era distintamente mineralizada.

La extensa literatura sobre el contenido en elementos inorgánicos del grano de trigo y de los productos de su mollienda certifica la importancia de un conocimiento detallado de la materia. Una amplia evidencia de que factores tales como estación, localidad y variedad, hacen variar ampliamente la composición mineral del trigo y de sus productos, se ve en los numerosos estudios realizados por distintos autores en los treinta últimos años.

Los diversas especies de trigo han dado origen, según el suelo, el cultivo y el clima, a numerosas variedades que pueden ser clasificadas en tres categorías designadas con los nombres de trigos duros, semiduros y blandos.

Los trigos duros son cosechados en regiones cálidas. Son los más ricos en gluten y en principios nitrogenados. Se reconocen por su aspecto córneo, su semitransparencia y su consistencia dura y regular en todo el espesor. Dan en la molida un rendimiento que puede variar entre el 80 y 88 %.

Los trigos semiduros son menos consistentes, semitransparentes en su parte exterior pero de aspecto harinoso en la porción central. Producen de 75 a 80 % de harina.

Los trigos blandos, cultivados en el norte y centro de Francia, en Inglaterra y Rusia, son más pobres en principios nitrogenados y de aspecto más harinoso que los anteriores. Son livianos y no producen más de un 70-75 % de harina (48).

B. Sullivan y C. Near (1927) (88) realizaron una serie de investigaciones con la intención de determinar si existía alguna marcada diferencia entre los constituyentes inorgánicos presentes en trigos provenientes de regiones como North Dakota, Montana y Canadá, conocidas como productoras de trigos duros, y los de aquellos que provenían de Pacific Coast States donde los trigos eran extremadamente blandos y ricos en almidón, y considerados como menos convenientes para la panificación.

Fueron elegidos para dichos análisis veinte trigos de distintas localidades y de muy variadas cualidades y contenido en proteínas. Las muestras fueron calcinadas y en las cenizas se determinaron algunos elementos, llegando los autores a la conclusión de que demasiados factores influían en la composición del trigo, clima, irrigación, suelo, etc., como para establecer relaciones concluyentes que no admitieran excepción. Sin

embargo, en el análisis de los trigos en cuestión se encontró que:

1) El contenido en magnesio llevaba una relación directa con la dureza del trigo. 2) El porcentaje ^{de} calcio, potasio y fósforo en las cenizas no mostraba relación directa con la calidad del trigo.

B. Sullivan y C. Near (1927) (89) realizaron también investigaciones sobre cenizas de trigos duros de primavera y de sus productos. Dicho trabajo condujo a las siguientes conclusiones:

1) El porcentaje de los constituyentes minerales de distintos trigos variaba apreciablemente. Los trigos duros de primavera y sus harinas contenían generalmente más ceniza que las variedades de invierno duras o blandas. Contrariamente a lo registrado hasta entonces en la literatura, los autores jamás encontraron una ceniza de trigo o de sus productos que tuviese reacción ácida, sino alcalina. Esta alcalinidad era debida a una preponderancia de los pirofosfatos de potasio, calcio y magnesio (alcalinos) sobre los metafosfatos (ácidos).

2) Aquellas partes del grano de trigo más ricas en enzimas, tales como el salvado y el germen, contenían la mayor proporción de hierro, manganeso, cinc, cobre, aluminio, iodo, boro, fluor y arsénico.

En 1929, J.E. Greaves y C.T. Hirst (29) publicaron una síntesis de los resultados de numerosos análisis realizados durante diez años en Utah Experiment Station, sobre el contenido mineral de granos enteros. Se consideró dicho resumen de gran interés por varias razones:

1) Los resultados representaban el promedio de muchas determinaciones: trigo, 1755 muestras; avena, 1205 muestras; cebada, 110 muestras; y maíz, 75 muestras.

2) Esos granos habían crecido en tierras agrícolas irrigadas y no irrigadas.

3) Fueron cultivados en suelos que tenían una amplia variación de composición, desde los llamados "libres de álcalis" hasta los suelos alcalinos, y desde los altamente calcáreos hasta aquellos en los que el calcio se encontraba sólo en cantidades moderadas.

4) El azufre de los suelos varió mucho; mientras algunos estaban muy impregnados de sulfato de calcio, otros contenían sólo pequeñas cantidades de azufre.

5) En el caso del trigo, las muestras analizadas pertenecían a diversas variedades cultivadas bajo condiciones similares, por lo que se tenía una medida aproximada del efecto de los factores irrigación, suelo y variedad sobre su contenido mineral.

6) Las determinaciones de ceniza, calcio, magnesio, potasio, fósforo, azufre y hierro fueron hechas por métodos modernos de análisis.

En el cuadro I figuran los valores máximo, promedio y mínimo, dados por los citados autores para el contenido en cenizas, fósforo y calcio, de trigos cultivados bajo condiciones variables.

CUADRO I

Contenido en cenizas, fósforo y calcio de trigos cultivados bajo condiciones variables, según Greaves y Hirst.

	Cenizas %	Fósforo %	Calcio %
Máximo	2,94	0,458	0,296
Promedio	1,85	0,331	0,090
Mínimo	1,35	0,150	0,028

El contenido promedio de fósforo de esos granos fue menor, mientras que el de calcio fue casi dos veces mayor, que los informados por otros investigadores.

La gran amplitud de variaciones observadas en el contenido mineral del trigo puso en evidencia la influencia de los factores irrigación, suelo y variedad.

Con respecto a la influencia del factor variedad en la composición mineral del trigo, se puede citar el estudio realizado por P. Schrumf-Pierron (1932) (81).

En Egipto, se cultivaban principalmente dos variedades de trigo: "Hindi" y "Baladi", ambos duros pero relativamente pobres en nitrógeno. En todo el valle del Nilo los factores clima y suelo eran sensiblemente los mismos; la tierra para arar tenía casi igual composición por ciento que la tierra limosa del Nilo, siendo su tenor en magnesio excepcionalmente elevado.

En el cuadro II figuran las cifras medias informadas por el citado autor para el contenido en ceniza total y en ciertos elementos de las dos variedades de trigo por él estudiadas.

CUADRO II

Valores medios del contenido mineral de los trigos Hindi y Baladi (cosecha 1931/32).

	Hindi	Baladi
Cenizas (%)	1,553 - 1,816	1,716 - 1,817
K ₂ O (%)	0,409 - 0,474	0,482 - 0,508
Na ₂ O (%)	0,016 - 0,055	0,035 - 0,052
CaO (%)	0,069 - 0,071	0,056 - 0,061
MgO (%)	0,222 - 0,249	0,196 - 0,222
P ₂ O ₅ (%)	0,656 - 0,807	0,805 - 0,817

Del análisis de doce variedades sanas y de un rendimiento satisfactorio cosechadas en el mismo año y habiendo crecido en la misma tierra, cerca de El Cairo, el mismo autor comprobó que, siendo los factores suelo y clima pues idénticos, las diferencias sorprendentes de mineralización se debían sólo al factor variedad. Dichas diferencias alcanzaron los límites siguientes, estando expresados los resultados en gramos por 100 gr. de trigo:

Cenizas	1,76 - 2,55
CaO	0,057 - 0,104
P ₂ O ₅	0,466 - 0,728
K ₂ O	0,305 - 0,490
OMg	0,074 - 0,310

En 1933, B. Sullivan (87) publicó un trabajo sobre los constituyentes inorgánicos del trigo y de la harina. La autora se interesó en conocer la composición mineral de dicho cereal por tres razones. La primera era relativa a la nutrición y crecimiento de la planta de trigo y al uso de varios abonos en diferentes etapas de este último. La investigación en este campo se relacionaba con el efecto de cada mineral sobre la producción y calidad del trigo. El segundo punto de vista lo constituía el efecto de ciertos minerales sobre la calidad de cocción de las harinas y en algún cambio que ellos pudieran causar durante la fermentación. El tercer punto era tal vez el que merecía mayor atención. Como la harina de trigo era fundamental en la dieta humana resultaba muy importante conocer qué parte del requerimiento mineral del hombre podía ser proporcionado por el pan y otros productos de harina.

En la molienda del trigo, a medida que la calidad de la harina disminuye, la ceniza total, que es generalmente tomada como índice del contenido mineral, aumenta. Por esta razón, B. Sullivan consideró que todos los minerales, tanto los más como

los menos comunes, estaban presentes en mayor cantidad en el salvado y germen que en las separaciones del endosperma. Además no resultaba necesariamente que, en el caso de trigos individuales, aquellos que tenían un mayor contenido en cenizas tuvieran una mayor proporción de cada elemento. Consideró también que la harina y el pan no eran tan buenas fuentes de calcio como de fósforo por lo que la práctica de incorporar leche a la masa servía para aumentar el calcio proporcionado por el pan.

Como resultado de sus investigaciones, la citada autora encontró que el potasio, fósforo, azufre, magnesio, cloro, calcio, sodio y silicio eran los elementos que se hallaban en el trigo en cantidades relativamente grandes, mientras que el cinc, níquel, hierro, manganeso, boro, cobre, aluminio, bromo, iodo, selenio y cobalto, para mencionar algunos de los más importantes, eran los que se encontraban en el cereal en pequeñas cantidades.

En los cuadros III y IV figuran los valores medios del contenido mineral informados en su trabajo.

CUADRO III

Contenido promedio de los elementos que se encuentran en mayores cantidades en el trigo y la harina, según B. Sullivan.

Constituyentes	Trigo %	Harina patentada %
Ceniza total	1,86	0,54
Potasio	0,571	0,168
Fósforo	0,428	0,113
Azufre	0,194	0,165
Magnesio	0,173	0,029
Cloro	0,055	0,051
Calcio	0,048	0,016
Sodio	0,009	0,003
Silicio	0,006	0,005

CUADRO IV

Contenido promedio de los elementos que se encuentran en menores cantidades en el trigo y la harina, según B. Sullivan.

Constituyentes	Trigo Partes por millón	Harina Patentada Partes por millón
Cinc	100	40
Níquel (x)	35	-
Hierro	31	8
Manganeso	24	3
Boro	16	4
Cobre	6	2
Aluminio	3	0,6
Bromo (x)	2	1
Iodo (x)	0,006	0,004
Arsénico (x)	0,1	0,01
Cobalto (x)	0,01	-

(x) Cifras halladas por otros investigadores.

Según R. Legendre (1935) (47), algunos elementos estarían en los granos de los cereales al estado de combinaciones inorgánicas, pero la mayoría entrarían sin duda en combinaciones orgánicas complejas.

Informó que la planta tomaba del suelo especialmente el nitrógeno, potasio, fósforo y sílice. La absorción del nitrógeno era máxima durante el crecimiento, y la de fósforo durante la floración. Durante la maduración, el grano se enriquecía en sustancias orgánicas más que en inorgánicas, por lo que su contenido en cenizas disminuía. Estas, más abundantes en el salvado y germen

que en el endosperma, estaban compuestas principalmente por fosfatos de potasio y magnesio, y una proporción variable de sílice proveniente de las envolturas externas.

Según G. Waksman (1943) (93), en lo referente al contenido mineral de las cosechas, ha sido un poco inexactamente supuesto que, si las plantas desarrollan es porque el suelo está suficientemente mineralizado y que, si los minerales esenciales están presentes en el suelo en cantidad suficiente y formas asimilables, las cosechas estarán adecuadamente mineralizadas desde el punto de vista de su valor nutritivo.

El autor observó que en algunos casos, vegetales cultivados bajo condiciones pobres, en tierras sin abonar ni irrigar, contenían un porcentaje de elementos minerales más elevado que otros cultivados bajo condiciones buenas. El contenido en minerales del suelo no condicionaría enteramente las cantidades absorbidas por las plantas. Supuso además que el agua podía no ser un factor crítico en dicha absorción de minerales.

En un trabajo posterior, G. Waksman (1947) (94) efectuó observaciones similares en un estudio realizado con trigo. Una muestra de éste de la variedad "Defiance" cultivada en un suelo sin fertilizantes ni irrigación, contenía un porcentaje más elevado de potasio, sodio, calcio, magnesio, hierro, fósforo y nitrógeno, que una muestra de la misma variedad, sembrada y cosechada en la misma época, en un suelo abonado e irrigado, de alto contenido mineral. Esta tierra produjo sin embargo una cosecha más abundante.

V.H. Morris, E.D. Pascoe y T.L. Alexander (1945) (65) estudiaron la distribución de los minerales en el grano de trigo mediante un procedimiento espectrográfico para el análisis cuantitativo de pequeñas cantidades de ceniza de trigo, para los principales elementos: fósforo, potasio, sodio, calcio y magnesio, así como de los tres elementos secundarios: manganeso, hierro y cobre.

El método fue aplicado para el análisis de las cenizas de cuatro endospermas puros y dos fracciones de salvado de dos variedades de trigo: Tennarq (trigo rojo duro de invierno) y Trubull (trigo rojo blando de invierno).

Observaron que el fósforo y el potasio se encontraban casi en igual concentración en las cenizas del endosperma que en las del salvado; pero el contenido de magnesio y manganeso era más elevado en la ceniza del último, mientras que el de sodio, calcio, hierro y cobre era mayor en la ceniza del primero.

El endosperma del grano de trigo lejos de ser uniforme en su composición, posee una estructura escalonada y compleja, aumentando su riqueza en factores alimenticios desde el centro hacia su zona externa.

Según lo informado por T. Morán (1945) (63), en la Estación de Estudios Agrícolas del Ministerio de Alimentación en St. Albans (Inglaterra) se realizaron las siguientes investigaciones: Se molió una mezcla de varios tipos de trigo inglés, separando la harina flor y el salvado; este último fue en lo posible despojado de las capas de albuma adheridas mediante cuatro pasajes entre dos cilindros de superficie estriada, obteniéndose así cuatro fracciones distintas del endosperma. Esas fracciones, después de cernidas, y el salvado, groseramente depurado, fueron sometidos al análisis. Determinando el porcentaje de fibras en cada fracción, fue posible calcular la proporción de salvado presente en ellas como impureza y hacer, en consecuencia, las correcciones necesarias para conocer, lo más exactamente posible, la composición de cada muestra. Los resultados obtenidos figuran en el cuadro V.

CUADRO V

**Valores relativos a la composición del trigo
informados por T. Morán.**

Componentes	Fracciones de endosperma				Salvado depurado	Grano entero	Harina fina
	1a.	2a.	3a.	4a.			
Fibras (%)	-	-	-	-	11,5	2,0	-
Cenizas (%)	2,1	3,9	5,9	7,7	6,54	1,49	0,39
Proteínas (%)	13,6	14,3	15,6	16,2	11,4	8,9	8,1
Hierro(mgr/100gr)	6,4	11,3	16,0	21,4	12,4	2,95	0,54
Fósforo total (mgr/100gr)	490,0	937,0	1440,0	1850,0	1494,0	111,0	59,0
Fósforo de fitatos (mgr/100gr)	371,0	805,0	1245,0	1593,0	1280,0	213,0	110,0
Relación P fitatos/ P total	0,78	0,86	0,86	0,88	0,86	0,68	< 0,17
Vitamina B ₁ (u.i./gr)	1,4	1,8	2,1	2,3	1,6	1,03	0,13
Riboflavina (µg/gr)	1,9	1,5	1,7	2,0	5,0	1,55	0,4
Acido nicotínico (µg/gr)	77,0	148,0	240,0	393,0	250,0	42,0	5,0

Los hechos principales se destacan de los resultados expuestos: 1) las capas más externas del endosperma son particularmente ricas en proteínas, hierro, ácido nicotínico y fósforo; 2) casi todo el fósforo se halla al estado de fitatos.

G.S. Bains (1949) (5) ha considerado el valor nutritivo del trigo con respecto a su contenido en fósforo y calcio, por la importancia de esos elementos en la nutrición del hombre y de los animales.

Sobre el efecto de la fertilización del suelo en la composición química del grano, el citado autor informó que el contenido del fósforo total y fósforo fítico del grano obtenido de parcelas en las que se aplicó fosfatos, era más alto que los correspondientes del grano obtenido como control y del proveniente de parcelas

seas tratadas con nitrato de potasio.

Además, en vista de la posible acción antagonista del ácido fítico sobre la absorción del calcio, el mismo investigador trató de comprobar si había en el trigo alguna relación entre su contenido en calcio y en fósforo fítico. Calculó el coeficiente de correlación entre esas variables con los resultados del análisis de treinta y dos muestras individuales obtenidas de los diversos tratamientos con fertilizantes y encontró para el mismo el valor $r = 0,74$. Dedujo, por lo tanto que el valor nutritivo relativo con respecto al calcio y al fósforo fítico no debía ser muy influenciado por los distintos tratamientos con abonos, ya que un aumento en el contenido de fósforo fítico iba acompañado por el correspondiente en el contenido de calcio.

M. Hamek y M. Montas El Gindy (1951) (66) investigaron el efecto del factor variedad y medio ambiente sobre el valor del pH y el contenido en ceniza, calcio, magnesio, potasio y fósforo de los trigos. Analizaron trigos de las cosechas de los años 1947 y 1948, provenientes de doce provincias de Egipto. Observaron que el medio ambiente ejercía mayor influencia sobre los contenidos anteriormente citados que el factor variedad.

A. Henriques y H. Pourrat (1953) (34), estudiando la composición química y la aptitud panadera de harinas de diversos grados de extracción, llegaron a las siguientes conclusiones: 1) Tanto en el contenido mineral como vitamínico se observaba un aumento progresivo a medida que se elevaba el grado de extracción, aumento que era bien notorio para el hierro, tiamina, riboflavina y grasas, pero no así para las proteínas. 2) El contenido en calcio de las harinas era el más fluctuante. 3) Si bien se obtenía una ganancia apreciable en materias nutritivas a mayor grado de extracción, éste no podía sobrepasar cierto límite más allá del cual se producía un desmejoramiento en la calidad del pan y en el comportamiento de la harina durante la panificación.

Z. Markuse y M. Szachowska (1954) (51) determinaron el contenido en cenizas calcio, fósforo total y hierro de harinas de trigo de distintos grados de extracción. Encontraron que esos porcentajes aumentaban con este último y para harina integral había un aumento relativamente mayor en el contenido de fósforo total que en el de calcio. En el cuadro VI figuran los valores mínimos obtenidos por estas autoras, expresados en mgr. por 100 gr. de materia seca.

CUADRO VI

Contenido mínimo en cenizas, hierro, calcio y fósforo total de harinas de trigo, según Markuse y Szachowska.

Harina de trigo	Cenizas	Hierro	Calcio	Fósforo total
	mgr/100gr.	mgr/100gr.	mgr/100gr.	mgr/100gr.
Extracción 0-50 %	560	1,5	24	150
Extracción 0-72 %	820	2,4	29	167
Extracción 50-72%	1400	3,5	41	332

EL ACIDO FITICO EN EL GRANO DE TRIGO

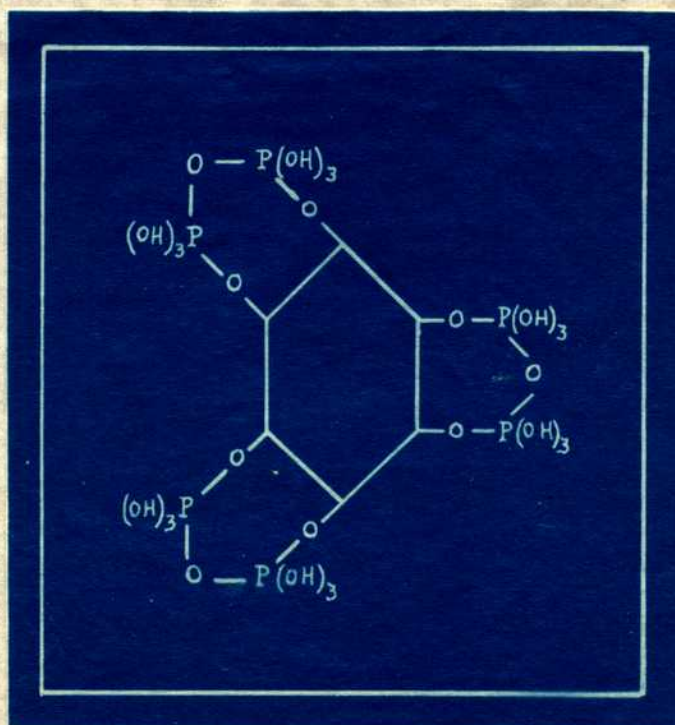
Hay varios compuestos orgánicos con fósforo, tales como fitina, fosfolípidos, hexosa-fosfatos, ácidos nucleicos, fosfoproteínas, etc, que se encuentran en plantas y semillas de plantas.

Hace mucho que se ha reconocido que gran proporción del fósforo total de los cereales y otras sustancias alimenticias vegetales, está presente en forma de fitina, que es la sal cálcico-magnésica del ácido inositolhexafosfórico ó ácido fítico.

Este ácido es un compuesto formado por la unión de una molécula de inosita con seis moléculas de ácido fosfórico.

La inosita es el derivado hexahidroxilado del ciclo hexano, es decir un alcohol hexahídrico (22).

Según P. Karrer (1947) (44), el ácido fítico es un éster hexafosfórico de la mesoinosita (Bios I). Se lo encuentra en cantidades considerables en el reino vegetal, pero también se lo puede obtener sintéticamente a partir de la inosita, el ácido fosfórico y el anhídrido fosfórico, siendo su fórmula la siguiente:



En todos los cereales estudiados por Posternak (1903) (15), éste demostró que el 70-90 % del fósforo estaba al estado de un ácido fosfo-orgánico e de sus sales, formadas éstas por calcio, magnesio y pequeñas cantidades de hierro y manganeso. El ácido libre era soluble en todas proporciones en agua, algo en alcohol e insoluble en éter, benceno, cloroformo y ácido acético glacial. Se le atribuyó como fórmula empírica: $C_2H_3O_9P_2$. Más tarde, el mismo autor indicó el descubrimiento de inosita y ácido fosfórico en su compuesto fosfo-orgánico, y creyó que se trataba de un ácido anhidro-metilen-difosfórico, con un posible papel en la fotosíntesis.

Patten y Hart (1904)(15) demostraron que el 86,5 % del fósforo accesible del salvado de trigo estaba en forma de una sal calcio-magnésico-potásica de un ácido fosfo-orgánico que podía ser desdoblado en inosita y ácido fosfórico, y llevaron a cabo un aislamiento. Para ello extrajeron el salvado con ácido clorhídrico diluido al 0,2 % y agregaron alcohol a ese extracto; disolvieron el precipitado obtenido en ácido clorhídrico y reprecipitaron con alcohol, repitiendo este proceso una vez más para purificar el producto, que luego lavaron con alcohol-éter y éter, y finalmente desecaron. Obtuvieron así, una sustancia blanca, pulverulenta, que por tratamiento con ácidos minerales concentrados produjo inosita y ácido fosfórico. Esto último, unido a su composición elemental, hizo que la clasificaran igual que Posternak, como un ácido anhidro-metilen-difosfórico.

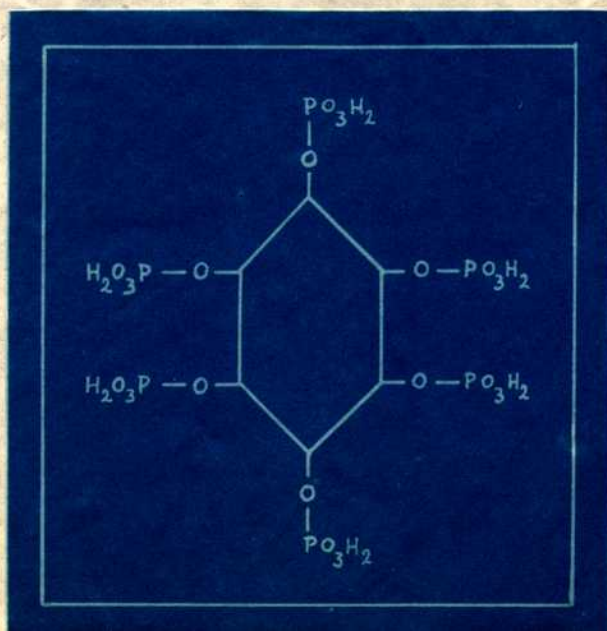
E. Winterstein (1909) (98) fue el primero que demostró que el ácido fosfo-orgánico descubierto por Posternak en las plantas, era un ácido inositolfosfórico.

Rather (1913) (15) estudió los compuestos de fósforo del grano de trigo solubles en ácido clorhídrico al 0,2 %. Preparó a las cristalizaciones de estronina y de plata del ácido inositolfosfórico

rico, atribuyendo a éste la fórmula: $C_{16}H_{17}O_{21}P_5$. En la porción ácido soluble del trigo y del salvado, el mismo autor demostró que el 84 % y el 89 % del fósforo respectivamente, existían al estado de ácido inositolofosfórico, y el 8 % y el 3 % respectivamente, como fósforo inorgánico.

Boutwell (1917) (4) extrajo fitina del salvado de trigo, obteniendo de una muestra de un kilogramo un rendimiento aproximado de 25 gramos. Observó que dicho compuesto era insoluble en agua caliente y fría, fácilmente soluble en ácidos minerales diluidos y en ácido acético frío diluido, pero precipitaba al calentar su solución en este último hasta ebullición.

Anderson (1920) (4) realizó una serie de trabajos sobre la fitina y las sustancias a ella relacionadas. Primeramente llegó a la conclusión de que el salvado de trigo contenía más de un ácido fosfórico orgánico, pero posteriormente admitió que, cuando se encontraban los ácidos inositol penta y tetra fosfóricos, ello era consecuencia de la hidrólisis parcial del ácido inositolhexa fosfórico. El empleo de una solución más concentrada de ácido clorhídrico que la usada hasta entonces, permitió inactivar la fitasa que era capaz de hidrolizar aquel ácido en medio clorhídrico al 0,2 %. A partir de tales extractos, se prepararon sales de bario del ácido inositolofosfórico, al que el mencionado investigador asignó la siguiente fórmula:



La sal cálcico-magnésica de este ácido se originaría en el grano de los cereales durante la maduración.

Averill y King (1926) (4) determinaron el contenido en fitina de varias muestras de trigo y harina de trigo. Obtuvieron para las primeras los siguientes resultados: 1,16 %, 1,19 % y 1,36 % de fitina, correspondiendo el último valor a un trigo duro de primavera, y las dos primeros a trigos blancos. En las muestras de harina, el contenido de fitina varió desde 0,66 % hasta 1,28 %, siendo el promedio de 0,93 %.

La distribución del fósforo en distintos compuestos del grano de trigo fue investigada por Webster (1928) (4) quien obtuvo los siguientes valores, expresados en gramos por ciento de materia seca:

Fósforo total	0,4274
Fósforo de fitina	0,3053
Fósforo lipídico	0,0283
Fósforo inorgánico	0,0210
Otros fósforos	0,0748

De acuerdo con esto, el trigo entero analizado tendría el 71 % del fósforo total en forma de fitina.

Encwlos y Matkin (1932) (4) informaron sobre la distribución del fósforo en compuestos lecitínicos, inositolofosfóricos e inorgánicos, en las espigas de la planta de trigo, de seis muestras recolectadas en distintos períodos. De acuerdo con sus resultados, el fósforo inorgánico que predominaba en las primeras muestras, se transformaba en gran parte en combinaciones inositolofosfóricas a medida que tenía lugar la maduración.

Andrews y Bailey (1932) (4) establecieron que alrededor del 86 % del fósforo del salvado estaba en forma de fitina, mientras que en el germen esa proporción era mucho menor. Sus datos figuran en el cuadro VII.

CUADRO VII

Distribución del fósforo en los constituyentes del salvado y germen de trigo, según Andrews y Bailey.

Compuestos de fósforo	Salvado de Trigo		Germen de Trigo	
	% hallado	% del P total	% hallado	% del P total
Total	1,646	100,0	1,244	100,0
Extraído con HCl al 20%	1,610	97,8	1,004	80,7
Fitinas	1,415	86,0	0,597	48,0
Lipoides	0,028	1,7	0,071	5,7
Otros	0,203	12,3	0,576	46,3

Javillier y Colin (1933) (4) fraccionaron en el germen de trigo los compuestos del fósforo en cuatro grupos que incluyeron en términos de dicho elemento, las siguientes sustancias y porcentajes:

Fósforo total 0,356
 Fósforo lipóide..... 0,120
 Fósforo de fitina... 0,567
 Fósforo nucleico ... 0,379
 Fósforo mineral 0,289

Wiazomicka (1933) (4) descubrió que alrededor del 79 % del fósforo total del trigo se encontraba en combinaciones de fitina, 26 % en compuestos nucleicos y lecitina, y 5 % como compuestos minerales o inorgánicos.

Feyte (1933) (4) descubrió que el porcentaje de fósforo, como P_2O_5 , en los trigos de Francia iba desde 0,80 hasta 1,41%. Los trigos sirios contenían sólo 0,6-0,7 % de P_2O_5 . La relación del fósforo de fitina al fósforo total varió entre 54 y 90 %, siendo el promedio de 73 %. Esta relación pareció ser mayor en los trigos blandos que en los duros.

Jaross (1933) (4) aisló las sales de calcio del ácido fítico del trigo y otros cereales. Comprobó que las soluciones azucosas contenían más ácido fosfórico mineral que las preparadas con ácido nítrico al 0,1 % , Las soluciones de ácido clorhídrico y ácido nítrico de concentración 1 %, efectuaron una menor hidrólisis de los fitatos que las soluciones más diluidas o que el agua sola, aunque ni aún la ebullición prolongada en soluciones azucosas durante casi tres días completó la hidrólisis.

El fósforo de la fitina representó un porcentaje mayor del fósforo total en el trigo entero y en el salvado que en la harina, en una serie de muestras analizadas por Quagliariele (1939) (4). Los datos informados por este autor figuran en el cuadro VIII.

CUADRO VIII

Valores informados por Quagliariele para trigo, harina y salvado.

Producto	Ceniza	P total	P fítico/ P total
	%	%	%
Trigo	1,76	0,376	70,81
Harina 70 % extra.	0,48	0,115	41,72
Salvado	5,90	1,308	82,06

Cuando Young y Greaves (1940) (4) examinaron veintinueve muestras de trigo para determinar su contenido en fitina encontraron un amplio margen al respecto, pues algunas variedades tenían el doble de fósforo de fitina de otras.

Según opinión de Hays (1942) (4) en el salvado de trigo, entre el 90 % y el 100 % del fósforo total estaría en forma de sales del ácido fítico. Encontró que ciertos trigos blancos parecían tener un menor contenido en ácido fítico que los rojos

hecho que explicaría la preferencia de los primeros en la alimentación. Además, en los productos comerciales de la molinaria de trigo, el fósforo de ácido fítico era directamente proporcional al contenido de fibra. La relación entre el ácido fítico y el fósforo total disminuía al avanzar desde las materias fibrosas como el salvado, hasta la harina blanca. Los valores informados por este autor figuran en el cuadro IX.

CUADRO IX

Análisis de productos de dos sistemas de molinaria, según Nays.

Producto	Fibra	Ceniza	Ca	P total	P fítico	II/I
	(%)	(%)	(%)	(I) (%)	(II) (%)	(%)
Sistema A de molinaria						
Trigo	1,76	1,56	0,046	0,35	0,203	57
Harina blanca 72 % extrac.	0,18	0,46	0,020	0,097	0,023	24
Harina 85 % extrac.	0,91	0,90	0,041	0,189	0,11	59
Salvado	9,45	5,46	0,094	1,18	1,07	90
Germen	2,20	4,41	0,053	1,12	0,52	46
Sistema B de molinaria						
Trigo	2,10	1,52	0,057	0,334	0,215	64
Harina blanca 75 % extrac.	0,25	0,53	0,025	0,117	0,053	45
Harina 85% extrac.	1,00	0,97	0,042	0,204	0,135	66
Harina 95% extrac.	1,62	1,29	0,055	0,271	0,162	60
Salvado	10,30	5,54	0,096	1,21	1,17	97
Germen	2,05	4,53	0,051	0,94	0,49	52

R.A. Mc Cance y E.M. Widdowson (1935) (53) publicaron en un trabajo sobre la fitina en la nutrición humana, un estudio del contenido en dicho compuesto de las porciones comestibles de sesenta y cuatro alimentos entre los que figuraban el trigo y productos del mismo: harina blanca, harina integral, pan blanco, pan integral, pan tostado, galletitas, etc. Los resultados analíticos obtenidos, en concordancia con análisis anteriores, indicaron que la fitina era un constituyente característico y abundante de los cereales y de las sustancias alimenticias con ellos preparadas, dándose casos en que en esta forma estaba presente entre el 40 y 50% del fósforo total. Al sacar la cáscara y el germen se reducían considerablemente las cantidades totales y relativas del fósforo de fitina. Así, la harina integral contenía casi la mitad de ^{SU} un fósforo como fósforo de fitina, mientras que la harina blanca contenía mucho menos. Pero la primera a pesar de su alto contenido en fósforo fítico, aún poseía casi el doble de fósforo no-fítico o aprovechable de la segunda. Los valores informados por estos autores para el trigo y algunos de sus productos figuran en el cuadro X.

Según D.W. Kent-Jones y A.J. Amos (1947) (45) las cifras que figuran en el cuadro X para el contenido de ácido fítico en harina blanca y en harina integral son muy bajas comparadas con las de la mayoría de los investigadores.

Booth, Carter, Jones y Morgan (1941) (10), estudiaron la composición química del grano de trigo y de la harina. En vista de la importancia del contenido en fitina del pan, los mencionados autores determinaron el fósforo total y el fósforo de fitina de tres variedades de trigo, del salvado y del germen purificados. Los resultados obtenidos mostraron que el fósforo de la fitina constituía el 70-75 % del fósforo total en el trigo entero, 85-95 % del fósforo total en el salvado, 40-45 % de aquél en el germen y 30-40 %

CUADRO X

Valores informados para el trigo y sus productos
por Mc Canoe y Widdowson.

Alimento	P total (mgr/100gr)	P de fitina (mgr/100 gr)	P de fitina como % del P total
Trigo entero	361	168	46,4
Harina integral	355	166	46,8
Harina blanca	102	15	14,7
Pan integral	237	87	36,5
Pan Novis	211	90	42,5
Pan Turog	127	35	27,6
Pan negro-muestra mixta	198	82	41,5
Pan blanco	59	3	5,1
Trigo desmenuzado	173	79	45,3
Galletitas digestivas	134	40	30,0
Pan tostado	81	9	11,0

en harina blanca de 75 % de extracción.

En el grano de trigo el ácido fítico se encuentra por lo tanto, principalmente en la envoltura exterior o salvado, a pesar de que el germen contiene apreciables cantidades.

En el caso de la harina, el ácido fítico contenido en ella aumenta con el grado de extracción, pero parte del mismo es destruido durante el proceso normal de elaboración del pan. Esa destrucción es comúnmente del orden del 50-60 %.

El contenido de ácido fítico del trigo no es constante sino que depende de la variedad y de otros factores. En el cuadro XI figura los valores informados por W.J.S. Pringle y T. Moran (1942) (76) que ilustran lo anteriormente dicho.

CUADRO XI

Valores informados por Fringie y Moran para distintas variedades de trigo y productos de éste.

Muestra	P total (mgr/100gr) (base seca)	P fítico (mgr/100gr) (base seca)	P fítico como % del P total
Trigo Manitoba	381	274	72
Trigo Flato	481	364	76
Trigo inglés	451	328	73
Salvado refinado	1609	1439	89
German refinado	1413	674	48
Harina blanca 70% extras.	121	38	31
Harina blanca 75% extras.	127	45	35
Harina de trigo Nacional 85% extras.	238	1365	57

J. Courtois (1945) (18) realizó un estudio comparativo de la acción de ciertas enzimas sobre el inositolhexafosfato y el glicerofosfato de sodio. Según sus investigaciones la fitasa de las plantas parecería actuar específicamente sobre el inositolhexafosfato y sus productos de hidrólisis parcial, no actuando en cambio sobre los glicerofosfatos. En cuanto a las fosfatases de tejidos vegetales que actúan sobre estos últimos no tendrían acción sobre el inositolhexafosfato, pero serían capaces de separar algunos de sus radicales fosfatos después que varios de ellos hubiesen sido separados por acción de la fitasa.

H. Mollgaard y colaboradores (1946) (62) realizaron investigaciones sobre la importancia del ácido fítico en el metabolismo. En la primera parte del trabajo publicado presentaron un estudio de las propiedades de ese ácido.

Según dichos autores el ácido fítico se encontraría tanto en cereales como en semillas oleaginosas, y representaría indudablemente una fuente de ácido fosfórico por ser hidrolizado al brotar la semilla.

Por esta razón, las plantas verdes nunca contendrían cantidades considerables de ácido fítico. En la semilla el desdoblamiento sería producido evidentemente por una enzima específica, la fitasa, aunque otras fosfatasas de los tejidos vegetales serían también capaces de desdoblar en cierto grado el ácido fítico.

Ya, H. Mollgaard (1941) (61) había informado que el trigo y el arroz, al contrario de lo que sucedía con la avena y el maíz, poseían una enzima, la fitasa, capaz de destruir la fitina liberando su anhídrido fosfórico.

En la mayoría de los casos no se encontró actividad fitásica en semillas estacionadas. La enzima parecería formarse durante el brote de las semillas.

El trigo y el centeno, y en cierto grado también la cebada y el sarraceno, serían sin embargo excepciones a esa regla. Mollgaard y colaboradores comprobaron que si la harina de esos granos, suspendida en una solución reguladora a pH 5, se dejaba a una temperatura de 40° por dos horas, su ácido fítico se desdoblaba en inositol y ácido fosfórico libre; dicha hidrólisis era total en las harinas de trigo y centeno; en las otras dos, se producía en una proporción considerable. En harinas de otras semillas examinadas no se producía desdoblamiento del ácido fítico. Como los experimentos con preparaciones de fitasa pura probaron que las condiciones mencionadas eran óptimas, se llegó a la conclusión de que aquellas no contenían fitasa.

En el cuadro XII figuran los resultados de las investigaciones realizadas por Pedersen, en el laboratorio de Mollgaard.

CUADRO XII

El ácido fítico y el contenido en fitasa de ciertos cereales y semillas, según Pedersen.

Producto	P total (%)	P fítico (%)	P fítico (% de P total)	P fítico separado por la fitasa (%)
Trigo	0,319	0,275	86	100
Centeno	0,342	0,250	73	100
Cebada	0,281	0,182	65	69
Sarraceno	0,304	0,192	63	55
Maíz	0,255	0,205	80	0
Avena	0,345	0,228	66	8
Harina de lino	0,989	0,772	78	2
Harina de maíz	0,992	0,529	76	0
Harina de girasol	0,944	0,805	85	0
Harina de soya	0,629	0,426	68	0

Según estos valores, en las semillas y cereales una parte muy considerable del fósforo total estaría presente como fósforo fítico, totalizando éste un 75-85 % en los granos usados para alimento del hombre.

D.W. Kent-Jones y A.J. Ains (1947) (45) han citado como valores normales del contenido en ácido fítico del trigo y sus productos, los que figuran en el cuadro XIII. Esos valores han sido también publicados por E.J. Bigwood (1948) (7). Como puede verse, el contenido en ácido fítico de la harina aumenta con su grado de extracción.

CUADRO XIII

Contenido en ácido fítico del trigo y productos del mismo, según Kent-Jones y Amos.

Producto	P fítico (mgr/100 gr)
Trigo	170 - 320
Salvado	750 - 1200
Germen	500 - 600
Harina:	
72 % extras.	25 - 50
85 % extras.	105 - 130
100 % extras.	200 - 300

Actualmente se admite pues, sin discusión, que las sales del ácido fítico representan los compuestos orgánicos fosforados más abundantes de los vegetales superiores, siendo los cereales particularmente ricos en inositolosfosfatos.

Numerosos autores han demostrado que esos compuestos representan una muy mala fuente de fósforo para el hombre y los animales, pues no son prácticamente hidrolizados en el tubo digestivo, obstaculizan además la asimilación de ciertos elementos como el hierro y el calcio, precipitándolos al estado de sales insolubles. Los alimentos cuyos inositolhexafosfatos han sido más o menos hidrolizados por vía química e enzimática, no ejercen la acción requiritogénica de aquéllos que son ricos en dichos compuestos. De ahí la importancia del contenido en fitasa de los mismos.

J. Courtois y Ch. Pérez (1948) (20) determinaron las actividades glicerofosfatásica y fitásica de algunos granos, llegando a las siguientes conclusiones: No existía ninguna relación entre el contenido en inositolhexafosfatos por una parte y las citadas actividades por otra. Observaron marcadas diferencias entre

aquel contenido y la actividad fitásica, y esto no sólo en granos de diferentes orígenes sino también en granos de la misma familia botánica. Así, el trigo, notablemente menos rico en inositolhexafosfatos que la cebada y la avena, contenía sin embargo la fitasa en alto grado más activa de todos los granos estudiados por los mencionados investigadores. Estos notaron además, grandes diferencias entre los contenidos en ortofosfatos e inositolhexafosfatos de diversos granos. No parecía existir relación alguna entre esos tenores y el origen botánico del grano ni entre los tenores de ambos compuestos fosforados.

Courtois y Pérez completaron sus estudios realizando de terminaciones sobre una misma especie: el trigo. Estudiaron nueve variedades de trigo tunecino. Observaron que no existían diferencias sensibles en el contenido de inositolfosfatos en las cinco muestras de trigos duros consideradas (183-200 mgr de fósforo inositolfosfórico %). Estas diferencias eran más notables entre las cuatro muestras de trigos blandos, menos ricos en dichos compuestos que los anteriores (145-177 mgr de fósforo inositolfosfórico %). Pero si bien los trigos duros presentaban tenores sensiblemente iguales de inositolfosfatos, sus actividades fitásicas eran muy diferentes. Los trigos blandos, siempre menos ricos en fitasa que los duros, mostraban diferencias menos marcadas con respecto a la actividad de dicha enzima.

Si se consideraba que la asimilación del fósforo de los alimentos dependía en parte de la riqueza de éstos en fitasa, el trigo ocupaba entonces un lugar privilegiado al respecto. Los citados autores consideraron factible representar la posibilidad de utilización del fósforo por la relación: mgr de fósforo liberados como PO_4H_2 / mgr. de fósforo inositolhexafosfórico en 1 gr de grano. Para una reacción enzimática de 24 horas esa relación tenía el valor medio de 0,92 para los trigos duros y de 0,73 para los trigos blandos. Por esto los trigos duros presentarían una superioridad

sobre los blandos. Se creyó que las enzimas de estos últimos fuesen más sensibles a la acción inhibitoria de los fosfatos liberados en el transcurso de la hidrólisis.

L.A. Zayv y V.I. Porachikova (1950) (100) realizaron análisis en granos de un trigo de verano durante la maduración. Los resultados obtenidos mostraron que el contenido de fósforo de las aleoproteínas, de fosfátidos, fítico e inorgánico disminuía durante el primer período, pero luego el contenido de fósforo fítico aumentaba paralelamente al del almidón.

La composición del grano de trigo en ácido fítico atrajo la atención de los dietistas en razón de la muy débil solubilidad de sus sales cálcicas, ya que se ha visto en ello un obstáculo para la absorción del calcio al nivel del intestino. A partir de 1935, principalmente bajo el impulso de las investigaciones de Mc Cance y Widdowson y de Harrison y Mellanby, el estudio de la composición de los cereales en ácido fítico ha sido objeto de particular interés, tanto en lo referente al grano entero o a la harina del mismo, como a la distribución de ese constituyente en las distintas partes del grano. Desde este último punto de vista en un número limitado de casos se hicieron trabajos sobre diversas partes del grano morfológicamente bien diferenciadas, separadas tan minuciosamente como fue posible las unas de las otras por microdi-sección. A este respecto merece citarse el trabajo realizado por J.J.G. Hinton (1944) (38) quien observó en lo referente al escudete y el germen que la concentración del ácido fítico era tres veces más elevada en el primero que en el segundo correspondiendo a aquél un 70 % del fósforo total mientras que en este último esa relación era más o menos del 32 %.

La mayoría de los estudios sobre la distribución del ácido fítico en el grano han versado sobre análisis de los productos de separación de fracciones diversas tales como son obtenidas por medio de la molienda industrial.

R.J. Bigwood (1951) (8) empleó un método de molienda experimental, de escala industrial, por abrasión progresiva del grano en cilindros rotatorios de superficies metálicas rugosas, lo que le permitió analizar sucesivamente el producto de pulverización de las capas superficiales primero, y más profundas luego, separadas de un grano duro sometido a la abrasión.

Según el citado autor, aunque la mayoría de los investigadores estaban de acuerdo en que las envolturas y el germen del trigo eran más ricos en ácido fítico que el endosperma, se encuentran ciertas discordancias al comparar los resultados de los análisis hechos en laboratorios diferentes. De un modo general atribuyó las divergencias observadas a tres factores: 1) la variedad botánica del grano de trigo analizado y las condiciones de cultivo del mismo; 2) los diferentes métodos químicos empleados para dosar el ácido fítico; 3) los métodos de extracción y de solubilización del ácido fítico (previas a su dosaje) a partir del medio originario. Bigwood consideró este último factor particularmente importante.

Dicho investigador analizó trece productos de fraccionamiento obtenidos de una molienda de afrecho previamente separado del grano de trigo por procedimiento industrial. No constató ninguna relación regular entre el contenido en fósforo fítico y el de fósforo total, y tampoco entre dichos contenidos y el de celulosa.

R. Casares y L. Moreno (1951) (15) afirmaron que, si bien durante muchos años la sal cálcico-magnésico-potásica del ácido inositolofosfórico fue considerada como el compuesto de fósforo más abundante en el grano de los cereales y las legumbres en general, investigaciones más modernas indicaban sin embargo que no todos los compuestos de fósforo que se suponían inositolofosfatos eran realmente sales del ácido inositolofosfórico. Un trabajo de Northrup y Nelson indicó que el almidón contenía como componente esencial fós-

foro y en el mismo estudio figura otras indicaciones de carbohidratos que contienen fósforo o de ácidos carbohidratofosfóricos.

Por su parte, Casares y Moreno determinaron el contenido en ácido fítico, calcio y magnesio de harinas y productos dietéticos, calculando para cada muestra analizada la cantidad de calcio que teóricamente haría falta para neutralizar el ácido fítico hallado, y, por comparación con el calcio encontrado, los autores determinaron el déficit de este elemento existente en la mayoría de las harinas de alto grado de extracción y en los productos dietéticos.

Como el contenido de ácido fítico de una harina aumenta con el grado de extracción de ésta, los citados investigadores - consideraron que la determinación cuantitativa de aquel ácido podría ser un auxiliar muy valioso en la determinación del grado de extracción, comparando el resultado obtenido con los cifras de una tabla hecha para cada cereal con harinas de grado de extracción conocido.

F.G. Peers (1952) (69) determinó la actividad fitásica en distintas partes del grano de trigo y también en granos de diferentes trigos. Comprobó que en las variedades duras esa actividad era mayor que en las blandas. La acción de la fitasa era totalmente inhibida por sales metálicas pesadas, probablemente por precipitar el fitato de la solución.

El interés que mereció a varios investigadores el estudio de la acción fisiológica del ácido fítico y la evolución que se ha ido operando en ese sentido, indujeron a A. Pereira y a J. Nunes de Oliveira (1953) (70) a estudiar la distribución topográfica del ácido fítico en los cereales panaderos y su presencia en los respectivas harinas. Como pudieron verificarlo por los resultados a que llegaron en su trabajo, el problema era semejante para todos los cereales, excepción hecha para el maíz en el que la distribución del ácido fítico se presentaba en forma diametral

mente opuesta.

Para sus investigaciones los citados autores emplearon seis fracciones, obtenidas por tamizado de muestras de harinas provenientes de los cereales de uso más corriente: trigo, maíz, centeno, cebada y avena. Los valores obtenidos permitieron comprobar que el trigo, centeno, cebada y avena, la distribución del ácido fítico en las distintas capas o zonas del cereal se hacía en forma centrífuga aumentando desde el centro hacia la periferia. Así, en el trigo considerada la fracción más fina en relación con el residuo más grosero, ese aumento por ciento era de 0,531 a 6,919, siendo el contenido de ácido fítico en la harina integral correspondiente de 1,459 %. Por lo tanto el porcentaje de este ácido en ese cereal era en las capas periféricas cerca de trece veces mayor que en las centrales. En el maíz, por el contrario, la distribución del ácido fítico en las capas del cereal se hacía en forma centrípeta, aumentando su concentración de la periferia hacia el centro. Los valores obtenidos al respecto oscilaron entre 0,703 y 2,919 % de ácido fítico, siendo por lo tanto el porcentaje de éste en las zonas centrales cerca de cuatro veces mayor que en las capas periféricas.

Pereira y Nunes de Oliveira (1953) (73) estudiaron también la distribución topográfica del ácido fítico en el trigo mediante muestras de productos de una molinera industrial. Por los resultados obtenidos dedujeron los perjuicios ocasionados por un elevado grado de extracción en lo referente a los problemas relacionados con el ácido fítico y la nutrición, ya que a medida que se proseguía en las trituraciones y compresiones del cereal con miras a un mayor rendimiento, los respectivas fracciones recogidas iban siendo cada vez más ricas en ácido fítico.

R. Hill y C. Tyler (1954) (37) estudiaron la influencia del tiempo, temperatura, pH y carbonato de calcio en la actividad

de la fitasa en ciertos cereales. Comprobaron que la avena no mostraba prácticamente actividad fitásica, en cambio en el trigo ésta era notable, siendo su pH óptimo 5,0-5,1, aunque se manifestaba a pH inferiores hasta llegar éste a 3,0. Al reducir la hidrólisis por acidificación hasta un pH de 2,5 durante cinco minutos o más, elevando luego el valor de éste a 5,0 por el agregado de bicarbonato de sodio, la fitasa no se restituía. Había además un aumento casi uniforme en el grado de hidrólisis del fitato del trigo entre los 15° y 50°, pero, el mismo disminuía al proseguir la reacción, si bien ésta continuaba hasta que el sustrato soluble quedaba reducido a una muy pequeña cantidad. La presencia de calcio en condiciones tales que pudiese formar fitato insoluble, reducía considerablemente el grado de hidrólisis del fitato presente en el trigo. Estas investigaciones fueron hechas considerando la importancia de la hidrólisis del fitato en el aparato digestivo de los animales.

M.A. Madrano (1948) (56) determinó el contenido en ácido fítico de las distintas harinas de tipificación argentina, y de variedades de trigo cosechadas en la zona de la provincia de Entre Ríos. Los valores máximo y mínimo que halló en estas últimas fueron respectivamente 0,225 gr y 0,147 gr. de fósforo fítico por 100 gr. de trigo seco, variando el contenido en cenizas de las mismas entre 2,134 gr. y 1,063 gr. por ciento.

IMPORTANCIA DEL ACIDO FITICO EN EL METABOLISMO DEL CALCIO Y DEL HIERRO

El concepto del valor nutritivo de un alimento es difícil de definir en los últimos tiempos. Es preciso tener en cuenta muchos factores para dar una idea clara del mismo. La composición química más detallada y más perfectamente conocida de un determinado alimento no da una imagen exacta de su aprovechamiento real por el organismo. Es preciso proceder, en cada caso, a la determinación fisiológica experimental del valor nutritivo, y dentro de ello, con respecto a cada una de las sustancias alimenticias: glúcidos, lípidos, aminoácidos, etc.

En lo referente al grano de trigo, su composición química puede ser un índice inexacto de su valor nutritivo, debido especialmente a su contenido en ácido inositolhexafosfórico, ya que actualmente no hay dudas ^{sobre} la acción perniciosa de dicho ácido, o de sus sales, en los procesos de nutrición.

De acuerdo con la mayoría de los investigadores, la presencia de ácido fítico en la alimentación es un factor negativo de gran importancia en la absorción del calcio, del hierro y del magnesio, así como también del fósforo, ya que una parte considerable del contenido de este elemento en los cereales, se encuentra bajo esa forma.

Según los primeros trabajos realizados sobre la absorción del inositolfosfato cálcico-magnésico o fitina, este compuesto era bien absorbido y asimilado por el organismo, pudiéndosele considerar como una buena fuente de fósforo y de calcio, por lo que era recomendado como tónico.

En 1911, E. Starkenstein (85) publicó un estudio sobre la importancia biológica del ácido inositolfosfórico. El contenido en inosita de los tejidos en crecimiento le hizo presumir una posible relación entre dicho proceso y la presencia de ácido inosi-

tofosfórico. Según él, este compuesto era desdoblado por el organismo y el ácido fosfórico resultante era retenido mientras que la inosita era almacenada temporalmente en los tejidos y luego lentamente eliminada en la orina. Consideraba además, que el ácido inositofosfórico era en gran parte destruido por la flora intestinal y sólo una pequeña cantidad del mismo era absorbida y desdoblada en los tejidos por acción de fermentos. Finalmente, según este autor, el ácido inositofosfórico no tenía especial valor nutritivo para los adultos, pero sí para los niños, por constituir una fuente natural de ácido fosfórico orgánico para los tejidos en crecimiento, siendo también importante en ciertas condiciones patológicas del sistema óseo.

Sin embargo, estudios posteriores de Pelisser (53), demostraron que la fitina no era hidrolizada por las enzimas intestinales siendo por lo tanto mal absorbida e insuficiente para prevenir el raquitismo originado por una dieta pobre en calcio y fósforo.

E. Mellanby (1920-1922) (30) fue el primero en observar que una dieta equilibrada se hacía raquitogénica para el perro joven cuando se le incorporaba cereales, especialmente avena, y descubrió que la germinación y la autólisis reducían las propiedades anticalcificantes de dicho cereal. Demostró además, que aumentando la cantidad de cereales en dietas deficientes en vitamina D, se intensificaba el raquitismo.

Años más tarde, Holst (1927) por una parte, y Green y Mellanby (1928) por otra (30), comprobaron que las propiedades raquitogénicas no se manifestaban después de hervir los cereales con ácido clorhídrico al 1 %, y que dichas propiedades eran igualmente inhibidas por el agregado de carbonato de calcio al régimen. Estas conclusiones fueron posteriormente confirmadas por Mottram y Palmer, usando lactato de calcio.

Según Mirvish (1930) (30), tratando el afrecho con ácido

el orhídrico diluido preparó un extracto que, inyectado al conejo, le produjo una caída significativa de la calcemia y síntomas de raquitismo.

En 1930, Steenbock, Black y Thomas (86), atrajeron la atención sobre la posibilidad que el compuesto de fósforo orgánico presente en los cereales no fuese fisiológicamente equivalente a los fosfatos inorgánicos de la dieta.

En 1934, Bruce y Callow (53), usando una dieta rica en calcio y pobre en fósforo para las ratas, sostuvieron que el efecto raquitogénico de los cereales se debía a que el fósforo del ácido fítico no era aprovechable como el del fosfato de sodio. Informaron además, que las propiedades raquitogénicas del maíz se reducían en proporción al grado en que se hidrolizaba su ácido fítico. Los mismos autores consideraron la cuestión adicional de si dicho ácido no interferiría en la absorción del calcio en el intestino, pero Forbes e Irving demostraron que en las ratas el calcio de la fitina era tan aprovechable como el del cloruro de calcio.

En 1935, Lecoq y Barban (53), informaron que en las ratas los fosfatos aromáticos no tenían acción anti-raquitica como los fosfatos de carbohidratos.

Por su parte, Harris y Bunker (53) realizando experiencias también con ratas, no encontraron ninguna correlación entre el grado de raquitismo producido en los animales por una dieta de maíz y las cantidades absolutas e relativas de fósforo fítico que dicha dieta contenía.

Cuando R.A. McCance y E.M. Widdowson publicaron sus trabajos sobre la importancia de la fitina en la nutrición humana, éstos tuvieron gran resonancia porque concernían al hombre y porque en esa época los problemas dietéticos estaban a la orden del día.

En 1935, dichos investigadores (53) informaron sobre experiencias llevadas a cabo con personas con el fin de estudiar el

destino de la fitina ingerida. Esas experiencias fueron realizadas con 4 sujetos: los autores (M) y (W), una mujer sana (L) y un niño (S) de cuatro años y medio que había sido operado de hernia inguinal seis días antes. No se pasó la dieta basal, pero se la eligió de modo que estuviera lo más libre posible de fitina, comprobándose que las heces contenían entonces cantidades muy pequeñas de dicho compuesto. W. y S. comieron como única fuente de fitina, cantidades pesadas de pan Novis, del que diariamente se separaron muestras para análisis. M. comió pan Novis y moras, y L. tomó 2 gr. diarios de fitina (de Ciba, Ltda.) divididos en varias dosis. Los 3 adultos consumieron casi exactamente la misma cantidad de fitina por día, pero la ingestión del niño fue algo más variable. Después de un período preliminar de 2 - 3 días, se recogieron las heces durante períodos de 2, 3 e 4 días, y se determinó su contenido en fósforo total y fósforo fítico.

Los resultados obtenidos indicaron que los tres adultos excretaban entre 36 y 63 % de la fitina ingerida, sin ningún cambio, en las heces, excretando más el que había tomado fitina comercial. La criatura (S) excretó un porcentaje mucho menor, pero este experimento, realizado en una sala para niños, no fue tan exacto como el llevado a cabo con adultos.

Por lo tanto, se comprobó que en cada caso hubo una fracción variable de la fitina ingerida que no resultó en absoluto aprovechable; pero el hecho de que el resto no apareciera en las heces en la forma ingerida, no probaba que su fósforo fuese aprovechable como fósforo fítico, pues la fitina pudo ser desdoblada por la flora intestinal a un nivel tal que hubiera tenido lugar la absorción de los productos resultantes. Esta suposición sería confirmada por el hecho de que el fósforo total en heces excedió en mucho la cantidad de fósforo fítico ingerido, en los casos investigados.

En consecuencia, dichos experimentos suministraron una evidencia concreta de que aproximadamente la mitad del fósforo fítico ingerido no era aprovechable, pero no dieron ninguna prueba definida respecto al destino del resto.

Los mismos investigadores realizaron también un trabajo sobre la importancia dietética de la fitina. Estudiaron las dietas individuales, libremente elegidas, de 63 hombres y 63 mujeres de la clase media inglesa. Por los resultados obtenidos del análisis de los alimentos se calculó el fósforo fítico ingerido por esos individuos, y se lo comparó con el fósforo total de sus dietas. Ninguna de esas personas tomaba más del 20 % de fósforo total bajo forma de fitina. Las cantidades relativas tan elevadas como ese porcentaje fueron la excepción y sólo se produjeron por ingestión de grandes cantidades de pan negro.

Por lo tanto, en Inglaterra, país en que se vive con una dieta variada en la que el fósforo es en su mayor parte de origen animal y no vegetal, un 80 - 100 % del fósforo total ingerido lo es en forma aprovechable. En otros países, en cambio, en que los cereales ya sean enteros e sólidos, constituyen la mayor proporción de la dieta, el contenido de ésta en fósforo total puede resultar una guía completamente incorrecta en cuanto a la ingestión de fósforo aprovechable.

Mc Cance y Widdowson (1942) (54) realizaron posteriormente experimentos balanceados con 5 mujeres y 5 hombres sanos, durante un período de nueve meses. Estudiaron la absorción y la excreción de minerales cuando el 40-50 % de las calorías de la dieta eran suministradas por harinas de trigo de los siguientes tipos: 69 % de extracción, 92 % de extracción, 69 % de extracción con adición de carbonato de calcio e fosfato sólido de calcio, 92 % de extracción con adición de las mismas sales, 69 % de extracción con adición de fitato de sodio, y 92 % de extracción con un suplemento

to de 2000 U.I. de calciferol por día.

Llegaron a las siguientes conclusiones: En dietas con harina de 92 % de extracción el calcio era menos absorbido que en dietas con harina de 69 % de extracción. El fitato de sodio agregado a esta última disminuía la absorción del citado elemento. Alrededor del 50 % del fósforo de dicho fitato era absorbido. En cuanto a la vitamina D, su presencia no mejoraba prácticamente la absorción de calcio en dietas con harina de 92 % de extracción. Fortificando el pan con sales cálcicas (carbonato e fosfato, igualmente eficaces) mejoraba la absorción de calcio. La adición de carbonato disminuía escasamente la absorción de fósforo.

En consecuencia, los autores recomendaron el enriquecimiento de las harinas con carbonato de calcio cuando las fuentes de este elemento se viesen disminuídas.

Mc Cance y Widdowson (55) publicaron, en 1942, otro trabajo según el cual concluyeron que, en el trigo, el ácido fítico era el principal agente responsable de la disminución observada en la absorción del calcio y el magnesio. Comprobaron también que el fósforo fítico no era tan fácilmente absorbido como el fósforo inorgánico, y notaron que la simple hidrólisis del ácido fítico no permitía que el calcio y el magnesio de la harina de alta extracción fuesen absorbidos con igual facilidad que en el caso de harina blanca, suponiendo entonces que los fosfatos inorgánicos, producto de dicha hidrólisis, interferían en la absorción de los citados elementos.

Consideraron por esto evidente que, si se hidrolizaba totalmente el ácido fítico de la harina de alta extracción, el pan hecho con ella, seguiría siendo inferior al pan blanco en cuanto a su calcio aprovechable, a menos que se eliminaran los fosfatos liberados por la hidrólisis, en cuyo caso el balance cálcico del régimen con pan de harina integral sería excelente y hasta superior

al permitido por el pan blanco.

Otros autores de estudios similares a los expuestos llegaron también a conclusiones semejantes. Así, Mc Cance y Walsham (30) demostraron que un régimen compuesto esencialmente de pan integral provocaba un balance cálcico fuertemente negativo, elevándose las pérdidas diarias a 200 mgr. término medio, por persona. Según las ensayos de Guillemet, Jaquot, Tréfolières y Erfman (30) el balance cálcico medio era también mucho más deficiente con pan integral que con pan blanco.

Tanto los investigadores ingleses como los franceses observaron además síntomas muy marcados de tetania en algunos individuos sometidos al régimen de pan integral.

Sin embargo, trabajos posteriores permiten matizar las interpretaciones relativas a la función del ácido fítico en la nutrición humana.

D.C. Harrison y E. Mollanby (1939) (32), realizando experimentos para determinar qué elemento de la harina de avena era el responsable de su efecto raquitogénico, encontraron que: a) El ácido fítico y el fitato neutro de sodio preparados a partir de la fitina comercial ejercían una fuerte acción raquitogénica cuando se añadían a una dieta nada o poco raquitogénica, b) El grado de acción raquitogénica mostrado por dichos compuestos era aproximadamente comparable al de la harina de avena suministrada en cantidades equivalentes respecto al fósforo fítico, c) La fracción de éste extraída de esa harina mostraba igual acción raquitogénica, y el fitato neutro de sodio, purificado, preparado de esa fracción, era igualmente potente, d) La acción raquitogénica del fitato de sodio, como la de los cereales, era antagonizada por la adición de calcio extra a la dieta, e) La fitina comercial (fitato de calcio y magnesio) se mostraba levemente antirraquitica.

Según estos autores, la acción raquitogénica de los cereales no se debía normalmente, como lo consideraron otros investi-

gadores, al no aprovechamiento de su fósforo, sino a la acción inhibitoria del ácido fítico en la absorción del calcio en el intestino. Como en la harina de avena el contenido de dicho ácido era aproximadamente igual al doble del requerido para precipitar totalmente el calcio del cereal, Harrison y Mellanby sugirieron que el ácido fítico ejercía su acción raquitogénica evitando la absorción no sólo del calcio del cereal sino también la del que pudiera haber en el resto de la dieta. De ahí que se aconsejara una ingestión extra de calcio.

R.H. Combs (16) (1939), estudiando el metabolismo mineral en las pollos, observó que el ácido fítico suministrado en la dieta no era utilizado por el organismo del animal, pero el agregado de fosfato de calcio aumentaba la proporción de fósforo hidrolizado, haciéndolo en mayor grado más que el carbonato de calcio.

E. M. Henry y S.K. Kon (1945) (35) realizaron experiencias con ratas, comprobando que el pan de harina integral era mejor para el crecimiento de los animales que el pan de harina de 72 % de extracción, pero que cuando a este último se agregaba carbonato de calcio en cantidad suficiente como para igualar el contenido cálcico del primero, el calcio era mejor retenido por el organismo de la rata. Los autores sugirieron la posibilidad de que el ácido fítico de la harina integral disminuyera la absorción de calcio.

E. Hoff-Jorgensen (1944) (39) estudió las sales de calcio del ácido fítico cuando precipitaban bajo condiciones similares a las del intestino, y la solubilidad de las mismas, para determinar si la absorción del calcio podía ser perjudicada por la presencia de ácido fítico en los alimentos. Demostró que el fitato pentacálcico ($C_6H_8O_{24}P_6Ca_5$) precipitaba a un pH que variaba entre 5 y 7, y que su solubilidad era menor que la del fosfato de

calcio secundario ($\text{PO}_4\text{H}_2\text{Ca}$), pero ligeramente mayor que la de la hidroxapatita ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$), en el intervalo de pH 4,4-7,2. Además la sal cálcica del ácido fítico precipitaba rápidamente mientras que el fosfato de calcio secundario lo hacía lentamente. Pero la diferencia de solubilidad de ambas sales no era lo suficientemente grande como para explicar la disminución observada en la absorción del calcio cuando éste se administraba junto con fitato de sodio, en cambio la diferencia en la velocidad de precipitación sí podía explicar la diferente absorción del calcio según que estuviese presente como fosfato o como fitato.

De acuerdo con estas observaciones el autor creyó probable que la presencia de ácido fítico en los alimentos redujese considerablemente la concentración de iones calcio en el intestino.

Posteriormente, Hoff-Jorgensen (1946) (40) realizó una serie de ensayos para investigar qué papel desempeñaba el ácido fítico en la absorción del calcio y del fósforo. Observó que la adición de ese ácido a la dieta suministrada a perros provocaba una disminución tanto en la absorción como en la retención del calcio; la disminución era sin embargo moderada cuando los perritos no tenían más de dos meses pero se hacía mucho más pronunciada con el aumento de edad. Con una dieta que contenía cantidades equivalentes de calcio y ácido fítico (es decir cuando $\text{Ca}:\text{P}$ fítico = 5:6) el balance cálcico se volvía negativo cuando los animales llegaban al estado adulto y mientras seguían aún creciendo rápidamente. Encontró además, como ya lo habían informado Mc Cance y Widdowson en 1942, que alrededor del 50 % del ácido fítico de la dieta era hidrolizado en el intestino, y que la adición de dicho ácido a la misma aumentaba la absorción de fosfato.

Pero mientras los autores ingleses atribuyeron ese aumento a la absorción de una gran parte del fósforo del ácido fítico

hidrolizado, Hoff-Jorgensen observó que la absorción de fosfato era casi igualmente grande cuando se agregaba a la dieta oxalato en vez de fitato. De ahí que el aumento registrado en la absorción del fosfato se debiera probablemente, al hecho de que tanto el ácido fítico como el oxalato precipitaban el calcio, con lo cual la concentración de los iones fosfato aumentaba, ya que: $(Ca^{++}) \cdot (PO_4H^{\ominus})$: K_3 .

El mismo autor creyó además probable que la hidrólisis del ácido fítico fuese producida por una bacteria y que tuviera lugar en el colon donde no había absorción de fosfatos.

E. Hoff-Jorgensen, O. Andersen, H. Begtrup y G. Nielsen (1946) (41), con el objeto de ver si los niños reaccionaban de un modo similar a los perros, realizaron experiencias con bebes a los que se dió dietas que contenían cantidades variables de ácido fítico.

La investigación se llevó a cabo con 4 niños varones que al comienzo de la misma tenían 1, 4, 6 y 11 meses de edad y que fueron admitidos en el hospital por diferentes razones, pero cuyas enfermedades orgánicas habían sanado al iniciarse el experimento por lo que quedaron internados sólo para este fin. No presentaban en particular signos de dispepsia e de raquitismo, y el contenido en fósforo, calcio y fosfatasa de su sangre era normal. Durante toda la experiencia se usó leche de vaca a la que se agregó, en los períodos de fitato, una solución de fitato de sodio en cantidad suficiente para que se combinara con el 50, 75 y 100 % del calcio presente en la dieta. Se formó así fitato de calcio escasamente soluble, el que, por analogía, con el formado en soluciones acuosas puras, tenía la siguiente composición: $C_6H_8O_{24}P_6Ca_5$, siendo la su pensión del mismo en la leche muy estable.

Por el análisis de la dieta, heces y orina, los autores llegaron a conclusiones concordantes con las de Mc Cance y Widdow-

son (1942) para adultos, comprobando que la adición de fitato de sodio a la dieta disminuía considerablemente la absorción de calcio. Este efecto pareció ser más pronunciado en los bebes mayores, lo que estaría de acuerdo con las observaciones hechas anteriormente en perritos, si bien en los animales fue más notable que en las criaturas.

Además, la adición de fitato a la dieta producía aumento en la absorción de fosfato, y en algunos ensayos la cantidad de fósforo absorbido fue mayor que la de fósforo no-fítico contenido en aquella. Por lo tanto, parte del fosfato liberado del fitato en el intestino, debió ser absorbido.

Durante la experiencia, dos de los bebes tuvieron la misma dieta, pero uno de ellos recibió diariamente un suplemento de 600 U.I. de vitamina D₂ y 100 mgr. de ácido ascórbico. El efecto inhibitorio del fitato en la absorción del calcio fue escasamente menor en este niño, pero la diferencia con el otro no fue lo suficientemente significativa como para probar una acción de dichas vitaminas.

H. Hoff-Jorgensen, O. Andersen y G. Nielsen (1946) (42) investigaron el efecto de una dieta rica en fitato sobre la absorción del calcio y del fósforo en 2 niños de 10 años de edad, admitidos en el hospital por padecer de asma bronquial, pero cuyas dolencias habían sido curadas al iniciarse el experimento, permaneciendo internados sólo a causa de este último.

Los niños recibieron, durante tres períodos de cinco días cada uno, una dieta pobre en fitato; luego se les dio una dieta rica en él, por tres períodos semejantes, y finalmente se les suministró nuevamente la primera dieta. Se cuidó que en los diferentes períodos experimentales de cinco días cada uno, las dietas diarias fuesen lo más uniformes posible. Contaban 500 gr. de leche y casi 900 mgr. de calcio.

El análisis de los alimentos suministrados, de los heces y de la orina, llevó a las siguientes conclusiones: La absorción de calcio se redujo grandemente durante los períodos de alta ingestión de fitato, siendo posible sin embargo, que si los ratos se hubiesen mantenido con dicha dieta por un período más largo, su absorción de calcio hubiese aumentado gradualmente. Así, se comprobó que la absorción de calcio de la dieta rica en fitato era considerablemente más baja durante el primer período de cinco días que en los dos subsiguientes. Sin embargo, en ambos ratos, el aumento de dicha absorción no pareció continuar más allá del segundo período de ingestión alta de fitato; es decir que se produjo, por parte del organismo, una adaptación a las condiciones desfavorables para la absorción del calcio.

La absorción y la retención del fósforo fueron considerablemente mayores con una dieta rica en fitato que con una pobre en él. Los autores dieron para este hecho la misma explicación que dió Hoff-Jorgensen para su experiencia con perros.

H. Møllgaard (1946) (62) estudió en colaboración con K. Lorenzen, I.G. Nansen y P.E. Christensen, la composición del fitato de calcio. Para ello disolvieron cantidades equivalentes de fitato de sodio y cloruro de calcio en agua a pH = 2, titularon con hidróxido de sodio 0,1N y, midiendo los potenciales con electrodo de vidrio, obtuvieron una curva de valoración para el fitato de calcio. A pH = 3,7 se formó un precipitado de fitato de calcio cuyo análisis mostró una relación P:Ca = 1,25:1. Los autores compararon este resultado con el obtenido por Hoff-Jorgensen (citado anteriormente) y comprobaron que concordaban. Luego, la sal formada era fitato pentacálcico de fórmula empírica: $C_6H_8O_{24}P_5Ca_5$

Consideraron importante que ese compuesto precipitara en medio ácido, porque eso significaba que la presencia de ácido fítico en el intestino podía interferir seriamente en la absorción del calcio, aún en la primera parte del intestino delgado -

donde la reacción correspondía a un pH de 4-5.

Los mismos autores encontraron que ciertos oxi-ácidos orgánicos capaces de formar sales complejas de calcio, podían modificar el punto de precipitación del fitato cálcico hacia una reacción más alcalina. Tal era el caso de los ácidos láctico, tartárico, cítrico y glucónico. El ácido láctico tenía una influencia notable, y los citados investigadores juzgaron este hecho particularmente importante, ya que cantidades considerables del mismo se producían por fermentación en el intestino de muchos animales, y, en menor proporción, en el hombre. En cuanto a los ácidos tartárico y cítrico, se observó que, en concentraciones elevadas, producían un desplazamiento muy grande del pH de precipitación del fitato de calcio, aumentando enormemente la solubilidad de éste. Estos resultados fueron confirmados por Christensen quien, en el laboratorio de Møllgaard, midió cuantitativamente al efecto de los oxi-ácidos tartárico y cítrico sobre la solubilidad del fitato precipitado cálcico.

Como se encontró que un efecto similar se producía sobre el $\text{Ca}(\text{IO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, los autores presumieron que lo mismo sucedía con cualquier sal insoluble de calcio, incluidos los fosfatos.

Como consecuencia de sus observaciones, Møllgaard y colaboradores consideraron que la influencia de los oxi-ácidos en la absorción del calcio podía ser de gran alcance.

En el trabajo publicado por estos autores figura un estudio hecho por Hagens, en el laboratorio de Møllgaard, sobre la reacción del medio intestinal. Como era ya sabido que un elemento debía estar en solución para poder ser absorbido en el intestino, y que la solubilidad de los iones calcio y fosfato dependía enteramente de la reacción del solvente, se pensó que el pH del contenido de las diferentes partes del canal intestinal, debía ser de importancia decisiva para la absorción de esos iones cuando se presentaban juntos.

Magens midió la reacción en las diferentes partes del intestino de cerdos bajo distintas condiciones de alimentación. Las muestras fueron extraídas después de la comida, cuando se sabía que la sección correspondiente del intestino estaba llena de alimento, y mediante el empleo de tubos insertados en el estómago, duodeno, yeyuno e ileo. Las mediciones se efectuaron con electrodo de vidrio, inmediatamente después de la toma de muestra.

Como un resultado general de esas mediciones, se dieron las siguientes cifras para el valor del pH durante la digestión:

estómago	1 - 3
duodeno	3 - 6
mitad del yeyuno	5 - 6,5
parte más baja del ileo.	6,5 - 7,5

Esto significó que la reacción era ácida en la mayor parte del intestino delgado, volviéndose alcalina recién en la última parte de éste. Se presumió que lo mismo sucedía en los otros mamíferos con canal intestinal relativamente corto, incluyendo al hombre.

Por las conclusiones que anteceden, Møllgaard y colaboradores juzgaron que los iones calcio y fosfato podían quedar en solución en el contenido de una gran parte del intestino delgado, pudiendo tener lugar su absorción en las secciones superiores de éste. En cambio, en la parte más baja del ileo, esos iones podían precipitar como $\text{PO}_4\text{H}_2\text{Ca}$, no siendo por lo tanto absorbidos.

Probablemente las mismas condiciones eran decisivas para el ión ferroso capaz de formar con los iones fosfato precipitados insolubles en solución neutra.

Pero, si en el contenido intestinal había cantidades considerables de ácido fítico, el ión calcio podía ser precipitado aún a pH 3,7, y su absorción posiblemente impedida a lo largo de todo el intestino delgado.

En un cierto grado lo mismo podía suceder con el ión ferroso que precipitaba como fitato doble a pH 6,5.

Por otra parte, si el ácido fítico era desdoblado en inositol y ácido fosfórico libre, las condiciones variaban completamente. Pero como los jugos gástrico e intestinal de los mamíferos superiores, incluido el hombre, no contenían fosfatasa que pudiese regular tal desdoblamiento, la sustancia no podía ser digerida a menos que el alimento mismo contuviese una fitasa específica. Esto sucedía frecuentemente, sin embargo, con los animales domésticos, porque algunos granos usados ordinariamente como alimento (trigo, centeno, cebada) y algunas plantas verdes nuevas contenían a menudo, cantidades considerables de esa enzima. Pero los mencionados investigadores no creyeron que tal desdoblamiento del ácido fítico por la fitasa del alimento tuviese lugar en el hombre, porque comúnmente éste comía alimentos que en una u otra forma habían sido calentados a una temperatura que destruía toda actividad enzimática.

Consideraron que la precipitación de los iones cálcico y ferroso podía ser evitada si la masa alimenticia intestinal contenía cantidades considerables de oxo-ácidos que formaran complejos solubles con esos iones. Tal podía ser el caso de los animales domésticos ya que normalmente se producía ácido láctico por fermentación en su estómago y partes superiores de su intestino, y como había sido comprobado, ese ácido cambiaba el pH de precipitación del fitato cálcico. Por consiguiente, si esa fermentación láctica era suficientemente grande, podía reducir a un mínimo la precipitación tanto de los fitatos como de los fosfatos de calcio y de hierro, permitiendo así la absorción de los iones cálcico y ferroso, con lo cual el efecto nocivo del ácido fítico sería eliminado.

Pero esas condiciones no podían suponerse existentes en el hombre porque la fermentación láctica en su canal intesti-

nal era muy débil, en tanto que la secreción clorhídrica era normal. A menos que consumiera directamente oxalácidos, el hombre no podía aprovechar esa capacidad de formar complejos. En consecuencia, en el ser humano, el ácido fítico podía desarrollar todo su efecto perjudicial para la absorción del calcio y del hierro.

Además, si no se producía el desdoblamiento del ácido fítico, el ácido fosfórico contenido en él, no podía ser absorbido porque a excepción de los ésteres fosfóricos de la glucosa y del glicerol, no se conocía ningún compuesto orgánico del ácido fosfórico que fuese absorbido como tal. En ese caso, el ácido fítico tendría otro efecto nocivo; el que su ácido fosfórico fuese retirado del metabolismo; y si la alimentación consistiese principalmente en productos de granos podría resultar una disminución peligrosa de la provisión de fósforo. El riesgo de que esto sucediese, era mucho mayor en el hombre que en la generalidad de los mamíferos.

Los mismos autores encontraron además otra razón para creer que la precipitación del fitato de calcio en el intestino delgado disminuía no sólo la absorción del calcio sino también la del fósforo: el hecho de que esa precipitación hacía al ácido fítico inaccesible a la acción de la fitasa si esta enzima se encontraba en el alimento. Bajo tales condiciones, los oxalácidos podían favorecer la absorción del fósforo al llevar fitato de calcio y, en las partes más bajas del intestino, fosfato de calcio en solución.

En el curso de investigaciones sobre raquitismo en el cerdo, llevadas a cabo en el laboratorio de Møllgaard, se estableció sin ninguna duda, que la avena y el maíz tenían un marcado efecto raquitogénico, mientras que la cebada, trigo y alforche de trigo podían ser incorporados a la dieta en grandes cantidades, sin ningún efecto de ese orden.

Como había sido demostrado por Pedersen (1940) que los granos raquitogénicos, avena y maíz, no contenían fitasa, mientras que esta enzima se encontraba en cantidades variables en los granos no-raquitogénicos, era obvio que esa diferencia podía dar la clave para la total comprensión del problema relativo al efecto raquitogénico de los cereales. Para investigar dicha posibilidad, Pedersen realizó una serie de ensayos con cerdos, en el laboratorio de Møllgaard.

Habiendo probado que el ácido fítico de la avena y maíz podía ser desdoblado suspendiendo el cereal molido, en condiciones óptimas, en una solución de fitasa preparada por extracción de afrecho con agua de cal saturada, el mencionado investigador procedió a preparar tal extracto en escala suficiente para el tratamiento de la ración completa de cerdos en crecimiento. Preparó además, fitato de sodio puro para darle a los animales como fuente de ácido fosfórico.

Los cerditos recibieron dietas compuestas de diferentes cereales, con harina de sangre como fuente principal de proteínas, concentrados vitamínicos y leche desnatada. El contenido de la dieta en calcio fue en todos los experimentos aproximadamente el mismo, y el de fósforo disponible varió de acuerdo con la cantidad de ácido fítico presente en ella.

Para algunos grupos de cerdos, el ácido fítico fue desdoblado antes de suministrar el alimento, por medio del tratamiento con solución de fitasa, descrito anteriormente. Para otros, el alimento fue calentado antes de suministrarlo, para destruir la fitasa; en cambio, para algunos animales esa enzima se dejó intacta, y su contenido fue además aumentado por el agregado de un extracto de afrecho. Finalmente, para ciertos grupos, se agregó fitato de sodio directamente al alimento. Cada experimento duró seis días, con un período preliminar de cebo.

Se observó que signos de raquitismo y un contenido bajo de fósforo en la sangre estaban asociados con la presencia de ácido fítico intacto en el intestino. No había raquitismo e sólo muy poco, en los animales para los cuales el ácido fítico había sido desdoblado antes de la alimentación, e cuando los cerditos habían recibido fitasa activa. Se comprobó también, que el agregado de vitamina D no suprimía enteramente el efecto raquitogénico del ácido fítico, pero que la adición de fosfato de calcio secundario a la dieta lo evitaba por completo.

Se dedujo de estos experimentos que el fósforo del ácido fítico no podía ser absorbido y participar en el metabolismo, a menos que, en alguna forma, fuese desdoblado en ácido fosfórico, libre e inositol, lo cual no podía suceder en el intestino de los animales superiores a no ser que el alimento mismo contuviera una cierta cantidad de fitasa activa. Esta conclusión fue garantizada además, por la observación de Pedersen de que, cuando el ácido fítico no era desdoblado antes de la alimentación e cuando la comida no contenía fitasa activa, el contenido en fósforo de las heces era casi igual al de fósforo fítico en la comida. Pero si el ácido fítico era previamente desdoblado o el animal recibía con el alimento fitasa activa, el contenido de fósforo fecal era siempre menor que el de fósforo fítico en la dieta.

Møllgaard realizó una serie de experiencias con cerdos a fin de comprobar el efecto benéfico de los oxo-ácidos en la absorción del calcio y del fósforo cuando la dieta contenía ácido fítico.

La alimentación que dió a dichos animales fue preparada según se hacía comúnmente en Dinamarca para cerdos en crecimiento, es decir que se componía de cebada, trigo, afrecho, harina de sangre y harina de alfalfa. Se le agregó además, suficiente fosfato de calcio secundario y carbonato de calcio para proveer junto con el calcio Ca^{2+} fósforo ya presentes, una cantidad total de 9 gr.

de calcio y 6 gr. de fósforo por kilogramo de materia seca, y se dió de beber a los animales leche desnatada. Cerca del 60 % del fósforo total estaba presente como ácido fítico. La actividad de la fitasa de los cereales no fué destruída, para que el organismo tuviese así la oportunidad de desdoblar el ácido fítico durante la digestión.

De este modo, se estudió el efecto de los ácidos tartárico y láctico sobre la absorción del calcio y del fósforo, bajo condiciones relativamente favorables. Dishes oxo-ácidos fueron suministrados a los cerdos en distintos períodos experimentales, cada uno de los cuales duró seis días, con un período preliminar de siete u ocho.

Los resultados obtenidos demostraron que los dos oxo-ácidos producían un aumento considerable en la absorción del fósforo y particularmente del calcio.

Al mismo tiempo se hicieron pruebas con otros cerdos que recibieron 1200 U.I. de vitamina D por día en vez de oxo-ácidos. Se observó que el efecto de la vitamina D era algo mayor que el de los oxo-ácidos en los experimentos en los que el contenido de calcio en el alimento era elevado, pero resultaba de igual magnitud en los ensayos con dietas más pobres en calcio.

El mismo autor demostró que el suministro de cultivos de *Lactobacillus* que podían desarrollarse en el intestino de los cerdos, aumentaba la cantidad de ácido láctico formado durante la digestión. Además, el crecimiento de los animales a los que se dió junto con una ración ordinaria con 60-66 % de su fósforo total como fósforo fítico, leche desnatada inoculada con dichos cultivos, fué apreciablemente superior al de los cerdos que, empleados como control, no recibieron tal cultivo.

A raíz de la segunda contienda europea, la escasez mundial de cereales hizo muy urgente el llegar a un entendimiento en

ro del valor nutritivo del pan fabricado con harinas de alta extracción. Hubo inquietud por la evidencia producida en ese entonces, indicadora de que el elevado contenido en ácido fítico de panes hechos con tales harinas tenía un efecto pernicioso sobre la absorción de ciertas sales minerales. Esto era más perturbador aún en los países en los que el trigo y el maíz constituían gran proporción de la dieta y en los que era común que otras fuentes de calcio se consumiesen en cantidades muy pequeñas.

Como resultado del trabajo publicado por Mc Cance y Widdowson en 1942, el South African National Nutrition Council decidió que era imperativo estudiar el problema bajo condiciones locales. Con este propósito, se realizaron experimentos balanceados, similares a los descritos por los mencionados investigadores, para observar los efectos de panes hechos con harinas de alta y baja extracción sobre el metabolismo mineral en personas adultas.

Los autores de dichas investigaciones, A.R.P. Walker, J.T. Irving y F.W. Fox (1946) (95), siguiendo estrictamente los métodos y procedimiento general descritos por Mc Cance y Widdowson midieron la ingestión y la excreción de calcio, magnesio, fósforo total, fósforo fítico y hierro, en tres varones adultos, sanos, europeos, durante períodos que variaron entre tres y diecinueve semanas consecutivas. Esos períodos experimentales fueron planeados como sigue: a) De una a dos semanas con la dieta cotidiana usual; b) De cuatro a nueve semanas con una dieta que contenía una libra de pan standard de guerra, hecho con harina de 95-100 % de extracción, c) De una a cuatro semanas durante las cuales el pan de guerra fue reemplazado por una libra de pan blanco hecho con harina de 70 % de extracción.

Durante la investigación los sujetos vivieron en sus hogares y continuaron sus ocupaciones ordinarias. La salud permaneció excelente en todos ellos durante toda la experiencia; no hubo

disturbios digestivos y las fluctuaciones de peso fueron insignificantes.

Las conclusiones a que se llegó (y que eran semejantes a las de otros investigadores) pueden resumirse, en lo referente al calcio, como sigue: a) Las personas que pasaban abruptamente de su dieta usual a una de menor contenido en calcio y mucho más rica en fósforo de fitato, mostraban un inmediato balance negativo de calcio. Sin embargo, el cuerpo se adaptaba en forma gradual a las nuevas condiciones, de modo que, dándole tiempo, comenzaba otra vez a retener el calcio, llegando a compensarse las pérdidas sufridas, b) El período de adaptación era menor y la pérdida de calcio reducida, si la disparidad entre la ingestión usual de calcio y la de la dieta experimental era pequeña, y si la ingestión de calcio se mantenía del principio al fin en un nivel de alrededor de 10 mgr. por kilogramo de peso del cuerpo, c) Inmediatamente de pasar de la dieta usual de pan a la de pan estándar, se observó que el ácido fítico ingerido era completamente hidrolizado; al volver a la dieta común, con un menor contenido en ácido fítico, la proporción hidrolizada volvió a caer a la que se había observado anteriormente.

Esta adaptación del organismo, aún a dietas con alto contenido en ácido fítico, ya había sido observada por otros investigadores. Así, Nicholls y Nimalasuriya (1939) estudiaron, durante un período de nueve días, un niño de siete años que vivía en Ceylán, consumiendo la dieta usual que consistía principalmente en cereales y legumbres, alimentos bien conocidos por su riqueza en ácido fítico; la ingestión diaria de calcio era sólo de 0,2 mgr. más o menos, a pesar de lo cual el organismo absorbía no menos del 79 % del mismo. En forma similar, Beau y colaboradores (1939) comprobaron que dos de cada tres hindúes adultos estudiados, que consumían cantidades muy pequeñas de calcio obtenido del arroz y del trigo, absorbían hasta un 50 % del mismo, siendo su balance calci-

co aún positivo. En los ejemplos que anteceden, el acostumbraamiento a esas dietas habría durado presumiblemente toda la vida.

Sólo en esos términos era posible explicar, según los autores, que los europeos de Sud Africa, que vivían casi exclusivamente con dietas ricas en cereales, pudiesen absorber las pequeñas cantidades de calcio presentes en las mismas cuando iban acompañadas de tan grandes cantidades de ácido fítico. Sin menospreciar la necesidad de proporcionar una cantidad adecuada de calcio en la dieta, los citados investigadores del South African National Nutrition Council sugirieron que, si debido a ciertas razones había que emplear harinas de alta extracción, la perturbación en el metabolismo del calcio que indudablemente tendría lugar, se podía considerar de naturaleza temporaria.

A.R.P. Walker, F.W. Fox y J.T. Irving (1948) (96) señalaron en una publicación posterior ciertas causas de error inherentes a estudios de balances de ese género.

Así, cuando se pasaba de una admisión alta de calcio a otra inferior, era necesario asegurar que fuese proporcionado al menos calcio suficiente como para satisfacer al respecto las necesidades mínimas del individuo. La difícil pregunta de qué constituía el requerimiento mínimo diario de calcio, había sido estudiada por varios investigadores quienes llegaron al acuerdo con una cifra de alrededor de 10 mgr. por kilogramo de peso del cuerpo, standard que fue adoptado al realizar los experimentos en Sud Africa.

Señalaron también que, como había sido publicado por McCance y Widdowson en 1942, había poca evidencia para suponer que la adición de vitamina D a la dieta de adultos sanos tuviera algún efecto apreciable en la absorción del calcio, pero que al comparar los resultados de ambos estudios era necesario tener en cuenta que las experiencias realizadas en Sud Africa abarcaron distintos esta

signos del año, y que, a causa de las condiciones climáticas de ese país, los sujetos no sólo consumieron alimento que había sido totalmente irradiado por el sol, sino que estuvieron ellos mismos continuamente expuestos a una luz brillante, a una altura aproximada de seis mil pies.

Por otra parte, según los informes dados por algunos autores, los períodos experimentales eran interrumpidos por días o semanas durante los cuales el alimento consumido no estaba especificado; tales interrupciones debían necesariamente afectar las observaciones subsiguientes, a menos que se mantuviera durante ellas el mismo nivel de calcio admitido.

Otros investigadores emplearon períodos experimentales tan cortos y cambiaron la dieta tan frecuentemente que era dudoso que el organismo hubiese tenido tiempo de adaptarse a una dieta antes de comenzar con otra. Un ejemplo de esto podía verse en el estudio informado por Wang, Lin, Cha, Yu, Chao y Hsu (1944) en el cual en un lapso de treinta y ocho días, la dieta fue cambiada no menos de doce veces. Los experimentos realizados por Mc Cance y Widdowson duraron, con intervalos, unos nueve meses, siendo los períodos de verdadera observación continua, generalmente de 3-4 semanas; estos autores fueron categóricos en su afirmación de que no hubo indicio de adaptación alguna.

Aunque los experimentos llevados a cabo en Sud Africa, se realizaron sólo con tres individuos, los resultados obtenidos se confirmaron unos a otros. Si dichas observaciones hubiesen sido interrumpidas después de 3-4 semanas con una dieta rica en pan de harina de alta extracción, los autores habrían llegado a conclusiones semejantes a las de los investigadores anteriormente mencionados.

Walker, Fox e Irving citaron en su publicación, estudios realizados por otros autores directamente en personas que, por fuerza de las circunstancias, estaban obligadas a sustentarse por

largos períodos, con dietas ricas en fósforo de fitato y pobres en calcio. Juzgaron que, para lograr una segura información, era mejor ese tipo de investigaciones que la elección de unos pocos individuos a los que se suministraban dietas ideadas con el fin de observar cómo aquéllos se adaptaban a las nuevas condiciones durante períodos cortos e largos pero que por razones prácticas obvias no podían ser muy prolongados. Según esta clase de trabajos, en las condiciones mencionadas los balances positivos de calcio eran bastante frecuentes.

Por su parte, los citados investigadores informaron que, en lo referente a las campesinos bantúes de Sudafrica, no encontraron gran evidencia de calcificación pobre del esqueleto; sus dientes estaban a menudo bien formados y en algunos casos notablemente libres de caries. Así, en un cuidadoso examen dental realizado con mil niños cuya dieta consistía principalmente en "Kaffir corn" no menos del 70 % estaba libre de todo signo de caries. Resultados igualmente sorprendentes fueron informados por Wilson y Widdowson (1942) para niños hindúes.

Era preciso pues admitir que tales observaciones no podían fácilmente conciliarse con las opiniones convencionales y no era posible tampoco atribuirles a diferencias raciales. Resultaba más lógico pensar que ellas revelaban una adaptación que cualquier ser humano podía lograr en circunstancias similares. Un ejemplo de ello, en el caso de los europeos, lo constituía la experiencia del pueblo francés que, durante la ocupación alemana, consumía una dieta extremadamente pobre en calcio y pan de alta extracción, afirmando que la descalcificación esperada no tuvo lugar.

Por lo que antecede, Walker, Fox e Irving creyeron factible que en los tres sujetos por ellos estudiados, hubiese tenido lugar un proceso similar de adaptación, ya que durante varios años los habitantes de Sudafrica se vieron obligados a consumir pan de harina de alta extracción. Esta capacidad de adaptación pudo faltar en

los individuos estudiados por Mc Cance y Widdowson.

El mecanismo de adaptación a dietas ricas en ácido fítico se podía explicar en dos formas: 1) por los cambios químicos que el fitato podía sufrir en el intestino; 2) por la capacidad del organismo para adaptarse a una ingestión baja de calcio.

1) La mayor parte de los investigadores estaban de acuerdo en que el ácido fítico y el calcio se combinaban en el intestino formando una sal insoluble, debiendo esto ser considerado porque parte de ese calcio era a veces absorbido. Había también acuerdo general en que, en cierto grado, se producía la hidrólisis del fitato en el tracto digestivo, pero había dos opiniones sobre cómo se efectuaba la misma en el hombre. Algunos sostenían que era debido a la acción de la flora intestinal, mientras otros afirmaban que dicho desdoblamiento sólo podía ocurrir cuando la dieta contenía una enzima específica, que comúnmente era destruída por cocción del alimento. Ambos grupos de investigadores coincidían sin embargo en que, al menos una parte del fósforo y del calcio liberados por hidrólisis eran absorbidos.

Una cuestión más interesante surgió al estudiar la función que el magnesio podía tener en la reacción entre el ácido fítico y el calcio. Contrariamente a lo supuesto por Koff-Jørgensen y colaboradores, algunos autores consideraron probable que el ácido fítico precipitase en el intestino un compuesto que no era sólo una sal de calcio, sino de calcio y magnesio. Both, Harrison y Møllerby (1939) y Mc Cance y Widdowson (1942) demostraron que cuando la precipitación ocurría in vitro, en presencia de esos elementos, se formaba un fitato mixto que contenía aproximadamente cantidades equivalentes de los mismos. Otros investigadores, que intentaron reproducir in vitro las condiciones del tracto intestinal con respecto al valor del pH opinaron también que era probable la formación de un precipitado de tal naturaleza.

Los resultados obtenidos por Walker, Fox e Irving en sus experiencias realizadas en Sud Africa tendieron a apoyar la proposición que el ácido fítico reaccionaba con el magnesio tanto como con el calcio. Los autores consideraron que la hidrólisis del fitato de calcio y magnesio se produciría en el tracto digestivo a un nivel tal como para permitir que el calcio fuese posteriormente absorbido. Observaron que, en dos de los sujetos estudiados, la retención del magnesio se vio disminuida al iniciar la dieta rica en fósforo de fitato. Juzgaron que esto podía deberse a la precipitación del magnesio por el ácido fítico. Con probaron además, que, aunque los sujetos siguieron con dicho régimen, la retención del magnesio mejoró, y varió escosamente cuando el fósforo de fitato de la dieta disminuyó. Opinaron que éste era un punto importante porque decidía la cantidad de calcio no aprovechable para una cantidad determinada de fósforo fítico.

2) La facultad del organismo de adaptarse a una ingesta diaria de calcio a menudo por debajo de las 10 mgrs. por kilogramo de peso del cuerpo, fué aceptada por muchos investigadores, algunos de los cuales afirmaron que, en presencia de un suministro inadecuado de algún elemento nutritivo, incluido el calcio, el cuerpo podía ajustarse a la situación ya sea por un uso más económico de la cantidad aprovechable del mismo o por una reducción de sus propias necesidades, de modo que finalmente volvía al equilibrio con el escaso suministro de alimento.

En lo referente al fósforo total y al hierro, Walker, Fox e Irving hicieron las siguientes observaciones: En dos de los sujetos la retención del fósforo total disminuyó inicialmente al agregar fósforo de fitato a la dieta, pero luego mejoró; dicha retención fué mayor en todos los individuos estudiados cuando se redujo el fósforo fítico de aquella. La retención de hierro fué virtualmente la misma con dietas de alto y bajo contenido en fósforo de fitato.

En resumen, los resultados obtenidos por los citados autores en sus investigaciones confirmaron los publicados por Mc Cance y Widdowson hasta donde han demostrado que un régimen con pan de harina de alta extracción producía una cierta cantidad de calcio dietético no-aprovechable; pero probaron además que el cuerpo podía ajustarse a ese valor disminuido y que el consumo de tal dieta durante largos períodos, no tenía efecto deletéreo sobre el metabolismo del calcio.

A.J.A. de Scouveia, F. Pinto Coelho y A. Pedroso de Lima (28) publicaron, en 1946, un estudio sobre el contenido en ácido fítico de productos de panificación, afirmando en el mismo que el exceso de ácido fítico derivado de las capas periféricas de los cereales era perjudicial para el hombre porque reducía la absorción del calcio y del hierro.

Según D.W. Kent-Jones y A.J. Amos (1947) (45), la advertencia de Mc Cance y Widdowson respecto al posible efecto peligroso del empleo de harina integral tuvo rápida confirmación en Irlanda, donde se comprobó que, después de tres años de consumo de pan de harina integral de 100 % de extracción, los casos de raquitismo (en su forma preliminar) habían aumentado desde un porcentaje prácticamente insignificante hasta casi el 50 % en los niños menores de dos años de edad. Pero hubo muchas razones por las cuales este hecho fue tan grave en Dublín. Los niños estudiados pertenecían a las clases más pobres cuya consumición de leche era baja y cuya dieta no se podía considerar en general muy satisfactoria. Sin embargo, mientras se pudo conseguir pan blanco, no hubo ningún indicio de raquitismo por falta de calcio o de vitamina D. Más adelante, cuando se decidió reducir el grado de extracción de la harina al 85 %, se comprobó que el número de casos de raquitismo había disminuido, aunque era aún más elevado que en los días de pre-guerra, por lo que se juzgó probable que el contenido en ácido

fítico de esa harina fuese todavía perjudicial. Se admitió que en los dos últimos años había habido alguna mejora en el consumo de leche y vitamina D, pero se llegó a la conclusión, después de un estudio cuidadoso, que la posición mejorada respecto del raquitismo se relacionaba principalmente con la reducción de la extracción.

Kant-Jones y Bacharach (1947) (45) estudiaron la cantidad de calcio de la dieta que era inutilizado por el ácido fítico, estableciendo que ello dependía de cuál de las sales del ácido se formaba, complicándose aún más el problema por la presencia del magnesio en los compuestos. Realizaron además, un estudio similar para dietas con pan fabricado con harinas de diferentes grados de extracción enriquecidas con carbonato de calcio.

J. Courtois y A. Valentino (1947) (21) realizaron investigaciones sobre la absorción de inositolosfosfatos en las ratas. Mantuvieron los animales en la oscuridad y los alimentaron con una dieta r²quitogénica que contenía compuestos de calcio e inositolosfosfatos, comprobando que el agregado de fitasa purificada obtenida de afrecho de trigo no aumentaba la absorción de fósforo ni disminuía los síntomas de raquitismo.

R.L. Reid, M.C. Franklin y E.G. Hallsworth (1947) (77) efectuaron un estudio referente a la utilización del fósforo fítico en ovejas. Determinaron el contenido de ese fósforo en la panza y el intestino de animales alimentados con tres raciones diferentes. Comprobaron que los fitatos eran totalmente hidrolizados en los mismos. Además, mantuvieron a 37° una mezcla de afrecho y contenidos de la panza, sacando muestras a intervalos regulares para analizar su fósforo fítico: la hidrólisis prácticamente total tenía lugar dentro de las ocho horas.

El efecto de la vitamina D sobre la utilización del fósforo del fitato de calcio y del fósforo inorgánico ha sido estudio

de en la rata por R. Spitzer, G. Maruyama, L. Michaud y P. Phillips (1948) (84).

La adición de vitamina D a una ración que contenía fósforo inorgánico aproximadamente en su concentración óptima, tuvo poco o ningún efecto sobre la utilización del fósforo como se pudo comprobar por el estudio de las cenizas de huesos. Sin embargo, el agregado de esa vitamina a una ración que contenía fitato de calcio mejoró considerablemente la utilización del fósforo. Luego, en presencia de vitamina D el fósforo del fitato de calcio era casi tan eficazmente utilizado como el fósforo inorgánico, según lo demostraron los valores obtenidos para cenizas de huesos.

El contenido en fitasa del intestino delgado de ratas alimentadas con fitato de calcio y cantidades variables de vitamina D, no mostró variaciones en cuanto a la actividad de la enzima. Aparentemente la vitamina D no sería necesaria para la formación de fitasa.

Los citados autores sugirieron que la vitamina D desempeñaría una función secundaria en la utilización del fósforo fítico.

M.B. Gillis, L.C. Norris y G.F. Heuser (1949) (25) estudiaron la utilización del fósforo fítico en pollos. Estos animales necesitaban por lo menos 0,4 % de fósforo fácilmente disponible en una dieta que contenía 0,6 % de fósforo total. No utilizaron el fósforo fítico ni siquiera en presencia de vitamina D₃. El aumento de fósforo inorgánico a 0,4 % en dietas ricas en fitina suplementó mucho más eficazmente dichas dietas que el agregado de aquella vitamina.

Según Ch. Richet y F. Delbarre (1949) (79) toda sustancia introducida en nuestro tubo digestivo y utilizada por el organismo para la producción de calor y energía, para el mantenimiento, reparación y crecimiento de los tejidos o para fines metabólicos diversos, es un alimento.

Pero con los alimentos que ingiere, el hombre introduce a veces antialimentos, sustancias que no son siempre tóxicas por sí mismas, pero cuya presencia o exceso es capaz de perturbar la absorción o la utilización de los alimentos por acción anticalcémica, antiplástica, etc. Esos antialimentos pueden existir en un régimen considerado normal, suficiente, correcto y equilibrado. Además, algunas sustancias ingeridas bajo forma de medicamentos pueden ser también antialimentos. Así, los mencionados autores consideran con el ácido fítico como un antialimento con respecto al calcio de la alimentación, por su propiedad de precipitarlo al estado de fitato insoluble, eliminado luego por el intestino. Además su acción nociva no se ejerce sólo con respecto a ese elemento, sino que precipita igualmente al hierro y al magnesio al estado de sales insolubles, por lo que se creyó posible que ciertas anemias encontradas en los últimos años estuviesen relacionadas con el uso de harinas integrales.

E. Mellanby (1949) (57) estudió en el perro en crecimiento, las condiciones que afectaban la acción del fitato de los cereales en el metabolismo del calcio y en los procesos de calcificación, llegando a las siguientes conclusiones:

a) El efecto anticalcificante del fitato era específico cuando el cuerpo contenía vitamina D. En ausencia completa de ésta, de la dieta y del cuerpo, la especificidad de su acción se perdía y el fosfato inorgánico producía también aquel efecto.

b) La propiedad anticalcificante de los cereales fue atribuida en una época a una antivitamina, pero el autor no creyó que el fitato le fuese en el sentido de antagonizar directamente con la vitamina D, si bien esa hipótesis podía ser necesaria para explicar algunas de sus menos comprendidas interacciones con dicha vitamina. Según Mellanby, el principal efecto anticalcificante del fitato dependía del hecho de competir para el calcio, en el

intestino, con el fosfato inorgánico, su término análogo de estructura; de este modo limitaría la cantidad de calcio utilizable para la absorción bajo la influencia de la vitamina D.

e) Aunque esta vitamina, en cantidad suficiente, impedía que el fitato produjera raquitismo en los animales en crecimiento, ella sola no suprimía el efecto anticalcificante del fitato. Cuando la ingestión de vitamina D era alta, el fitato reducía la cantidad de calcio absorbido en el intestino y producía huesos no tan bien calcificados y con más síntomas de osteoporosis que cuando aquella estaba ausente de la dieta e aquí era reemplazado por fósforo inorgánico.

d) Aumentando el fitato en la dieta, aumentaba no sólo éste en las heces sino también el calcio. De este modo se reducía el calcio utilizable para el organismo.

e) Una dieta con alto contenido en fitato necesitaba no sólo un suministro adecuado de vitamina D sino también, lo que era igualmente importante, una ingestión alta de calcio. Cuando la dieta fuera rica en fitato, una formación ósea perfecta podría únicamente lograrse agregando suficiente cantidad de calcio y siempre que aquella contuviera vitamina D.

f) Aumentando el calcio de la dieta podía: 1) aumentar el fitato excretado, si la absorción de calcio no era aumentada; o, 2) disminuir el fitato en la heces si más calcio era absorbido.

g) Bajo las condiciones experimentales descritas, la vitamina D no permanecía pasiva al antagonismo del fitato, sino que reaccionaba destruyendo algo de él. Esta acción era limitada, y, aumentando la dosis vitamínica por encima de un cierto valor, ya no había reducción del fitato excretado ni aumento del calcio absorbido.

h) La vitamina D no sólo provocaba la absorción del cal-

cio en el intestino y su acumulación en los huesos, sino que, en animales en crecimiento, acomodaba la estructura y el tamaño de los huesos para su mejor calcificación en aquellos que tenían un máximo de tejido calcificado. Más vitamina B se necesitaba para asegurar una perfecta calcificación de los huesos que para procurar una máxima absorción del calcio, especialmente si la dieta era rica en fitato. De este modo, la absorción y retención del calcio podían ser buenas, y la calcificación de los huesos ser, sin embargo, sub-normal.

1) El autor tuvo cierta evidencia, no totalmente comprobada, de que ese fitato dietético consumía las reservas de vitamina B del organismo más rápidamente que el fosfato inorgánico.

E. Mellanby informó también (1949) (58) que bajo ciertas condiciones se producía la hidrólisis del fitato en el organismo. Así, con dietas ricas en fitato el total del fosfato inorgánico excretado era algunas veces superior al total del mismo presente en el alimento.

G.S. Bains (1949) (5) realizó investigaciones sobre la digestión que pudiera sufrir el fósforo fítico en el estómago por acción de los ácidos del jugo gástrico y de la pepsina presente en el mismo. Las experiencias fueron hechas in vitro mediante la digestión de una harina de trigo con ácido clorhídrico 0,1N solamente y con ácido clorhídrico de la misma normalidad y pepsina. La extracción del fósforo fítico fue en el primer caso de 56,3 % y en el segundo de 85,8 %, siendo posible que en condiciones naturales fuese aún más eficiente.

A la luz de estas observaciones, el autor consideró errónea la suposición de que el fósforo fítico no fuese completamente extraído del grano en el estómago. En cuanto a las diferencias en el porcentaje de fósforo biológicamente útil entre las muestras que ensayó el mencionado investigador, ellas parecieron guardar

alguna relación con el contenido en fósforo fítico y no fítico de las mismas. Comparando las cifras obtenidas para fósforo biológicamente útil y la relación: fósforo fítico/fósforo no-fítico, el autor creyó encontrar una correlación negativa entre las dos.

J.F. Reith, A. Gortzer y M. van Eschelen (1949) (78) también confirmaron la influencia perjudicial del alto contenido en ácido fítico del pan integral de trigo sobre la absorción del calcio.

R. Guillemet, R. Jacquot y J. Trévolières (1950) (30) plantearon la siguiente cuestión: ¿El problema del ácido fítico debía encararse como una simple reacción de precipitación o como un proceso mucho más general? Y recordaban al respecto las propiedades laxantes y las "feces forming" del afrecho y horinas de alto grado de extracción.

Todos los investigadores que estudiaron la digestibilidad del pan integral fueron sorprendidos por el considerable aumento de la masa fecal. Entre los trabajos franceses pueden citarse al respecto los de Trévolières y Erfman, Guillemet y colaboradores, Randoia, Fournier y Digaud. Se podía pensar pues, que dicho aumento iba acompañado de un desperdicio general no sólo de principios energéticos y nitrogenados sino también de sales. El calcio seguiría la suerte común del conjunto de metabolitos y sería mal utilizado como consecuencia de una estimulación exagerada del peristaltismo aumentado como lo sugerirían algunas experiencias: así, según Jordan y colaboradores, el afrecho desfitinado por acción de un ácido diluido perdía sus propiedades laxantes; según Fournier, el agregado de extracto acuoso de afrecho al pan blanco aumentaba notablemente el nitrógeno fecal. Por otra parte era posible que ese extracto fuese rico en ácido fítico, ya que el afrecho contenía sobre todo fitatos solubles.

Si la hipótesis sugerida por Guillemet, Jacquot y Trémolières se verificase, el ácido fítico debería ser considerado no ya como un descalcificante que actuara por precipitación química, sino como un factor fisiológico de desnutrición por acelerar excesivamente el paso de los alimentos por el intestino.

R. Nicolaysen y L.R. Njaa (1951) (67), en sus investigaciones sobre el efecto del ácido fítico en la absorción del calcio en ratas, cerdos y hombres, llegaron a las siguientes conclusiones: En las ratas, el efecto del ácido fítico en la absorción del calcio era paralelo a la misma, decayendo para niveles bajos de ella. El contenido de ácido fítico en las heces de esos animales no era aparentemente afectado por la eliminación de calcio. En cerdos de poca edad, el ácido fítico ejercía una influencia decisiva en la absorción del calcio. En cuanto al hombre, no había aparentemente una acción precisa del ácido fítico sobre la absorción del citado elemento.

M.L. Mathur (1953) (52) determinó el contenido de ácido fítico en las heces de vacas Sahival sometidas a dietas con distintas cantidades de una mezcla de granos. El 52-54 % del fósforo total de esa mezcla estaba bajo forma de fósforo fítico. Entre el 35 y 51 % de este último se recuperaba, pero el resto era hidrolizado o metabolizado. El autor observó también que un exceso de calcio disminuía la absorción de fósforo fítico y que un exceso de éste hacía al calcio prácticamente inutilizable.

En vista de la exigüidad y naturaleza negativa de los datos sobre la fitasa, M. Steenbock, C.M. Krieger, W.G. Wiest y V.J. Pileggi (86) publicaron ^{en} 1953, un trabajo sobre la vitamina D, y la fitasa intestinal. Los resultados del mismo, aun cuando revelaron considerables variaciones en el efecto de dicha vitamina, mostraron una tendencia definida hacia un aumento en la actividad de la enzima, posterior al suministro de vitamina D.

Los mencionados investigadores realizaron sus primeros experimentos con extractos intestinales individuales de ratas, cobayos, perros y pollos. Tenían como propósito determinar primeramente el efecto de las variaciones en la técnica de extracción, el efecto de la pepsina, tripsina, sulfato de magnesio y carbonato de calcio, del tiempo de incubación, las variaciones de pH, el exceso de sustrato, el exceso de buffer, el desaleamiento del extracto, etc. Aún cuando esos experimentos eran determinantes de sus objetivos específicos, revelaron una gama demasiado extensa de la actividad de extractos individuales como para poder establecer una relación con la vitamina D. No fué sino cuando se usó gran número de animales en condiciones standard que se pudo demostrar la eficacia de esa vitamina.

Se emplearon para los ensayos pollitos y ratas. Los primeros eran pollitos Leghorn blancos de dos días. Se los alimentó en grupos de cinco con dos raciones diferentes: una ración práctica para aves de corral cuando se la suplementa con vitamina D, y otra ración fuertemente raquitogénica, muy usada para ensayos de dicha vitamina. Después de cuatro a ocho semanas, se mataron los pollitos y se determinó el contenido en ceniza de sus tibias y la actividad fitásica de sus intestinos delgados usando para ello fitato de sodio como sustrato. Los resultados obtenidos revelaron claramente que la vitamina D elevó la fitasa intestinal extraíble y mejoró la calcificación ya que produjo aumento en la ceniza ósea.

Con las ratas, los mismos investigadores realizaron en serie dos tipos de experimentos: uno, alimentando los animales con una ración raquitogénica de cereal y cantidades excesivas de vitamina D; y otro, suministrándoles cantidades aproximadamente terapéuticas de esa vitamina agregadas a dos raciones no-raquitogénicas y a una ración raquitogénica semi-sintética. En el primer tipo de experimentos se determinó la actividad fitásica in -

testinal usando como sustrato ácido fítico, y la eficacia anti-raquitica de las dosis de vitamina D, midiendo el ancho de las metafisis en los extremos distales de los radios. Los resultados obtenidos revelaron un efecto muy pronunciado de la vitamina D en la cura de lesiones raquiticas, pero la gama de valores obtenidos para animales de los distintos grupos fue muy amplia. Además, individualmente, no hubo ninguna relación evidente entre la gravedad del raquitismo y la actividad de la fitasa.

En la segunda serie de experimentos se determinó como anteriormente la actividad fitásica intestinal, y además, el estado de nutrición de las ratas por valoración del fósforo inorgánico del suero de la sangre. Se observó que la vitamina D aumentaba la fitasa intestinal, pero dicho aumento era mayor con una ración raquitogénica deficiente en fósforo, con la cual la vitamina D producía generalmente el mayor aumento del fósforo inorgánico en el suero. El aumento de fitasa era también notable con una ración excesivamente rica en fósforo, con la cual la citada vitamina producía una real disminución en el fósforo del suero. Además, con una ración cuyo contenido en fósforo y calcio era aproximadamente óptimo, se obtuvo un efecto mínimo, si lo hubo, tanto en la fitasa como en el fósforo del suero.

En estos resultados el calcio no fue un determinante directo porque todas las raciones contenían dicho elemento dentro del rango óptimo.

Shigeyoshi Tsuchiya (1953-54) (90) determinó el contenido en fósforo total y fósforo fítico en algunos cereales (arroz, afrecho de arroz, harina de trigo y cebada), legumbres (soya, judías, guisantes) y verduras (papa, zanahoria, cebolla, espínaca). Realizando ensayos con tres adultos sanos alimentados durante tres días con dietas normales y dietas ricas en fósforo fítico, comprobó que, entre el 23 y 38 % del fósforo fítico ingerido era excretado

do y que entre el 18 y 30 % del mismo era absorbido a través de la pared intestinal. Con una dieta rica en fósforo fítico la cantidad absoluta de fósforo total absorbido aumentaba pero el coeficiente de absorción disminuía de un 75 % para una dieta normal, a un 56 %, mientras que la cantidad de calcio absorbido y su coeficiente de absorción disminuían, volviéndose negativo el balance de ese elemento.

Además, con ese tipo de dieta disminuían también un poco los coeficientes de absorción de grasas y proteínas.

Truchiya (91), comparó el metabolismo del fósforo y del calcio para distintos alimentos ricos en ácido fítico, llegando a las siguientes conclusiones: La excreción de fósforo fítico era similar para una dieta de cereales con contenido de fitasa (arroz y afrecho) y otra de legumbres que no contenían dicha enzima. La absorción de fósforo, calcio, proteínas, hidratos de carbono y grasas era superior con una dieta normal que con una dieta de legumbres, pero con ésta resultaba algo mejor que con una dieta de cereales.

R.P. Bherucha y C.M. Mc. Cay (1954) (6) estudiaron la retención del calcio del yeso y de la fitina en ratas albinas, en relación con el lapso de vida.

Ciento sesenta de esos animales, recién destetados, recibieron una de estas cuatro dietas: harina blanca con 0,3 % de fitato de calcio, harina integral de trigo con 0,3 % de sulfato de calcio, harina integral de trigo con 0,6 % de sulfato de calcio, harina de papa con 0,3 % de sulfato de calcio. Se comprobó que la relativa utilidad del calcio de esas dietas iba en aumento de la primera a la cuarta, por lo que el calcio del sulfato era más aprovechable que el del fitato. Además, la proporción de mortandad era la misma con todas las dietas.

E. Canals, R. Marignan y S. Malle Cordier (14) publicaron en 1954 los resultados de una serie de investigaciones sobre

la asimilación de la fitina. Comprobaron que el fósforo y el calcio radioactivos presentes en el agua de riego usada para un cultivo de cebada, eran recuperados en la fitina extraída de los granos maduros. Administraron esa fitina a animales herbívoros, carnívoros y omnívoros (vatas y ratones) en dosis de 100 mgr. por kilogramo de peso del cuerpo del animal, y el fósforo y calcio contenidos en ella fueron descubiertos por su radioactividad en los distintos órganos de los animales sacrificados.

Las ratas mostraron gran aumento en la fijación del fósforo cuando la administración de fitina fue llevada de uno a tres días. Se creyó que la fitina presente en el intestino de esos animales fuese la causante de su mayor habilidad para utilizar la fitina como fuente de fósforo para su fijación en huesos y músculos.

La fijación del calcio disminuyó en las ratas cuando se les administró fitina y decreció grandemente cuando la dosis de ésta se aumentó de 1 mgr. a 10 gr.

Se supuso que los conejos recibían suficiente fitina en su dieta natural por lo que la asimilaban más fácilmente que los gatos.

F. Bronner, R.S. Harris, G.J. Maletskos y C.E. Benda (1954) (12) estudiaron la absorción de Ca^{45} en muchachos alimentados con un desayuno de harina de avena, comprobando que la misma era de un 74 % del total ingerido, es decir, casi tan elevada como la de aquéllos que desayunaron con harina de maíz. La absorción de Ca^{45} en muchachos alimentados con harina de maíz adicionada de fitato era un 45 % de la de los alimentados con la harina sola. La cantidad de calcio asimilado era menor en presencia de fitato de sodio que en la de una cantidad equivalente de fósforo fítico proporcionado por avena.

A. Gortner publicó en 1954 (27) un examen crítico por el cual llegó a la conclusión de que el contenido de ácido fítico -

era reducido en el pan blanco y en el pan de bajo pH. En cambio, el pan de harina de trigo de alto grado de extracción contenía cantidades considerables de ese ácido pudiendo tener influencia en el metabolismo del calcio y del hierro. Según este autor no se comprobaron casos de perturbación permanente en la retención del calcio, provocados por el ácido fítico.

V.J. Pileggi, R.F. De Luca y R. Steenbock (1955) (74) realizaron un estudio, en ratas, sobre la función desempeñada por la vitamina D al evitar las propiedades raquitogénicas de los cereales. Observaron que el ácido fítico en dietas de cereales con bajo contenido en calcio, era casi totalmente hidrolizado, aún cuando la vitamina D estuviese ausente. Cuando el contenido en calcio de las raciones se aumentaba, la hidrólisis del fitato disminuía y la adición de vitamina D la aumentaba.

La actividad de la fitasa y de la fosfatasa de los extractos fecales e intestinales de las ratas aumentaba siempre cuando se suministraba vitamina D. No tenía importancia que la dieta tuviera cereales e estuviese desprovista de ellos, ni que éstos fuesen o no raquitogénicos.

El aumento de hidrólisis del ácido fítico, observado por adición de vitamina D a dietas de cereales, con un contenido grande de calcio, no liberaba suficiente fósforo inorgánico como para explicar la prevención del raquitismo.

Aunque las ratas con raquitismo hidrolizaban una menor cantidad de fitato, el fósforo inorgánico en las heces aumentaba, porque había disminuido su absorción.

Los mencionados investigadores consideraron que la acción antirraquitica de la vitamina D con dietas de cereales, se debía principalmente a una mejor utilización del fósforo inorgánico.

En lo referente a la influencia del ácido fítico en la

absorción del hierro, se sabe, como se dijo, que dicho ácido forma también sales insolubles con ese elemento. Además de lo ya informado al respecto, merecen citarse los siguientes estudios:

Mc Cance y Widdowson (1942) (54) estudiaron este problema en seres humanos. Para ello realizaron pruebas de alimentación con ocho personas comprobando que tanto los hombres como las mujeres absorbían más hierro del pan blanco que del pan de harina integral, por lo que no era conveniente recalcar el valor de este último como fuente de hierro debido a la acción del ácido fítico presente en el mismo.

Como la determinación cuantitativa del hierro presentaba serias dificultades técnicas, los autores apreciaron correctamente sus resultados más como una sugestión que como una conclusión, y trataron de obtener mayor información sobre el asunto mediante nuevos experimentos en los que se tomó como criterio para medir la absorción del hierro, el aumento en la concentración del mismo ^{en el} suero después de la ingestión de una dosis grande de una sal soluble de ese elemento. De dieciséis observaciones, encontraron catorce en las que el agregado de ácido fítico evitó un gran aumento del hierro del suero en las condiciones citadas.

Considerando el conjunto de estas experiencias, los autores apoyaron la opinión de que el ácido fítico presente en el alimento producía una acción depresiva en la absorción del hierro en el intestino del hombre.

Mc Cance, Eidgecombe y Widdowson (1943) (62) demostraron que tanto el ión férrico como el ferroso eran precipitados por el fitato de sodio a un pH de 6,5 y que el precipitado siempre contenía más fósforo que el equivalente de hierro, por lo que dichos investigadores supusieron que se trataba de un fitato doble de hierro y sodio.

Esto significaba según Mollgaard y colaboradores (1946)

(62), que ambos fitatos ferroso y férrico, eran más insolubles al pH de la mayor parte del intestino delgado que los correspondientes fosfatos o hidróxidos. En consecuencia, el ácido fítico podía interferir en la absorción del hierro en el intestino.

L.M. Sharpe, W.C. Peacock, R. Cooke, R.S. Harris, N. Lockhart, N. Yee y G. Nightingale (1950) (83) efectuaron una serie de experiencias sobre el efecto de los fitatos en la absorción del hierro.

Administraron siete comidas de prueba a muchachos adolescentes, midiéndose su efecto sobre la absorción de Fe^{55} reducido o Fe^{55} reducido; comprobaron así que la leche reducía la absorción de hierro en 1/3, mientras que la avena arrollada con leche llevaba esa reducción a 2/3. No observaron relación alguna entre el contenido en fitato de la avena arrollada y la disminución en la absorción de hierro. La presencia de fitato de sodio en la dieta provocó una absorción de hierro quince veces menor, lo que indicaba que los fitatos solubles podían interferir en la absorción del hierro. Hubo además, cierta evidencia de la correlación inversa entre la absorción del hierro y el contenido sólido de las comidas de prueba.

D.P. Sen (1952) (82) estudió el efecto hemopoético del hierro contenido en los granos de los cereales (arroz y trigo) y en el fitato férrico, llegando a la conclusión de que el arroz no era satisfactorio en comparación con el de la yema de huevo e del alumbre férrico. El autor consideró que el ácido fítico contenido en los granos podía provocar una disminución en la absorción del hierro presente en ellos y por lo tanto reducir el efecto hemopoético de dichos elementos.

V. Sathu y K. Krishnamurthy (1953) (80) estudiaron en ratas adultas la utilización y fijación del hierro, comprobando que éstas aumentaban a medida que disminuía el contenido de ácido fí-

tico en la dieta. Como fuente dietética de dicho ácido emplea-
ron arroz sin refinar y refinado en dos grados diferentes, sien-
do mayor el adelanto de los animales con la ración que contenía
el cereal más refinado.

MÉTODOS PARA ANULAR EL EFECTO NOCIVO DEL ACIDO FÍTICO EN LA NUTRICION

Se han estudiado varios métodos para anular el efecto nocivo del ácido fítico ingerido con los alimentos: agregado de sales cálcicas, hidrólisis enzimática de dicho ácido, adición de vitamina D, ingestión de fitasa, etc.

Debido a la acción perjudicial del ácido fítico en la absorción del calcio en el organismo, las cantidades del mismo en nuestra alimentación diaria son casi tan importantes en el cálculo nutritivo como las de calcio. Según los experimentos realizados en hombres y animales se vió claro que la relación ácido fítico/calcio determina si una dieta provocará la absorción de calcio o facilitará la producción de raquitismo.

Varios investigadores informaron, en lo referente a la nutrición humana, que el ácido fítico contenido en los alimentos podía perder su efecto nocivo por acción de la fitasa presente en los mismos. El trigo posee dicha enzima, y E.M. Widdowson (1941) (97) realizó al respecto un estudio para mostrar que aquella era activa en harinas comerciales y que podía destruir el ácido fítico durante el proceso de cocción.

La citada autora comprobó que, horneando con levadura se producía una considerable hidrólisis, y cuanto más refinada la harina mayor era el porcentaje de ácido fítico destruido. Esta destrucción era menor cuando el polvo de hornear reemplazaba a la levadura, habiendo probablemente para ello dos razones: 1) Cuando la masa con levadura se dejaba fermentar, se proporcionaba^a la enzima una oportunidad para actuar sobre su sustrato antes de ser inactivada por el aumento de temperatura en el horno. 2) Como el pH óptimo de la fitasa del trigo era 5,5, la concentración de iones hidrógeno de una masa con levadura era mucho más favorable para la actividad de la fitasa que la de una masa con polvo de hornear.

Widdowson estudió también la destrucción del fósforo orgánico cuando se agregaba a la harina blanca suficiente fitato de sodio como para hacer su concentración igual a la de la harina de 92 % de extracción. En el producto así preparado hubo más ácido fítico destruido en el horneo que en la harina de 92 % de extracción. La autora supuso que esto se debía a que el fitato de sodio era más soluble que los fitatos naturales presentes en el trigo. Según esta investigadora el modo más efectivo y barato de evitar la acción nociva del ácido fítico sería agregando calcio a la harina, si bien algo podía conseguirse evidentemente mediante una acción adecuada.

W.J.S. Pringle y T. Morgan (1942) (76) realizaron también trabajos sobre la destrucción del ácido fítico durante el horneo, haciendo las siguientes observaciones: La cantidad de levadura usada tenía sólo un ligero efecto. Al prolongar el tiempo de horneo de tres a ocho horas se producía un aumento en el porcentaje del ácido destruido. El pH de la masa o de la miga era un factor decisivo; en éstas el pH era alrededor de 5,7 y el hecho de que la destrucción del ácido fítico fuese completa llevando dicho pH a 5,2-5,3 por adición de ácido acético, podía deberse a que en los últimos valores se acercaban más al óptimo para la enzima. La cantidad de ácido fítico inicialmente presente era otro factor importante; cuanto mayor era esa cantidad, mayor era también la cantidad de ácido fítico destruido durante el horneo.

Los autores atribuyeron esa descomposición del ácido a la acción de la fitasa de la harina. Experimentos realizados agregando a esta última acetato de calcio, mostraron que si el ácido fítico se hacía insoluble no se producía acción enzimática. Parecería por lo tanto, que la fitasa requeriría un sustrato soluble para su acción y que la creciente destrucción que tenía lugar con la disminución de pH se debería en parte a la creciente solubili-

dad de los fitatos naturales.

En Inglaterra, para remediar el problema originado por el ácido fítico contenido en la harina de trigo, el "Ministry of Food" resolvió, en 1942, agregar 62,5 mgr. de calcio por 100 gr. de harina de trigo Nacional de 85 % de extracción. Fringle y Moran realizaron al respecto una serie de ensayos estableciendo que la adición de carbonato de calcio no afectaba apreciablemente la cantidad de ácido fítico destruido durante el proceso de elaboración del pan, pero la adición de una sal soluble de calcio (por ejemplo, acetato) reducía la cantidad de ácido destruido aun cuando, como en el caso del fosfato ácido de calcio, el pH de la masa disminuía. Observaron además que el acetato de magnesio producía un efecto similar: la destrucción del ácido fítico disminuía al aumentar la cantidad de magnesio. Por otra parte si el pH de la masa se reducía artificialmente por adición de ácido acético por ejemplo, la destrucción del ácido fítico aumentaba, aún en presencia de carbonato de calcio aunque no tanto como en su ausencia.

En harinas que levantaban solas, por contener fosfato ácido de calcio (o cremor tártaro) y bicarbonato de sodio, la destrucción de ácido fítico era menor que en harina común lo que fue comprobado mediante la preparación de panes.

Los autores concluyeron que el carbonato de calcio era preferible a otras sales de calcio más solubles para adicionar a las harinas porque aquellas reducían la cantidad de ácido fítico destruido durante el horneo.

R.A. Mc Cance y E.M. Widdowson (1942) (54) recomendaron el enriquecimiento de las harinas con carbonato de calcio para contrarrestar el efecto perjudicial del ácido fítico, en las épocas en que hubiese un aprovechamiento disminuido de las fuentes de calcio.

B. Booth, T. Moran y W.J. S. Pringle (1945) (11) estudiaron el valor nutritivo de cereales ya preparados para su consumo, establecieron que en el trigo inflado el ácido fítico era hidrolizado, término medio, en un 69,5 % mientras que en el trigo desmenuzado lo era en un 30-34 %.

Según Møllgaard y colaboradores (1946) (62) el efecto negativo del ácido fítico en la absorción del calcio, fósforo y hierro podía ser evitado por desdoblamiento del ácido del alimento e por el agregado de cantidades suficientes de fosfato de calcio y sales de hierro al mismo. Este último podía ser hecho incorporando a la ración otros alimentos ricos en calcio, fósforo y hierro, pero que contuviesen poca o nada de ácido fítico.

Con el propósito de mejorar la calidad del pan diario de la población danesa en lo referente al problema del ácido fítico, dichos investigadores realizaron una serie de ensayos considerando la posibilidad de aumentar el contenido de calcio, y la de desdoblar el ácido fítico del pan de centeno consumido en muy vasta escala por aquella población. Establecieron así que debía agregarse 1 % de carbonato de calcio a la harina. El desdoblamiento del ácido fítico en la masa era un problema mucho más difícil, particularmente por que el carbonato de calcio agregado lo retardaba al precipitar el ácido como fitato insoluble. Los autores tuvieron en su trabajo la ventaja derivada del hecho que los oxalatos eran capaces de retener el calcio y los iones fitato en solución. En el laboratorio usaron ácido tartárico para el estudio de las condiciones fundamentales del desdoblamiento, pero en la aplicación práctica del método en las panaderías se usó el ácido láctico producido en la masa por fermentación.

Møllgaard y sus colaboradores realizaron investigaciones sobre el efecto del pH, del contenido en agua, de la temperatura, de la concentración del oxalato, de la concentración del

calcio y del tiempo de reacción, en el desdoblamiento del ácido fítico de la masa. Hallaron que bajo condiciones óptimas en lo referente a los citados factores, se podía llegar a una hidrólisis del 80-85 % del ácido fítico por fermentación enzimática durante la preparación de la masa y en los primeros momentos del horneo.

Según A.J.A. de Gouveia, P. Pinto Coelho y A. Pedroso de Lima (1946) (28) la destrucción del ácido fítico podía ser promovida elevando la temperatura de panificación en unos 10°.

A.J. Anos (1947) (45) comprobó que el contenido de fósforo inorgánico de una masa aumentaba progresivamente a medida que avanzaba la fermentación, fenómeno que estaría de acuerdo con la hidrólisis gradual de la fitina por la fitasa.

Alcalaino (1947) (15) siguió la evolución del fósforo inositolofosfórico de la masa durante la fermentación tomando muestras en distintos momentos y estudiando comparativamente masas preparadas simultáneamente, con la misma harina, unas con y otras sin levadura. De su trabajo dedujo que el desdoblamiento del ácido fítico era más rápido en las masas que fermentaban con levadura.

Se pensó que la ingestión de fitasa podía resolver el problema de la acción nociva del ácido fítico en la nutrición, pero experiencias hechas en ratas por J. Courtois y A. Valentino (1947) (21) demostraron que los síntomas de raquitismo no eran mejorados por la ingestión de fitasa purificada obtenida del salvado de trigo.

En lo referente a la vitamina D, su presencia en la ración alimenticia mejoraba la utilización del ácido fítico y sus sales según lo demostrado por Spitzer y colaboradores (1948) (84), pero su acción era secundaria, ya que no pareció ser necesaria para la formación de fitasa.

J. Buré (13) publicó en 1948 un estudio en el que se revisó y discutió un trabajo británico sobre la neutralización de la

acción descalcificante del ácido fítico, excluyendo el autor que mientras el grado de extracción de las harinas no fuese reducido a un valor de 80-85 % como máximo, era aconsejable agregarles 0,2 % de carbonato de calcio.

J.W.Lee y E.J. Underwood (1949) (46) realizaron estudios sobre la destrucción del ácido fítico durante la panificación. Según estos autores la destrucción media de ese ácido durante el horneado de harinas blancas era más o menos de 72 %. En las harinas integrales y los correspondientes panes, más ricos en ácido fítico, dicha destrucción oscilaba entre 54 y 78 %. Esta variación fue relacionada más con la cocción que con el contenido fítico de la harina debido posiblemente a las variaciones en el pH de la masa.

Según lo informado por R. Guillemet, R. Jacquot y J. Trémolières (1950) (30), en Francia, el "Ministère du Ravitaillement" impuso en 1945 el enriquecimiento de las harinas panificables a razón de 1,5-2 gr. de carbonato de calcio por kilogramo. Es de hacer notar que esa cantidad no permitía neutralizar la totalidad del ácido fítico de las molindas usuales en esa época.

Según los fisiologistas, el fitato de calcio así preferido no sería probablemente utilizado por el organismo, pero al menos el ácido fítico del pan no captaría el calcio de los otros componentes de la ración. Esta hipótesis se basaba en el hecho que los vegetales contienen poca fitina insoluble pero muchos fitatos solubles e hasta ácido fítico soluble.

Se eligió el carbonato de calcio su razón de su estabilidad y de su inercia. Esta sal insoluble no modificaba el pH en el transcurso de la panificación, y en las dosis utilizadas no impedía la fermentación. Según algunos autores hasta facilitaría las operaciones de panificación. En el orden social, se comprobó que los temores formulados con respecto a los riesgos de la arteriosclerosis eran infundados, y las autoridades inglesas atribu-

yerca el perfecto estado nutritivo de la población, a las medidas de enriquecimiento adoptadas (anteriormente indicadas), en oposición a las numerosas descalcificaciones y al raquitismo creciente entre los irlandeses que empleaban en ese entonces harina integral sin adición extra de calcio.

Estudiando el problema en lo referente al pueblo francés, Guillemet, Jacquet y Trévolières llegaron a las siguientes conclusiones: ^{El} Enriquecimiento cálcico del pan fue una sabia medida en la época en que el uso de harinas de alta extracción y la pobreza del régimen alimenticio en elementos cálcicos legitimaban plenamente el agregado, a las harinas panificables, de una sal que, como el carbonato de calcio, no molestaba en la panificación y era además perfectamente asimilable. Pero cuando las condiciones alimenticias eran diferentes, no escaseando ni el pan blanco ni la leche y sus derivados, no había razón para continuar con dicho enriquecimiento cálcico. Esto ya había sido previsto por algunos autores ingleses; así, Nords y Mitchinson escribían en 1942: "El enriquecimiento cálcico del pan es función del racionamiento de los productos lácteos y del grado de extracción de las harinas."

Según R. Cesores y L. Moreno (1951) (15), para compensar el déficit de calcio producido por el ácido fítico en productos dietéticos y en harinas de alto grado de extracción, sería necesario añadir a éstas cantidad suficiente de sales cálcicas, o lo que sería mejor, especialmente para los productos dietéticos de harinas, someterlas a una fermentación previa para enriquecerlas así, por acción de la fitasa, en fosfatos, calcio, magnesio y hierro asimilables y en el factor vitamínico inactiva producido en el desdoblamiento del ácido fítico.

S.R. Atedemir (1951) (3) estudió el contenido en fitina del pan turco y en vista de ^{su} efecto nocivo sobre la absorción del calcio y del hierro, recomendó la administración de sales de esos elementos con las dietas ricas en fitina.

Según F.G. Ferrs (1952) (69), en la manufactura del pan la actividad de la fitasa era apreciable durante las primeras etapas del horneado (ya que la enzima tenía una alta estabilidad térmica), de modo que, hasta un 60 % de la hidrólisis del ácido fítico de la harina tendría lugar durante el mismo.

J.E. Courtois, A. Desjobert y P. Fleurent (1952) (19) comprobaron que las sales de calcio y magnesio de los ácidos inositolhexa, penta y tetrafosfóricos eran fácilmente atacadas por la fitasa mientras que las sales férricas lo eran muy lentamente.

A. Pereira y J. Nunes de Oliveira (1953) (71) estudiaron la evolución del porcentaje de ácido fítico durante la panificación casera de la harina de maíz, llegando a la conclusión de que el proceso de hidrólisis de ese ácido en el transcurso de aquella operación no se desenvolvía de una manera uniforme.

Los mismos autores (72) determinaron el contenido en ácido fítico de la harina y del pan de maíz de fabricación casera, comprobando que en ambos su porcentaje era elevado. Pero dada la distribución topográfica del ácido fítico en ese cereal, no se podía mejorar la calidad de sus harinas disminuyendo su grado de extracción, como ocurría con las de trigo; por lo tanto, la única forma de resolver el problema sería agregando una cierta cantidad de sales de calcio a las harinas.

En lo referente a las harinas de trigo de panificación industrial, A. Pereira y J. Nunes de Oliveira (1953) (73) aconsejaron mejorar su calidad en lo relativo al ácido fítico, disminuyendo el grado de extracción de las mismas e incorporándoles un suplemento de sal de calcio con miras a neutralizar los efectos perniciosos de dicho ácido.

Estudiando el problema del enriquecimiento mineral de las harinas, J. Moreno Calvo (1954) (64) juzgó conveniente recordar que el requerimiento diario de calcio (9,75 mgr. por kilo - gramo de peso) es relativamente grande y que dicho ídem no se in

cluye entre los oligoelementos, sino entre los de carácter plástico. Se necesita, aproximadamente, 1 gr. de calcio diario y a veces más; la mujer durante la lactancia necesita el doble. Expresado en leche y queso resultaría que un adulto adquiere la cantidad necesaria de calcio por día, en 800 gr. de leche o en 120 gr. de queso; una mujer que lacta su hijo, en 1600 gr. de leche o bien en 230 gr. de queso. El calcio de la leche se absorbe muy bien, pues la lactosa se transforma en ácido láctico en el intestino y se crea así un pH óptimo.

En la publicación del mencionado autor figuran las siguientes conclusiones: 1) Aun cuando el pan integral fuese un fitoeconómico en ciertos aspectos técnicos, debería divulgarse su consumo y someterlo al enriquecimiento en determinados componentes. 2) Sería de gran importancia social e higiénica el consumo de panes fabricados con harinas muy extraídas, enriquecidas en aminoácidos, calcio y hierro, manteniendo un precio económico bajo. 3) Favoreciendo el uso de panes y productos farináceos no tan blancos, se evitaría la tendencia comercial indeseable (a veces fraudulenta) de blanquear las harinas por medios químicos (peróxidos, perborato, etc) al objeto de darles mejor aspecto, con lo que se destruyen las vitaminas y se da una idea habitualmente falsa, del verdadero valor nutritivo. 4) Se debería calcular en forma estadística el calcio medio ingerido por habitante y por día, teniendo en cuenta, especialmente, el consumido en la leche, y cuando hubiese déficit de aquél por producción e consumo insuficiente de leche y productos lácteos, se deberían determinar las condiciones para que el calcio se administre de la manera más segura y eficaz. Para ello lo mejor sería introducirlo en el pan y bajo la forma de carbonato de calcio en pequeña cantidad, de acuerdo con los resultados experimentales modernos.

Dada la importancia excepcional del hierro en la forma

ción de la hemoglobina, numerosos investigadores aconsejaron el enriquecimiento en dicho elemento de harinas, panes y pasteles. La sal empleada con este fin parecería ser indiferente; se ha utilizado cloruro férrico, sulfato ferroso, fosfato ferroso, hierro reducido y algunas otras. La sal doble y compleja: $(\text{F}_2\text{O}_7)_3\text{Fe}_4 \cdot 2\text{F}_2\text{O}_7 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ se usa a la concentración de 11 mgr. por libra de peso seco (64).

MÉTODOS DE VALORACION DE ACIDO FITICO EN TRIGO

Las anteriores consideraciones prestan una gran importancia, desde el punto de vista bromatológico, a la determinación de ácido fítico en los alimentos.

Según E.J. Bigwood (1951)(8) el grado de precisión del dosaje del ácido fítico en un medio complejo como el grano de trigo, no podría ser considerado aún como bien exacto. Los procedimientos hasta hoy empleados dan generalmente resultados muy concordantes, pero excepcionalmente se producen divergencias.

Aunque existan referencias sobre trabajos en la determinación de fitina realizados en 1903 por Posternak, y por Suzuki y Yoshimura en 1907, es indudable que el primer trabajo de trascendencia al respecto, es el de W. Neubner y H. Stadler que data de 1914. Si bien estos autores lo aplicaron al análisis de productos farmacéuticos, como la fitina comercial, el principio en que se fundamenta, o sea la precipitación del ácido fítico como fitato férrico, sirvió de base a la gran mayoría de los métodos subsiguientemente propuestos.

Según Neubner y Stadler (36) la fitina puede ser determinada en soluciones que contienen 0,6 % de ácido clorhídrico libre y tiocianato de amonio (en solución al 5 %) como indicador , por titulación con una solución de cloruro férrico que contenga 0,05-0,2 % de hierro y 0,6 % de ácido clorhídrico libre. Bajo estas condiciones el fosfato férrico no es precipitado pero el ácido fítico se convierte en una sal insoluble: fitato férrico. La titulación es completa cuando el líquido toma un débil color rojizo que no desaparece antes de los cinco minutos. Esta determinación no es afectada por la presencia de fosfatos inorgánicos o de glicerofosfatos, ya que en el medio en que se opera no se combinan con el cloruro férrico. Los autores determinaron experimentalmente las siguientes relaciones:

1 mgr de hierro equivale a:

1,19 mgr de fósforo inositolhexafosfórico

4,22 mgr de ácido inositolhexafosfórico

5,69 mgr de inositolfosfato cálcico-magnésico

El método es exacto cuando la concentración de ácido fítico es poco más o menos del 0,3 %. Debe hacerse una valoración en blanco para saber cuánto el hierro se gasta solamente para bajar el sulfocianuro amónico; la diferencia entre el primer número y el obtenido en el ensayo en blanco, da el valor que corresponde al ácido fítico (15).

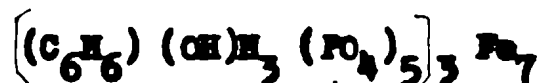
Este método ha sufrido diversas modificaciones.

J.B.Rather (1917) (4) realizó un estudio de los métodos para determinar el contenido en fósforo de fitina en los productos de plantas. En tal sentido aplicó el procedimiento de Neubner y Stadler, efectuando además un detallado estudio analítico del mismo y llegando a conclusiones interesantes en lo referente al tiempo de extracción, posible influencia enzimática, interferencias de otros compuestos fosforados y relación de hierro a fósforo en el precipitado bajo las condiciones del método. Determinó que la completa extracción del ácido fítico del producto se llevaba a cabo por agitaciones frecuentes durante tres horas, y que el ácido clorhídrico al 1,2 % ejercía un mejor poder solvente sobre el ácido inositolhexafosfórico que el ácido clorhídrico al 0,2 %, evitando al mismo tiempo su hidrólisis enzimática.

La recuperación de fitina purificada agregada al producto de plantas, demostró que las sustancias no fosforadas no afectaban la determinación, y la adición de fosfatos inorgánicos, que éstos no precipitaban en esas condiciones.

El mismo investigador ratificó la relación hierro/fósforo del precipitado obtenida por Neubner y Stadler, y en base a ese factor 1,19, infería que durante el proceso debía precipitar una

sal fítica del tipo hepta férrica-penta fosfato de fórmula:



en la cual la relación de hierro/fósforo es precisamente de 1,191.

Según E.B. Earley la posibilidad de precipitación ^{de} esa sal daría la explicación de la existencia de dicho factor, pero lo probable es que el fitato hepta férrico-penta fosfato no se forme, y que lo que ocurra realmente sea que, en este método de determinación volumétrica, el viraje del indicador se produzca en un punto intermedio de la valoración que puede ser reproducido con mucha seguridad.

Averill y King (1926) (31) usaron una solución intensa de cloruro férrico (el límite superior sugerido por Heubner y Stadler) para la titulación.

Knowles y Watkin (1932) (31) usaron salicilato de sodio en vez de tiosinato de amonio como indicador, basándose en que el punto final rosa dado por aquél era más fácil de apreciar que el amarillo pardo dado por este último.

En 1934 R.S. Harris y L.M. Mosher (31) afirmaron que en sus manos las modificaciones anteriormente citadas, no tuvieron ninguna consecuencia y no eliminaron la dificultad principal del método de Heubner y Stadler: la titulación de una solución que contiene un precipitado coloidal de decantación lenta, siendo las determinaciones de verificación extremadamente difíciles por la imprecisión del punto final. Con tal motivo, dichos investigadores probaron la sugerencia de Andrews y Bailey de eliminar la dificultad en cuestión titulando aproximadamente hasta el punto final y completando la titulación en el filtrado. Pero comprobaron que, a menos que se titulara muy próximo al punto final, el fitato férrico formado seguía interfiriendo en cierto grado, necesitándose además una determinación preliminar del punto final por el método

de Heubner y Stadler. Adá así, las determinaciones dieron valores de fósforo fítico inferiores a los obtenidos con el método original.

Harris y Mosher modificaron entonces el método de Heubner y Stadler introduciendo en el mismo una etapa final colorimétrica. Su procedimiento es el siguiente: Se extrae la muestra con ácido clorhídrico al 2,0 % durante tres horas, con agitación ocasional. Se filtra luego y a una porción alícuota del líquido, se le agrega agua destilada a fin de llevar su acidez al 0,5 %, y solución de tiocianato de amonio al 0,3 %. Se titula con una solución estandarizada de cloruro férrico (0,001 gr. de hierro por c.c. hasta que no se desvanezca el color pardo típico del tiocianato férrico, agregando entonces de 0,25 a 0,50 c.c. en exceso. El precipitado floculado, se separa por filtración y se lava con agua destilada. Se obtiene así una solución coloreada de tiocianato férrico. Esa misma intensidad de coloración se consigue en un ensayo en blanco por adición de cloruro férrico a una solución clorhídrica de tiocianato de amonio. La diferencia en mililitros de cloruro férrico gastados en la muestra a valorar y en el ensayo en blanco, multiplicada por los gramos de hierro por centímetro cúbico que contiene la solución de cloruro férrico y por el factor 1,19, permite determinar el contenido en fósforo fítico de la muestra en análisis.

Los autores no estaban convencidos de que ese factor 1,19 fuese correcto. Las pruebas han demostrado que la filtración por gravedad no ocasiona ninguna disminución perceptible en el color. En las titulaciones colorimétricas de extractos de plantas siempre existe la posibilidad de que esté presente una sustancia que contribuya con un color que, o bien disfrane el verdadero punto final, o bien produce uno falso. Los autores han comprobado que no hay ningún color de origen vegetal que interfiriera en el

punto final en la titulación de extractos de maíz.

Harris y Mosher demostraron además que su procedimiento es aplicable no sólo para determinar el fósforo fítico en el maíz sino también en el trigo, gluten de trigo, avena y cebada.

F. Goedecke (1929) (26) extrajo con agua productos de plantas pulverizadas y luego precipitó el ácido fítico y sus sales de la solución acuosa por adición de carbonato de calcio.

El método adolece de dos defectos fundamentales: en primer lugar, es poco probable que en la extracción acuosa se encuentren la totalidad de los inositolhexafosfatos, y además, en ese medio es posible la acción hidrolítica de la fitasa, acción que es conveniente paralizar.

T. Bodalski (1931) (9) introdujo la variante de determinar la fitina por mineralización de su fósforo. Extrajo las semillas, previamente pulverizadas, con ácido acético al 5% durante seis horas, y en la solución filtrada precipitó los inositolfosfatos con amoníaco, lavó con mezcla alcohol - éter y determinó el fósforo por gravimetría como fosfato - amónico - magnésico, previa destrucción de la materia orgánica por oxidación nítrica.

El ácido fítico se determina pues en material biológico, generalmente, por extracción con ácido clorhídrico diluido y titulación directa del extracto. Este procedimiento da origen a una seria dificultad si se lo quiere aplicar a materiales que producen extractos marcadamente coloreados.

En 1935, Leslie Young (1935) (99) realizó experimentos que mostraron que el ácido fítico era parcialmente absorbido por sustancias tales como carbón de leña, galactita y alúmina; por consiguiente, la decoloración de extractos por tales absorbentes no podía ser usada como preliminar a la filtración. Halló también que, soluciones de cloruro férrico en ácido clorhídrico N/6 no producían precipitados, a la temperatura ambiente, con solucio-

nes muy diluídas de ácido fítico en ácido clorhídrico N/6. Sin embargo, al calentar a 100° se formaban precipitados coagulados, fácilmente separables por centrifugación o por filtración. En condiciones favorables, la precipitación era completa, siendo posible además descomponer cuantitativamente los precipitados en hidróxido férrico y fitato de sodio, por acción del hidróxido de sodio.

Emplegando centrifugación para separar el precipitado de fitato férrico, era posible valorar pequeñas cantidades de ácido fítico. Esto permitió idear un micrométodo para determinar hasta 2 mgr. de ácido inositolhexafosfórico (expresado como fósforo).

El método colorimétrico de L. Young difiere de los anteriores principalmente en que: 1) A la solución que se está analizando se agrega una cantidad fija de solución standard de cloruro férrico. 2) El fitato férrico se precipita a 100°. 3) La precipitación se realiza en ácido clorhídrico N/6. 4) El excedente de iones férricos, después de la precipitación del fitato férrico, se determina por el procedimiento del tiocianato usando un colorímetro.

En la misma época, R.A. Mc Gance y E.M. Widdowson (53) determinaron el contenido de ácido fítico en frutas, verduras, cereales y productos derivados de éstos (analizaron en total 64 sustancias alimenticias).

Primero aplicaron el método ya citado de Neubauer y Steiler, pero comprobaron que no resultaba satisfactorio debido, en parte, a la dificultad en la determinación del punto final aún valiéndose de las modificaciones ya sugeridas por otros investigadores, y, en parte, porque algunas veces se requerían cantidades muy grandes de frutas e verduras secas para obtener una titulación razonable.

Para su trabajo, los mencionados autores emplearon un procedimiento según el cual el material seco y finamente pulveri-

zido es extraído con ácido clorhídrico N/2, y la precipitación del fitato férrico es similar a la del método de L. Young, efectuándose con exceso de cloruro férrico; pero el ácido fítico se determina directamente por cálculo de la cantidad de fósforo presente en dicho precipitado, para lo cual éste es hidrolizado con hidróxido de sodio, separándose el precipitado de hidróxido férrico del fitato de sodio soluble. Este último es entonces mineralizado en un Kjeldahl, en un medio sulfúrico-perclórico, determinándose el fósforo por el método de Bell y Deisy modificado por Briggs, e sea, transformádolo en ácido fosfomolibdico y reduciéndolo posteriormente con hidroquinona-sulfito de sodio para comparar la coloración producida con soluciones tipo de fósforo.

R. Michel - Durand (1938) (59) realizó la extracción con junta de fitina y fosfatos inorgánicos empleando para ello ácido tricloro-acético, y luego de precipitar con mixtura magnésiana y redissolver con ácido tricloroacético, efectuó la separación de ambos compuestos mediante la adición de acetato de calcio, precipitándose primero el fitato y luego, a mayor concentración, los fosfatos inorgánicos.

En vista de la probable importancia del ácido fítico en el metabolismo Cg-P de las aves de corral, se determinó el contenido en fósforo fítico de un número de sustancias alimenticias para dichos animales. Así, R.H. Conner (1940) (17) efectuó dicha valoración en trigo, harina de trigo, afrecho, maíz, harina de maíz, avena, cebada, soya, arroz, harina de tapioca, cañamón, mijo, semillas de girasol, pasto seco, alfalfa, empleando para ello el método de Mc Cance y Widdowson con ciertas modificaciones tendientes a facilitar el análisis de un gran número de muestras.

Su procedimiento es, en síntesis, el siguiente: El ácido fítico es extraído con ácido clorhídrico N/2 y precipitado, en

no ya se explicó, con exceso de cloruro férrico. El precipitado de fitato férrico, separado por centrifugación, es hidrolizado con hidróxido de sodio, y el fitato de sodio soluble es tratado con acetato de calcio y calcinado en mufla hasta cenizas blancas. En éstas se determina entonces el fósforo por el método de Fiske y Subbarow, según el cual la solución de fosfato ligeramente ácida, se trata con solución de molibdato de amonio y solución de ácido 1-2-4 aminonaftolsulfónico y se hace una comparación colorimétrica con una solución standard de fosfato.

W.J.S. Fringle y T. Moran (1942) (76) realizaron una investigación sobre la destrucción del ácido fítico durante el horneado. Para la mayor parte del trabajo, el fósforo fítico fue determinado mediante el siguiente procedimiento que es una modificación de los métodos de McCance y Widdowson y de Common, ya citados: El ácido fítico es extraído de la muestra y precipitado como fitato férrico, en la forma anteriormente descrita, pero dicho precipitado es disuelto con ácido sulfúrico, y el líquido resultante, vertido en un frasco de Kjeldahl, es digerido con ácido nítrico concentrado; el fósforo se determina entonces en la solución por el método gravimétrico de Ebdon y Fetter del nitromolibdato de estricnina.

Experimentos preliminares usando un método colorimétrico para la determinación final de fósforo mostraron, por los resultados obtenidos, que la técnica de Fringle y Moran era satisfactoria para harinas de trigo y panes.

En 1944, E.B. Karley (23), publicó un trabajo sobre las relaciones estequiométricas del hierro y fósforo en el precipitado de fitato férrico. Según dicho estudio, llegó a la conclusión de que, cuando existía suficiente exceso de solución férrica precipitante, era posible la formación de un precipitado de fórmula:



en el cual la relación Fe:P = 4:6. De acuerdo con ésto, el autor estableció su método de determinación del fósforo fítico por reducción a sal ferrosa del exceso de hierro férrico en la solución sobrenadante, titulando finalmente con solución de dicromato de potasio. Multiplicando la cantidad de hierro así determinada por el factor 0,833 obtenía el valor correspondiente de fósforo fítico.

Según A. Gendini y V. Maione (1947) (24) el método de Harris y Mosher resulta laborioso, especialmente en determinaciones en serie, sobre todo a causa de la lentitud de filtración del fitato de hierro. Estos investigadores midieron directamente mediante el fotómetro de Palfrich el enturbiamiento dado por el fitato férrico formado al agregar cloruro férrico al extracto clorhídrico de la muestra en análisis, no perdiendo así el método nada en exactitud y adquiriendo en cambio gran rapidez de ejecución.

En el desarrollo del trabajo, observaron que intervenían dos factores en esta determinación del fósforo fítico: el tiempo y la cantidad de ácido clorhídrico presente en la solución. Estudiaron esos factores separadamente para cantidades crecientes de fósforo fítico comprendidas entre 1 y 7 mgrs. , y comprobaron que, a paridad de ácido clorhídrico, con el transcurrir del tiempo se producía primero una elevación de la turbidez relativa, y luego, floculación del fitato férrico, especialmente para los valores más altos, es decir, en las soluciones con más alto contenido en fósforo. Buscaron entonces la manera de obviar esta dificultad eligiendo un intervalo de tiempo desde el agregado del cloruro de hierro hasta el instante de la medición fotométrica, al que correspondieran las mejores condiciones para la lectura de la turbidez relativa. De una serie de experiencias sistemáticas, ese intervalo de tiempo resultó ser de cinco minutos. Es decir que, cinco minutos era exactamente el tiempo transcurrido el cual los valores más bajos de fósforo fítico daban turbidez relativa bien

apreciable, mientras que los más altos no producían más floculación del precipitado.

Observaron además, que la cantidad de ácido clorhídrico presente en la solución en análisis podía ejercer una acción contraria a la del tiempo. Así, aumentando la cantidad de ácido clorhídrico se impedía la floculación del precipitado en las soluciones con mayor contenido en fósforo fítico, pero por otra parte, no se obtenía turbidez en aquellas en que dicho contenido era bajo. Para eliminar este segundo inconveniente, los autores encontraron oportuno establecer tres curvas de valoración correspondientes a tres cantidades crecientes del ácido clorhídrico: La primera para la apreciación de los valores de fósforo fítico comprendidos entre 1 y 4 mgr; la segunda, entre 4,5 y 6 mgr., y la tercera, entre 5 y 7 mgr. Estas curvas de valoración fueron establecidas con soluciones patrones de fitina comercial en ácido clorhídrico.

Para determinar el fósforo fítico en materiales vegetales (trigo, avena, cebada, etc.) estos investigadores extrajeran primeramente el material bien molido e triturado, con ácido clorhídrico al 15; luego regularon la cantidad de este ácido (según las condiciones necesarias para la apreciación correcta de la turbidez) con hidróxido de sodio N/2.

Si la solución extractiva era opalina (la que hubiera interferido en la medición de la turbidez), las sustancias que provocaban dicha opalinidad se separaron por reposo de dos o tres días y subsiguiente filtración, o bien se clarificó el líquido por agitación durante varios minutos con una pequeña cantidad de Dia-filt y subsiguiente filtración.

En pruebas de control efectuadas aplicando al método original la modificación descrita, los autores obtuvieron resultados que, prácticamente, no diferían de los obtenidos siguiendo la técnica de Harris y Mochar. Esto sirvió además, para demostrar

que, en el caso particular de determinaciones de fósforo fítico en extractos de materiales vegetales, la diferente composición del medio en cuyo seno se separaba el fitato de hierro, no traía aparejadas variaciones sensibles en el resultado final.

J. Courtois y Ch. Néres (1948) (20), para su trabajo sobre el contenido en inositolosfosfatos de diversos granos, emplearon una adaptación del método de Michel-Durand, obteniendo resultados satisfactorios en una serie de ensayos comparativos. En resumen, el procedimiento en cuestión consiste en: Inactivación de la fitasa de los granos por medio del calor; maceración en éter sulfúrico para disolver los lípidos; extracción con solución tricloroacética (que insolubiliza el fósforo nucleoproteínico) y adición de mezcla amonio-magnésiana que, en la fracción ácido-soluble del fósforo vegetal, precipita los ortofosfatos y los inositolhexafosfatos, pero no los ésteres ácido-solubles no-fíticos. Los autores determinaron luego, según la técnica de Copaux, el fósforo mineral y el fósforo total del precipitado, éste último previa mineralización con ácidos sulfúrico y nítrico; la diferencia entre ambos valores representaba el contenido en fósforo de inositolhexafosfatos de la muestra analizada.

Según estos investigadores, los bioquímicos que han deseado el fósforo fítico de tejidos vegetales, no parecen haberse preocupado sino muy excepcionalmente, de la posible acción de las fitasas asociadas. En el curso de la pulverización del material, la fitasa puede desdoblar los inositolhexafosfatos, como se observa en los vegetales con las glucidasas y los heterósidos.

Los mismos autores desearon además los inositolhexafosfatos de algunos granos por precipitación con cloruro férrico y valoración del fósforo orgánico del precipitado, obteniendo así, resultados sensiblemente idénticos a los dados por la técnica por ellos establecida.

M.A. Medrano (1948) (56) determinó el contenido en ácido fítico de distintas harinas y variedades de trigo empleando el método de Mc Cance y Widdowson, reemplazando en la valoración final del fósforo, el procedimiento de Briggs por el de reducción con el puro estannoso.

Dada la importancia que involucra el conocimiento del contenido en ácido fítico de los alimentos que integran la dieta humana, Medrano intentó introducir en el citado método modificaciones tendientes a su simplificación y ahorro de tiempo, sin a riesgo de sacrificar en algo su exactitud ya que, fisiológicamente, es mínima la significación que puedan tener pequeñas variaciones en esa desificación. En cambio, consideró probable que una técnica rápida y cómoda para valorar ácido fítico generalizara en determinación con los consiguientes beneficios que ello traería aparejados.

En vista de que algunos métodos se basan en la valoración del hierro excedente del gastado en la precipitación del fitato férrico, se pensó en la posibilidad de determinar el hierro precipitado. Medrano realizó al respecto dos ensayos.

Primer ensayo: Obtuve el precipitado de fitato férrico según la técnica de Mc Cance y Widdowson, y procedí a su hidrólisis alcalina con solución de NaOH al 2 %, centrifugando luego y desechando la solución. Disolví el precipitado de $Fe(OH)_3$ en el mismo tubo de centrifuga, por adición de ClH 1/3, agregando posteriormente NaOH hasta neutralidad. Llevé la solución a un volumen de 100 ml. con agua bidestilada, y en una porción alícuota de la solución así obtenida, determiné el contenido en hierro mediante el empleo de ácido mercapto-acético (tioglicólico), que, en medio amoniacal, reacciona con el hierro ferroso o férrico dando un producto de coloración rojo púrpura, soluble. Pasé a un matraz aforado de 100 ml una cantidad de la solución a valorar que contuviera entre 50 y 200 gammas de hierro, agregé 4 ml. de solución de ácido tioglicólico al 1 % y amoníaco concentrado hasta neutra-

lidad al papel de tornasol, añadiendo entonces 1 ml. del mismo en exceso. Llevó a volumen con agua bidestilada y, pasados diez minutos y antes de la media hora, realizó la lectura correspondiente en un colorímetro.

El estudio de los aniones y cationes que interfieren en la coloración, indicó que el método era apropiado para la determinación del hierro proveniente de su precipitación como fitato, teniendo en cuenta, sobre todo, la reproductibilidad de las lecturas colorimétricas, la estabilidad de la coloración y la seguridad con que responde a la ley de Beer.

Medrano comparó este procedimiento con el de Mc Cance y Widdowson, comprobando que las diferencias entre los valores respectivos no excedían regularmente de un 7 %. Consideró que esta técnica podía usarse en consecuencia, para determinaciones rápidas de ácido fítico cuando, por el carácter del análisis, no fuese imprescindible una mayor exactitud.

Segundo ensayo: Como en el caso anterior, el autor obtuvo el precipitado de fitato férrico según la técnica de Mc Cance y Widdowson, lavándolo cuidadosamente con ClH 0,5 %, porque de lo contrario podrían obtenerse resultados altos. Hidrolizó el precipitado vertiendo en el mismo tubo de centrifuga, 1 ml. de solución de SO_4H_2 2/3 y calentando en baño de agua a $80-90^\circ$ hasta disolución total del precipitado, lo que conseguía a los 3-4 minutos. Agregó entonces 10 ml. de agua bidestilada y transvasó a un matraz de 100 ml. llevando a volumen. Obtenía así, una solución de ácido fítico y sulfato férrico provenientes de la hidrólisis del fitato de hierro. A una porción alícuota de la misma (que variaba con la muestra a analizar) añadía 4 ml. de solución de ácido tioglicólico al 1 % y amoníaco concentrado hasta neutralizar al papel de tornasol, más 1 ml. en exceso, efectuando la lectura correspondiente en un colorímetro.

Las condiciones del medio indicaron que no existían en él aniones o cationes que pudiesen interferir en esa determinación del hierro. La comparación de los resultados obtenidos según esta técnica con los dados por el método de Mc Cance y Widdowson, permitió comprobar que los primeros eran ligeramente superiores a los segundos, no excediendo esa diferencia del 5 %.

Otros esfuerzos han sido ensayados tendientes a precipitar el ácido fítico bajo forma de una sal de bario o bien de cobre. Pero de un modo general, la separación como sal de hierro parece constituir el método más seguro hasta el presente, en lo referente a evitar coprecipitaciones de fósforo no-fítico.

E.J. Bigwood (1951) (8) realizó interesantes investigaciones sobre el ácido fítico contenido en el grano de trigo. En el curso de los mismos creyó determinar la existencia de dos factores de inexactitud en el dosaje de ese ácido en los medios naturales. Dichos factores eran: 1) la extracción del ácido fítico de su medio original con ácido clorhídrico 0,5N, planteándose al respecto el problema de si se podía estar siempre seguro de haber logrado una extracción completa; 2) una acción eventual de la fitasa de ese medio, después de la molienda.

Se podía pensar, en efecto, que en el grano la fitasa no estaba en contacto con su sustrato debido a la distribución de los constituyentes en zonas diferentes, bien separadas morfológicamente, mientras que después de la molienda dichos constituyentes podían encontrarse en contacto entre sí.

Bigwood procedió por lo tanto, a la inactivación previa de la fitasa por acción del calor en el momento de la molienda, según un procedimiento empleado por P. Fleury y J. Courtois en 1947, y también por su alumno Ch. Pérez en 1949. Dicha inactivación térmica fue asegurada por una ebullición de los granos (molidos e no) en alcohol. Bigwood molió simultáneamente dos muestras

de granos de trigo, una de las cuales sometió previamente al mencionado tratamiento térmico, y realizó con cada una de ellas dos análisis: uno, inmediatamente después de la molienda, y otro, después de 3-4 semanas de conservación a la temperatura del laboratorio. Sus observaciones se pueden resumir como sigue: a) La acción del calor sobre el grano no influyó sensiblemente los resultados obtenidos. b) La fitasa no pareció ejercer acción hidrolizante sobre el ácido fítico del producto molido durante la conservación de éste; por el contrario, el contenido de fósforo fítico, lejos de disminuir, elevó su concentración en grado variable (entre 12 % y 45 %) según las muestras de trigo analizadas.

Por los resultados obtenidos, el autor descartó la hipótesis de que el aumento de ácido fítico en el producto molido y conservado fuera debido a un mayor rendimiento de su extracción ácida por efecto de su envejecimiento. Además, el porcentaje del citado aumento varió según el método de dosaje empleado.

Para sus trabajos, Bigwood recurrió al empleo simultáneo de la técnica de Mc Cance y Widdowson y de dos de sus variantes, lo cual le permitió obtener resultados cuya comparación resultó muy instructiva. Además, introdujo en los mismos, en la etapa del dosaje del fósforo, una modificación personal; en vez de proceder colorimétricamente (como lo hacía la mayoría de los autores) él efectuó un dosaje gravimétrico según la técnica preconizada por Pregl, es decir, precipitando el fósforo como fosfomolibdato de amonio, según Lieb.

En lo referente a la separación preliminar del fósforo fítico el autor recurrió, como ya se indicó, a tres procedimientos basados todos en su precipitación bajo forma de sal insoluble de hierro: la técnica de Mc Cance y Widdowson, la de Moran y Fringle, y la de Fringle. Se procedió a la separación del ácido fítico por precipitación bajo forma de su sal insoluble de calcio

por juzgarla poco segura. En los tres procedimientos empleados paralelamente, usó para la extracción preliminar del ácido fítico, ácido clorhídrico 0,5N; el grano molido fue agotado durante dos horas por ese medio ácido, con agitación mecánica.

El método de Mc Cance y Widdowson y el de Moran y Fringle ya fueron descritos. En cuanto al de Fringle (que es posterior al de Moran y Fringle) consiste en tratar el líquido proveniente de la extracción del ácido fítico del grano de trigo, con mezcla magnésiana y amoníaco; el precipitado formado es disuelto con ácido clorhídrico 0,5N en baño maría; la solución resultante es tratada con el reactivo férrico de Mc Cance (1 gr. de hierro por litro de ácido clorhídrico normal); el fitato férrico precipitado es entonces disuelto en ácido sulfúrico concentrado y mineralizado en presencia de ácido nítrico también concentrado.

En 1951, R. Casares y L. Moreno (15) publicaron un estudio del contenido de ácido inositolhexafosfórico en harinas y productos dietéticos. Según estos autores, escogieron de entre los numerosos métodos existentes para realizar la determinación de dicho ácido, el clásico de Neubauer y Stadler por ser el más rápido (lo cual permitía su aplicación en análisis de harinas y otros alimentos) y de exactitud suficiente desde el punto de vista fisiológico. Pero encontraron que ofrecía sin embargo algunos inconvenientes.

La reacción del ácido fítico con el cloruro férrico transcurría lentamente si se hacía en frío por lo cual se obtenían datos inferiores a los verdaderos. Esto podía evitarse calentando el líquido previamente a 70°-80° con lo cual el color rojo producido al caer las gotas de cloruro férrico se decoloraba instantáneamente, obteniéndose un viraje neto. Así, 50 e.c. de una solución de inositolofosfato cálcico - magnésico al 0,050 % en -

ácido clorhídrico diluido al 0,6 %, gustaba en caliente 2,4 c.c. de cloruro férrico; en frío se obtenía ya el viraje cuando se gastaban 1,6 c.c. decolorándose al cabo de poco tiempo y sólo se obtenía un viraje estable cuando se habían añadido los 2,4 c.c. de solución de cloruro férrico.

Al aplicar este procedimiento a la valoración de ácido fítico en harinas, los citados investigadores tropezaron con otro inconveniente, y era que el punto de viraje no se percibía bien por el color ligeramente amarillento que tenían los líquidos extractivos de algunas harinas (sobre todo en el caso de las dietéticas tostadas). Por esto, ellos modificaron ligeramente la técnica primitiva en el sentido de variar el indicador, buscando uno que diera color de viraje más apreciable. Este lo consiguieron empleando con tal fin salicilato sódico que, con la sal férrica, daba un color violeta muy fácil de apreciar aún en líquidos amarillentos y hasta turbios.

En la extracción del ácido fítico de la harina estos autores emplearon ácido clorhídrico diluido al 2 % para evitar la acción hidrolítica de la fitasa, acción, que podría dar lugar al hallazgo de cantidades de ácido inositolhexafosfórico menores que las verdaderamente existentes, prefiriendo este método de inactivación enzimática al propuesto por Rius Miró y Bustinsa consistente en el calentamiento de la harina durante una hora a 105°, antes de la extracción. Por otra parte, usando como líquido de extracción ácido clorhídrico al 2 %, el tiempo de extracción se reducía con relación al dado en otros procedimientos, de seis a doce horas, a una hora, ya que según lo comprobaron los autores haciendo determinaciones de ácido fítico con tiempo de extracción variable, al cabo de sesenta minutos, prácticamente, la totalidad del ácido había pasado al líquido. Así, operando con una harina muy rica en ácido fítico, hallaron los siguientes porcentajes:

Tiempo de extracción minutos	Ácido fítico gramos %
15	1,787
30	1,921
60	1,965
120	1,985

La técnica propuesta por Casares y Moreno fue también empleada con resultados satisfactorios por A. Pereira y J. Nunes de Oliveira (1953) (70) para su estudio sobre la distribución geográfica del ácido fítico en los cereales. En el curso de sus trabajos, estos investigadores tuvieron oportunidad de observar una ventaja importante de dicho método: el no dar variación en los resultados aunque el dosaje se realizara al día siguiente de la extracción en medio clorhídrico, lo que debía considerarse especialmente cuando se trabajaba en serie o cuando era necesario proceder a ensayos "in loco" para ser continuados en el laboratorio.

W.A. Foss, Jr., M.F. Stansbury y C.L. Hoffpauir (1953) (75) realizaron investigaciones sobre los compuestos de fósforo de las semillas de algodón, determinando en las mismas el contenido en fósforo total, inorgánico, fosfatídico, fítico y ácido-soluble. Según los autores, los procedimientos empleados con tal fin son aplicables a materiales de otras plantas, pudiéndose requerir ajustes o modificaciones tanto en el peso de las muestras como en los alícuotas usadas.

La técnica empleada por estos investigadores para la determinación del fósforo fítico es, en síntesis, la siguiente: Una cantidad pesada de la muestra molida se trata en extractor Soxhlet con una mezcla azeotrópica de alcohol-benceno; en el líquido se separan los fosfatidos para el dosaje de su contenido en fósforo, y la muestra extraída es secada y tratada con solu-

cida de ácido clorhídrico al 2%, en agitador mecánico. En el extracto filtrado se ajusta la acidez con hidróxido de sodio y ácido clorhídrico normales, usando fenolftaleína como indicador, hasta que el líquido quede incoloro. Se agrega entonces el reactivo de cloruro férrico; luego de calentar y centrifugar, se lava el precipitado de fitato férrico con ácido clorhídrico al 0,6% y se lo disuelve con solución normal de hidróxido de sodio. El líquido se calienta y se filtra recogiénolo en un frasco de Kjeldahl, donde es digerido con ácido sulfúrico concentrado y peróxido de hidrógeno. Se toma una alícuota adecuada del líquido resultante (que no contenga más de 0,12 mgr. de fósforo) y se ajusta su acidez con álcali y ácido (en presencia de sulfonato sódico de alizarina como indicador) hasta que una gota de este último haga amarilla la solución.

Se agrega entonces a ésta el reactivo de molibdato reducido (solución de anhídrido molibdico y molibdeno metálico pulverizado en ácido sulfúrico concentrado) y, previa preparación de una solución en blanco de dicho reactivo, se efectúa la determinación del contenido en fósforo mediante un colorímetro fotoeléctrico, para el cual estará ya trazada la correspondiente curva de calibración con soluciones patrón de fosfato de potasio monobásico en ácido sulfúrico.

El procedimiento descrito se basa en los métodos propuestos por Mc Cance y Widdowson y por Young. En el desarrollo del mismo, Pons, Stensbury y Hoffmann obtuvieron resultados concordantes cuando realizaron tentativas para lavar dos veces el precipitado de fitato férrico con ácido clorhídrico al 0,6% centrifugando después de cada lavado. La naturaleza coloidal del precipitado llevó, en muchos casos, a centrifugados turbios que dieron resultados pobres. Cuando se hizo un solo lavado se obtuvieron resultados concordantes. Los citados investigadores establecieron el número mínimo de lavados requerido para la eliminación de otros

compuestos de fósforo, precipitando fitato férrico de varias porciones alícuotas de un extracto en medio clorhídrico al 2%, y lavando los precipitados cinco, una y dos veces, con ácido clorhídrico al 0,6 %, antes de la descomposición con hidróxido de sodio. En las soluciones obtenidas determinaron el fósforo total, y los resultados indicaron que un lavado del precipitado era adecuado para eliminar los otros compuestos de fósforo que podían ser atribuidos sobre el mismo.

Los autores realizaron también tentativas para utilizar en la extracción de la muestra ácido tricloroacético en vez de clorhídrico, pero en muchos casos, la gran producción de espuma durante el calentamiento y la obtención de centrifugados turbios condujeron a resultados pobres. Debido a estas dificultades de trabajo, eligieron el ácido clorhídrico como extractor del ácido fítico.

Los mismos investigadores obtuvieron valores comparables al usar éter de petróleo, alcohol etílico al 95 % o alcohol-benceno, en la extracción de los fosfátidos de la muestra antes de proceder al dosaje del fósforo fítico. Determinaron también la recuperación de este último mediante soluciones estándar de fitato de sodio y Al³⁺ en presencia como en ausencia de extractos de semillas de algodón, obteniendo resultados satisfactorios que probaron la validez y precisión del método analítico aplicado.

PORTE EXPERIMENTAL

En el presente trabajo se determinó el contenido en ácido fítico y fósforo total de trigos argentinos, empleando para el primero el método de W. Neubner y H. Stadler modificado por R. Casares y L. Moreno (15), y para el segundo, el procedimiento de la A.O.A.C. para harinas (2).

A) DETERMINACION DE ACIDO FITICO

METODO EMPLEADO:

El fundamento del método empleado (ya citado) es el siguiente: Extracción de la muestra con ácido clorhídrico al 2 %. Filtración y dilución de una porción alícuota del filtrado para llevar la concentración del ácido clorhídrico al 0,6 %. Titulación del líquido resultante con solución valorada de cloruro férrico en ácido clorhídrico al 0,6 % en presencia de salicilato sódico al 10 % como indicador.

REACTIVOS:

- 1) Solución de ácido clorhídrico al 2 %: 4,5 c.c. de ácido clorhídrico de densidad 1,18 y agua destilada para completar a 100 c.c.
- 2) Solución de salicilato de sodio al 10 %: Se disuelven 10 gr. de salicilato de sodio en agua destilada y se diluye a 100 c.c.
- x 3) Solución de cloruro férrico en ácido clorhídrico al 0,6 %, conteniendo entre 0,050 y 0,2 gr. % de hierro: Esta solución se valora por yodometría.

TECNICA:

La preparación de la muestra se hizo de acuerdo a las indicaciones que figuran en el trabajo de G. Karmen, P. Cattáneo y J. Viggiano (43) sobre bromo en trigos argentinos.

Según ello, después de eliminar semillas y demás cuerpos extraños y una vez seleccionados granos enteros, se pesan 2 gr. de trigo y se los machaca cuidadosamente en un mortero de porcelana hasta reducirlos prácticamente a harina integral muy fina.

La muestra así preparada se pasa a un matras de 500 c.c. y se la extrae entonces con 200 c.c. de ácido clorhídrico al 2 %, agitando durante una hora. Se filtra, repitiendo esta operación varias veces si es necesario para que el líquido pase transparente. Se pasan 50 c.c. del filtrado a un Erlenmeyer de 300 c.c. de capacidad, y se les añaden 116 c.c. de agua destilada para que resulte un líquido con una concentración de ácido clorhídrico del 0,6 %, que es la óptima para la marcha de la valoración. Se calienta a 70° - 80° y se agrega 2 c.c. de solución al 10 % de salicilato sódico como indicador, valorando mediante una microbureta con la solución ya indicada de cloruro férrico hasta aparición de color violeta.

Se hace al mismo tiempo una valoración en blanco que sirve para todas las veces que se emplee la misma solución de cloruro férrico. Para dicha valoración se procede en forma semejante pero reemplazando los 50 c.c. del extracto clorhídrico de la muestra por 50 c.c. de ácido clorhídrico al 2 %.

Llamando N y n al número de mililitros de solución férrica gastados respectivamente en la valoración del extracto y en la hecha en blanco, F a los miligramos de hierro por centímetro cúbico existentes en dicha solución, y m a los gramos de muestra pesados, se determina el contenido de ácido fítico (expresado en miligramos), en 100 gr. de trigo mediante la fórmula siguiente:

$$F \cdot (N - n) \cdot 4,22 \cdot 200 \cdot 100$$

$$50 \cdot m$$

El factor 4,22 establece la equivalencia del hierro con el ácido inositolhexafosfórico (1 mgr. de hierro equivale a 4,22 mgr. de

ácido fítico).

La proporción de 2 gr. de trigo para 200 c.c. de líquido extractor se estableció teniendo en cuenta que de ese modo, para la mayoría de los trigos, resulta un líquido final para valorar que contiene, poco más o menos, la cantidad de ácido fítico prescrita en el método (0,05 %). Si en la valoración diera una cantidad demasiado elevada de dicho ácido, el líquido se diluirá para mayor exactitud, hasta obtener la concentración óptima.

Para determinar la exactitud del método, especialmente por requerir la titulación de una solución en la que se va formando un precipitado coloidal de decantación lenta, se realizaron para varias muestras determinaciones por triplicado, obteniéndose valores concordantes.

Con el fin de comprobar si la extracción del ácido fítico de la muestra con ácido clorhídrico al 2 % era total después de una hora de agitación, se realizó en varios análisis una segunda extracción en igualdad de condiciones en cuanto a líquido extractor y tiempo, obteniéndose resultados que probaron la eficacia de la primera.

Se comprobó también que el ácido fítico puede ser dosado a las veinticuatro horas de su extracción en el medio ácido anteriormente citado.

B) DETERMINACION DE FOSFORO TOTAL

METODO EMPLEADO:

El fundamento del método empleado, que es como ya se indicó el de la A.O.A.C. para horinas, es el siguiente: Calcínación de la muestra con carbonato de sodio a 550°. Insolubilización de la sílice con ácido clorhídrico y dilución. Neutralización de una porción alícuota del líquido resultante con hidróxido de amonio y acidificación débil de la misma con ácido nítrico. Dilución y agr

gado de nitrato de amonio y de solución de molibdato de amonio. Agitación y filtración. Disolución del precipitado obtenido en pequeño exceso de álcali standard y titulación con ácido standard en presencia de fenolftaleína como indicador.

REACTIVOS:

- 1) Carbonato de sodio.
- 2) Acido clorhídrico: $d = 1,19$ p.a.
- 3) Hidróxido de amonio: $d = 0,9$.
- 4) Acido nítrico: $d = 1,4$.
- 5) Papel de tornasol.
- 6) Nitrato de amonio.
- 7) Solución de molibdato de amonio: Se disuelven 100 gr. de ácido molibdico (MoO_3) en una mezcla de 144 ml. de hidróxido de amonio ($d = 0,9$) y 271 ml. de agua destilada. Se enfría la solución y se la pesa lentamente y con agitación constante a un frasco que contenga una mezcla de 489 ml. de ácido nítrico ($d = 1,4$) y 1148 ml. de agua destilada. Se deja la solución resultante en lugar templado durante 48 horas, y se filtra si es necesario antes de usarla.
- 8) Solución standard de hidróxido de sodio (o de potasio): Se diluyen 324,03 ml. de álcali normal, libre de carbonatos, a un litro. (100 ml de solución neutralizan 32,40 ml. de ácido normal; 1 ml. equivale a 1 mgr. o 1 % de P_2O_5 sobre base de 0,1 gr de muestra.)
- 9) Solución standard de ácido clorhídrico (o nítrico): Se prepara una solución ácida cuya fuerza sea igual a la de la solución standard de álcali, o a la mitad de la misma. Se standardiza la solución de ácido por titulación con la de álcali, empleando fenolftaleína como indicador.
- 10) Solución de fenolftaleína: Se disuelve 1 gr. de fenolftaleína en 100 ml. de alcohol etílico.

TECNICA:

Se pesan 5 gr. de trigo, previa limpieza y selección de los granos, y se los machaca cuidadosamente en un mortero de porcelana, no siendo necesario una trituración muy fina como para la determinación de ácido fítico. Se pasan los 5 gr. de trigo machado a una cápsula de porcelana de 6 cm. de diámetro aproximadamente y se los mezcla bien con 0,5 gr. de carbonato de sodio mediante una varilla de vidrio.

Se procede entonces a la calcinación de la muestra, teniendo en cuenta para ello las indicaciones que figuran al respecto en el trabajo de J. Viggiano y P. Cattáneo (92) sobre el agregado de bromato de potasio en la elaboración del pm.

Se coloca la cápsula en una mufa eléctrica cuya temperatura se eleva poco a poco hasta llegar a las 550°; de este modo se produce una carbonización lenta que evita inflamaciones en la mufa. Cuando se ha formado una masa carbonosa, se retira la cápsula, se deja enfriar, se añade agua destilada y se desmenuza dicha masa con una varilla de vidrio, lavando luego ésta con agua que se hace escurrir en la cápsula a fin de quitar cualquier adherencia que pudiera haber quedado en ella. Se evapora hasta sequedad en baño maría y se completa la eliminación de agua calentando muy suavemente sobre tela metálica con el objeto de evitar pérdidas por proyección. Se coloca nuevamente la cápsula en la mufa a 550° hasta obtención de cenizas grises; se la retira entonces otra vez, se deja enfriar y se repite la operación anterior. Se obtienen finalmente cenizas blancas o ligeramente grises, apropiadas para el dosaje de fósforo total, realizándose la calcinación ^{en} de un tiempo relativamente corto.

Se procede entonces a la determinación del citado elemento.

Se dejan enfriar las cenizas obtenidas, se cubre la cáp

sula con un vidrio de reloj y se agregan, primero, 2 ml. de ácido clorhídrico (1 + 4) y luego, 5 ml. de ácido clorhídrico concentrado. Se enjuaga el vidrio de reloj con agua destilada, se evapora hasta sequedad en baño maría y se agregan 5 ml. de ácido clorhídrico y 10 ml. de agua destilada. Se calienta en baño maría durante 10 minutos, se filtra en matraz aforado de 100 c.c., se deja enfriar y se lleva a volumen. Se pipetea una porción alícuota de 10 ml. en un frasco Erlenmeyer de 300 c.c. , se neutraliza al papel de tornasol con hidróxido de amonio y se lleva exactamente a débil acidez con ácido nítrico. Se diluye a 75-100 ml. y se agregan 15 gr. de nitrato de amonio y suficiente solución de molibdato para asegurar una precipitación completa (75 ml. de solución por cada decigramo de P_2O_5 presente (1)). Antes de usar la solución de molibdato hay que agregarle ácido nítrico en la proporción de 5 ml. de ácido por 100 ml. de solución, y filtrar si es necesario.

Se agita la solución en la que va precipitando el fosfo-molibdato de amonio, durante 30 minutos, a temperatura ambiente. Se deja decantar, se filtra el líquido y se lava dos veces el precipitado por decantación con porciones de 25-30 ml. de agua destilada, agitando bien y permitiendo a las partículas asentarse. Se pasa el precipitado al filtro y se lava bien con agua destilada fría hasta que el líquido de dos lavados consecutivos produzca color rosado por adición de fenolftaleína y una gota de álcali standard.

Se pasa el precipitado y el papel de filtro a un vaso de precipitados de 250 c.c. Se disuelve el precipitado en pequeño exceso de álcali standard que se mide con bureta, se agregan unas pocas gotas de fenolftaleína y se titula con la solución standard de ácido.

El resultado queda expresado en mgr. de pentóxido de fé-
suro, teniendo en cuenta la relación ya dada para la solución
standard de óxali.

MUESTRAS:

Las muestras de los trigos estudiados fueron facilitadas por la División de Aplicaciones Tecnológicas de la Dirección de Producción de Granos y Forrajes del Ministerio de Agricultura y Ganadería de la Nación.

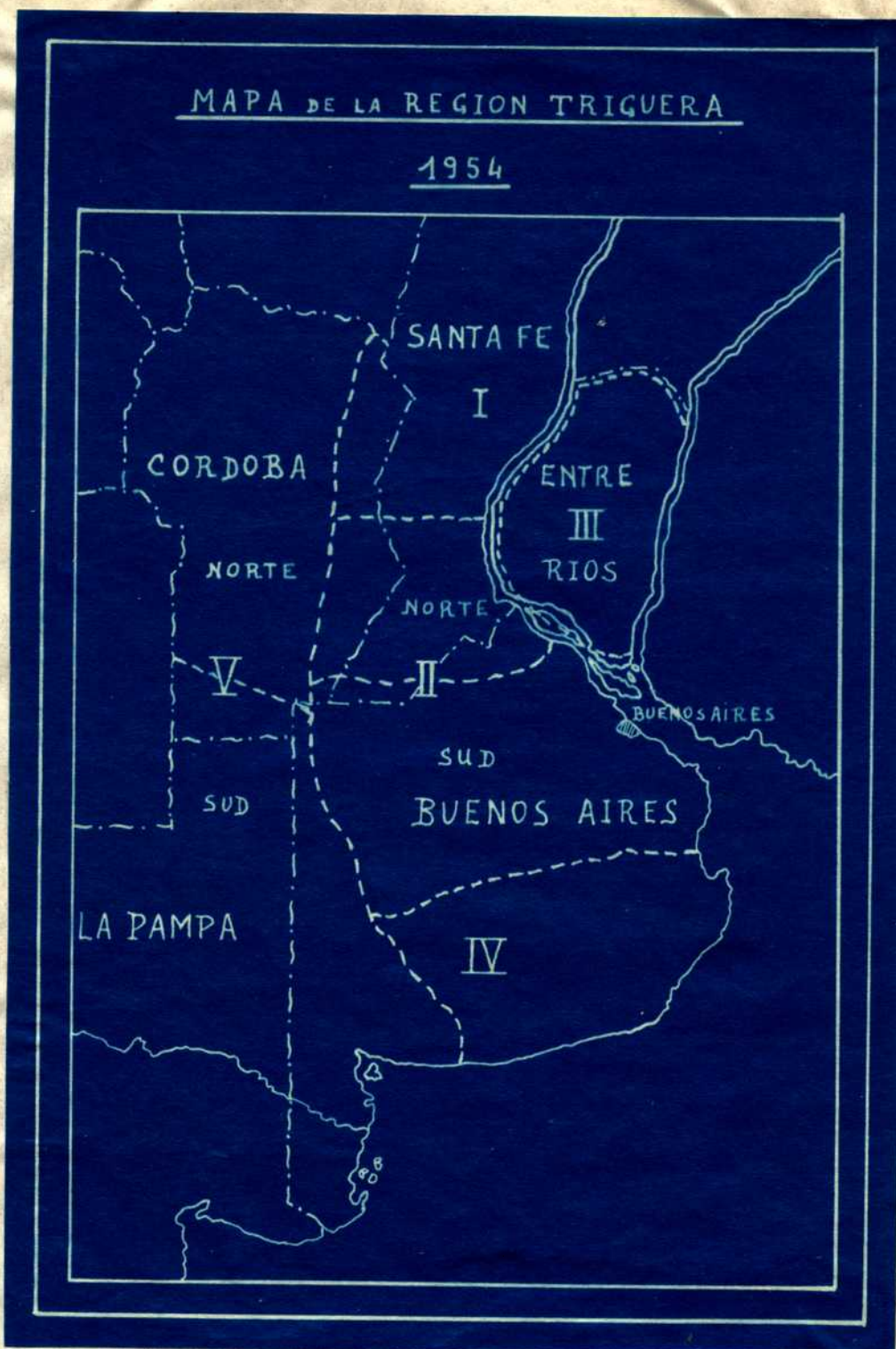
Se trató de muestras de variedades de trigo cultivadas en las distintas zonas de la región triguera del país. Cada una de ellas constituía un standard de trigos de la misma variedad cosechados en diferentes localidades de una misma subregión.

La gran región triguera argentina abarca las provincias de Buenos Aires, Santa Fe, Entre Ríos, Córdoba, parte de Santiago del Estero y de La Pampa.

Sobre esta región se extienden los siete millones de hectáreas que, poco más o menos, se cultivan anualmente con trigo en nuestro país. Dada la extensión y ubicación geográfica del área mencionada, se originan en la misma diferentes subregiones ecológicas, las que se caracterizan por determinadas condiciones agroclimáticas. Cada una de estas subregiones, señaladas en el mapa adjunto con los números I a V, ofrece mayores posibilidades de éxito, en el conjunto de sus cualidades industriales y agrícolas, al cultivo de unas variedades sobre otras, e por lo menos, obliga a modificar la época de siembra en el caso de que una variedad pueda ser cultivada en más de una subregión.

Las subregiones II y V están divididas a su vez en dos partes: norte y sur.

La subregión I toma el extremo norte de la superficie triguera argentina, abarcando la parte central de Santa Fe y Nordeste de Córdoba, limitando: al sur, con la subregión II parte norte, de la que está separada por una línea imaginaria que, iniciándose en el río Paraná va de este a oeste, dividiendo en partes más o menos iguales a los departamentos de San Germán y



San Martín (Santa Fe) para continuar en la provincia de Córdoba, siguiendo aproximadamente el límite de separación entre el departamento de San Justo con los de Unión y Marcos Juárez, hasta encontrarse con el de la subregión V parte norte. Al oeste limita con la subregión V parte norte y al este con el río Paraná.

La subregión II Norte limita al este con el río Paraná,

al sur con la subregión II parte sur, de la que está separada por una línea imaginaria, que iniciándose por el este en el ángulo nordeste del partido de San Pedro atraviesa el mismo en su parte media, en dirección sudeste, prosiguiendo hacia el oeste por la parte norte de Bartolomé Mitre, sur de Pergamino y norte de Rojas, continuando por el límite entre Córdoba y General Arenales, para seguir en Santa Fe, dividiendo el departamento de General López, un poco al sur de la localidad de Venado Tuerto, y prosiguiendo en la misma latitud en Córdoba, por el departamento de Sañas Peña hasta encontrar el límite de la subregión V parte norte. Al oeste limita con la parte norte de la subregión V.

La subregión II Sur limita al norte con la subregión II parte norte, al este con los ríos Paraná, de la Plata y Coásmo Atlántico y al sur con la subregión IV, de la que está separada por una línea imaginaria que naciendo en la ensenada de Samborombá, al sur del partido de Castelli, sigue hacia el oeste hasta llegar al extremo sur del partido de Belívar, de donde en dirección sudoeste llega hasta la subregión V parte sur, en el partido de Guaminí. Al oeste limita con la subregión V parte sur.

La subregión III comprende la provincia de Entre Ríos con su particular formación fitogeográfica del parque mesopotámico, la que se caracteriza por la variabilidad ecológica a través de su territorio.

La subregión IV limita al norte con la subregión II parte sur, al este y sur con el coásmo Atlántico y al oeste con la subregión V parte sur.

La subregión V parte norte se extiende por el sudeste de Santiago del Estero, entre norte y entre sur de Córdoba, limitando al este con las subregiones I y II, de las que está separada por una línea que, partiendo del extremo sudeste del departamento de Rivadavia, en Santiago del Estero, continúa en Córdoba

en dirección sudoeste, pasando por el extremo este del departamento de Río Seco, centro de San Justo y continuando por la parte oeste de Unida hasta el de Presidente Roque Sáenz Peña, por donde prosigue por su parte central hasta llegar muy cerca del ángulo noroeste de la provincia de Buenos Aires. Al norte y oeste sus límites están dados en la zona donde deja de realizarse el cultivo por ser su explotación antieconómica; al sur linda con la subregión V parte Sur.

La subregión V Sur limita al norte con la V parte norte, al este con las subregiones II Sur y IV, de las que está separada por una línea imaginaria que partiendo del extremo nordeste de la provincia de Buenos Aires, en el partido de General Villegas, se prolonga hacia el suroeste por las de Rivadavia y Tranque Lauquen, hasta llegar al centro del límite sudoeste del partido de Guaminí, en donde desviado acortadamente hacia el suroeste atraviesa por el centro de los partidos de Coronel Suárez, Coronel Pringles y Coronel Dorrego, hasta llegar a la costa Atlántica. Su límite sudoeste lo constituye la costa atlántica hasta el partido de Patagones. Hacia el oeste y sur el límite se pierde en la zona donde el cultivo deja de realizarse por antieconómico.

El término línea usado en la delimitación de subregiones no señala un límite preciso, sino una franja irregular que marca una superficie de transición entre subregiones vecinas (60).

Se analizaron muestras de dos cosechas.

De la cosecha 1953/54 se estudiaron las variedades: Masaux No. 5, Klein Lucero, Klein Cóndor y Benvenuto 3.085, correspondientes a las subregiones I y V Sur, solamente, por no disponerse de más muestras.

De la cosecha 1954/55 se analizaron las variedades: Masaux No. 5, Klein Lucero, Buck Quequén, Klein Cometa y Benvenuto 3.085, correspondientes a las cinco subregiones trigueras del país con las subdivisiones en parte norte y parte sur de dos de ellas. La variedad Klein Cóndor no figuró entre las cosechadas en el año agrícola 1954/55 por no haber sido aconsejado su cultivo por la Dirección de Producción de Granos y Forrajes.

Es conveniente hacer la aclaración de que los trigos estudiados fueron cosechados en distintas épocas del año, según los consejos de siembra de la citada Dirección, siendo esto un factor que bien puede influir en la composición mineral de los mismos.

Además, no todos los trigos son del mismo tipo oficial por calidad industrial. Las variedades Massaux No. 5, Klein Ince-re, Klein Cóndor y Buck Quequén son de tipo duro, mientras que las variedades Klein Cometa y Benvenuto 3.085 son de tipo semiduro.

Los trigos con los que se formó cada standard provienen de las siguientes localidades:

a) Trigos de la cosecha 1953/54.

Subregión I: San Francisco, Angel Gallardo, Rafaela.

Subregión V Sur: Bordenave, General Pico, Cuatroscho.

b) Trigos de la cosecha 1954/55.

Subregión I: San Francisco, Rafaela.

Subregión II Norte: Pergamino, Oliveros, J.R. Cárcano,
Iriville.

Subregión II Sur: Bragado, Bellocq, Llavallol, Wernas.

Subregión III: Tesanos Pinto.

Subregión IV: La Dulce (Buck y Cooperativa), Balsarce.

Subregión V Norte: Manfredi, Río Cuarto.

Subregión V Sur: Bordenave, Anguil.

RESULTADOS

En los cuadros XIV y XV figura el contenido en humedad y cenizas de los trigos estudiados de las dos cosechas ya citadas, datos que fueron suministrados por el mismo Laboratorio de Análisis de la División del Ministerio de Agricultura y Ganadería que facilitó las muestras.

CUADRO XIV

Contenido en humedad y cenizas de las muestras analizadas de la cosecha 1953/54.

Subregiones	Variedades							
	Massaux No. 5.		Klein Lucero		Klein Cóndor		Benvenuto 3.08	
	Humed. %	Ceniz. %	Humed. %	Ceniz. %	Humed. %	Ceniz. %	Humed. %	Ceniz. %
I	12,13	2,60	12,28	2,34	12,04	2,14	11,36	2,22
V Sur	11,04	2,41	11,18	1,97	11,27	2,23	11,78	2,11

CUADRO XV

Contenido en humedad y cenizas de las muestras analizadas en la cosecha 1954/55.

Subreg.	Variedades									
	Massaux N° 5		Klein Lucero		Back Quequén		Klein Coneta		Benvenuto.3085	
	Humed. %	Ceniz. %	Humed. %	Ceniz. %	Humed. %	Ceniz. %	Humed. %	Ceniz. %	Humed. %	Ceniz. %
I	11,10	2,41	11,02	2,32	10,91	2,44	12,25	2,27	12,10	2,51
II Norte	11,53	2,36	11,67	2,35	11,41	2,52	12,04	2,03	11,58	2,19
II Sur	11,33	2,28	11,10	2,06	11,02	2,39	12,08	2,18	11,20	2,26
III	11,78	2,27	12,49	2,02	12,53	2,29	12,83	2,01	13,32	2,03
IV	11,98	1,88	11,88	1,79	11,70	2,02	12,04	1,83	11,09	1,76
V Norte	11,83	2,52	11,39	1,99	11,47	2,42	12,05	2,14	11,60	2,27
V Sur	10,36	2,38	10,08	2,03	10,88	2,35	11,98	2,13	11,12	2,39

Los valores hallados para el contenido en fósforo total y ácido fítico de las muestras analizadas figuran en los cuadros

XVI y XVII. El primero corresponde a trigos de la cosecha 1953/54 y el segundo a los de la cosecha 1954/55. Para el fósforo total los resultados están expresados en gramos de pentóxido de fósforo por cien gramos de trigo seco, y para el ácido fítico directamente en gramos de éste por cien gramos de muestra seca.

CUADRO XVI

Contenido en fósforo total (P_2O_5) y ácido fítico de las muestras analizadas de la cosecha 1953/54.

Subregiones	Variedades							
	Massaux No. 5.		Klein Lucero		Klein Cóndor		Benvenuto 308	
	P_2O_5 gr. %	Ac.fít. gr. %	P_2O_5 gr. %	Ac.fít. gr. %	P_2O_5 gr. %	Ac.fít. gr. %	P_2O_5 gr. %	Ac.fít. gr. %
I	1,221	1,366	1,206	1,500	1,222	1,324	1,254	1,422
V Sur	1,157	1,373	0,986	1,190	1,174	1,384	1,209	1,482

CUADRO XVII

Contenido en fósforo total (P_2O_5) y ácido fítico de las muestras analizadas de la cosecha 1954/55.

Subregiones	Variedades									
	Massaux N° 5.		Klein Lucero		Buck Quequén		Klein Cometa		Benvenuto 3	
	P_2O_5 gr. %	Ac.fít. gr. %	P_2O_5 gr. %	Ac.fít. gr. %	P_2O_5 gr. %	Ac.fít. gr. %	P_2O_5 gr. %	Ac.fít. gr. %	P_2O_5 gr. %	Ac.fít. gr. %
I	1,148	1,317	1,126	1,184	1,187	1,547	1,235	1,530	1,177	1,510
II Norte	1,115	1,385	1,089	1,357	1,134	1,451	1,084	1,477	1,164	1,340
II Sur	0,896	1,168	0,992	1,210	1,098	1,376	1,025	1,355	1,069	1,100
III	1,131	1,431	0,969	1,222	1,131	1,301	1,061	1,029	0,995	1,370
IV	0,890	1,097	0,718	0,972	0,934	1,114	0,885	1,098	0,855	1,150
V Norte	1,222	1,440	1,010	1,357	1,217	1,576	1,080	1,353	1,130	1,440
V Sur	1,163	0,997	1,291	0,766	1,190	1,317	1,128	1,078	1,177	1,330

En el cuadro XVIII figuran los valores máximo y mínimo de contenido en fósforo total y ácido fítico (expresados como ya se in

dicó) de cada una de las variedades estudiadas considerando todas las subregiones. Y en el cuadro XIX se indica para cada subregión, el máximo y el mínimo del contenido en fósforo total y ácido fítico de las variedades consideradas.

CUADRO XVIII

Valores máximo y mínimo del contenido en fósforo total (P_2O_5) y ácido fítico de cada variedad considerando todas las subregiones.

Variedades	Fósforo total (P_2O_5)		Acido fítico	
	Máximo	Mínimo	Máximo	Mínimo
Massax No. 5	1,222	0,890	1,440	0,997
Klein Lucero	1,291	0,718	1,357	0,766
Buck Quequén	1,217	0,934	1,576	1,114
Klein Cometa	1,235	0,885	1,530	1,029
Benvenuto 3085	1,177	0,855	1,516	1,102

CUADRO XIX

Valores máximo y mínimo del contenido en fósforo total (P_2O_5) y ácido fítico de las distintas variedades dentro de cada subregión.

Subregiones	Fósforo total (P_2O_5)		Acido fítico	
	Máximo	Mínimo	Máximo	Mínimo
I	1,235	1,126	1,547	1,184
II Norte	1,164	1,084	1,477	1,346
II Sur	1,098	0,896	1,376	1,102
III	1,131	0,969	1,431	1,029
IV	0,934	0,718	1,157	0,972
V Norte	1,222	1,010	1,576	1,353
V Sur	1,291	1,128	1,337	0,766

Al fin de poder comprar los contenidos en fósforo fítico y fósforo total de los trigos argentinos analizados en el presente trabajo con los valores respectivos registrados en la bibliografía, en el cuadro XX, se dan aquellos contenidos expresados en términos de fósforo (en gr/100 gr de trigo seco) y el porcentaje de la relación fósforo fítico/fósforo total, correspondientes a las variedades estudiadas de la cosecha 1954/55. Y en el cuadro XXI figuran los valores registrados en la bibliografía para los contenidos de cenizas, fósforo total y fósforo fítico en trigos, indicándose en cada caso los términos en que están expresados los mismos.

CUADRO XX

Contenido en fósforo total y fósforo fítico de las muestras analizadas de la cosecha 1954/55.

Subregiones	VARIETADES				
	Masaux No.5	Klein Lucero	Buck Quequén	Klein Cometa	Benvenuto 3085
P total (gr. %)					
I	0,500	0,491	0,517	0,538	0,513
II Norte	0,486	0,475	0,494	0,473	0,507
II Sur	0,391	0,432	0,479	0,447	0,466
III	0,493	0,422	0,493	0,462	0,434
IV	0,388	0,313	0,407	0,386	0,373
V Norte	0,533	0,440	0,531	0,471	0,493
V Sur	0,507	0,563	0,522	0,492	0,513
P fítico (gr. %)					
I	0,371	0,333	0,436	0,431	0,427
II Norte	0,390	0,382	0,409	0,416	0,379
II Sur	0,329	0,341	0,387	0,381	0,310
III	0,403	0,344	0,366	0,290	0,386
IV	0,309	0,274	0,314	0,309	0,326
V Norte	0,405	0,382	0,444	0,381	0,407
V Sur	0,281	0,216	0,371	0,303	0,376
Porcentaje P fítico / P Total					
I	74,2	67,8	84,3	80,1	83,2
II Norte	80,2	80,4	82,8	87,9	74,7
II Sur	84,1	78,9	80,8	85,2	66,5
III	81,7	81,5	74,2	62,8	88,6
IV	79,6	87,5	77,1	80,0	87,4
V Norte	76,0	86,8	83,6	80,9	82,5
V Sur	55,4	38,4	71,1	61,8	73,3

CUADRO XXI

Valores registrados en la bibliografía para el contenido de cenizas, fósforo total y fósforo fítico en trigos.

Autores	Cenizas	P total	P fítico	P fítico/ P total
	(gr. %)	(gr. %)	(gr. %)	%
Booth, Carter, Jones y Moran				70-75
Common		0,204-0,418	0,111-0,305	52,9-77,6
Courtois y Pérez			0,145-0,177 (blando)	
Courtois y Pérez			0,183-0,200 (duro)	
Greaves y Hirst	1,35-2,94	0,150-0,458		
Hays	1,56	0,350	0,203	57
Kent-Jones y Amos			0,170-0,320	
Mc Cance y Widdowson		0,361	0,168	46,4
Medrano (x)	B.Q.: 1,578		0,166	
Medrano (x)	K.C.: 1,821		0,179	
Medrano (x)	B.3085:1,385		0,201	
Moran	1,49	0,311	0,213	68
Pedersen		0,319	0,273	86
Pons, Stansbury y Hoffmann		0,350	0,266	
Pringle y Moran		Manitoba:		
		0,381	0,274	72
Pringle y Moran		Plata :		
		0,481	0,364	76
Pringle y Moran		inglés :		
		0,451	0,328	73
Quagliariello	1,76	0,376		70,8
Rather				84
Webster		0,426	0,303	71
Wiazownicka				79
Young y Greaves			0,152-0,328	57-94
		<u>P₂O₅ (gr. %)</u>		
Feyte		0,8-1,4 (franc)		
Feyte		0,6-0,7 (srb)		
Schrumpf-Pierron	Hindi :			
	1,55-1,82	0,656-0,807		
Schrumpf-Pierron	Baladi:			
	1,72-1,82	0,805-0,817		

(x) Variedades: Buck Quequén, Molin Cometa, Benvenuto 3085.

Los contenidos en ácido fítico y fósforo total de los trigos argentinos considerados en este estudio están dentro del orden de valores respectivos informados para trigos extranjeros. Cabe hacer notar sin embargo, que aquéllos son en general superiores a éstos, siendo también más alto el contenido en cenizas de los primeros.

En cuanto a los contenidos en ácido fítico y cenizas dados por Madrone para trigos argentinos cosechados en la provincia de Entre Ríos, ellos son inferiores a los correspondientes informados en este trabajo.

La Srta. Julia R. López (50) determinó el contenido en calcio de las mismas muestras consideradas en el presente estudio aplicando para ello el método de la A.O.A.C. para la valoración del citado elemento en harinas (2).

El fundamento de dicha técnica es el siguiente: Calcificación de la muestra, con nitrato de magnesio, a 550°. Insolubilización de la sílice con ácido clorhídrico concentrado. Dilución y adición de solución de acetato de sodio al 20 %, en presencia de verde de bromocresol como indicador, para llevar a un pH de 4,8 - 5,0. Precipitación del calcio con solución de ácido oxálico al 3 %, y valoración del oxalato de calcio formado con solución 0,05N de permanganato de potasio, a una temperatura de 70°- 90°.

En los cuadros XXII y XXIII figuran los valores que obtuvo para las muestras de las cosechas 1953/54 y 1954/55 respectivamente. Los resultados están expresados en miligramos de calcio por cien gramos de trigo seco.

CUADRO XXII

Contenido en calcio de las muestras de la cosecha 1953/54.

Subregiones	VARIETADES			
	Massaux No.5.	Klein Lucero	Klein Condor	Benvenuto 308
	mgr. Ca/100 gr.			
I	53,8	48,1	38,2	36,6
V Sur	30,4	32,2	27,7	30,0

CUADRO XXIII

**Contenido en calcio de las muestras de la cosecha
1954/ 55.**

Subreg.	VARIETADES				
	Massart No. 5	Klein Lucero	Buck Quequén	Klein Cometa	Benver 308'
	mg Ca/100 gr.				
I	21,9	39,7	23,8	24,5	29,2
II Norte	21,3	33,3	31,4	16,3	27,3
II Sur	24,0	31,1	27,0	10,0	22,6
III	31,0	44,6	37,9	24,1	24,7
IV	18,1	28,9	29,4	13,4	33,1
V Norte	23,2	34,5	28,3	30,4	32,8
V Sur	32,5	28,7	32,6	21,3	41,1

REPRESENTACIONES GRAFICAS

Se confeccionaron gráficos con el objeto de observar si existían relaciones entre: 1) los contenidos en fósforo total y cenizas; 2) los contenidos en ácido fítico y fósforo total; 3) los contenidos en calcio y ácido fítico.

Los representaciones se hicieron considerando los valores correspondientes a cada variedad dentro de las diferentes subregiones, y a las distintas variedades dentro de cada subregión, para las trigos analizadas de la cosecha 1954/55. Las rectas fueron trazadas por el método de los cuadrados mínimos.

En los gráficos 1 a 5, se han representado para cada variedad, los contenidos de fósforo total (expresados en gr de $P_2O_5/100$ gr. de trigo seco) en función de las de cenizas; y en los gráficos 6 a 12, se ha hecho representaciones semejantes para cada subregión.

En los gráficos 13 e 17, figuran para cada variedad, los contenidos de ácido fítico (expresados en gr/100 gr. de trigo seco representados en función de los de fósforo total (expresados en gr de $P_2O_5/100$ gr. de trigo seco); y en los gráficos 18 a 24, figuran representaciones semejantes considerando cada subregión.

Los gráficos 25 a 29 dan para cada variedad, los contenidos de calcio (expresados en mgr/100 gr. de trigo seco) representados en función de los de ácido fítico (expresados en gr/100 gr. de trigo seco); y los gráficos 30 a 36 corresponden a representaciones semejantes para cada subregión.

Finalmente, en el gráfico 37, se ha representado el contenido de ácido fítico en función del de calcio para todos los análisis practicados en trigos de la cosecha 1954/55. La recta trazada por el método de los cuadrados mínimos, con un factor de correlación de $-0,54$, no señala una vinculación definida entre esos contenidos.

El estudio de los distintos gráficos indica, en general, la necesidad de disponer de un número mayor de análisis para poder establecer relaciones definidas, si las hay, entre los contenidos en ellos representados.

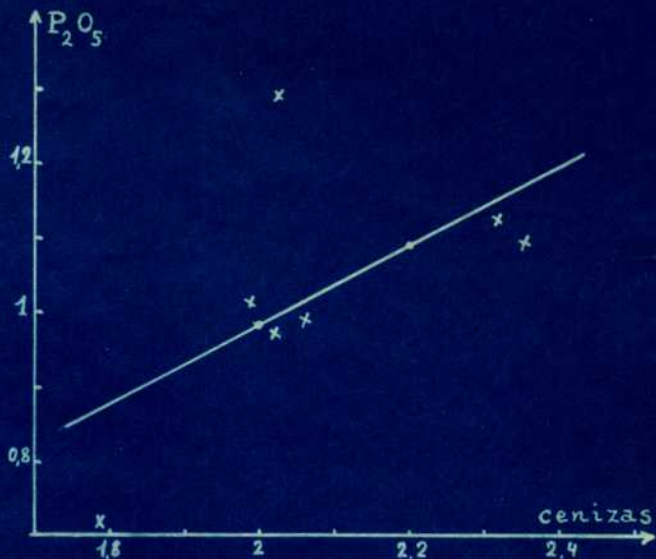
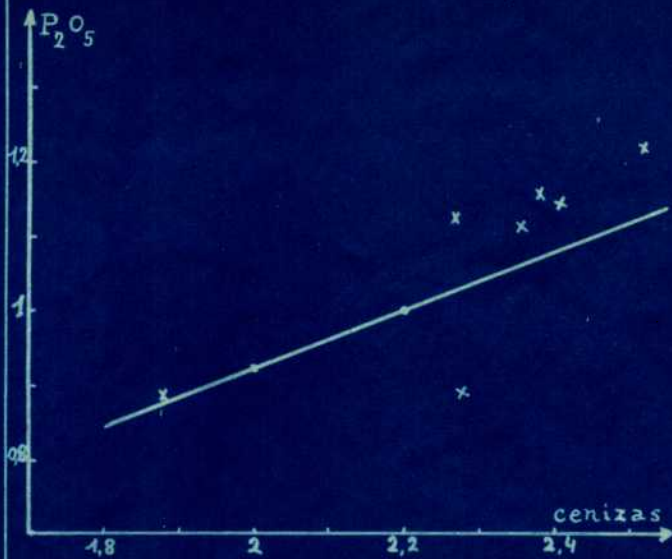


Gráfico 3

Buck Quequén

Gráfico 4

Klein Cometa

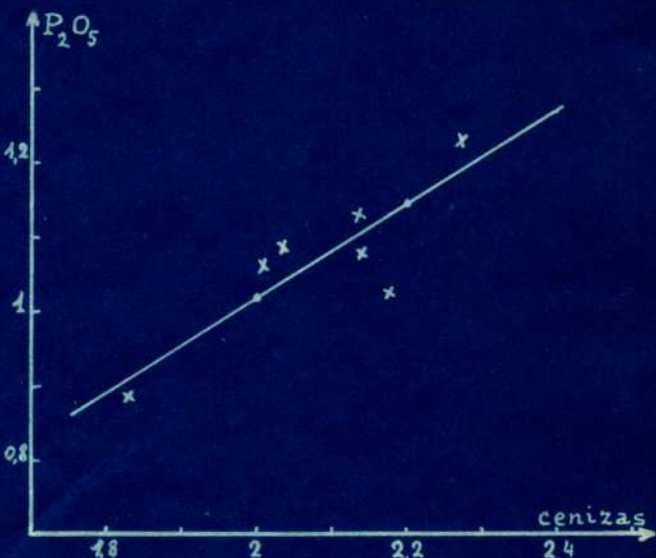
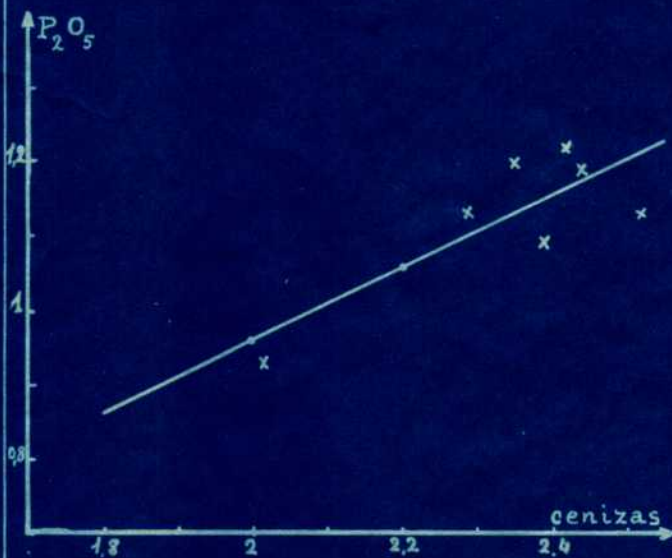
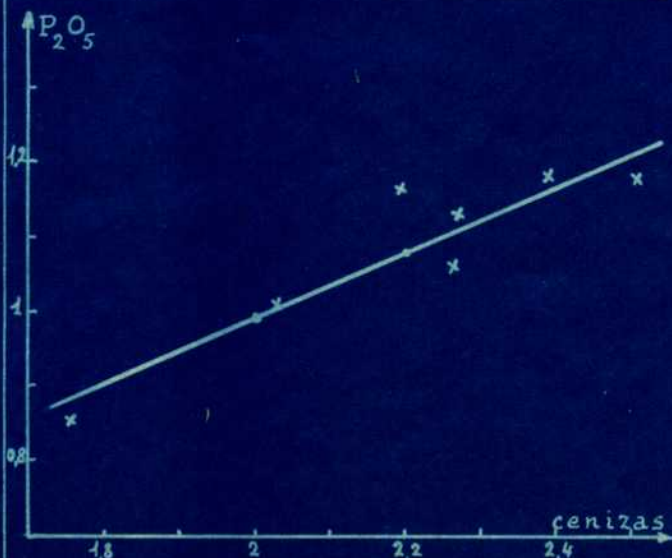


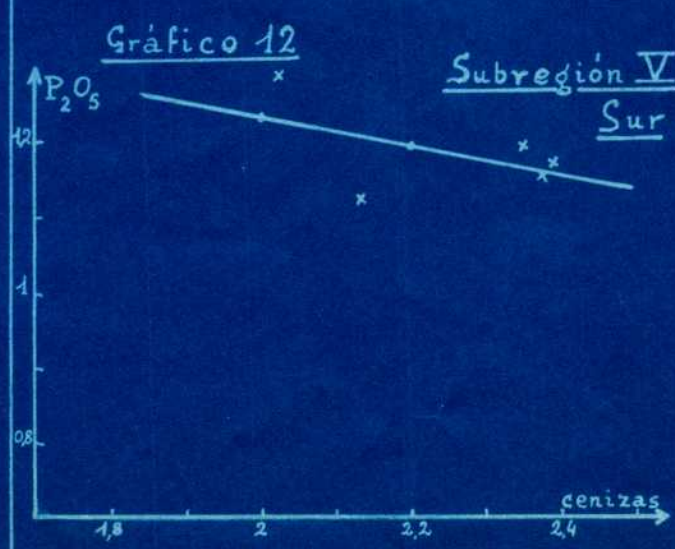
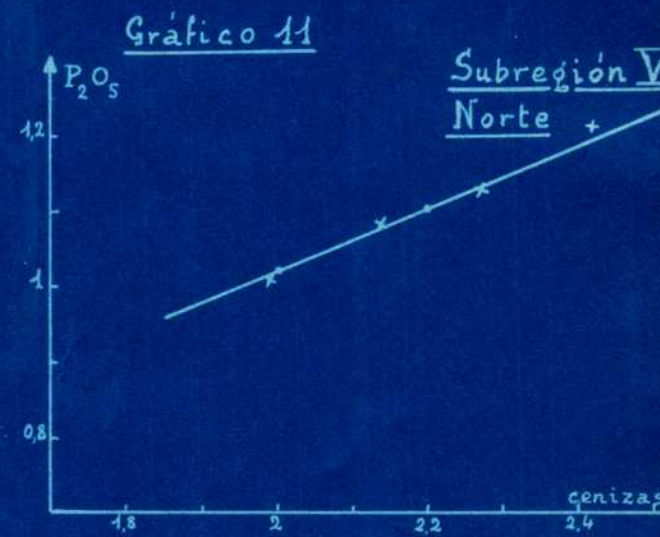
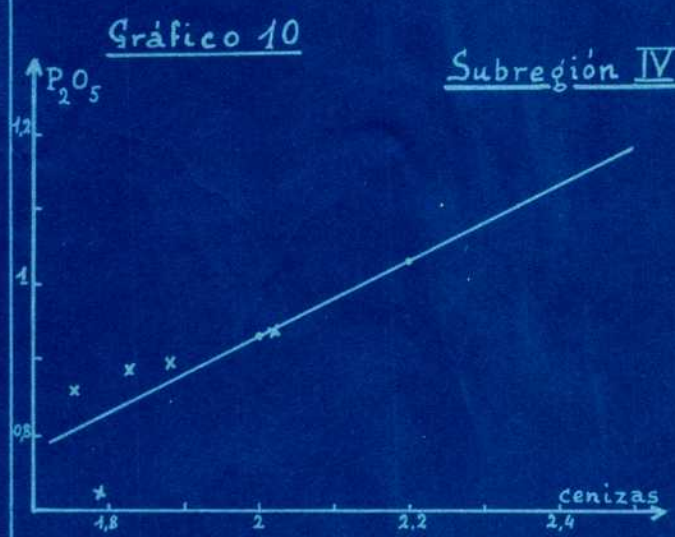
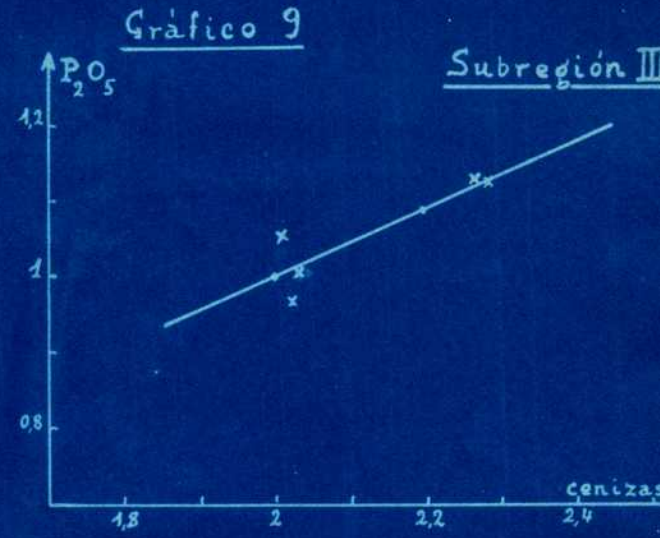
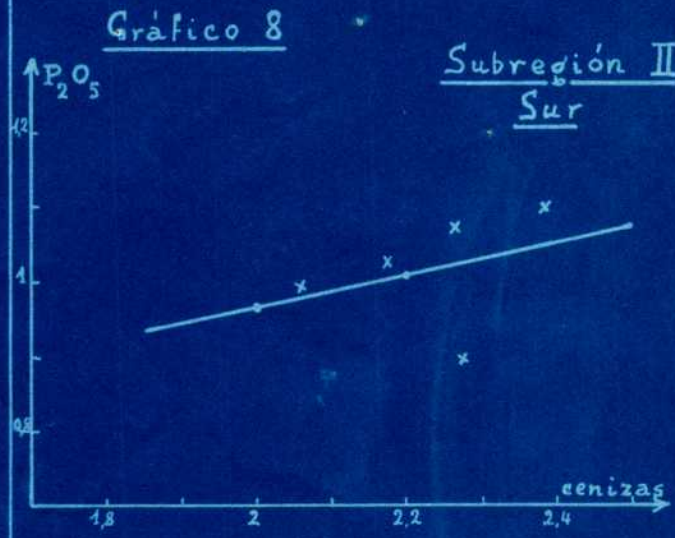
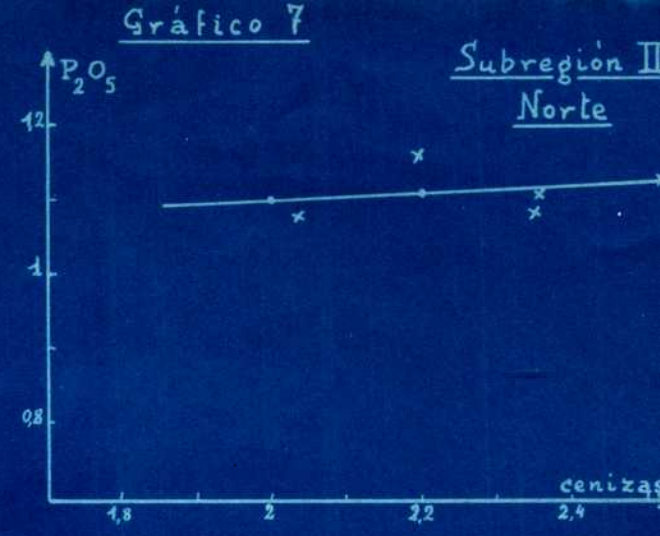
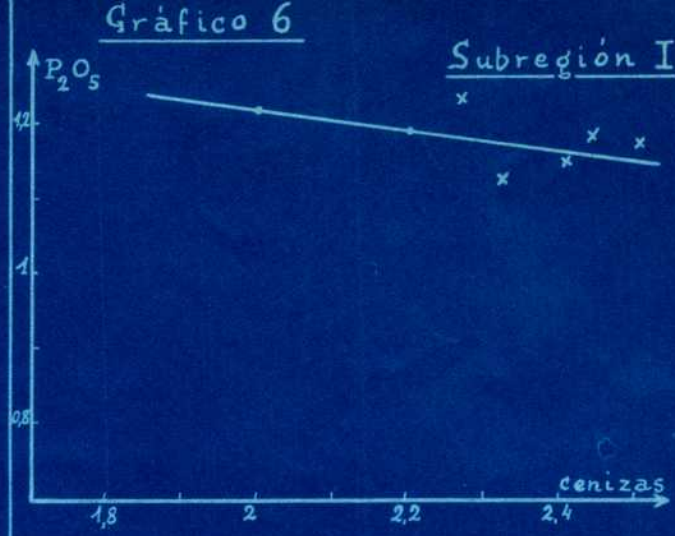
Gráfico 5

Benvenuto 3085



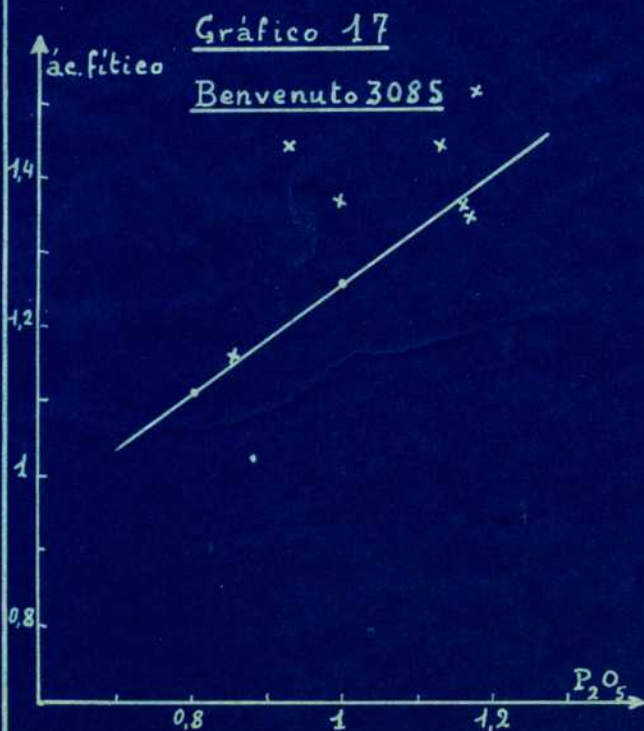
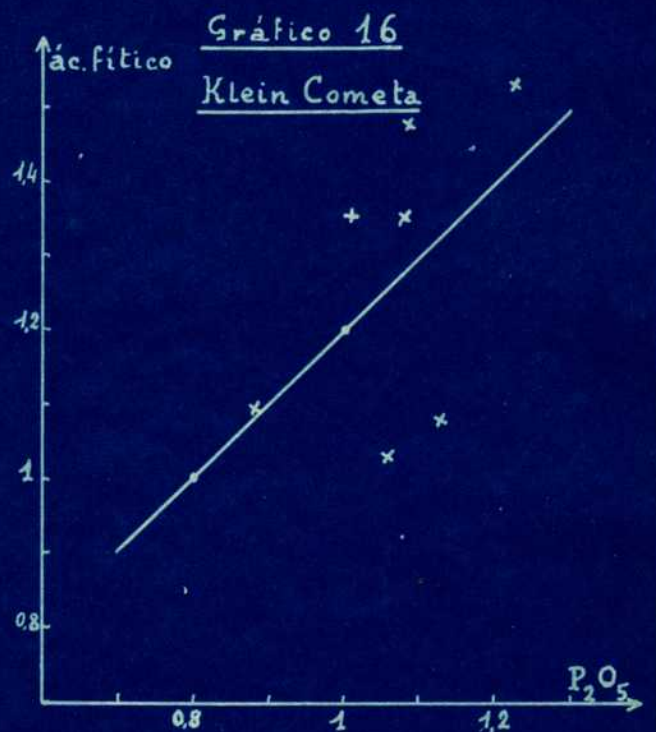
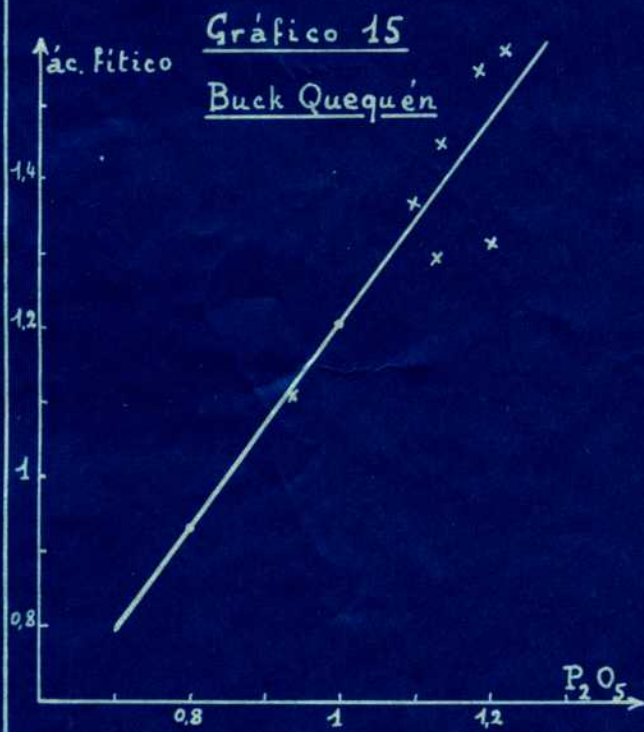
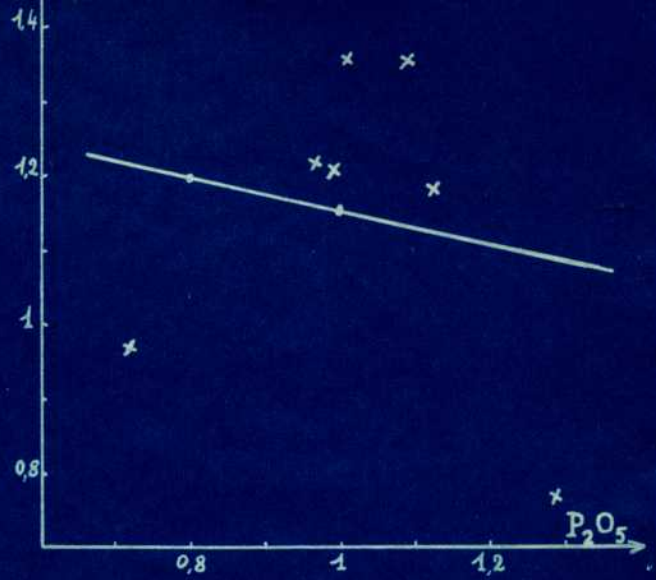
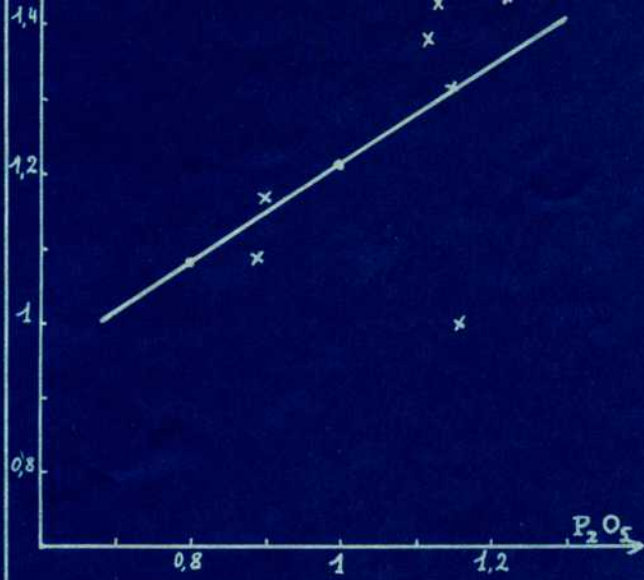
Escala

$X: 1\text{mm} = 0,01\text{gr cenizas } \%$
 $Y: 1\text{mm} = 0,01\text{gr } P_2O_5 \%$



Escala

- X: 1 mm = 0,01 gr cenizas %
- Y: 1 mm = 0,01 gr P_2O_5 %



Escala

X: 1 mm = 0,01 gr P₂O₅ %

Y: 1 mm = 0,01 gr ác. fítico %

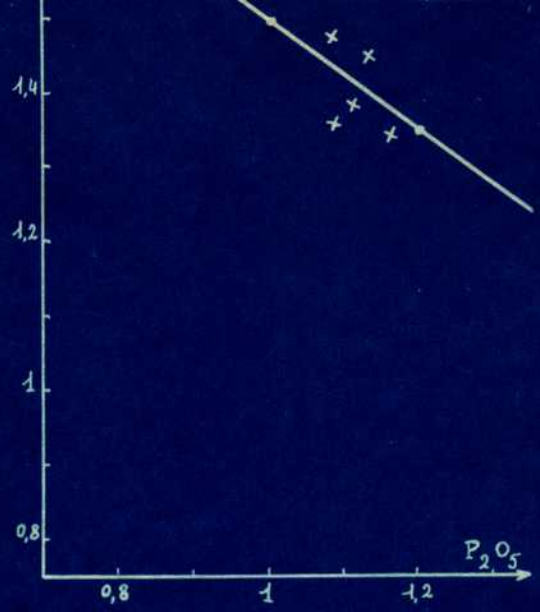
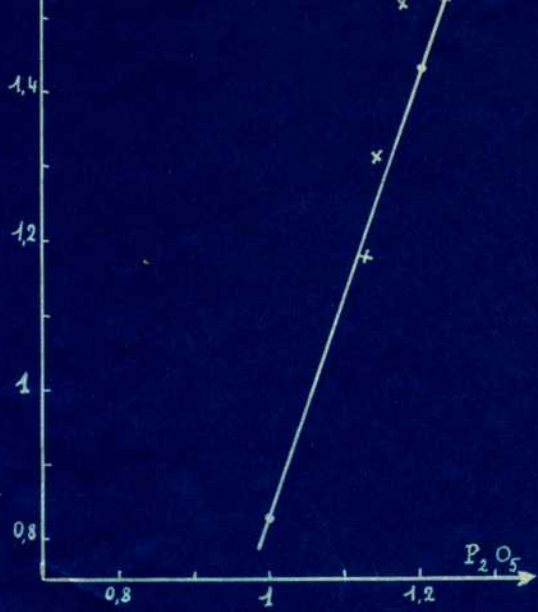


Gráfico 20

Subregión II
Sur

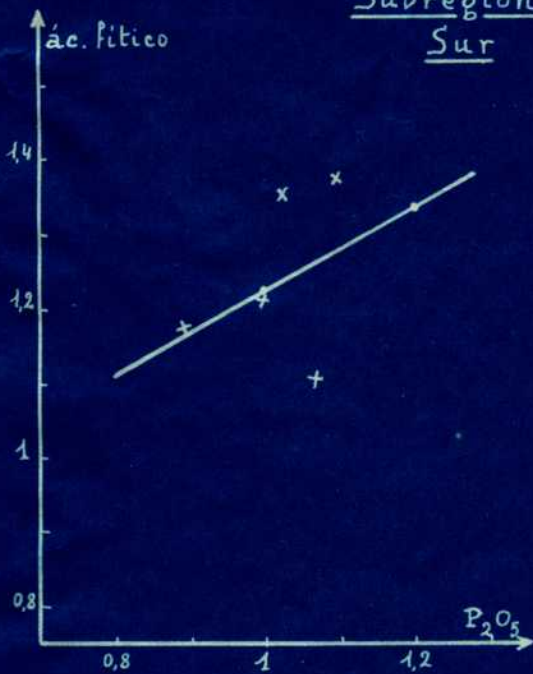


Gráfico 21

Subregión III

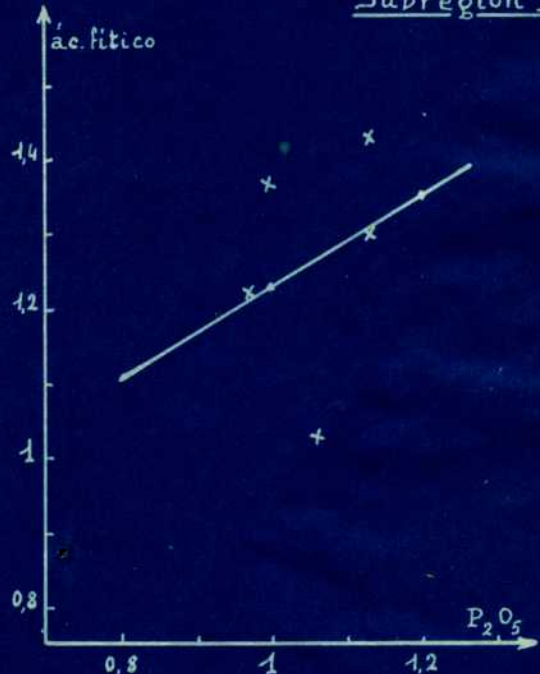


Gráfico 22

Subregión IV

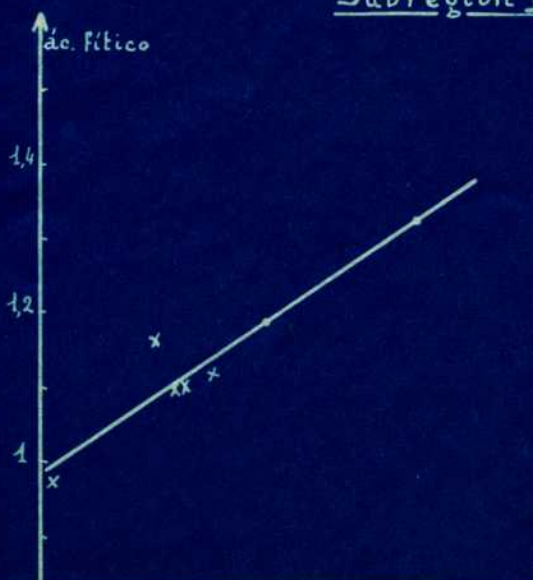
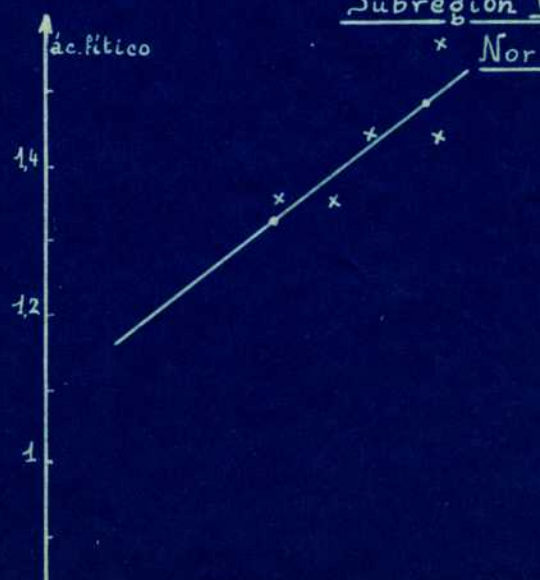


Gráfico 23

Subregión V
Norte



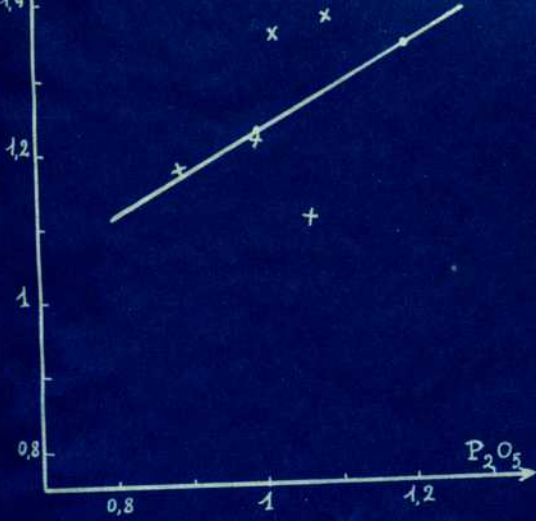


Gráfico 22

Subregión IV

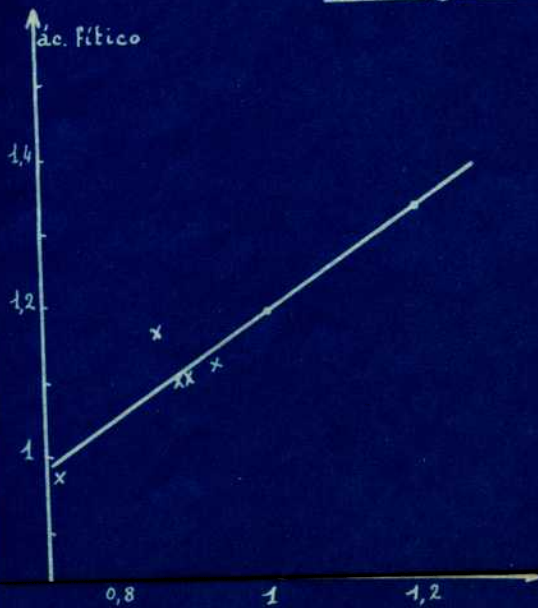


Gráfico 23

Subregión V

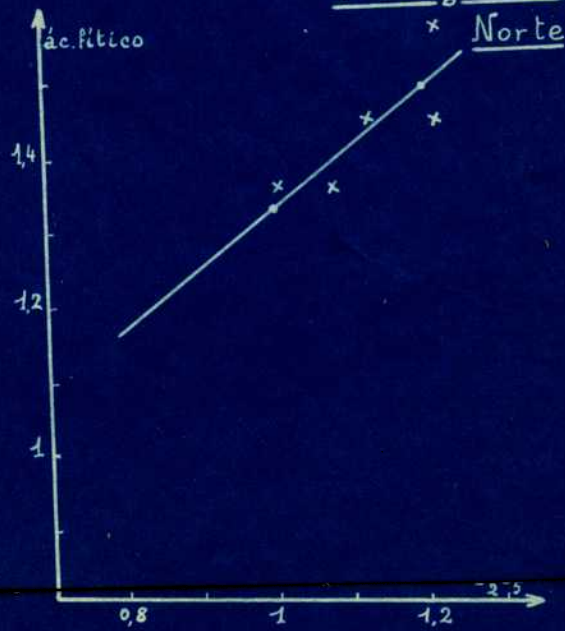
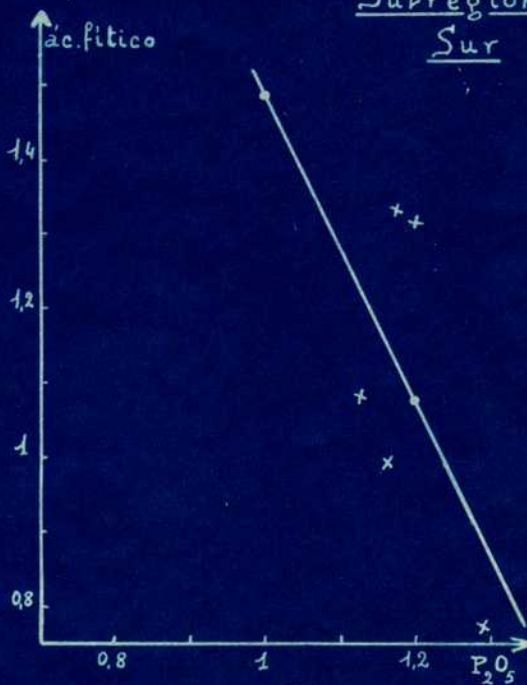


Gráfico 24

Subregión V
Sur



Escala

- X: 1 mm = 0,01 gr P_2O_5 %
- Y: 1 mm = 0,01 gr ácido fítico %

Gráfico 25

Massaux N° 5

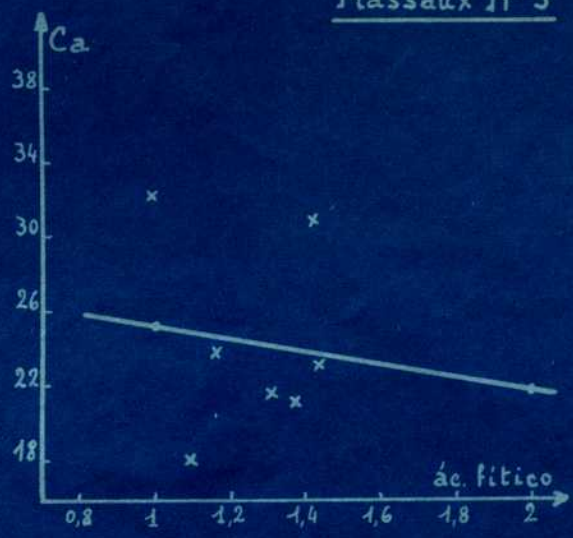


Gráfico 26

Klein Lucero

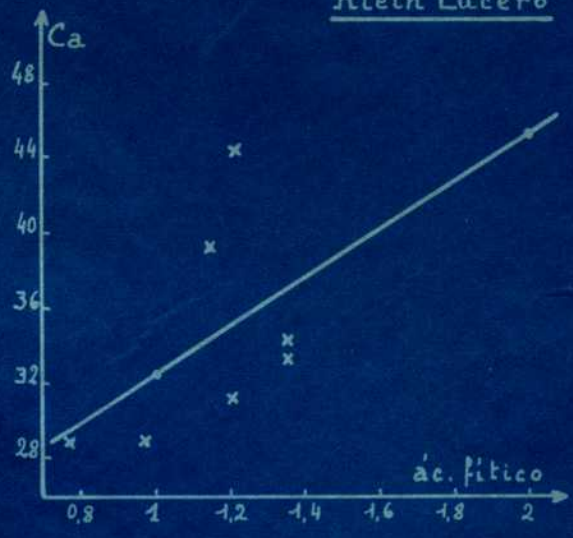


Gráfico 27

Buck Quequén

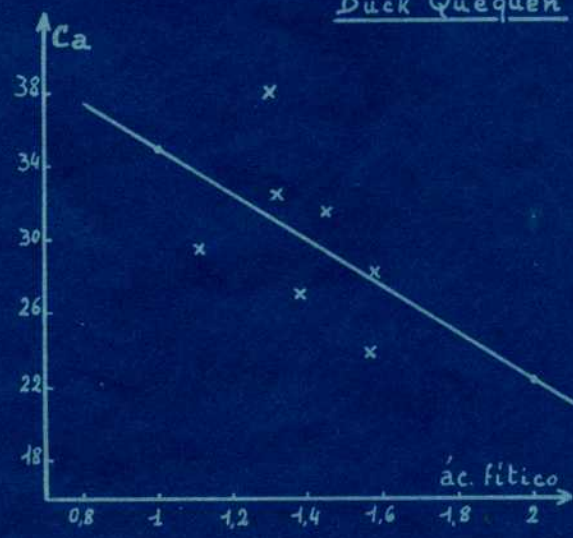


Gráfico 28

Klein Cometa

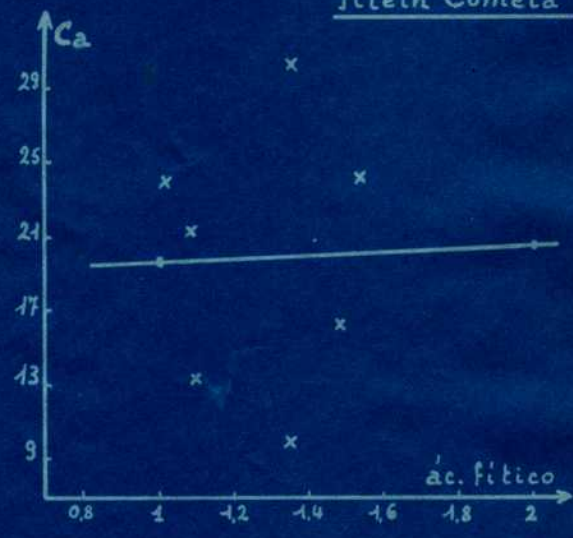
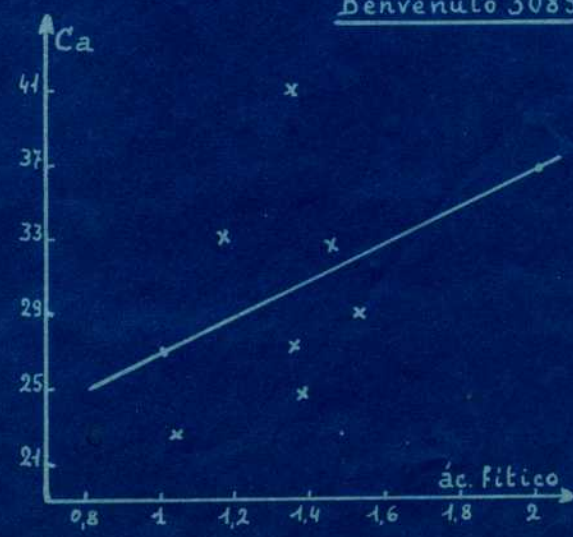


Gráfico 29

Benvenuto 3085



Escala

$X: 1 \text{ cm} = 0,2 \text{ gr ácido fítico } \%$
 $Y: 1 \text{ cm} = 4 \text{ mgr Ca } \%$

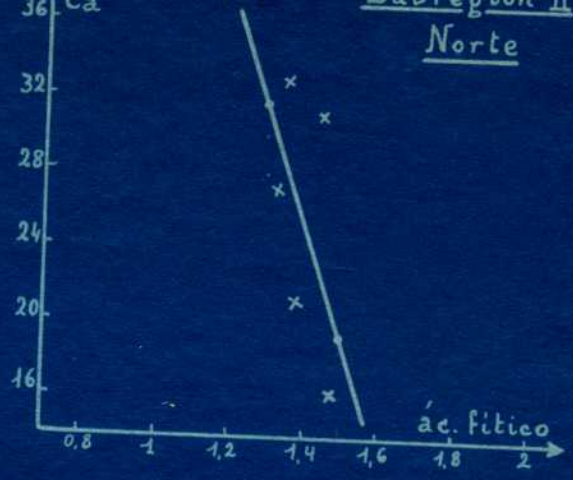
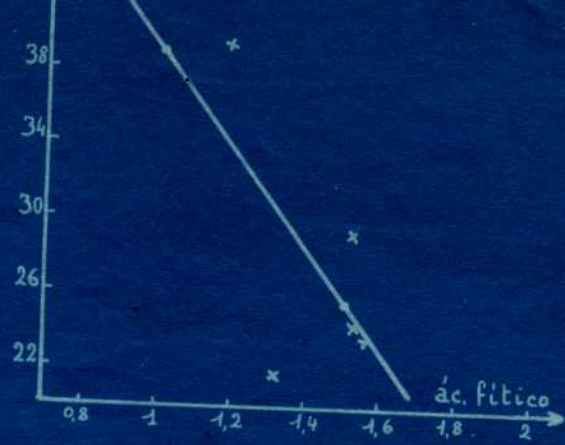


Gráfico 32

Subregión II Sur

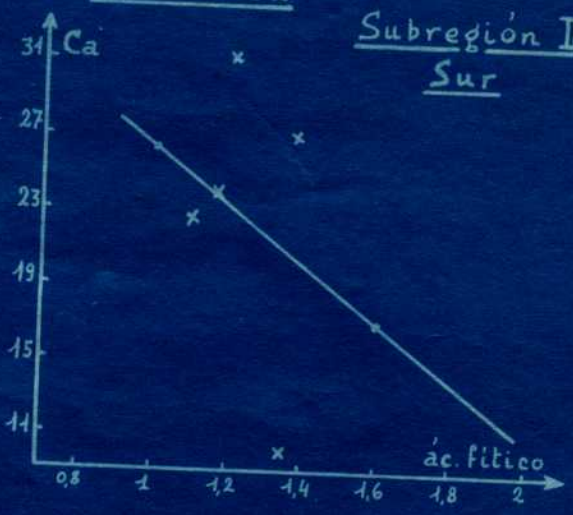


Gráfico 33

Subregión III

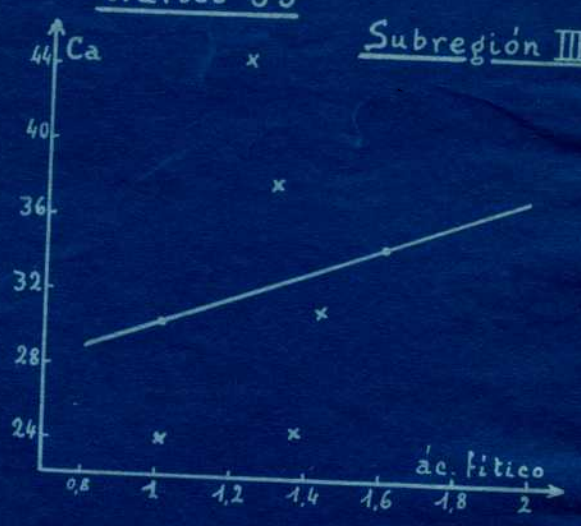


Gráfico 34

Subregión IV

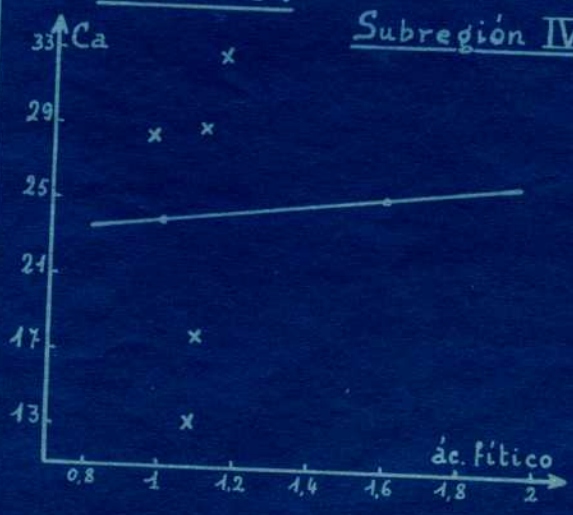


Gráfico 35

Subregión V Norte

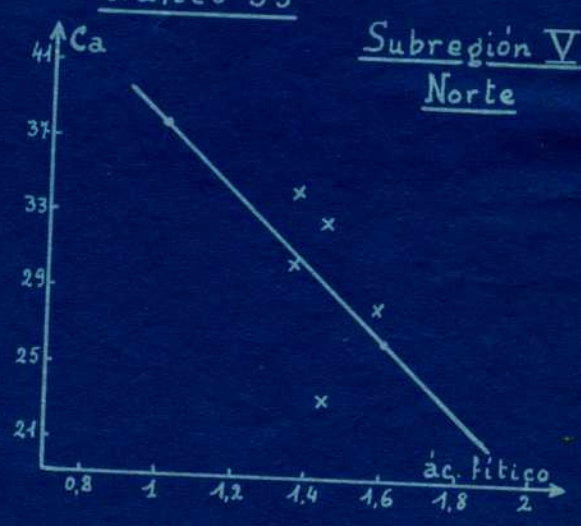
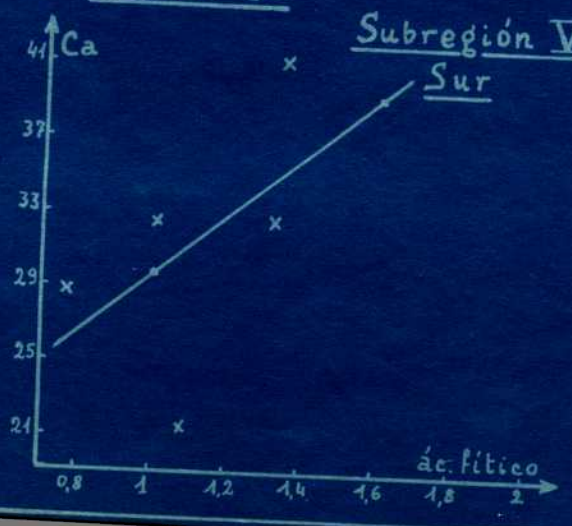


Gráfico 36

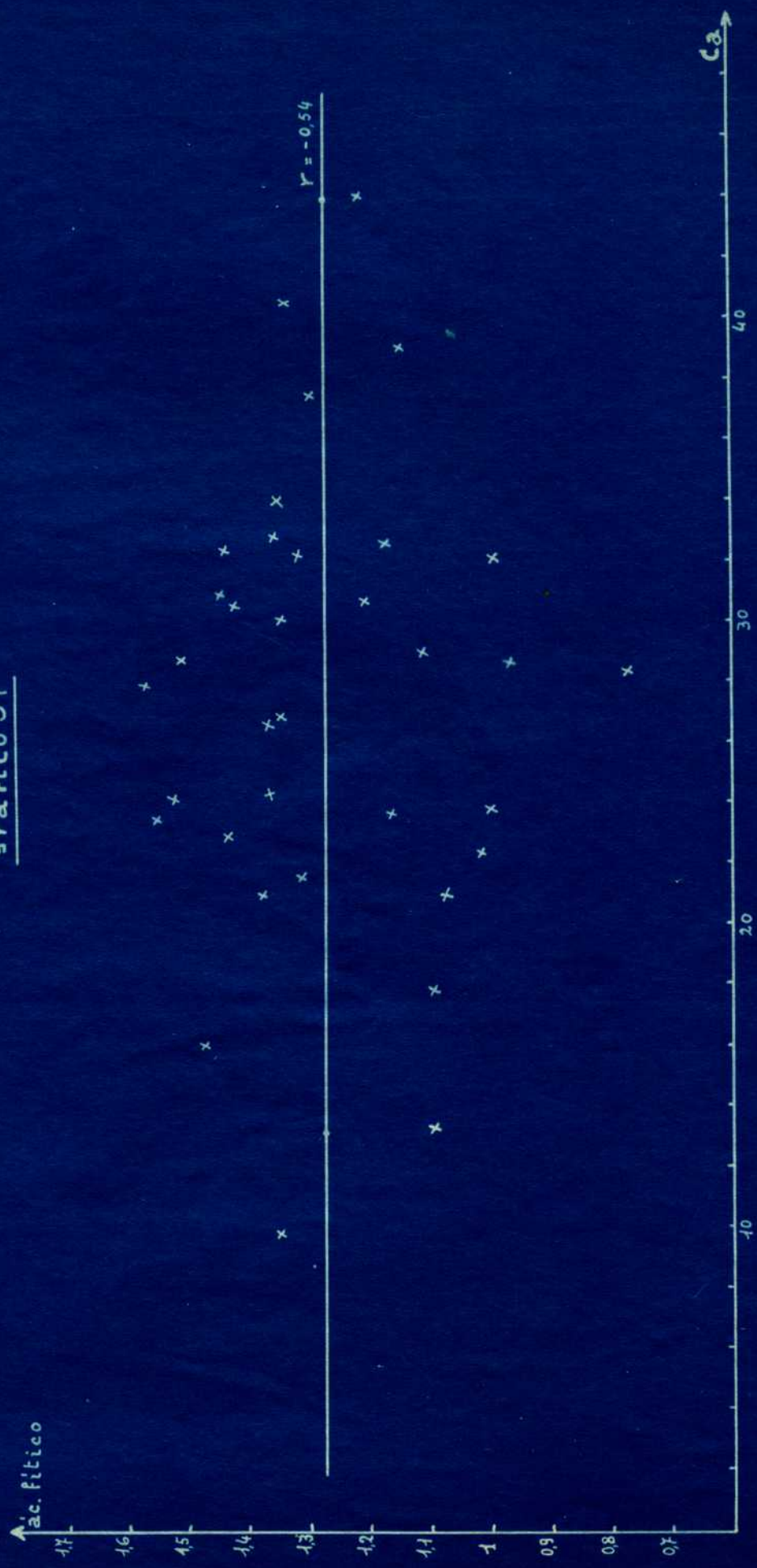
Subregión V Sur



Escala

- X: 1cm = 0,2 gr ácido fólico %
- Y: 1cm = 4 mgr Ca %

Gráfico 37



Escala

- X: 1 mm = 0,2 mgr Ca %
- Y: 1 mm = 0,01 gr ác. fítico %

CONCLUSIONES

1) Se presenta una revisión bibliográfica al día de estudios relativos al problema nutricional planteado por la presencia de ácido fítico en los alimentos, ya que, como es sabido, dicho ácido interfiere en la absorción del calcio y del hierro por precipitar estos elementos en el tracto intestinal, siendo además el fósforo ^{de} por su molécula inutilizable para el organismo.

2) Se dan valores de contenidos en ácido fítico y fósforo total de trigos argentinos de los cosechas 1953/54 y 1954/55, determinados en muestras standard de diferentes variedades cosechadas en las distintas subregiones de la zona triguera del país. De la primera de las citadas cosechas, se analizaron las variedades Massax No. 5, Klein Lucero, Molin Cándor y Benvenuto 3085, correspondientes a las subregiones I y V Sur; de la segunda de esas cosechas, se estudiaron las variedades Massax No. 5, Klein Lucero, Buck Quequén, Klein Cometa y Benvenuto 3085, cosechadas en cada una de las siete subregiones que integran la zona triguera argentina.

3) Considerando las variedades estudiadas de la cosecha 1954/55, se puede establecer de un modo general, que la variedad más rica en ácido fítico y en fósforo total es la Buck Quequén, mientras que la más pobre en ambos contenidos es la Klein Lucero.

4) Considerando las distintas subregiones, es posible comprobar que, en general, para el año agrícola 1954/55, las variedades cosechadas en la subregión V Sur presentan las mayores contenidos en fósforo total, mientras que las cosechadas en la subregión V Norte son las más ricas en ácido fítico; los trigos de la subregión III son los más pobres en ambos contenidos.

Es de hacer notar que los variedades cosechadas en la subregión V Sur (que son las más ricas en fósforo total) presentan en general, los menores contenidos de fósforo fítico expresados

dos como porcentaje del fósforo total.

5) Independientemente de los factores variedad y subregión de cultivo, los valores máximos obtenidos para los contenidos de fósforo fítico y fósforo total en los trigos de la cosecha 1954/55 son respectivamente 0,444 gr (o sea 1,576 gr. de ácido fítico) y 0,563 gr (o sea 1,291 gr de P_2O_5) por 100 gr de muestra seca. Los valores mínimos correspondientes son 0,216 gr (o sea 0,766 gr. de ácido fítico) y 0,313 gr. (o sea 0,718 gr. de P_2O_5) por 100 gr. de trigo seco.

Expresando los valores hallados en términos de fósforo fítico y fósforo total por ciento, se puede establecer que el primero de esos contenidos es, en promedio, un 77 % del segundo.

6) Se presentan gráficos relacionados: a) los valores de fósforo total y cenizas; b) los valores de ácido fítico y fósforo total; c) los valores de calcio y ácido fítico.

Estos gráficos se han trazado en cada caso, para cada variedad considerándola en las distintas subregiones, y para cada subregión considerando las diferentes variedades en ella cosechadas.

De los mismos puede concluirse que, considerando las distintas variedades, el contenido en fósforo total es en general proporcional al de cenizas. En cuanto a las demás relaciones, nada puede establecerse al respecto en forma definida. Sería necesario para ello disponer de un número considerable de valores correspondientes a otros tantos análisis.

7) En lo referente al método de Heubner y Stadler con la modificación introducida en el mismo por Casares y Moreno, empleado en el presente trabajo para la determinación de ácido fítico en trigos, se puede afirmar que, si bien es factible que no permita una valoración exactamente cuantitativa (por requerir la titulación de una solución con formación de un precipitado coloi-

dal de decantación lenta), se trata de una técnica relativamente sencilla y rápida, con la que se obtienen valores concordantes, resultando apropiada para determinaciones en serie con fines comparativos como las que ocupan este estudio.

BIBLIOGRAFIA

- 1) American Association of Cereal Chemists.- Cereal Laboratory Methods. (1935).
- 2) Association of Official Agricultural Chemists.- Official Methods of Analysis. (1950)
- 3) Atademir S.R.- Addition of calcium and iron salts to diets containing phytic acid.- *Farmakolog.* 21, 355-8 (1951).- C.A. 11348 f (1952).
- 4) Bailey C.H.- The Constituents of Wheat and Wheat Products. (1944).
- 5) Hains G.S.- Effect of commercial fertilizers and green manure on yield and nutritive value of wheat. I. Nutritive value with respect to total phosphorus, phytic phosphorus, non phytic phosphorus, and calcium content of the grain. *Cereal Chem.* 26, 317-25 (1949).
- 6) Bharucha R.P. y Mc Gay C.M.- The retention of calcium from gypsum and phytin by the albino rat in relation to life span.- *J. Gerontol* 9, 439-45 (1954).- C.A. 8415 b (1955).
- 7) Bigwood E.J.- Phytic acid composition of corn.- *Arch. intern. physiol.* 56, 89-92 (1948).- C.A. 3116 e (1949).
- 8) Bigwood E.J.- Observations concernant l'acide phytique du grain de froment.- *Bull. soc. chim. biol.* 33, 1261-76 (1951).
- 9) Bodalaki T.- Determination of phosphorus in calcium magnesium inositolphosphate.- *Wiedomosci Farm.* 58, 683-4, 697-9 (1931).- C.A. 2767 (1932).
- 10) Booth R.G., Carter R.H., Jones C.R. y Moran T.- Chemistry of wheat and wheat products.- *J.Soc. Chem. Ind.* 60, 903-8 (1941).
- 11) Booth R.G., Moran T. y Pringle W.J.S.- Nutritive value of ready-to-eat breakfast cereals.- *J. Soc. Chem. Ind.* 64, 302-4 (1945).- C.A. 1947 7 (1946).

- 12) Bronner F., Harris R.S., Malatakoa C.J. y Benda C.E.- Studies in calcium metabolism. Effect of food phytates on Ca^{45} uptake in children on low-Ca breakfasts.- *J. Nutrition* 54, 523-42 (1954).- C.A. 3336 e (1955).
- 13) Buró J.- Towards a rational flour.- *Ann. fals. fraudes* 41, 167-74 (1948).- C.A. 777 e (1949).
- 14) Canals E., Marigona R. y Malla Cordier S.- Assimilation of phytin.- *Galencia Acta (Madrid)* 7, 7-13 (1954).- C.A. 4827 b (1955).
- 15) Caasra R. y Moreno L.- Determinación de ácido inositolofosfórico en harinas y productos dietéticos.- *Anales Bromatol. (Madrid)* 3, 245-57 (1951).
- 16) Common R.H.- Phytic acid and mineral metabolism in poultry.- *Nature* 143, 378-80 (1939).- C.A. 33, 4651 ¹ (1939).
- 17) Common R.H.- The phytic acid content of some poultry feeding stuffs.- *The Analyst* 65, 79-83 (1940).
- 18) Courtois J.- Phytase. I. Comparative action of various enzyme preparations on inositol hexaphosphate and sodium glycerophosphate.- *Bull. soc. chim. biol.* 27, 411-15 (1945).- C.A. 5077 ⁵ (1946).
- 19) Courtois J.E., Desjoubert A. y Fleurent P.- Phytase. XVIII. Action of wheat phytase on some salts of inositolphosphoric acids.- *Bull. soc. chim. biol.* 34, 691-7 (1952).- C.A. 3892 e (1953).
- 20) Courtois J. y Pérez Ch.- Recherches sur la phytase. VIII. Teneur en inositolphosphates et activité phytasique de diverses graines.- *Bull. soc. chim. biol.* 30, 195-201 (1948).
- 21) Courtois J. y Valentino A.- Phytase. IV. Does the ingestion of phytase favor the absorption of inositol phosphates? - *Bull. soc. chim. biol.* 29, 615-20 (1947).- C.A. 1976 d (1948)

- 22) Delofou V. y Marazzi A.D.- Curso de Química Biológica. (1948).
- 23) Kerley E.B.- Determining phytin P. Stoichiometric relation of Fe and P in ferric phytate.- *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.* **16**, 389-91 (1944).
- 24) Gandini A. y Maione V.- Determinaciones fotométricas del fosforo fitinico.- *Ann. chim. applicata* **17**, 154-62 (1947).
- 25) Gillis H.B., Morris L.G. y Hauser G.F.- The effect of phytin on the phosphorus requirement of the chick.- *Poultry Sci.* **28**, 283-8 (1949).- C.A. 8466 e (1949).
- 26) Goedecke F.- Inositolhexaphosphates.- *U.S. J.* **715**, 031, May 28. C.A. 3546 (1929).
- 27) Gortler A.- Nutritive value of bread. Significance of phytic acid in human nutrition.- *Voeding* **15**, 145-58 (1954).- C.A. 8352 e (1954).
- 28) Gouveia A.J.A. de, Pinto Coelho F. y Pedrosa de Lima A.- Determination of phytic acid. II. Panification products in the city of Porto.- *Rev. facultade cienc., Univ. Coimbra*, **15**, 55-76 (1946).- C.A. 1695 e (1951).
- 29) Graves J.E. y Hirst C.T.- The mineral content of grain. - *J. Nutrition* **1**, 293-98 (1929).
- 30) Guillemet R., Jacquot R. y Trémolières J.- Origine du pain calcique.- *Ann. nutrition et aliment.* **4**, 169-80 (1950).
- 31) Harris R.S. y Hooper L.H.- Estimation of phytin phosphorus.- *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.* **6**, 320-1 (1934).
- 32) Harrison D.G. y Mollenby E.- Phytic acid and the rickets-producing action of cereals.- *Biochem. J.* **11**, 1660-79 (1939).
- 33) Hayward H.E.- Estructura de las plantas útiles. (1953).
- 34) Henríquez A. y Pourrat H.- Composición química y aptitud panadera de harinas de diversos grados de extracción. *Anales Bromatol. (Madrid)* **5**, 69-76 (1953).
- 35) Henry K.M. y Kim S.K.- Retention of calcium and phosphorus

- by the rat from wholemeal bread, with and without added calcium and from white bread fortified with calcium and vitamin_B₁.- *Biochem. J.* 39, 117-22 (1945).- C.A. 5298 ¹ (1945).
- 36) Haubner W. y Stadler H.- Determination of phytin by titration. *Biochem. Z.* 64, 422-37 (1914).- C.A. 8, 3569 (1914).
- 37) Hill R. y Tyler G.- The influence of time, temperature, pH, and CaCO₃ on the activity of the phytase of certain cereals. *J. Agr. Sci.* 44, 306-10 (1954).- C.A. 10443 e (1955).
- 38) Hinton J.J.C.- The chemistry of wheat germ with particular reference to the scutellum.- *Biochem. J.* 38, 214-17 (1944).- C.A. 545 ⁴ (1945).
- 39) Hoff-Jorgensen E.- Investigations on the solubility of calcium phytate.- *Kgl. Danske Videnskab. Selskab, Math.-fys. Medd.* 21, No. 7, 27 (1944).- C.A. 4809 ¹ (1946).
- 40) Hoff-Jorgensen E.- Influence of phytic acid on the absorption of calcium and phosphorus. I. In dogs.- *Biochem. J.* 40, 189-92 (1946).
- 41) Hoff-Jorgensen E., Andersen O., Betrup H. y Nielsen G.- Effect of phytic acid on the absorption of calcium and phosphorus. II. In infants.- *Biochem. J.* 40, 453-4 (1946).
- 42) Hoff-Jorgensen E., Andersen O. y Nielsen G.- Effect of phytic acid on the absorption of calcium and phosphorus. III. In children.- *Biochem. J.* 40, 555-7 (1946).
- 43) Karun G., Cattaneo P. y Vigliano J.- Bromo en trigos argentinos.- *An. Asoc. Quím. Arg.* 28, 214 (1940).
- 44) Karrer P.- *Tratado de Química Orgánica.* (1947).
- 45) Kent-Jones D.N. y Anon A.J.- *Modern Cereal Chemistry.* (1947).
- 46) Lee J.M. y Underwood E.L.- Total phosphorus, phytate phosphorus, and inorganic phosphorus of bread and the destruction of phytic acid in breadmaking.- *Australian J. Exptl. Biol. Med. Sci.* 27, 99-104 (1949).- C.A. 4392 f (1949).

- 47) Legendre R.- Les céréales. Biologie et applications.(1935).
- 48) Larrince M. et Lecoq R.- Guide pratique d'analyses alimentaires et d'expertises chimiques usuelles. (1930).
- 49) Le Prof. M. y Schrumf-Pierron P.- Sur la teneur en minéraux des blés égyptiens. Institut d'Egypte, vol. XIV (1932).
- 50) López J.R.- Comunicación privada.
- 51) Markuse Z. y Szachowska M.- Calcium, phosphorus, and iron contents of different extractions of wheat and rye flours.- Roczniki Państwowego Zakładu Hig. 5, 79-84 (1954).- C.A. 8973 g (1954).
- 52) Mathur H.L.- Assimilation of phytin phosphorus by dairy cows. Indian J.Vet. Sci. 23, 243-8 (1953).- C.A. 13858 b (1954).
- 53) Ma Gance R.A. y Widdowson E.M.- Phytin in human nutrition.- Biochem. J. 29, 2694-9 (1935).
- 54) Ma Gance R.A. y Widdowson E.M.- Mineral metabolism of healthy adults on white and brown bread dietaries.- J. Physiol. 101, 44-85 (1942).
- 55) Ma Gance R.A. y Widdowson E.M.- Mineral metabolism on dephytinised bread.- J. Physiol. 101, 304 (1942).
- 56) Madrano M.A.- El ácido fítico en las distintas harinas de tipificación argentina.- Tesis. Univ. Nac. de La Plata, Facultad de Química y Farmacia.(1948).
- 57) Mallaby E.- The rickets-producing and anticalcifying action of phytate.- J. Physiol. 109, 488-533 (1949).
- 58) Mallaby E.- Phytate and phytase in relation to calcium metabolism.- Inter. Congr. Biochem., Abstrs. of Commun. 1 st. Congr., Cambridge, Engl., 203-4 (1949).- C.A. 10332 s, d (195
- 59) Michal-Durand E.- A new method for the separation and estimation of phytin.- Bull. soc. chim. biol. 20, 413-22 (1938).- C.A. 7951 ⁴ (1938).
- 60) Ministerio de Agricultura y Ganadería de la Nación. Consejos de Siembra de Trigo para el año 1954.- Publicación miscelánea No. 387. Buenos Aires, 1954.
- 61) Møllgaard K.- Feeding the people.- Ingeniøren 50, 17-23, 26-9

- (1941); *Chimia e Industria* 47, 108 (1942).- C.A. 7421 ⁸ (1946)
- 62) Hollgaard N., Lorenzen K., Hansen I.G. y Christensen P.E.- Phytic acid, its importance in metabolism and its enzymic cleavage in bread supplemented with calcium.- *Biochem. J.* 40, 589-603 (1946).
- 63) Moran T.- Factores nutricios en el endosperma del grano de trigo.- *Ciencia e Investigación*, pág. 553, diciembre 1945.
- 64) Moreno Calvo J.- Aspectos bioquímicos del pan y de la harina.- *Anales Bromatol. (Madrid)* 6, 337-57 (1954).
- 65) Morris V.H., Pascoe E.D. y Alexander T.L.- Studies of the composition of the wheat kernel. II. Distribution of certain inorganic elements in center sections.- *Cereal Chem.* 22, 361-71 (1945).
- 66) Hasak M. y Montas El Gindy M.- Minerals in Egyptian cereals. A study of the effect of variety and environment on pH, ash, calcium, magnesium, potassium and phosphorus in wheat and maize. *Trans. Am. Assoc.-Cereal Chemists* 9, 13-16 (1951).- C.A. 652 g (1952).
- 67) Nicolayson R. y Nias L.R.- The effect of phytic acid on the absorption of calcium in rats, pigs, and men.- *Acta Physiol. Scand.* 22, 246-59 (1951).- C.A. 7206 e (1951).
- 68) Osborne T.B. y Mendel L.B.- The nutritive value of the wheat kernel and its milling products.- *J. Biol. Chem.* 37, 557 (1919)
- 69) Raara F.G.- Phytase of wheat.- *Biochem. J.* 51, 102-10 (1952). C.A. 3362 (1953).
- 70) Raara A. y Nunes de Oliveira J.- A distribuição topográfica do ácido fítico nos cereais.- *Anales Bromatol.* 5, 171-6 (1953).
- 71) Raara A. y Nunes de Oliveira J.- Evolução da porcentagem do ácido fítico durante as operações de panificação caseira de farinha de milho.- *Anales Bromatol.* 5, 177-9 (1953).
- 72) Raara A. y Nunes de Oliveira J.- O ácido fítico nas farinhas

- e no pao de milho de fabrico caseiro.- *Anales Bromatol.* **5**, 181-3 (1953).
- 73) Pereira A. y Nunes de Oliveira J.- Distribuicao do ácido fítico nas varias fracções da moenda industrial.- *Anales Bromatol.* **5**, 185-7 (1953).
- 74) Pileggi V.J., De Luca H.F. y Stanhook H.- The role of vitamin D and intestinal phytase in the prevention of rickets in rats on cereal diets.- *Arch. Biochem. and Biophys.* **58**, 194-204 (1955). C.A. 16107 g (1955).
- 75) Pons W.A., Jr., Stanbury M.F. y Hoffmann C.L.- An analytical system for determining phosphorus compounds in plant materials.- *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists* **36**, 492-504 (1953).
- 76) Pringle W.J.S. y Moran T.- Phytic acid and its destruction in baking.- *J. Soc. Chem. Ind. (London)* **61**, 108-10 (1942).
- 77) Reid R.L., Franklin H.C. y Hallsworth E.G.- The utilization of phytate phosphorus by sheep.- *Australian Vet. J.* **23**, No.1. 136-40 (1947); *Australian Chem. Abstracts* Sept., 1947; 40.
- 78) Reith J.F., Gorter A. y van Eckelen M.- Nutritive value of bread. II. Calculations of the importance of different types of bread in the Netherlands diet.- *Voeding* **10**, 206-20 (1949).- C.A. 4098 g (1940).
- 79) Richet Ch. y Dalbarré F.- Les antialiments.- *Rev. path. comparée et hyg. gén.* **49**, 566-74 (1949).
- 80) Satha V. y Krishnaswamy K.- Phytic acid and absorption of iron.- *Indian J. Med. Research* **41**, 453-7 (1953).- C.A. 8355 c (1954).
- 81) Schrumpf-Pierson P.- Effet du facteur "variété" sur l'équilibre minéral des blés: Comptes rendus hebdomadaires des séances et mémoires de la Société de Biologie et de ses Filiales et Associées, III (1932).
- 82) Sen D.P.- Hemopoietic effect of iron in rice, wheat, lentil,

- ferric phytate, egg yolk of duck, lecitho-vitellin protein, and ferric chloride.- *Ann. Biochem. and Exptl. Med. (India)* **12**, 103-10 (1952).- C.A. 4067 i (1954).
- 83) Sharma L.M., Pascook W.C., Cooke R., Harris R.S., Lockhart H., Yee H. y Nightingale G. The effect of phytate and other food factors on iron absorption.- *J. Nutrition* **41**, 433-46 (1950).- C.A. 10068 i (1950).
- 84) Spitzer R.R., Maruyama G., Michaud L. y Phillips P.H. The role of vitamin D in the utilisation of phytin phosphorus.- *J. Nutrition* **35**, 185-93 (1948).
- 85) Starkenstein E. The biological importance of inositolphosphoric acid. *Biochem. Z.* **30**, 56-96 (1910).- C.A. 5, 1107 (1911).
- 86) Steenbock H., Krieger C.H., Wiest W.G. y Pilleggi V.J. Vitamin D and intestinal phytase. *J. Biol. Chem.* **205**, 993-9 (1953).
- 87) Sullivan B. The inorganic constituents of wheat and flour. *Cereal Chem.* **10**, 503-14 (1935).
- 88) Sullivan B. y Near C. Relation of the magnesium in the ash and the lipid-protein ratio to the quality of wheats.- *J. Am. Chem. Soc.* **49**, 467 (1927).
- 89) Sullivan B. y Near C. The ash of hard spring wheat and its products.- *Ind. Eng. Chem.* **19**, 498-501 (1927).
- 90) Tsuchiya S. Phytic acid from the standpoint of nutrition. I. High phytic acid diet for normal human subjects.- *J. Japan Soc. Food Nutrition*, **6**, 120-6 (1953-54).- C.A. 12945 b (1954).
- 91) Tsuchiya S. Phytic acid from the standpoint of nutrition. II. Comparison of phosphorus and calcium metabolism with foods containing much phytic acid.- *J. Japan Soc. Food Nutrition* **6**, 174-82 (1953-54).- C.A. 12945 c (1954).
- 92) Vigginio J. y Cattaneo P. Investigación del agregado de bromato de potasio en la elaboración del pan.- *An. Asoc. Quím.*

Arg. 26, No. 133, 3 (1938).

- 93) Waksham G.- The effect of agricultural conditions on the mineral contents of some farm crops.- Univ. Colo. Studies. Series D (Physical and Biological Sciences) 2, No. 1, 25 (1943).
- 94) Waksham G.- Note on the effect of certain agricultural conditions upon the mineral contents of wheat.- Univ. Colo. Studies. Series D 2, 351 (1947).
- 95) Walker A.R.P., Irving J.T. y Fox F.N.- Nutritional value of high-extraction wheat meals.- Nature 157, 769 (1946).
- 96) Walker A.R.P., Fox F.N. e Irving J.T.- Human mineral metabolism. I. Effect of bread rich in phytate phosphorus on the metabolism of certain mineral salts with special reference to calcium.- Biochem. J. 42, 452-62 (1948).
- 97) Widdowson E.M.- Phytic acid and the preparation of food.- Nature 148, 219-20 (1941).
- 98) Winterstein E.- The constitution of phytin.- Z. Physiol. Chem. 53, 118-21 (1909).- C.A. 3, 1878 (1909).
- 99) Young L.- The determination of phytic acid. Biochem. J. 30, 252-7 (1936).
- 100) Zuev L.A. y Potuchikova V.I.- Transformations of phosphorus compounds in ripening summer wheat grain.- Doklady Akad. Nauk S.S.S.R. 70, 469-72 (1950).- C.A. 4789 g (1951).

Ernestina A. Garcia Ara