Artículo Original / Original Article

Estudio de la bioaccesibilidad *in vitro* de zinc en arroz (*oryza sativa*) y su relación con el contenido de ácido fítico

In vitro bioaccessibility of zinc in rice (*oryza sativa*) and its relationship with phytic acid content

RESUMEN

La bioaccesibilidad de un nutriente en un alimento sirve para determinar la calidad nutricional de éste para el consumo humano. El arroz es uno de los alimentos más importantes en la dieta por su gran aporte calórico y nutricional. El objetivo de este estudio fue analizar la bioaccesibilidad *in vitro* del zinc en arroz mediante espectrofotometría ultravioleta-visible y espectrometría de absorción atómica de llama y su relación con el contenido de ácido fítico. El porcentaje de bioaccesibilidad del zinc, respecto al porcentaje de ácido fítico, presentó una relación logarítmica inversamente proporcional ($r = -0,669$; $p < 0,05$). Los valores porcentuales de bioaccesibilidad del zinc y ácido fítico en las líneas de arroz evaluadas se hallaron en un rango de 1,9-8,7% y 0,039-0,946% respectivamente. Se encontró que el ácido fítico afecta la bioaccesibilidad del zinc y que ésta no estuvo ligada a la concentración total del zinc presente en las líneas de arroz evaluadas. Las técnicas implementadas para cuantificar el zinc dializado presentaron diferencias significativas y se mostró que la técnica ultravioleta-visible no fue apta para este tipo de ensayos.

Palabras clave: Absorción; Antinutriente; Dializabilidad, Minerales; *Oryza Sativa*.

ABSTRACT

The bioavailability of a nutrient in a food serves to determine the nutritional quality for human consumption. Rice is one of the most important foods in diet due to its caloric and nutritional contribution. The objective of this study was to analyze the *in vitro* bioavailability of zinc in rice by ultraviolet-visible spectrophotometry and flame atomic absorption spectrometry and its relationship with phytic acid content. The percentage of zinc bioaccessibility with respect to phytic acid percentage, showed an inverse proportional logarithmic relationship ($r = -0.669$; $p < 0.05$). The percentage values of zinc bioavailability and phytic acid in the evaluated rice varieties had a range of 1.9-8.7% and 0.039-0.946%, respectively. Phytic acid affected the bioaccessibility of zinc and was not linked to the total concentration of zinc present in the rice lines evaluated. The techniques implemented to quantify zinc dialyzed presented significant differences. It

Juan C. Orozco^{1*}, Luis F. Londoño¹, Angélica M. Jaramillo¹,
Gelver Patiño¹.

1. Laboratorio de Calidad Nutricional.
HarvestPlus-Centro Internacional de Agricultura Tropical,
Palmira, Colombia.F

*Dirigir correspondencia a: Juan C. Orozco.
Laboratorio de Calidad Nutricional, Centro Internacional de
Agricultura Tropical, recta Cali-Palmira Km17,
Palmira, Colombia.
E-mail: juancamiloorozco@outlook.com

Este trabajo fue recibido el 25 de septiembre de 2018.
Aceptado con modificaciones: 14 de agosto de 2019.
Aceptado para ser publicado: 28 de octubre de 2019.

was shown that the ultraviolet-visible technique was not suitable for this type of assay.

Keywords: Absorption; Antinutrient; Dializability; Minerals; *Oryza Sativa*.

INTRODUCCION

Arroz, zinc y salud. El arroz (*Oryza Sativa*) es uno de los alimentos básicos a nivel mundial, principalmente en las poblaciones de Asia y América Latina. Este alimento posee un gran aporte calórico y una buena fuente de minerales como el hierro y el zinc¹. Después del hierro, el zinc es el segundo mineral más importante en la dieta y nutrición humana, ya que tiene la capacidad de formar complejos estables con las cadenas laterales de las proteínas, siendo esta una

propiedad muy importante para las funciones biológicas². Se ha comprobado que el déficit de este mineral conlleva a problemas de salud como dificultades en el crecimiento y desarrollo en infantes, además de afectar la integridad del sistema inmune³. Mantener un equilibrio adecuado de zinc de acuerdo a los requerimientos fisiológicos de cada individuo requiere considerar una ingesta rica en minerales, como también una buena biodisponibilidad de los mismos⁴.

Biodisponibilidad y bioaccesibilidad

La biodisponibilidad es entendida como la fracción total del nutriente ingerido que el organismo digiere, absorbe y utiliza para sus funciones fisiológicas⁵ y depende tanto del organismo del individuo, como de la composición química del alimento⁶. Algunos compuestos como el ácido fítico (AF), inhiben la absorción de minerales a través de la membrana intestinal, debido a su capacidad de formar complejos estables con el mineral⁷. Los métodos para el estudio de la biodisponibilidad de un nutriente de interés son extensos, complicados y costosos, ya que estos comprenden el uso de material biológico como membranas de una línea celular específica (células Caco-2), animales, y en algunos casos estudios en humanos. Sin embargo, hay alternativas para evaluar la calidad nutricional del alimento mediante métodos de bioaccesibilidad, ya que se basan en mecanismos de solubilidad y dializabilidad, utilizando sólo material inerte⁸. La bioaccesibilidad, a diferencia de la biodisponibilidad, es la fracción del nutriente que queda accesible después de las etapas de digestión gástrica e intestinal, el cuál ha sido liberado de la matriz del alimento. Para los ensayos de solubilidad, uno de los métodos más sencillos de bioaccesibilidad, consiste en analizar los componentes del alimento que son solubles en una solución de enzimas similar al entorno gástrico. Por otro lado, el método de dializabilidad se diferencia del método de solubilidad, debido a que existe una etapa adicional en la que se inserta una membrana (constituida normalmente de material de celulosa), cuyos nutrientes y/o minerales pueden atravesar, según su peso molecular⁹.

El mejoramiento de cultivos agrícolas ha cobrado interés en las últimas décadas, en donde a parte de la mejora en el rendimiento de las cosechas y sequía, también se mejora la calidad nutricional de este. Por ello, los análisis de biodisponibilidad y bioaccesibilidad son importantes en la valoración y aporte nutricional del alimento. Algunos autores han evaluado la bioaccesibilidad del hierro y zinc en alimentos como leguminosas, cereales, carnes y otros, mediante el método de solubilidad, encontrándose un porcentaje de minerales solubles de 4,0% en cereales y 17,4% en leguminosas¹⁰. Otros autores evaluaron la bioaccesibilidad de minerales como el cobre, hierro y zinc en zumo de manzana de anacardo, mediante el método de dializabilidad, obteniéndose un porcentaje de bioaccesibilidad de 15,0, 11,5, y 13,5% respectivamente¹¹. Otros análisis de bioaccesibilidad mediante dializabilidad, interviniendo un agente promotor en la absorción de

minerales, como el β -caroteno proveniente de la zanahoria, mejoró significativamente la absorción del zinc y el hierro en los cereales y legumbres¹².

La presente investigación consistió en el estudio de la bioaccesibilidad del zinc en el arroz y el efecto que tiene el AF sobre ésta, además de evaluar una técnica espectrofotométrica ultravioleta-visible para cuantificar el zinc bioaccesible.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron 48 líneas de arroz (*Oryza Sativa*), proporcionadas por el programa de mejoramiento de arroz del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), cultivadas en dos localidades diferentes del territorio colombiano, Palmira (en el departamento del Valle del Cauca) y Villavicencio (en el departamento del Meta) a una altitud de 1001 y 457 msnm, respectivamente.

Reactivos químicos

Los reactivos químicos fueron obtenidos por Sigma Aldrich (Sigma Aldrich Co, USA). El material de vidrio utilizado en los ensayos fue lavado inicialmente con detergente líquido (Citranox, Alconox Inc., USA) y posteriormente fue sumergido en una solución de HNO_3 al 5,0% durante 24 horas. El material se lavó con abundante agua ultra pura y se secó en horno a 60.0°C.

Preparación de la muestra

La preparación de la muestra se realizó según el protocolo de muestreo en cultivos para el análisis de micronutrientes de HarvestPlus¹³. Para el procesamiento de la muestra se utilizó un equipo de descascarado y pulido (Suzuki SA, Brazil). Se introdujeron 10,0 g de arroz a descascarillar y posteriormente se llevaron a pulir durante 11,0 s, obteniéndose un promedio de porcentaje de pulido del 7,5%. Los granos de arroz descascarillados y pulidos se molieron en un molino equipado de cápsulas de teflón y balines de zirconio. Las muestras molidas se guardaron en envases de polietileno y fueron almacenadas a -80,0 °C hasta su análisis.

Determinación de la bioaccesibilidad *in vitro* de zinc

La bioaccesibilidad del zinc se realizó según el método descrito por Miller et al.¹⁴ modificado por Argyri et al.¹⁵. A 1 g de arroz molido, contenido en un vaso de precipitado de 50 ml, se agregaron 9,6 ml de agua ultra pura y 0,400 ml de una solución de α -amilasa 6,6% (p/v), se agitó, y se llevó a incubar en un baño térmico con agitación constante (Reciprocal Shaking Bath model 2872, Thermo Fisher Scientific Inc., USA) a 37,0°C por 30 min. Se retiró el vaso de precipitado y se agregaron 0,750 ml de HCl 0,1 M para simular el pH estomacal, seguido de 0,500 ml de la solución de pepsina (4 g en 100 mL de HCl 0,1 M). A continuación, se agitó la mezcla y se regresó al baño térmico por 120 minutos. Se retiró el vaso de precipitado y se insertó un cilindro de polietileno provisto de una membrana de diálisis

(Spectra/Pore® 8000MWCO membrane dialysis tubing, Spectrum Laboratories, Inc., USA) en la base inferior y que hacía contacto con la mezcla. Se agregaron en el interior del cilindro 3,00 ml de una solución de NaHCO_3 0,15 M (pH $7,20 \pm 0,2$) y se regresó al baño térmico por 30,0 min. Se retiró el vaso de precipitado, se levantó el cilindro y se adicionó a la mezcla 2,5 ml de la solución de pancreatina-extracto de bilis (20,0 mg pancreatina, 120 mg de extracto de bilis, en 10,0 ml de NaHCO_3 0,15 M), la mezcla se agitó y se reinsertó el cilindro, para posteriormente regresar al baño térmico durante 120 minutos. Transcurridos los 120 minutos, se retiró el vaso de precipitado, se recolectó la solución interna (dializado) del cilindro y se cuantificó el zinc dializado.

Cuantificación del zinc dializado por espectrofotometría ultravioleta-visible

Para la cuantificación mediante espectrofotometría ultravioleta-visible, se utilizó el reactivo Zincon®. La cuantificación se realizó como originalmente como lo propone Rush & Yoe¹⁶, considerando algunas modificaciones realizadas por otros autores¹⁷. Se tomó 1,00 ml del dializado y se agregaron 0,2 ml de HCl 3 M, se agitó la mezcla y se dejó en reposo 10 min. Posteriormente, se centrifugó a 8000 rpm (5804R centrifuge, Eppendorf, Alemania) durante 5 min, se tomaron 0,5 ml del sobrenadante, y se agregaron 0,2 ml de NaOH 3 M, seguido de 0,5 ml de buffer borato (3,73 g cloruro de sodio, 3,10g ácido bórico, en 100 ml de agua ultra pura) y finalmente 0,2 ml de la solución reactiva de Zincon® (8,00 mg de Zincon® en 25 ml de agua ultra pura). A continuación, se agitó la mezcla para homogenizar y se leyó a una longitud de onda de 620 nm en el espectrofotómetro (μ Quant, Biotek Instruments Inc., USA). Se trabajó en un rango de concentraciones entre 0,1-1 mg/l a partir de una solución estándar de zinc.

Cuantificación del zinc dializado por espectrometría de absorción atómica de llama

Para la cuantificación mediante espectrometría de absorción atómica, se digirió una alícuota de 1 ml del dializado en una solución ácida de $\text{HNO}_3:\text{HClO}_4$ (2:1) y se determinó el contenido de zinc en el espectrofotómetro (Spectrometer Unicam AA 969 SOLAAR, Thermo Scientific, USA), equipado con una lámpara de cátodo hueco con emisión a una longitud de onda de 214 nm.

Determinación del contenido total de zinc en la muestra

El contenido total de zinc en arroz se determinó mediante fluorescencia de rayos-X (X-supreme 8000, Oxford Instruments, Reino Unido). Se transfirieron 8 g de arroz (grano descascarado y pulido) a cápsulas con papel de poliéster (Film Mylar, Oxford Instruments, Reino Unido), se programó la lámpara de tungsteno a una intensidad de 115 μA , y se realizaron dos lecturas por muestra en un tiempo de 3,00 minutos.

El porcentaje de bioaccesibilidad del zinc fue calculado a partir de la cantidad del mineral en los dializados, respecto al contenido total del mineral de acuerdo a la ecuación:

$$\text{BD (\%)} = \text{D/W} \times \text{C} \times 100$$

donde D es contenido total del mineral en el dializado luego de la digestión final, W es el peso de la muestra, y C es la concentración del mineral en la muestra obtenido mediante fluorescencia de rayos-X.

Determinación del contenido de ácido fítico

El método usado en la determinación del contenido de AF es el método realizado por Latta & Eskin¹⁸, modificando el proceso de extracción según Lehrfeld et al.¹⁹. Se realizó la extracción del ácido fítico a 1 g de arroz molido con 20 ml de HCl 0,65 M en un baño de ultrasonido (Ultrasonic Cleaner 8010R-MTH, Branson, USA) durante 15 min. Las suspensiones fueron centrifugadas a una velocidad de 3800 rpm por 15 min a temperatura ambiente.

La purificación se realizó mediante columnas de intercambio iónico (Poly-prep Prefilled Chromatography Columns AGX8 resín 200-400 mesh Chlorideform 0,8x4 cm, BioRad Laboratories, USA) acopladas en un equipo de filtración para columnas (Visiprep™ Solid Phase Extraction Vacuum Manifold, Supelco, USA) provisto de una bomba de vacío (DOA-P704-AA, GAST manufacturing Inc., USA). Las columnas de intercambio iónico fueron acondicionadas con 5 ml de HCl 0,2 M y posterior elución del líquido. Se agregaron 3 ml de los sobrenadantes a cada columna y luego se realizó la elución. Se agregaron 10 ml de NaCl 0,07 M para la elución de los fosfatos no relacionados con el AF y finalmente se eluyó el AF con 40 ml de NaCl 0,7 M, recolectándose en tubos de ensayo limpios y secos para posterior cuantificación del analito. Se trabajó en un rango de concentraciones de 5-80 mg/l, con su respectivo blanco a partir de una solución stock de 200 mg/l de AF. Se tomaron 0,9 ml de las muestras purificadas y los estándares en tubos para centrifuga de 2 ml y se agregaron 0,3 ml de reactivo de Wade²⁰. Se homogenizó la mezcla y se leyó a una longitud de onda de 500 nm en el espectrofotómetro.

El contenido de AF en cada una de las muestras se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Contenido de AF} = (\text{C}) \times (\text{V}_1/\text{V}_2) \times (\text{V}_3/\text{W}),$$

donde el contenido de AF es la concentración de ácido fítico en la muestra (mg/g), C es la concentración de ácido fítico (mg/l) calculada a partir de la curva de calibración, V1 es el volumen total que se utilizó para la elución del Fitato (ml), V2 es el volumen de la alícuota del extracto que se llevó a purificar (ml), V3 es el volumen total en el que se realizó la extracción (l), y W es el peso de la muestra (g).

Análisis estadístico

Para el tratamiento estadístico de los datos, se realizó un análisis de varianza con los resultados obtenidos en la cuantificación del zinc dializado por espectrometría ultravioleta-visible y espectrometría de absorción atómica, mediante una prueba t para medias de dos muestras pareadas (contraste t para datos pareados a una cola) a un nivel de significancia de $p < 0,05$. Los análisis estadísticos fueron realizados usando el paquete de herramientas de análisis de Microsoft Excel 2013. Todos los ensayos fueron realizados por duplicado.

RESULTADOS

La figura 1 muestra la correlación de la concentración de zinc en los dializados a través de ambas técnicas espectrométricas (ultravioleta-visible y absorción atómica de llama) mostrando una baja correlación entre sí, $r = 0,54$ ($p < 0,05$). Se realizó una prueba estadística de datos (contraste t para datos emparejados) encontrando diferencias significativas entre los dos métodos. Para el cálculo del porcentaje de zinc bioaccesible se tuvieron en cuenta los resultados obtenidos mediante espectrometría de absorción atómica de llama, obteniéndose valores en un rango entre 1,9 - 8,7 % para las líneas de arroz estudiadas. Los valores obtenidos en la cuantificación de AF oscilaron en un rango porcentual entre 0,04 - 0,95%.

La figura 2 muestra la relación entre el logaritmo porcentual de la bioaccesibilidad del zinc y el logaritmo porcentual de AF para las líneas de arroz estudiadas en donde existe una tendencia lineal entre sí, $r = -0,67$ ($p < 0,05$). El gráfico muestra una tendencia en la disminución de la bioaccesibilidad del mineral, conforme aumenta el contenido de AF, evidenciándose una reducción de la bioaccesibilidad a la mitad, cuando el AF aumentó tres veces su contenido en las líneas de arroz.

Se graficó en orden ascendente el contenido porcentual de AF de las líneas de arroz en estudio, con su respectivo valor porcentual de bioaccesibilidad obtenido. El comportamiento de la bioaccesibilidad del zinc es variable de manera local sin presentar relación alguna con el contenido porcentual de AF. Sin embargo, globalmente se puede observar una tendencia en la reducción del porcentaje de la bioaccesibilidad, simultáneamente aumenta el porcentaje de AF (Figura 3), (Tabla 1).

Las concentraciones de zinc total determinadas en las líneas de arroz en estudio oscilaron entre 12,3-35,3 mg/kg. La línea que contenía menor concentración de zinc total (12,3 mg/kg) presentó una concentración de zinc dializado de 0,78 mg/kg, mientras que la línea que contenía mayor concentración de zinc total (35,3 mg/kg) presentó una concentración de zinc dializado de 1,8 mg/kg. Igualmente, los valores de zinc total de las líneas de arroz en estudio, se dispusieron en orden ascendente con sus respectivos valores de concentración de biodisponibilidad de zinc y no se halló relación alguna entre estas (Figura 4), (Tabla 2).

Se encontró que las líneas de arroz sembradas en la localidad de Villavicencio tenían una concentración de zinc

levemente más altas que las líneas de arroz sembradas en la localidad de Palmira, con un promedio de $27,6 \pm 2,7$ y $23,3 \pm 5,7$ mg / Kg de zinc respectivamente. Además, los valores de AF promedio para las líneas provenientes de Villavicencio y Palmira presentaron un valor promedio de $1,37 \pm 1,57$ y $4,98 \pm 1,57$ mg/g respectivamente.

Figura 1: Correlación de los valores de concentración de zinc en los dializados a través de las dos técnicas analíticas.

Figura 2: Relación entre la biodisponibilidad del zinc y el contenido de ácido fítico.

Figura 3: Comparación de la bioaccesibilidad del zinc respecto al contenido de ácido fítico para las líneas de arroz evaluadas.

Figura 4: Comparación de la bioaccesibilidad del zinc respecto al contenido de zinc total para las líneas de arroz evaluadas.

Tabla 1. Valores porcentuales (en orden ascendente) de ácido fóico en las líneas de arroz en estudio y sus respectivos valores porcentuales de bioaccesibilidad (valores numéricos de la figura 3).

Número de Identificación de línea	Bioaccesibilidad(%)	Ácido fóico (%)
378	8,4	0,039
561	6,7	0,040
576	6,6	0,042
310	8,7	0,043
458	4,5	0,048
366	8,3	0,070
537	7,0	0,078
485	4,2	0,083
592	7,2	0,095
363	6,6	0,105
591	7,7	0,105
513	4,2	0,111
516	4,2	0,117
556	7,2	0,122
593	5,4	0,123
492	3,6	0,127
302	5,2	0,138
392	6,0	0,144
486	3,7	0,165
480	3,1	0,171
375	6,2	0,187
554	5,3	0,191
600	4,6	0,194
383	5,2	0,209
401	5,2	0,212
433	2,9	0,241
417	4,1	0,259
497	2,8	0,269
050	3,7	0,290
529	3,5	0,295
273	3,0	0,348
035	5,8	0,372
046	3,3	0,384
008	5,0	0,394
212	4,1	0,394
119	3,1	0,434
087	6,2	0,449
070	3,3	0,465
148	3,7	0,499
028	2,3	0,535
030	2,8	0,538
075	2,8	0,545
203	3,0	0,553
405	5,0	0,586
056	1,9	0,607
018	4,4	0,669
037	5,0	0,732
055	2,8	0,946

Tabla 2. Valores (en orden ascendente) de zinc total en las líneas de arroz en estudio y sus respectivos valores de zinc dializado (valores numéricos de la figura 4).

Número de Identificación de línea	Zinc total (mg/kg)	Zinc dializado (mg/kg)
087	12,3	0,78
203	17,7	0,93
018	17,8	0,63
008	18,5	0,93
035	19,3	1,11
037	20,1	1,01
212	25,1	0,73
516	25,1	1,05
075	25,2	0,70
485	25,3	1,07
529	25,3	0,88
392	25,4	1,52
458	25,5	1,14
537	25,6	1,79
273	25,7	0,76
378	25,8	2,17
417	25,9	1,05
591	26,0	2,01
492	26,1	0,94
433	26,3	0,77
401	26,4	1,38
497	26,4	0,74
050	26,5	1,00
119	26,6	0,95
046	26,7	0,88
310	26,7	2,32
556	27,0	1,94
302	27,2	1,36
513	27,2	1,13
486	27,3	1,01
148	27,8	0,90
030	27,9	0,65
070	28,0	0,75
383	28,1	1,45
028	28,2	0,57
576	28,3	1,87
155	29,8	0,52
363	30,0	1,98
593	30,1	1,64
592	30,4	2,18
600	30,6	1,39
480	30,8	0,96
056	30,9	1,05
375	31,2	1,94
366	31,3	2,60
554	31,3	1,67
561	32,4	2,16
405	35,3	1,78

DISCUSIÓN

Los valores de zinc obtenidos mediante la técnica de espectrofotometría ultravioleta-visible y la técnica de espectrometría de absorción atómica de llama mostraron una baja correlación entre sí (Figura 1), la cual puede estar relacionada con la adición del agente desnaturalizante, ya que el mineral debe encontrarse en su forma libre para poder formar el complejo Zn^{2+} /Zincon[®]²¹. La adición de ácido clorhídrico como agente desnaturalizante disminuye el pH de la muestra, por lo que, una vez realizada la desnaturalización y extracción del precipitado, es necesario la neutralización con una base como el hidróxido de sodio. Sin embargo, este procedimiento implica una dilución a la muestra original afectando la sensibilidad de la técnica²². Por otra parte, el reactivo Zincon[®] no sólo tiene la capacidad de formar un complejo colorimétrico con el zinc, sino que también es un excelente reactivo para detectar y cuantificar otros metales como cobre y cobalto²³. Algunos autores han encontrado concentraciones evidentes de cobre en el arroz, ya que este mineral es muy fácilmente absorbido por las raíces de la planta, sobre todo en las primeras etapas de crecimiento²⁴. Además, la calidad del suelo, el uso de los diferentes tipos de fertilizantes y la técnica de sembrado puede influir en la acumulación de los diferentes metales en el arroz, entre ellos el cobre²⁵. Existe la posibilidad de que las líneas de arroz estudiadas tuviesen una concentración pequeña pero suficiente, para incidir en la cuantificación del zinc, generando lecturas de absorción que no acontecen al complejo Zn^{2+} /Zincon[®], ya que la longitud de onda de máxima absorción para este complejo es de 620 nm, mientras que la longitud de onda de máxima absorción del complejo colorimétrico Cu^{2+} /Zincon[®] es 610nm, consiguiendo posiblemente generar lecturas relacionadas a ambas bandas de absorción²⁶.

Los resultados observados en la figura 2 indican que el AF puede estar relacionado directamente en la bioaccesibilidad del zinc, disminuyendo la cantidad del mineral bioaccesible que podría atravesar la membrana de diálisis debido al efecto acomplejante que tiene sobre el mineral²⁷. Algunos investigadores como Bosscher et al.²⁸, estudiaron la bioaccesibilidad del zinc en recetas infantiles, encontrándose que el contenido de AF afecta la dializabilidad del mineral. Mitchikpe et al.²⁹, encontraron un efecto negativo del AF en alimentos como el maíz, sorgo y frijol, donde también la biodisponibilidad se vio afectada por el alto contenido de polifenoles. Al Hasan et al.³⁰, realizó un estudio con dietas controladas en AF, calcio, hierro y zinc en mujeres embarazadas en Bangladesh, en la que reveló que el AF inhibió la absorción del zinc en la población en estudio, además de considerar que el ácido fítico puede afectar más notoriamente en las etapas de crecimiento en niños, embarazo y lactancia.

En la figura 3, la variación del porcentaje de bioaccesibilidad del zinc, a pesar de la tendencia a disminuir conforme aumenta el porcentaje de AF, puede estar relacionada a las características de algunos minerales con similitudes

químicas como el hierro y calcio que pueden competir entre sí, debido a los mismos mecanismos de captación y absorción que ellos comparten, pues al interactuar con el AF, la absorción de algún mineral de interés puede variar debido a la presencia de otros minerales con propiedades análogas^{31,32}.

Varios autores han reportado el contenido de zinc en algunas variedades de arroz, las cuales tienen un promedio de 16 mg/Kg³³. Otros reportes en la literatura han confirmado que el contenido de zinc en el arroz está sobre los 20,6 mg/Kg³⁴. Sin embargo, las líneas de arroz estudiadas, presentaron un rango de variabilidad entre 10,5-35,3 mg de zinc/Kg. Este extenso intervalo de variabilidad se ha hecho con el propósito de estudiar el comportamiento tanto de las líneas que presentaron un bajo contenido de zinc, como también aquellas consideradas con un alto contenido de este mineral, además cabe recalcar, que las líneas de arroz estudiadas, son cultivares que provienen de un proyecto de biofortificación. Otros autores, realizaron ensayos de bioaccesibilidad en diferentes productos alimentarios, como grañones, arroz, granos de leguminosas y nueces, en donde reportan un valor de bioaccesibilidad de 31,4% de zinc para el arroz. Sin embargo, el método de bioaccesibilidad utilizado para estos análisis fue mediante solubilidad, esto explicaría el alto porcentaje de bioaccesibilidad obtenido, a comparación de la bioaccesibilidad a través de dializabilidad, en donde hay un paso adicional en el que preside una membrana³⁵. No todas las líneas de arroz que presentaron altos contenidos de zinc total tuvieron una dializabilidad favorable de este mineral. Además, las líneas de arroz que presentaron bajos contenidos de zinc total tuvieron una escasa dializabilidad, indicando claramente que la bioaccesibilidad del zinc no está ligada al contenido total del mineral presente en cada una de las líneas de arroz (Figura 4). Algunos estudios han descrito un comportamiento similar como el llevado a cabo por Hemalatha et al.³⁶, donde se estudió la bioaccesibilidad del hierro y el zinc en cereales (arroz y sorgo) y legumbres (garbanzo), y donde el contenido de zinc total en arroz, sorgo y garbanzo fue de 1,08, 2,24, y 2,7 mg/100g respectivamente, obteniéndose una bioaccesibilidad de entre 5,5-21,4% para los cereales y 27,0-56,0% para las legumbres. Ésta mejoraría tras la eliminación parcial del fitato de los granos mediante un tratamiento con fitasa fúngica.

La pequeña, pero notoria diferencia entre los valores promedio del contenido de zinc en las líneas de arroz sembradas en ambas localidades, puede ser debido a los diferentes sistemas de cultivos de estos, puesto que en la localidad de Villavicencio se utilizó el sistema de cultivo secano, mientras que en la localidad de Palmira se utilizó el sistema de cultivo por inundación. Sin embargo, diferentes autores han reportado que los sistemas de cultivos por inundación favorecen la absorción del zinc en la planta y la concentración de zinc en los granos de arroz³⁷. Además, en los sistemas de cultivos secanos, existe la probabilidad de que el zinc disponible en el suelo, pueda precipitarse formando sales de zinc, dificultando la absorción de este mineral a

través de las raíces de la planta³⁸. Este comportamiento de mayor contenido de zinc por parte de las líneas sembradas en la localidad de Villavicencio, podría relacionarse a que las líneas responden de una manera mejor a este tipo de suelo y este tipo de sistema de cultivo. Por otra parte, el contenido de AF en las líneas de sembradas en Villavicencio, fue relativamente menor al contenido de las líneas sembradas en la localidad de Palmira, posiblemente debido qué, al ser un sistema de cultivo por inundación, las sales de fosfato del suelo pueden solubilizarse fácilmente, facilitando la absorción por la planta, lo que conllevaría una mayor reserva de fósforo para poder ser sintetizado por la planta a AF³⁹.

CONCLUSIONES

Se considera que la técnica implementada para cuantificar el zinc dializado mediante espectrofotometría ultravioleta-visible no es adecuada para los ensayos de bioaccesibilidad del zinc en arroz, ya que presentó diferencias significativas con respecto a la técnica de espectrometría de absorción atómica de llama, siendo este último un método analítico de elección para la cuantificación de trazas de minerales en diversas matrices por ser una técnica de cuantificación primaria. Se encontró una relación directa entre la bioaccesibilidad del zinc y el contenido de AF, donde la bioaccesibilidad del mineral empieza a ser impedida a medida que el contenido del AF aumenta. Además, la bioaccesibilidad del zinc no está directamente relacionada con el contenido total del mineral presente en las líneas de arroz. Los resultados de esta investigación reflejan que para mejorar la bioaccesibilidad del zinc, y con ello incrementar la calidad nutricional del arroz, es conveniente obtener líneas arroz no solo con un alto contenido de zinc, sino también con un bajo contenido de ácido fítico,

Agradecimientos. Los autores expresan su agradecimiento a HarvestPlus por la financiación de este proyecto y al programa de mejoramiento de arroz del CIAT por las líneas de arroz suministradas.

Notas. Los autores declaran no tener ningún interés financiero en competencia.

BIBLIOGRAFIA

1. Eggum BO. The nutritional value of rice in comparison with other cereals. Brady NC, ed. *Chemicals Aspects of Rice Grain Quality*. Los Baños, Phillipines, International Rice Research Institute., 1979; 90-111.
2. Hambidge KM, Casey CE, Krebs NF. Zinc. Mertz W, ed. *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*. New York. Academic Press., 1986; 1-137.
3. Hambidge KM, Krebs NF. Zinc deficiency: a special challenge. *J Nutr* 2007;137(4):1101-1105.
4. Solomons NW. Biological availability of zinc in humans. *Am J Clin Nutr* 1982; 35: 1048-1075.
5. Rovira, F R. Mineral bioavailability: evaluation. *Aliment Nutr y salud*. 2010; 17(1): 1-8.
6. Sandberg AS. Bioavailability of minerals in legumes. *Br J Nutr* 2002; 88(3): S281-S285.
7. Lopez HW, Leenhardt F, Coudray C, Remesy C. Minerals and phytic acid interactions: is it a real problem for human nutrition? *Int J Food Sci Technol* 2002; 37: 727-739.
8. Etcheverry P, Grusak MA, Fleige LE. Application of in vitro bioaccessibility and bioavailability methods for calcium, carotenoids, folate, iron, magnesium, polyphenols, zinc, and vitamins B6, B12, D and E. *Front Physiol* 2012; 3: 1-22.
9. Kapsokafalou M, Miller, DD. Effects of meat and selected food components on the valence nonheme iron during in vitro digestion. *J Food Sci*.1991; 56(2): 352-355.
10. Singh P, Prasad S, Albersberg W. Bioavailability of Fe and Zn in selected legumes, cereals, meat and milk products consumed in Fiji. *Food Chem*. 2016; 207(2016): 125-131.
11. Silva AC, Soares DJ, Ribeiro LM, Wilane R, Machado PH, de Abreu E. In vitro bioaccessibility of copper, iron, zinc and antioxidant compounds of whole cashew apple juice and cashew apple fibre (*Anacardium occidentale* L.) following stimulated gastro-intestinal digestion. *Food Chem* 2014; 161(2014): 142-147.
12. Gautam S, Platel K, Srinivasan K. Influence of β -carotene-rich vegetables on the bioaccessibility of zinc and iron from food grains. *Food Chem* 2010; 122(2010): 668-672.
13. Stangoulis J. Sampling protocols in crops for analysis micronutrients. Stangoulis J, Sison C, ed. *HarvestPlus Technical Monographs*. Washington, United States: Harvest Plus 2008. p. 20.
14. Miller D, Schriker R, Rasmussen R, Van Campen D. An in vitro method for estimation of iron availability from meals. *Am J Clin Nutr* 1981; 34: 2248-2256.
15. Argyri K, Birba A, Miller DD, Komaitis M, Kapsokafalou M. Predicting relative concentrations of bioavailable iron in foods using in vitro digestion: New developments. *Food Chem* 2009 Mar; 113(2): 602-607.
16. Rush RM, Yoe JH. Colorimetric determination of zinc and copper with 2-carboxy-2'-hydroxy-5'-sulfoformazylbenzene (Zincon). *Anal Chem* 1954; 26(8): 1345-1347.
17. Macnair MR, Smirnoff N. Use of zincon to study uptake and accumulation of zinc by zinc tolerant and hyperaccumulating plants. *Commun Soil Sci Plant Anal* 1999; 30(7,8): 1127-1136.
18. Latta M, Eskin M. A simple and rapid colorimetric method for phytate determination. *J Agric Food Chem*. 1980; 28(6): 1313-1315.
19. Lehrfeld J. High-Performance Liquid Chromatography analysis of phytic acid on a pH-stable, macroporous polymer column. *Cereal Chem*. 1989; 66(6): 510-515.
20. Wade, H.E., Morgan DM. Fractionation of Phosphates by Paper Ionophoresis and Chromatography, I A. *Biochem J*. 1955; 60: 264-270.
21. Homsher R, Zak B. Spectrophotometric investigation of sensitive complexing agents for the determination of zinc in serum. *Clin Chem* 1985 Aug; 31(8): 1310-1313.
22. Platte JA, Marcy VM. Photometric Determination of Zinc with Zincon. *Anal Chem* 1959; 31(7): 1226-1228.
23. Säbel CE, Neurether JM, Siemann S. A spectrophotometric method for the determination of zinc, copper, and cobalt ions in metalloproteins using zincon. *Anal Biochem* 2010; 397: 218-226.
24. Xu J, Yang L, Wang Z, Dong G, Huang J, Wang Y. Toxicity of copper on rice growth and accumulation of copper in rice grain in copper contaminated soil. *Chemosphere* 2006; 62(4): 602-607.

25. Shaygany J, Peivandy N, Ghasemi S. Increased yield of direct seeded rice (*Oryza sativa* L.) by foliar fertilization through multi-component fertilizers. *Arch Agron Soil Sci* 2012; 58(10): 1091-1098.
26. El-Meshawy AM, El-Asmy AA. Zincon polymer as a new modifier for selective separation and determination of copper and zinc from synthetic, water and drug samples. *Indian J Sci Techno* 2009; 2(Feb2009): 78-84.
27. Domínguez BM, Victoria M, Gómez I, León R. Phytic Acid :nutritional aspects and analytical implications. *Arch Latinoam Nutr.* 2002; 53(3): 1-29.
28. Bosscher D, Lu Z, Janssens G, Van Caillie-Bertrand M, Robberecht H, Rycke H De, et al. In vitro availability of zinc from infant foods with increasing phytic acid contents. *Br J Nutr.* 2001; Mar 9; 86(2): 241-247.
29. Mitchikpe ECS, Dossa R a. M, Ategbo E-AD, van Raaij JM a., Hulshof PJM, Kok FJ. The supply of bioavailable iron and zinc may be affected by phytate in Beninese children. *J Food Compos Anal* 2008; Feb 21(1): 17-25
30. Al Hasan SM, Hassan M, Saha S, Islam M, Billah M, Islam S. Dietary phytate intake inhibits the bioavailability of iron and calcium in the diets of pregnant women in rural Bangladesh: a cross-sectional study. *BMC Nutr.* 2016; 2(1): 24.
31. Sandström B. Micronutrient interactions: effects on absorption and bioavailability. *Br J Nutr* 2001; 85: 181-185.
32. Simpson CJ, Wise A. Binding of zinc and calcium to inositol phosphates (phytate) in vitro. *Br J Nutr* 1990; 64(1): 225-232.
33. Trijamatko KR, Dueñas C, Tsakirpaloglou N, Torrizo L, Arines FM, Adeva C. Biofortified indica rice attains iron and zinc nutrition dietary targets in the field. *Sci Rep* 2016 (January); 1-13.
34. Saenchai C, Prom-u-thai C, Jamjod S, Dell B, Rerkasem B. Genotypic variation in milling depression of iron and zinc concentration in rice grain. *Plant Soil* 2012; 361(1-2): 271-278.
35. Suliburska J, Krepcio Z. Evaluation of the content and bioaccessibility of iron, zinc, calcium and magnesium from groats, rice, leguminous grains and nuts. *J Food Sci Technol* 2011; 51(3): 589-594.
36. Hemalatha S, Platel K, Srinivasan K. Zinc and iron contents and their bioaccessibility. *Food Chem.* 2007; 102(4): 1328-1336.
37. Gao X, Zou C, Zhang F, Hofflan E. From flooded to aerobic conditions in rice cultivation: Consequenses for zinc uptake. *Pant Soil.* 2006; 280: 41-47.
38. Bostick BC, Hanse CM, La Force MJ, Fendorf S. Seasonal fluctuations in zinc speciation within a contaminated wetland. *Environ Sci Technol* 2001; 35(19): 3823-3829.
39. Medeiros CM, Pires JC, Tsai SM, Vitorello VA. Seed phytate content and phosphorus uptake and distribution in dry beans genotypes. *Braz J Plant Physiol* 2002; 14(1): 51-58