

Validación de la metodología analítica para cuantificar el calcio mediante la espectroscopía de absorción atómica de llama y su cuantificación en alimentos de la canasta básica costarricense

Fecha de recepción: 11/02/2009

Fecha de aceptación: 25/02/2010

Paulina Silva Trejos¹
Ericka Valverde Montero²

Palabras clave

Nutriente, alimentos, calcio, macromineral, osteoporosis.

Resumen

Se validó la metodología analítica para la determinación de calcio en alimentos mediante la espectroscopía de absorción atómica de llama. Las muestras de 0,5 g se digirieron en horno de microondas con 5,0 mL de HNO₃ al 65% en masa. Se obtuvo un ámbito de linealidad óptimo de 0,030 mg/L a 0,87 mg/L, con un coeficiente de correlación de 0,9995. Los límites de detección y cuantificación reportados fueron de 0,029 mg/L y 0,057

mg/L, respectivamente. La sensibilidad de calibración fue de 0,267 A.Lmg⁻¹ y la sensibilidad analítica fue de 81 Lmg⁻¹. La precisión se evaluó en condiciones de repetibilidad y se obtuvo un valor para RDSr igual a 1,7%. La veracidad se determinó al utilizar tres patrones certificados de la NIST®: SRM 1846 *Infant Formula*, con un valor reportado de calcio de (3670±200) mg/kg; SRM 1846 *Bovine Muscle Powder* con un valor reportado de calcio de (145±20) mg/kg; y SRM 8415 *Whole Egg Powder* con un valor reportado de calcio de (0,248±0,019)% en masa. En los tres casos se obtuvieron sesgos de -0,005 mg/L en promedio.

1. Profesora e investigadora, Escuela de Química, Sección de Química Analítica, Universidad de Costa Rica. Correo electrónico: stpaulinita@gmail.com
1. Profesora e investigadora, Escuela de Química, Sección de Química Analítica, Universidad de Costa Rica. Correo electrónico: erickavm@gmail.com

Por otro lado, se analizó una muestra de 46 alimentos seleccionados de la canasta básica alimentaria del costarricense, cocinados de la manera en que se consumen sin agregarles aditivos. Los alimentos con contenido de calcio cuantificable fueron: productos lácteos (leche entera en polvo, leche fluida, queso crema, queso mozzarella, queso fresco, yogurt líquido, tanto semidescremado como entero), vegetales (zanahoria, camote, cebolla, brócoli), granos (frijoles, lentejas, garbanzos), pan y tortillas.

Key words

Nutrient, foods, calcium, macromineral, osteoporosis.

Abstract

The analytical methodology for quantitative determination of calcium in foods by flame atomic absorption spectrometry was validated. The sample digestion of 0,5 g was realized by microwave oven with 5,0 mL of 65% nitric acid. The linearity range was from 0,030 mg/L to 0,87 mg/L with a correlation coefficient equal to 0,9995. The detection and quantification limits were (0,029 mg/L y 0,057 mg/L respectively. The calibration sensitivity of 0.267 was A.Lmg⁻¹. and the analytical sensitivity was 81 Lmg⁻¹. The precision was evaluated in terms of repeatability, we obtained a value equal to 1,7% RDSr. The trueness was determined using three certified standards of the NIST®, SRM 1846 Infant Formula with a reported value for calcium (3670 ± 200) mg / kg, SRM 1846 Bovine Muscle Powder with a reported value for calcium (145 ± 20) mg / kg, and SRM 8415 Whole Egg Powder with a reported value for calcium (0.248 ± 0.019)% by mass, in the three cases were obtained an average bias of -0.005 mg/L.

We tested a sample of 46 selected foods from the basic food basket of Costa Rica, cooked the way you eat without

adding additives. The calcium content foods were quantifiable: dairy products (whole milk powder, liquid milk, cream cheese, mozzarella cheese, fresh cheese, liquid yogurt, skim, whole), vegetables (carrots, sweet potato, onion, broccoli), beans (beans, lentils, chickpeas), bread and tortillas.

Introducción

El calcio es un macromineral indispensable para la formación de huesos y dientes, la contracción muscular y el funcionamiento del sistema nervioso; también interviene en la coagulación de la sangre y en la actividad de algunas enzimas. Sin embargo, la mayoría del calcio en el organismo se encuentra en los huesos y en los dientes. Una manera de prevenir la deficiencia de calcio en el organismo es por medio de una dieta rica en alimentos que lo contengan, por ejemplo, productos lácteos (quesos, yogurt), espinacas, mostaza, rábano, brócoli, frijoles y ajonjolí (Ministerio de Salud, 1997).

En Costa Rica se han realizado investigaciones para determinar el consumo promedio de calcio por parte de la población. La Encuesta Nacional de Nutrición, realizada en Costa Rica en 1966, mostró un consumo promedio de calcio de 717 mg/día, cuyas fuentes principales fueron los alimentos lácteos y los frijoles. Para 1982, este consumo disminuyó a 505 mg/día, tanto en habitantes del área rural como del área urbana. En ambas poblaciones se identificaron los productos lácteos como fuente principal. Un estudio nutricional en mujeres mayores de 45 años de la Región Brunca, realizado en 1991, demostró un consumo promedio de calcio de 600 mg/día.

En este caso, las fuentes identificadas fueron: la leche, los frijoles, el huevo, la tortilla, el queso y la natilla. Otro estudio de 1993 llevado a cabo en adultos en Tibás mostró un consumo promedio de calcio de 532 mg/día. Todos estos

El calcio es un macromineral indispensable para la formación de huesos y dientes, la contracción muscular y el funcionamiento del sistema nervioso; también interviene en la coagulación de la sangre y en la actividad de algunas enzimas.

En America Latina, específicamente en Costa Rica, la osteoporosis es la principal causa de fracturas de cadera en pacientes menopáusicas. En Costa Rica se desconoce la incidencia y la prevalencia de osteoporosis; sin embargo, se estima que en promedio 1300 casos anuales de fracturas de cadera se deben a esta razón.

datos muestran una deficiencia de calcio con respecto a los requerimientos diarios recomendados, (Murillo, 1999; Ministerio de Salud, 1986).

Dentro de las estrategias del Plan Nacional para la Prevención de las Deficiencias de Micronutrientes, realizado para el período 1999-2002, se establece como meta brindar un mejor conocimiento sobre la situación del calcio y el zinc a la población de Costa Rica; asimismo, se propone validar la metodología de cuantificación de calcio en suero. Sin embargo, no se considera la evaluación del contenido en los alimentos consumidos por la población (Ministerio de Salud, Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud, Caja Costarricense de Seguro Social y Ministerio de Educación, 1999).

En America Latina, específicamente en Costa Rica, la osteoporosis es la principal causa de fracturas de cadera en pacientes menopáusicas. En Costa Rica se desconoce la incidencia y la prevalencia de osteoporosis; sin embargo, se estima que en promedio 1300 casos anuales de fracturas de cadera se deben a esta razón (Salazar, 2008).

El método oficial del AOAC 985.35 para cuantificar el contenido de calcio en alimentos utiliza la técnica de espectrometría de absorción atómica con llama (Official Methods of Analysis of AOAC International, 2005), el cual se validó en esta investigación. Con dicho método se evaluó el contenido de este mineral en alimentos seleccionados de la canasta básica de consumo en Costa Rica. El control de la osteopenia y la osteoporosis requiere determinar la ingesta real de calcio por parte de la población costarricense; asimismo, estos datos son importantes en las políticas de enriquecimiento de alimentos.

Materiales y métodos

Las mediciones se realizaron con un espectrofotómetro de absorción atómica marca Varian SpectrAA, modelo 220Fast

Sequential provisto de una lámpara de calcio y una llama óxido nitroso acetileno. Se trabajó a una longitud de onda igual a 422,7 nm y con una corriente de 10 mA.

La selección de la muestra se hizo de acuerdo con la Encuesta Nacional de Nutrición. El muestreo de los productos industrializados, como arroz, leche, quesos, pastas, tortillas, pan, entre otros, se realizó mediante la aplicación del método aleatorio simple. Para los alimentos de origen agrícola que se venden en unidades sueltas o empacados, por ejemplo, papas, cebollas, brócoli, chile dulce, frutas, entre otros, el número de unidades seleccionadas dependió del tamaño de las unidades individuales del alimento con el fin de que, en total, la muestra primaria tuviera una masa de (0,1 - 0,5) kg.

En cada prueba se tomaron tres muestras primarias, a partir de las cuales se obtuvo una muestra compuesta de (0,1-0,2) kg con la parte comestible del alimento. En el caso de las carnes (pechuga de pollo deshuesada, bistec de lomo, hígado de pollo y de res, filete de pescado), se compraron tres porciones individuales entre (0,1-0,5) kg para obtener la muestra compuesta. La preparación de los alimentos se realizó según su consumo más habitual (frescos o cocidos), con base en los métodos de preparación de muestra indicados por Greenfield y Southgate. Las muestras se recolectaron cada cuatro meses por un periodo de un año (Ministerio de Salud, 1996; Greenfield y Southgate, 2003).

Dichas muestras se cocieron a la manera habitual de consumo, pero sin agregarles ningún aditivo como aceite o sal. Para los alimentos que se consumen sancochados, se utilizó agua desionizada y se cocinaron en horno de microondas hasta suavidad en recipientes plásticos; los alimentos que se consumen fritos se cocinaron a la plancha, en sartén de teflón. Posteriormente, los alimentos se homogenizaron y se liofilizaron para tomar las muestras para la digestión y posterior determinación

del calcio. La digestión de las muestras se realizó en un horno de microondas Milestone, modelo Microwave MWS-2. (Products and Instruments GmbH, 2004).

Los patrones de calcio para obtener la curva de calibración se prepararon a partir de una disolución patrón, J.T.Baker trazable a la NIST® con una concentración de (1000 ± 1) mg/L al 5 % en HNO₃. Los patrones para la curva de calibración se prepararon en el ámbito de (0,03-0,87) mg/L. Los parámetros analíticos evaluados fueron la linealidad, la precisión (repetitividad), la sensibilidad y la veracidad.

Las etapas de digestión y medición de las muestras de alimentos seleccionados se llevaron a cabo bajo un estricto control de calidad. Cada 4 muestras se analizó un ensayo en blanco; cada 10 muestras se comprobó la veracidad al realizar una medición de una muestra de material de referencia certificado, y cada corrida de lectura se verificó la respuesta del espectrómetro de absorción atómica con una disolución patrón de calcio de concentración intermedia trazable a la Nist®.

Resultados

La evaluación de las condiciones analíticas óptimas para la cuantificación de calcio en las diferentes matrices de alimentos se realizó utilizando materiales de referencia certificados de la Nist®: SRM 1846 Infant Formula, SRM 1846 Bovine Muscle Powder y SRM 8415 Whole Egg Powder.

El ámbito de linealidad óptimo se obtuvo para el ámbito de (0,03-0,87) mg/L con un coeficiente de correlación igual a 0,9995. La sensibilidad de calibración fue de 0,267 A.Lmg⁻¹ y la sensibilidad analítica fue de 81 Lmg⁻¹. En la figura 1 se presentan la curva de calibración y los límites de confianza obtenida por mínimos cuadrados ponderados.

La precisión se evaluó en condiciones de repetitividad y se obtuvo un valor para RDSr igual a 1,7%.

Los límites de detección y cuantificación se determinaron gracias al método gráfico. En la figura 2 se incluyen los resultados obtenidos iguales a 0,029 mg/L y 0,057 mg/L, respectivamente.

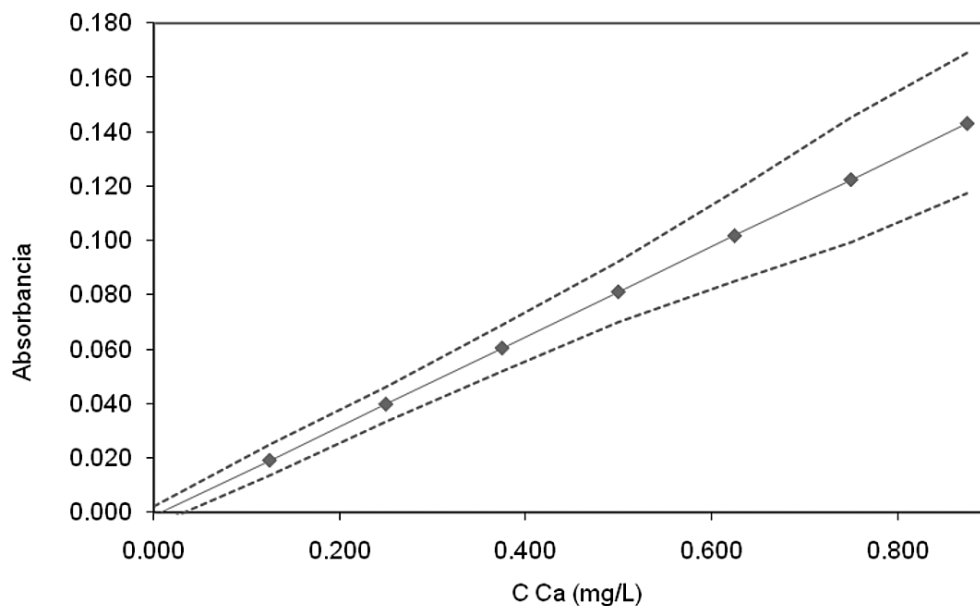


Figura 1. Curva de calibración para calcio mediante el método de mínimos cuadrados ponderados y límites de confianza al 95%.

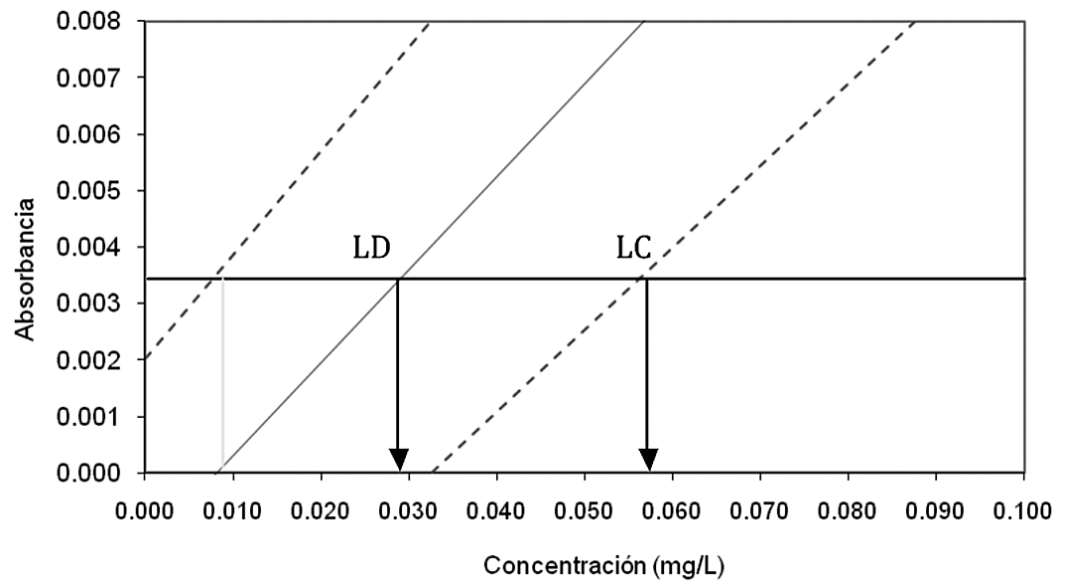


Figura 2. Límite de detección y límite de cuantificación para el calcio.

La precisión se evaluó en condiciones de repetibilidad y se obtuvo un RSD 1,5% para la SRM 1846 Infant Formula, un 2,0% para la SRM 1846 Bovine Muscle Powder y un 1,5% para la SRM 8415 Whole Egg Powder. La veracidad se evaluó para los mismos materiales de referencia: SRM 1846 Infant Formula, con un valor reportado para calcio de (3670 ± 200) mg/kg, SRM 1846 Bovine Muscle Powder, con un valor reportado para calcio de (145 ± 20) mg/kg, y SRM 8415 Whole Egg Powder, con un valor reportado para calcio de $(0,248 \pm 0,019)$ % en masa. En los tres casos se obtuvieron sesgos de -0,005 en promedio con un nivel de confianza del 95%.

Una vez determinados los parámetros de validación para la metodología de cuantificación por absorción atómica, se procedió al análisis de las muestras ya digeridas para determinar el contenido de calcio. Los porcentajes de humedad se determinaron por duplicado para cada alimento fresco si este se consume sin cocinar, o cocinado si esta es la manera de consumirlo. En los cuadros del 1 al 6 se muestran los resultados de humedad

y el contenido de calcio, expresado por porción de 100 g de alimento fresco para cada grupo de alimentos.

Discusión

La toma de la muestra en el análisis de alimentos es decisiva para determinar el margen de error derivado de la inferencia estadística de la población. El plan de muestreo adoptado depende de las características del alimento. El diseño de la muestra de laboratorio de los alimentos industrializados líquidos es el caso de menor complicación, debido a que se producen mediante procesos con un alto control de calidad, lo que permite obtener productos muy homogéneos en cuanto a su composición por *batch* y entre diferentes *batches* de producción, como se comprobó en esta investigación.

En el diseño de la muestra en el caso de alimentos primarios, como carnes, frutas y hortalizas, la inferencia estadística se limita al origen de los alimentos distribuidos en los puntos de venta seleccionados, al punto de muestreo, a la variedad y al grado de maduración en el caso de las frutas,

Cuadro 1. Contenido de humedad y de calcio en lácteos y derivados pertenecientes a la canasta básica del costarricense.

Alimento	% Humedad	mgCa/100 g de alimento fresco
Leche entera en polvo reconstituida, instantánea, 100% de vaca, enriquecida con vitamina A, D, ácido fólico y Fe	NA	235 ± 17
Leche entera en polvo, instantánea, 100% de vaca, enriquecida con vitamina A, D, ácido fólico y Fe	NA	735 ± 88
Leche fluida descremada, 100% de vaca, enriquecida con vitamina A, C, D, ácido fólico y Fe	NA	98 ± 16
Queso crema tipo americano, pasteurizado	66,7	103 ± 19
Queso fresco pasteurizado nacional	62,4	503 ± 77
Queso mozzarella pasteurizado nacional	55,0	461 ± 75
Yogurt pasteurizado, azucarado, aromatizado, con albaricoque	NA	90 ± 17
Yogurt fluido pasteurizado, azucarado, aromatizado, sabor a fresa	NA	104 ± 15
Yogurt semidescremado, pasteurizado, con cultivos probióticos, azucarado, aromatizado, sabor a fresa	NA	102 ± 16

Cuadro 2. Contenido de humedad y de calcio en cereales y derivados pertenecientes a la canasta básica del costarricense.

Alimento	% humedad	mgCa/100 g de alimento fresco
Arroz precocido, grano entero, cocido con agua desionizada en horno de microwondas, enriquecido con niacina, vitamina B1, vitamina B12, ácido fólico, zinc y selenio	51,30	4 ± 0,9
Arroz pulido, grano entero, cocido con agua desionizada en horno de microondas, enriquecido con niacina, vitamina B ₁ , vitamina B ₁₂ , ácido fólico, zinc y selenio	51,95	5 ± 1
Avena en hojuelas, nacional, cocida con agua desionizada en microondas,	68,0	18 ± 2
Pan de trigo, cuadrado, blanco, nacional	38,0	263 ± 20
Pasta, caracolitos, pasta al huevo, cocida en agua desionizada sin aditivos en horno de microondas	66,5	9,1 ± 2
Pasta, tornillos, pasta al huevo, cocida en agua desionizada sin aditivos en horno de microondas	58,0	16 ± 3
Tortillas de maíz blanco tratado con cal nacional, cocida industrial	49,0	25 ± 4

Cuadro 3. Contenido de humedad y de calcio en leguminosas de la canasta básica del costarricense.

Leguminosas	% humedad	mgCa/100 g alimento fresco
Frijol negro, semilla entera nacional, cocido en agua desionizada en microondas	80,35	35 ± 10
Frijol rojo, semilla entera nacional, cocido en agua desionizada en microondas	71,6	49 ± 13
Garbanzo cocido, semilla entera nacional, cocido en agua desionizada en microondas	68,8	34 ± 9
Lenteja, semilla entera nacional, cocida en agua desionizada en microondas	73,23	38 ± 10

Cuadro 4. Contenido de humedad y de calcio en carnes y derivados pertenecientes a la canasta básica del costarricense.

Alimento	% de humedad	mgCa/100 g de alimento fresco
Bistek, lomo, nacional, cocido con agua desionizada en microondas	62,4	5 ± 2
Hígado de pollo cocido en agua desionizada en microondas, sin aditivos	68,0	5 ± 1
Hígado de res, nacional, cocido con agua desionizada en microondas	69,2	4 ± 1
Pescado, filet de tilapia, limpio, fresco, sin escamas, cocido con agua desionizada en microondas, nacional	63,5	17 ± 5
Pollo, pechuga, sin piel, nacional cocida con agua desionizada en microondas, Pipasa	69,8	8 ± 3

Cuadro 5. Contenido de humedad y de calcio en verduras y hortalizas pertenecientes a la canasta básica del costarricense.

Alimento	% de humedad	mgCa/100g de alimento fresco
Ajo, bulbo, crudo, pelado	73,3	12 ± 2
Brócoli, tallo y flor, cocido con agua desionizada en microondas, feria del agricultor	91,6	38 ± 9
Camote, amarillo, tubérculo, sin cáscara, nacional, cocido con agua desionizada en microondas, feria del agricultor	58,3	44 ± 9
Cebolla, blanca, cruda, pelada	93,2	26 ± 5
Chile dulce, fruto, sin semillas, crudo, nacional	93,6	14 ± 3

Continúa...

Continuación

Alimento	% de humedad	mgCa/100g de alimento fresco
Papa, amarilla, tubérculo, sin cáscara, nacional, cocida con agua desionizada en microondas, feria del agricultor	81,3	2,4 ± 0,9
Plátano maduro, fruto, nacional, cocido con agua desionizada en microondas, feria del agricultor	75,8	4,5 ± 1
Zanahoria, raíz, sin cáscara, nacional, cocido con agua desionizada en microondas, feria del agricultor	90,5	73 ± 12

Cuadro 6. Contenido de humedad y de calcio en frutas pertenecientes a la canasta básica del costarricense.

Alimento	% de humedad	mgCa/100g de alimento fresco
Aguacate, Hass, de primera, fruto maduro, cáscara negra verdosa	75,9	8,3 ± 1,9
Banano criollo, maduro, cáscara amarilla con manchas, fruto amarillo intenso	73,9	5,1 ± 0,9
Banano, de exportación, fruto amarillo pálido, Banasun, <i>Premiun quality banana</i>	74,2	5 ± 2
Fresas, maduras, rojas, fruto sin hojas, de Llano Grande de Cartago	93,1	6,2 ± 0,9
Manzana Gala, cáscara rojiamarilla, fruto con cáscara, sin semilla	85,7	7,5 ± 0,8
Manzana Golden, amarilla, fruto con cáscara, sin semilla	85,7	5,1 ± 0,8
Melón, petatillo, de primera, maduro, pulpa (parte amarilla), sin semillas, de Sardinal de Guanacaste	94,8	8 ± 2
Papaya nacional, madura, cáscara amarilla, pulpa, sin semillas	87,6	8,3 ± 0,9
Papaya suprema, cáscara amarilla, pulpa, sin semillas	87,7	9,8 ± 0,9
Piña hawaiana, cáscara amarillo verdosa, madura, pulpa sin corazón	87,9	10 ± 1
Piña oro, cáscara amarilla, madura, pulpa, sin corazón	83,5	8 ± 2
Sandía miquiliquei, de primera, pulpa (parte roja), sin semillas	92,1	9,9 ± 1
Tomate, nacional, maduro, entero, con semilla, sin pelar, cáscara roja, de San Isidro de Tejar	94,3	4,3 ± 0,9

En Costa Rica, una gran cantidad de la población costarricense consume productos distribuidos en las ferias del agricultor, las cuales se llevan a cabo en todo el país y, por lo tanto, se espera que la variabilidad en la concentración de los minerales sea mayor debido a que se cultivan en diferentes regiones geográficas.

verduras y hortalizas, entre otras variables. En Costa Rica, una gran cantidad de la población costarricense consume productos distribuidos en las ferias del agricultor, las cuales se llevan a cabo en todo el país y, por lo tanto, se espera que la variabilidad en la concentración de los minerales sea mayor debido a que se cultivan en diferentes regiones geográficas.

Para esta investigación, las muestras siempre consistieron en la misma variedad de frutas, verduras de frutas, verduras y hortalizas que fueron adquiridas en cadenas de supermercados de cobertura nacional ubicados en San Pedro de Montes de Oca. La selección de las muestras se hizo a conveniencia, según la disponibilidad de recursos económicos en la investigación, lo cual hizo imposible obtener una muestra compuesta a partir de otros simples procedentes de todas las regiones de producción significativas del país.

Los alimentos con mayor contenido de calcio fueron los lácteos y derivados, entre los que se ubica en primer lugar la leche en polvo, con un contenido de 735 mg/100 g. El grupo de las leguminosas ocupa el segundo lugar en contenido de calcio en promedio, cuyos valores se encuentran comprendidos entre los (35-50) mg/100 g, además, la dispersión en el contenido de calcio es muy baja. Dentro del grupo de las verduras y hortalizas destacan la zanahoria, el camote y el brócoli, con un contenido de calcio de 74 mg/100 g, 44 mg/100 g y 38 mg/100 g, respectivamente.

En el grupo de los cereales y derivados, el producto de mayor contenido de calcio es el pan blanco cuadrado elaborado a partir de harina de trigo, con un contenido de 263 mg/100 g, seguido de las tortillas, con un contenido de 25 mg/100 g, y la avena, con valores de 18 mg/100 g. En el grupo de las carnes y derivados, el contenido promedio es de 7,8 mg/100 g, pero se destaca en este grupo el pescado filete de tilapia. Por último, con respecto

al contenido de calcio, las frutas se ubican al final, con contenidos que oscilan entre (5-10) mg/100 g.

Cabe mencionar que, además del contenido de calcio, se debe considerar su biodisponibilidad en el alimento específico desde el punto de vista de los alimentos fuente de este mineral. Los productos lácteos tienen la mayor biodisponibilidad debido al contenido de lactosa, al complejo calcio-caseína y a la relación calcio-fósforo. Alimentos con un contenido significativo de calcio como vegetales, cereales o legumbres tienen una baja biodisponibilidad debido a la presencia de fitatos y oxalatos. Asimismo, se debe considerar que una dieta rica en proteínas disminuye el metabolismo de este mineral.

Agradecimientos

Las autoras agradecen el apoyo económico brindado por la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica para la realización de esta investigación; a la Escuela de Química de la Universidad de Costa Rica, por el uso del laboratorio 219 Q para el tratamiento de las muestras y el uso del espectrómetro de absorción atómica Varian Fast Sequential utilizado para realizar las mediciones en esta investigación; a la Facultad de Farmacia de la Universidad de Costa Rica, por facilitar el uso del liofilizador utilizado en el secado de las muestras; y al Centro de Investigación en Tecnología de Alimentos, por facilitar el uso del liofilizador y la determinación de humedad de algunas muestras.

Referencias

- Berghof (2004) Microwave Digestion System with built in non contact temperature measurement. V5.1. User Manual, Vol 5.1. Germany.
- Greenfield, H., Southgate, D. (2003). *Datos de composición de alimentos*. (2^a Ed. en

- español). Roma:FAO
- Ministerio de Salud (1986) *Encuesta Nacional de Nutrición. Evaluación dietética 1982*. San José, Costa Rica, pp 10-16.
- Ministerio de Salud. (1996) *Encuesta Nacional de Nutrición, fascículo 3: consumo aparente*. Costa Rica.
- Ministerio de Salud (1997) *Guías alimentarias para la educación nutricional en Costa Rica*. San José, Costa Rica.
- Ministerio de Salud, Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud, Caja Costarricense del Seguro Social, Ministerio de Educación (1999) *Plan Nacional para la Prevención de Deficiencias en Micronutrientes (1999-2002)*. San José, Costa Rica.
- Murillo, S. (1999). *Guías alimentarias para Costa Rica. Incidencia y mortalidad del cáncer en Costa Rica 1990-2003*, 2005.
- Official Methods of Analysis of AOAC International, Official Method 985.35, 18th Edition , Revision # 1, 2005.
- Salazar K. (2008). Osteoporosis: un problema mayor de salud pública. *Rev. costarric. salud pública*, 17(32),75-79.