

EVALUACIÓN DE PULPAS DE MORA (Rubus Glaucus) Y REMOLACHA (Beta vulgaris var. conditiva) ENRIQUECIDAS CON HIERRO

**DIANA CATERINNE ARCOS ESCOBAR
107414**

Trabajo de grado presentado para optar al título de Especialista en Ciencia y tecnología de Alimentos

**DIRIGIDO POR:
AMANDA CONSUELO DÍAZ MORENO**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
FACULTAD DE CIENCIAS
Bogotá, 2010**

AGRADECIMIENTOS

Profesora Consuelo Díaz, Directora de trabajo de grado, al Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos ICTA por permitir el uso del espacio y los equipos necesarios para este trabajo, a mi familia por su apoyo y a todas aquellas personas que contribuyeron en la realización de este estudio.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	6
1. MATERIALES Y MÉTODOS	9
1.1 Frutas y hortalizas	9
1.2 Formulación de la pulpa de mora y mora-remolacha	9
1.3 Sales de hierro y solubilidad	9
1.4 Cantidad de hierro para la fortificación	9
1.5 Determinación de hierro en el producto final	10
1.5.1 Determinación de hierro por espectroscopia de absorción atómica	10
1.5.2 Análisis sensorial	11
2. ENSAYOS PRELIMINARES	12
2.1 Características físico químicas	12
2.2 Análisis sensorial para formulación de pulpa de mora y remolacha - Método de kruskal-wallis	12
2.3 Sales de hierro y solubilidad	16
2.4 Fortificación de las pulpas	16
2.5 Análisis sensorial del producto final	17
2.5.1 objetivo de la prueba	18
2.5.2 Número de Panelistas	18
2.5.3 Análisis e interpretación de los resultados	18
3. ANÁLISIS DE RESULTADOS	19
4. CONCLUSIONES	21
5. RECOMENDACIONES	22
BIBLIOGRAFÍA	23
LISTA DE TABLAS	
TABLA 1. Productos fortificados procesos y sales comúnmente utilizadas.	8
TABLA 2. Propiedades físico – químicas y microbiológicas de los compuesto quelados (hierro bisglicinado aminoquelado al 18 - 20% y hierro triglicinado aminoquelado 19%).	10
TABLA 3. Cantidad de teórica de sales de hierro utilizada para alcanzar la concentración requerida (28ppm).	10
TABLA 4. Características físico – químicas de mora y remolacha	12
TABLA 5. Cálculos para análisis sensorial - sabor	13
TABLA 6. Cálculos para análisis sensorial - aroma	13
TABLA 7. Cálculos para análisis sensorial – textura y apariencia	14
TABLA 8. Cálculos para análisis sensorial – color	14
TABLA 9. Resultados del análisis sensorial.	15

TABLA 10. Resultados aceptabilidad.	16
TABLA 11. Concentración de hierro determinada por absorción atómica.	16
TABLA 12. Concentración de hierro aminoquelado en pulpas.	17
TABLA 13. Resultados análisis sensorial mediante prueba triangular	17

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Color de las pulpas tras la adición de sales de hierro aminoquelado.	18
---	----

RESUMEN

Se evaluó el proceso para la fortificación de pulpa de mora y pulpa de mora – remolacha en proporción 80:20 con sales de hierro aminoquelado. Inicialmente se determinó la solubilidad de las sales y esta es mayor cuando se adiciona previamente a la pasteurización. El hierro biglicinado aminoquelado tuvo mayor solubilidad que el hierro triglicinado aminoquelado. Al mezclar la sal directamente con la pulpa se encontró que las sales son más solubles en la mezcla de pulpa de mora – remolacha, pero las concentraciones no permanecen estables en el producto, esto se determinó midiendo la concentración de hierro en las muestras utilizando la técnica de absorción atómica. Finalmente se realizó un análisis sensorial donde no se detectó alteraciones en el sabor, usando concentraciones de hierro de 1,4 mg de Fe/50g de pulpa. Estos resultados indican que se debe explorar más el proceso de fortificación de los productos hortofrutícolas como la pulpa de mora – remolacha para lograr concentraciones del 10% sobre la recomendación nutricional de hierro para la población colombiana adulta.

Palabras claves: pulpas de fruta, hierro bisglicinado aminoquelado, hierro triglicinado aminoquelado, anemia, fortificación y enriquecimiento.

ABSTRACT

We evaluated the process for the fortification of blackberry pulp and pulp from blackberry - beet in 80:20 ratios with iron amino acid chelate salts. Initially it was determined the solubility of salts and this is greater when it is added prior to pasteurization. Ferrous bisglycinate chelate had higher solubility than ferric trisglycinate chelate. By mixing the salt directly to the pulp was found that the salts are more soluble in the mixture of pulp blackberry - beet, but not stable concentrations in the product, it was determined by measuring the concentration of iron in the samples using the technique atomic absorption. Finally, sensory analysis was performed where no changes were detected in taste, using iron concentrations of 1.4 mg Fe/50g pulp. These results indicate that there should further explore the process of fortification of fruit and vegetable products such as pulp blackberry - beet to achieve concentrations of 10% on iron nutritional recommendation for the adult Colombian population.

Keywords: fruit pulp, ferrous bisglycinate chelate, ferric trisglycinate chelate, anaemia, fortification and enrichment.

INTRODUCCIÓN

La deficiencia de hierro continua siendo una de las deficiencias nutricionales más prevalentes en el mundo. En Colombia según la *Encuesta nacional de la situación nutricional en Colombia 2005* (ENSIN) (1), existen grandes problemas en relación con la situación nutricional y alimentaria de la población, dentro de las cuales se destaca como un problema crítico la anemia nutricional en los diversos grupos poblacionales estudiados. La encuesta reportó que el 33,2% de la población entre los 1 – 4 años, el 37,6% de la población entre los 5 – 12 años, el 32,8% de las mujeres entre 13 – 49 años y el 44,7% de las gestantes presentan anemia, comportamiento similar para Bogotá.

Estas cifras despiertan gran preocupación pues como es sabido las deficiencias de vitaminas y minerales expone al individuo a mayores riesgos de muerte, limitando su potencial desarrollo físico e intelectual y restringiendo su capacidad de aprender y trabajar, limitando así las oportunidades de desarrollo profesional y económico, lo que contribuye a perpetuar el ciclo de la pobreza.

Por esta razón la fortificación de alimentos con hierro es un camino eficaz para prevenir la deficiencia de hierro. Aunque existe un obstáculo técnico y es encontrar la combinación adecuada de compuestos de hierro y la matriz alimentaria.

Actualmente encontramos en el mercado alimentos fortificados con hierro. Los Cereales por ejemplo, han funcionado como un excelente vehículo para la adición de hierro por su alto consumo a nivel mundial. La adición del hierro en la harina de trigo (2-3) de la cual se elaboran gran cantidad de productos de panificación se hace añadiendo un paso en el proceso es decir, un dosificador se encarga de medir el hierro en polvo (premezcla) y descargarlo en la harina que va pasando por una banda transportadora a cierta velocidad para asegurar la homogeneidad en la harina final, generalmente se usa sulfato ferroso y para Colombia es obligatorio mediante decreto (4) este proceso; en el arroz (5) la técnica de fortificación más efectiva ha sido la de vaporización donde los granos de arroz con cáscara se enjuagan hasta empaparlos con 150 ml de solución de Fe, la cual consiste en sulfato ferroso (FeSO_4) y etilendiaminotetraacético, sal disódica de ácido acético (Na_2EDTA) mezclados en proporciones molares de 1:1, 2:1, 3:1 y 4:1, respectivamente, luego se someten a vapor y a un secado posterior. De esta manera, se facilita la posterior cocción y los granos quedan más sueltos. Además, una parte de las vitaminas y de los minerales de las capas externas pasan a su

interior y no se eliminan en el proceso de pulido, por esto se aseguran buenas cantidades finales de hierro; la harina de maíz (6) que se obtiene por el proceso de nixtamalización, donde finalizando hay una etapa de mezcla donde se incorpora harina de soya la cual previamente se mezcla con el hierro y finalmente esta mezcla se incorpora a la harina de maíz de la nixtamalización. Se adiciona comúnmente sulfato ferroso, pero su almacenamiento debe ser corto porque empieza a haber enranciamiento de las grasas. De este producto se desarrollan alimentos derivados como arepas, tortillas etc. En estos productos no solo se ha agregado sulfato ferroso sino también se ha probado hemoglobina bovina en galletas (7) debido a que el horneado y en si el proceso disminuye la percepción del sabor y finalmente los cereales infantiles (8) que se fortifican mediante una técnica de someter a cocción una papilla de cereal como el trigo con la sal de hierro comúnmente son usados los compuestos microencapsulados para evitar cambios sensoriales luego hacer un secado en secadora de tambor.

Los aditivos como el azúcar y la sal tienen técnicas diferentes de fortificación, para fortificar el azúcar (9-10) la técnica más adecuada ha sido el suministro manual de FeNaEDTA en un movimiento de barrido, se agrega en la etapa de centrifugación de la azúcar refinada, mientras que todavía tenía 2% de humedad. Esta técnica no requiere un proceso diferente sino que respeta el flujo de proceso. La fortificación de la sal (11) consiste en la trituración de la sal común, la cual se rocía con un spray el cual tiene una mezcla de sulfato ferroso glicinado en agua y posteriormente se mezcla todo cuidadosamente. Para un proceso en seco se mezcla el polvo de sulfato y con una parte de sal y luego se agrega otra parte de sal para una distribución uniforme, esta sal previene la oxidación del producto.

La leche y sus derivados (12-13) son fortificados antes de la pasteurización para asegurar la incorporación del hierro en la matriz alimentaria, se usan sales de hierro encapsuladas para evitar la oxidación de las grasas y el cambio de las características organolépticas.

No solo los alimentos anteriormente mencionados son aquellos que actualmente se encuentran fortificados con hierro, existen otros tantos pero que tienen un menor consumo. Dentro de estos encontramos condimentos (14) y quesos (15) como el cheddar, ras, havarty y Edam que no son de gran conocimiento y consumo por parte de la población colombiana.

TABLA 1. Productos fortificados procesos y sales comúnmente utilizadas

Alimento	Proceso para la fortificación	Tipo de sal usada	Referencia
Arroz	Arroz vaporizado	Sulfato ferroso	5
Harina de trigo	Mezclado	Sulfato ferroso	2-3
Azúcar	Centrifugado	FeNaEDTA etilendiaminotetraacetato ferrosódico	9-10
Harina de maíz	Nixtamalización (premezcla)	Sulfato ferroso Fe - EDTA	6
Sal	Spray	Sulfato ferroso glicinado	11
Productos de panadería	Antes del horneado (premezcla)	Sulfato ferroso Hierro aminoquelado	2-3
Leche y leche achocolatada	Antes de la pasterización.	Sulfato ferroso microencapsulado. Sulfato ferroso (induce sabores no característico) Fumarato ferroso	12 -13
Néctar de frutas	-----	Hierro pirofosfato férrico Micronizado y en comparación con el sulfato ferroso	17

Finalmente los alimentos de nuestro mayor interés son aquellos elaborados con matrices de origen vegetal y aunque existen pocos estudios acerca de los alimentos fortificados con hierro que comparten esta característica, se puede mencionar uno acerca de néctares de fruta (17) que fueron fortificados con Sulfato ferroso (4,92 mg Fe/100ml), Pirofosfato férrico micronizado – PFM (4,92 mg Fe/100ml) y Bis-glicinato ferroso (4,92 mg Fe/100ml) y se concluyó que PFM es un compuesto ideal para ser utilizado en el enriquecimiento de bebidas a base de frutas, ya que presenta una biodisponibilidad semejante al sulfato ferroso, no produce cambios organolépticos en el producto y favorece el estado nutricional del hierro en animales de experimentación con una elevada deficiencia en hierro, aunque en este estudio no se describe el proceso seguido para la fortificación.

Por esta razón el objetivo de este estudio basado en la literatura existente, es evaluar el proceso de fortificación con hierro de un producto hortofrutícola.

1. MATERIALES Y MÉTODOS

1.1 Frutas y hortalizas

Moras (*Rubus Glaucus*) y remolacha (*Beta vulgaris* var. *conditiva*). Todos los frutos y hortalizas fueron tratados varios días después de su cosecha y en la planta piloto de vegetales ICTA de la Universidad Nacional de Colombia, se caracterizaron físico-químicamente.

1.2 Formulación de la pulpa de mora y mora-remolacha

Todas las moras (*Rubus Glaucus*) y remolachas (*Beta vulgaris* var. *conditiva*) tratadas en la planta piloto de vegetales de la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá, pasaron por procesos de recepción, pesaje, selección, clasificación, control de calidad, lavado, escaldado y desulpado.

Se prepararon tres mezclas para pulpa de mora – remolacha, la proporciones fueron 50:50, 70:30 y 80:20 y se sometieron a una prueba sensorial realizada por 15 adultos de ambos géneros entre los 18 y 74 años; para determinar si existían diferencias entre las muestras y cual es la de mayor aceptabilidad. Los datos se analizaron por el método de kruskal – Wallis.

1.3 Sales de hierro y solubilidad

Se usaron compuestos quelados: hierro aminoquelado (hierro biglicinado aminoquelado al 18 – 20 % (18) y hierro triglicinado aminoquelado 19%) marca Aminokel®. (Tabla 2).

Se determinó el contenido de hierro final por absorción atómica (19) de dos muestras de cada una de las sales de hierro aminoquelado, tras disolver 10 mg de sal en 100 ml de agua destilada que para una de las muestras estuvo a temperatura ambiente y para la otra a temperatura de pasteurización.

1.4 Cantidad de hierro para la fortificación

Basados en la tabla de recomendaciones de consumo diario de calorías y nutrientes para la población colombiana del ICBF 1988, el aporte diario de hierro debe ser de 14mg/día para un adulto entre los 18 y 75 años. Con base a esto se cubrirá el 10% de dicha recomendación y así obtener un producto enriquecido según lo estipulado en el capítulo V artículo 19 ítem 19.3 de la resolución 288 de 2008 de la legislación colombiana (20).

TABLA 2. Propiedades físico – químicas y microbiológicas de los compuesto quelados (hierro biglicinado aminoquelado al 18 - 20% y hierro triglicinado aminoquelado 19%).

PROPIEDADES	HIERRO BIGLICINADO AMINOQUELADO AL 18-20%	HIERRO TRIGLICINADO AMINOQUELADO 19%
FÍSICO - QUÍMICAS		
Apariencia	Polvo fino de color entre café y verde	Polvo fino de flujo libre de color rojo oscuro a café rojizo
Solubilidad	Libremente soluble en agua	Ligeramente soluble en agua
Densidad	0.7 – 1.2 g/ml	0.7 – 1.2 g/ml
pH	7.0 – 8.5 (solución al 1% en H ₂ O destilada)	6.5 – 8.0 (solución al 1% en H ₂ O destilada)
Pérdida por Ignición	60 – 75% (8H a 650° C)	55 – 75% (8H a 650° C)
Humedad	No más de 8% (105° C, 15 min)	No más de 6.0% (105° C, 15 min)
Ensayo	No menor de 18% de HIERRO ELEMENTAL	No menor de 19% de HIERRO ELEMENTAL
MICROBIOLÓGICAS		
Cuenta Total	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
Hongos y Levaduras	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
Coniformes Totales	Menos de 3.0% de la cuenta total	Menos de 3.0% de la cuenta total
E. Coli	Negativo	Negativo
Staphylococcus Aureus	Negativo	Negativo
Salmonella	Negativo	Negativo

Fuente: Grupo unipharm S.A. Colombia. www.grupounipharm.com.

Se manejó un peso neto final de 250 g de pulpa empacada que reconstituida hace 5 vasos de jugo de 240 ml es decir, 5 porciones de 50 g; así que el aporte por porción debe ser de 1.4 mg de hierro, esto se lograra agregando en cada tratamiento cantidades adecuadas de hierro (ver tabla 3).

Concentración de Hierro requerido en las pulpas:

$$C_{\text{Hierro}} = \frac{1.4 \text{ mg}}{50 \text{ g}_{\text{pulpa}}} * \frac{1000 \text{ g}}{1 \text{ Kg}} = 28 \frac{\text{mg}}{\text{Kg}} = 28 \text{ ppm}_{\text{Hierro}}$$

TABLA 3. Cantidad de teórica de sales de hierro utilizada para alcanzar la concentración requerida (28ppm)

Tipo de compuesto	Cantidad a agregar por porción de 50 g	Cantidad a agregar por 250 g (peso neto final del producto empacado)
Hierro biglicinado aminoquelado 18-20%.	0.0078 g	0.039 g
Hierro triglicinado aminoquelado 19%	0.0074 g	0.037 g

1.5 Determinación de hierro en el producto final

1.5.1 Determinación de hierro por espectroscopia de absorción atómica (19)

Se empleó un método para la determinación de hierro en su producto, basado en los métodos oficiales de análisis de la AOAC Internacional (Asociación Oficial de Químicos Analíticos). Método 968.08. Para determinar el contenido de hierro elemental.

Se colocan 2.00 g. de el producto en un vaso de precipitado adecuado. Agregar 60 ml de la siguiente mezcla de ácido (1400 ml de HN03 y 240 ml de HCL04). Colocar en un vidrio de reloj en el vaso de precipitado y digerir la muestra en una parrilla, dejar hervir suavemente por cerca de 15 minutos. Dejar enfriar y agregar 15 ml de Cl y continuar hirviendo la solución hasta que aclare y emita humo blanco y denso. En ningún momento hervir hasta evaporación completa.

Una vez terminada la digestión, dejar enfriar la solución y transferir cuantitativamente a un matraz volumétrico de 500 ml. Posteriormente aforar a 500 ml con agua destilada desionizada y mezclar bien. Pipetear una alícuota de 0.3 ml de la solución diluida en un matraz volumétrico de 100 ml., aforar a 100 ml como en el paso anterior y mezclar bien. Emplear esta solución para el análisis de absorción atómica utilizando tres estándares y plotear línea de regresión. El calculo del hierro se hace de acuerdo a la ecuación descrita abajo y los valores aceptados para su liberación son de 20.0 – 22.0% de hierro elemental (100 – 110% según etiqueta).

$$\%Fe = \frac{(\text{lectura del instrumento}) (\text{mg}) (0.5 \text{ L}) (100 \text{ ml}) (1\text{g}) (100)}{(\text{L}) (2.00 \text{ g}) (0.3 \text{ ml}) (1000 \text{ mg})}$$

1.5.2 Análisis sensorial

Luego de ajustar las cantidades de las sales de hierro a agregar según los resultados del análisis de minerales, se aplicó una prueba sensorial final según la NTC 2681 de 2006 (21), esta prueba se aplicó para determinar diferencias sensoriales perceptibles sobretodo si se detectaba la presencia de hierro en las pulpas.

2. ENSAYOS PRELIMINARES

2.1 Características físico químicas (Ver tabla 4)

TABLA 4. Características físico – químicas de mora y remolacha

	°Brix	pH	Acidez titulable	Índice de madurez
Mora	8	3,18	2.71	2.95
Remolacha	10	5,99	0.31	32.2

2.2 Análisis sensorial para formulación de pulpa de mora y remolacha - Método de kruskal-wallis

Los resultados de las pruebas preliminares sensoriales se analizaron según el método de Kruskal-Wallis en el cual se midió la diferencia en calidad de las muestras preparadas. Se hará una muestra de cálculos para determinar la diferencia de calidad en las diferentes características sensoriales de las muestras de pulpa de mora – remolacha 50/50, 70/30 y 80/20, para lo cual fue necesario calcular los siguientes parámetros:

$$1. T_{cal} = \frac{12}{N(N+1)} \sum \frac{R^2}{n} - 3 \frac{N+1}{4}$$

$$2. S^2 = \frac{N(N+1)}{12}$$

$$3. DMS_{cal} = \left| \frac{R_i}{n_i} - \frac{R_j}{n_j} \right|$$

$$4. DMS_{tab} = t_{1-\alpha/2} \left(S^2 \left(\frac{N-1-T_{cal}}{N-k} \right)^{1/2} \left(\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_j} \right)^{1/2} \right)$$

Los resultados de la muestra de cálculos se resumen en las tablas 5 a 8.

TABLA 5. Cálculos para análisis sensorial - sabor

MORA - REMOLACHA SABOR									
CATADOR	50/50			70/30			80/20		
	Puntaje	rango	rango^2	puntaje	rango	rango^2	puntaje	rango	rango^2
1	3	18,5	342,25	4	34,5	1190,25	2	5,5	30,25
2	3	18,5	342,25	2	5,5	30,25	4	34,5	1190,25
3	3	18,5	342,25	4	34,5	1190,25	4	34,5	1190,25
4	2	5,5	30,25	3	18,5	342,25	4	34,5	1190,25
5	5	44	1936	4	34,5	1190,25	3	18,5	342,25
6	2	5,5	30,25	3	18,5	342,25	2	5,5	30,25
7	3	18,5	342,25	3	18,5	342,25	2	5,5	30,25
8	3	18,5	342,25	4	34,5	1190,25	2	5,5	30,25
9	2	5,5	30,25	3	18,5	342,25	4	34,5	1190,25
10	2	5,5	30,25	2	5,5	30,25	3	18,5	342,25
11	3	18,5	342,25	4	34,5	1190,25	4	34,5	1190,25
12	5	44	1936	4	34,5	1190,25	4	34,5	1190,25
13	3	18,5	342,25	4	34,5	1190,25	4	34,5	1190,25
14	3	18,5	342,25	4	34,5	1190,25	4	34,5	1190,25
15	5	44	1936	3	18,5	342,25	3	18,5	342,25
	SUMA	302	6080,266667	SUMA	379,5	9601,35	SUMA	353,5	8330,817
		24012				b	15	k	3
		Tcal	1,202512077	Ttab.	2,0181	N	45		

TABLA 6. Cálculos para análisis sensorial - aroma

MORA - REMOLACHA AROMA									
CATADOR	50/50			70/30			80/20		
	puntaje	rango	rango^2	puntaje	rango	rango^2	puntaje	rango	rango^2
1	4	33,5	1122,25	3	15,5	240,25	3	15,5	240,25
2	3	15,5	240,25	3	15,5	240,25	4	33,5	1122,25
3	3	15,5	240,25	3	15,5	240,25	3	15,5	240,25
4	2	2,5	6,25	4	33,5	1122,25	5	43,5	1892,25
5	4	33,5	1122,25	5	43,5	1892,25	3	15,5	240,25
6	4	33,5	1122,25	4	33,5	1122,25	2	2,5	6,25
7	3	15,5	240,25	3	15,5	240,25	4	33,5	1122,25
8	4	33,5	1122,25	3	15,5	240,25	3	15,5	240,25
9	3	15,5	240,25	3	15,5	240,25	5	43,5	1892,25
10	2	2,5	6,25	4	33,5	1122,25	2	2,5	6,25
11	4	33,5	1122,25	5	43,5	1892,25	3	15,5	240,25
12	3	15,5	240,25	3	15,5	240,25	3	15,5	240,25
13	4	33,5	1122,25	3	15,5	240,25	4	33,5	1122,25
14	4	33,5	1122,25	4	33,5	1122,25	3	15,5	240,25
15	4	33,5	1122,25	4	33,5	1122,25	3	15,5	240,25
	SUMA	350,5	8190,016667	SUMA	378,5	9550,817	SUMA	316,5	6678,15
		24419				b	15	k	3
		Tcal	3,559323671	Ttab.	2,0181	N	45		

TABLA 7. Cálculos para análisis sensorial – textura y apariencia

MORA - REMOLACHA TEXTURA Y APARIENCIA									
CATADOR	50/50			70/30			80/20		
	puntaje	rango	rango^2	puntaje	rango	rango^2	puntaje	rango	rango^2
1	3	32	1024	3	32	1024	2	9,5	90,25
2	2	9,5	90,25	2	9,5	90,25	2	9,5	90,25
3	3	32	1024	3	32	1024	3	32	1024
4	3	32	1024	2	9,5	90,25	3	32	1024
5	3	32	1024	3	32	1024	2	9,5	90,25
6	3	32	1024	3	32	1024	2	9,5	90,25
7	3	32	1024	3	32	1024	2	9,5	90,25
8	3	32	1024	3	32	1024	2	9,5	90,25
9	3	32	1024	2	9,5	90,25	2	9,5	90,25
10	3	32	1024	3	32	1024	2	9,5	90,25
11	2	9,5	90,25	3	32	1024	3	32	1024
12	3	32	1024	2	9,5	90,25	2	9,5	90,25
13	2	9,5	90,25	3	32	1024	3	32	1024
14	3	32	1024	2	9,5	90,25	3	32	1024
15	3	32	1024	3	32	1024	2	9,5	90,25
	SUMA	412,5	11343,75	SUMA	367,5	9003,75	SUMA	255	4335
		24683				b	15	k	3
		Tcal	5,086956522	Ttab.	2,0181	N	45		

TABLA 8. Cálculos para análisis sensorial – color

MORA. REMOLACHA COLOR									
CATADOR	50/50			70/30			80/20		
	puntaje	rango	rango^2	puntaje	rango	rango^2	puntaje	rango	rango^2
1	3	30	900	3	30	900	1	1,5	2,25
2	3	30	900	3	30	900	3	30	900
3	3	30	900	3	30	900	3	30	900
4	3	30	900	3	30	900	3	30	900
5	3	30	900	2	8,5	72,25	2	8,5	72,25
6	2	8,5	72,25	3	30	900	2	8,5	72,25
7	3	30	900	3	30	900	2	8,5	72,25
8	3	30	900	2	8,5	72,25	1	1,5	2,25
9	2	8,5	72,25	3	30	900	2	8,5	72,25
10	3	30	900	3	30	900	3	30	900
11	2	8,5	72,25	3	30	900	2	8,5	72,25
12	3	30	900	3	30	900	3	30	900
13	3	30	900	3	30	900	3	30	900
14	3	30	900	3	30	900	2	8,5	72,25
15	3	30	900	2	8,5	72,25	3	30	900
	SUMA	385,5	9907,35	SUMA	385,5	9907,35	SUMA	264	4646,4
		24461				b	15	k	3
		Tcal	3,803478261	Ttab.	2,0181	N	45		

Como en todos los casos Tcal difiere bastante en magnitud con Ttab se rechaza la hipótesis nula y se procede a calcular la diferencia mínima significativa (DMS), los siguientes son los cálculos para sabor entre 50/50 y 70/30:

$$DMS_{cal} = \left| \frac{R_i}{n_i} - \frac{R_j}{n_j} \right| = \left| \frac{302}{15} - \frac{379}{15} \right| = 5,17$$

$$S^2 = \frac{N(N+1)}{12} = \frac{45(45+1)}{12} = 172,5$$

$$GL = N - k = 45 - 3 = 42$$

$$DMS_{tab} = t_{1-\alpha/2} \left(S^2 \left(\frac{N-1-T_{crit}}{N-k} \right)^{1/2} \left(\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_j} \right)^{1/2} \right)$$

$$DMS_{tab} = 2,0181 \left(172,5 \left(\frac{45-1-1,202512077}{45-3} \right)^{1/2} \left(\frac{1}{15} + \frac{1}{15} \right)^{1/2} \right) = 128.3$$

Como DMS_{tab} difiere bastante de DMS_{cal} se comprueba que las muestras son diferentes en lo que respecta a calidad.

A continuación se presentan las tablas resumen con los resultados encontrados por el método Kruskal-Wallis en pulpa de mora con remolacha:

TABLA 9. Resultados del análisis sensorial.

Muestras	50/50 con 70/30	70/30 con 80/20	50/50 con 80/20
Análisis	SABOR	SABOR	SABOR
DMS calc	5,17	1,73	3,43
S ²	172,5	172,5	172,5
t 1-a/2	2,018	2,018	2,018
G L	42,0	42,0	42,0
DMS tab	128,32	128,32	128,32
CONCLUSIÓN	Diferentes en calidad	Diferentes en calidad	Diferentes en calidad
Muestras	50/50 con 70/30	70/30 con 80/20	50/50 con 80/20
Análisis	AROMA	AROMA	AROMA
DMS calc	1,87	4,13	2,27
S ²	172,5	172,5	172,5
t 1-a/2	2,018	2,018	2,018
G L	42,0	42,0	42,0
DMS tab	124,73	124,73	124,73
CONCLUSIÓN	Diferentes en calidad	Diferentes en calidad	Diferentes en calidad
Muestras	50/50 con 70/30	70/30 con 80/20	50/50 con 80/20
Análisis	TEXTURA Y APARIENCIA	TEXTURA Y APARIENCIA	TEXTURA Y APARIENCIA
DMS calc	3,00	7,50	10,50
S ²	172,5	172,5	172,5
t 1-a/2	2,018	2,018	2,018
G L	42,0	42,0	42,0
DMS tab	122,36	122,36	122,36
CONCLUSIÓN	Diferentes en calidad	Diferentes en calidad	Diferentes en calidad

Muestras	50/50 con 70/30	70/30 con 80/20	50/50 con 80/20
Análisis	COLOR	COLOR	COLOR
DMS calc	0,00	8,10	8,10
S ²	172,5	172,5	172,5
t 1-a/2	2,018	2,018	2,018
G L	42,0	42,0	42,0
DMS tab	124,36	124,36	124,36
CONCLUSIÓN	Diferentes en calidad	Diferentes en calidad	Diferentes en calidad

TABLA 10. Resultados aceptabilidad.

Proporciones de mezcla	% de aceptabilidad:
80:20	60
70:30	25
50:50	15

De las anteriores tablas se puede concluir que todas las muestras son diferentes en calidad en lo que respecta a sabor, aroma, apariencia y textura y color y que la que mayor aceptabilidad tuvo fue la pulpa de remolacha en la proporción de 80:20.

2.3 Sales de hierro y solubilidad

Para determinar si la solubilidad de las sales de hierro aminoquelado era similar a la reportada en la ficha técnica se realizó una prueba de minerales por absorción atómica a cuatro muestras, la primer muestra fue de 10mg hierro biglicinado aminoquelado en 100ml de agua destilada a temperatura de pasteurización, la segunda muestra fue de 10mg de hierro biglicinado aminoquelado en 100ml de agua destilada a temperatura ambiente, la tercer muestra fue 10mg de hierro triglicinado en 100ml de agua destilada a temperatura de pasteurización y la ultima fue de 10mg de hierro triglicinado en 100ml de agua destilada a temperatura ambiente, las dos ultimas muestras es decir, las de hierro triglicinado pasaron por un filtro para eliminar las partículas visiblemente no solubles. Los datos arrojados por la técnica de absorción atómica son los reportados en la tabla 11.

TABLA 11. Concentración de hierro determinada por absorción atómica.

MUESTRA	CONCENTRACIÓN DE Fe (ppm)
Biglicinado pasteurizado	20.9
Biglicinado sin pasteurizar	19.8
Triglicinado pasteurizado	8.1
Triglicinado sin pasteurizar	3.1

2.4 Fortificación de las pulpas

Se adicionó la cantidad necesaria de cada sal para cumplir con lo referente a alimentos fortificados en la resolución 288 de 2008, se midió la concentración de hierro sobre cuatro muestras (ver tabla 12), la primer muestra de pulpa de mora con hierro bisglicinado, la segunda pulpa de mora con hierro triglicinado, la tercera

pulpa de mora – remolacha (80:20) con hierro bisglicinado y la ultima pulpa de mora remolacha (80:20) con hierro triglicinado.

El procedimiento seguido para la adición de las sales fue el siguiente: se tomaron 20 g de cada muestra y se adicionó la cantidad de hierro calculada para 250g de peso de neto de pulpa final empacada. A los 20 g de muestra se les adicionó la respectiva sal y se agitó por tres minutos a 1500 revoluciones por minuto, luego de esto cuando la temperatura de la pulpa estaba cerca a la de pasteurización se adicionó la mezcla de 20g de pulpa más la sal de hierro correspondiente, se termina la pasteurización y se empaca.

TABLA 12. Concentración de hierro aminoquelado en pulpas.

PULPA	CONCENTRACIÓN DE Fe (ppm)
Mora con Biglicinado	16.74
Mora con Triglicinado	20.73
Mora – remolacha (80:20) con biglicinado	21.68
Mora – remolacha (80:20) con triglicinado	20.73

2.5 Análisis sensorial del producto final

Se aplicó una prueba sensorial triangular que es una prueba que permite determinar si existe diferencia sensorial perceptible o similitud entre las muestras de dos productos. El método es un procedimiento de elección-forzada. El método es aplicable si la diferencia que existe está en un solo atributo sensorial o en varios atributos sensoriales.

Esta prueba consiste en suministrar a cada panelista 3 muestras de las cuales dos son iguales y una es diferente. Para nuestro caso se suministraron tres muestras de cada una de las pulpas (sin reconstituir y sin azúcar) es decir que cada panelista analizaba cuatro tríos de muestras y se les pidió que escribieran porqué había seleccionado esa muestra. En la tabla 7 podemos ver cual fue el comportamiento de los panelistas frente a las muestras de pulpa.

TABLA 13. Resultados análisis sensorial mediante prueba triangular

PULPA	# DE PANELISTAS QUE PERCIBEN DIFERENCIA	JUSTIFICACIÓN
Mora con Biglicinado	8	El 62.5% relaciona el cambio con una menor acidez y el 37.5% lo relaciona con cambios de color (Fig.1).
Mora con Triglicinado	3	Cada panelista percibió cambios diferentes, percepción de un sabor a mora más fuerte, disminución de la acidez y una mayor viscosidad.
Mora – remolacha (80:20) con biglicinado	5	El 80% relaciona el cambio con el color (Fig.1) y el 20% lo atribuye a una disminución de la acidez.
Mora – remolacha (80:20) con triglicinado	4	El 50% afirma que la muestra es más acida y el otro 50% percibió un sabor más fuerte a remolacha.

2.5.1 objetivo de la prueba

El objetivo es confirmar si el proceso produce una pulpa fortificada con hierro que se diferencia del producto pulpa sin fortificar.

2.5.2 Número de Panelistas

Según la tabla A.3 de la NTC 2681 el escoger 15 panelistas asegura que la prueba tenga una probabilidad en un 90 % [por ejemplo, 100 (1-p) %] de detectar el caso en el cual el 50 % (p_d) de los panelistas puedan detectar una diferencia entre las muestras durante la prueba. Para esta prueba sensorial se trabajó con un riesgo $\alpha = 0,10$, riesgo $\beta = 0,10$ y $p_d = 50\%$ es $n = 15$.

2.5.3 Análisis e interpretación de los resultados

- Para la muestra de pulpa de mora con hierro bisglicinado aminoquelado:

Un total de 8 panelistas identifican correctamente la muestra distinta. En la Tabla A.1 de la NTC 2681 en la fila correspondiente a $n = 15$ panelistas y la columna correspondiente a $\alpha = 0,10$, se encontró que 8 respuestas correctas son suficientes para concluir que las muestras son perceptiblemente distintas.

- Para la muestra de pulpa de mora con hierro triglicinado aminoquelado:

Un total de 3 panelistas identifican correctamente la muestra distinta. En la Tabla A.1 de la NTC 2681 en la fila correspondiente a $n = 15$ panelistas y la columna correspondiente a $\alpha = 0,10$, se encontró que 3 respuestas correctas concluye que las muestras no son perceptiblemente distintas.

- Para la muestra de pulpa de mora – remolacha (80:20) con hierro biglicinado aminoquelado:

Un total de 5 panelistas identifican correctamente la muestra distinta. En la Tabla A.1 de la NTC 2681 en la fila correspondiente a $n = 15$ panelistas y la columna correspondiente a $\alpha = 0,10$, se encontró que 5 respuestas correctas concluye que las muestras no son perceptiblemente distintas.

- Para la muestra de pulpa de mora – remolacha (80:20) con hierro triglicinado aminoquelado:

Un total de 4 panelistas identifican correctamente la muestra distinta. En la Tabla A.1 de la NTC 2681 en la fila correspondiente a $n = 15$ panelistas y la columna correspondiente a $\alpha = 0,10$, se encontró que 4 respuestas correctas concluye que las muestras no son perceptiblemente distintas.

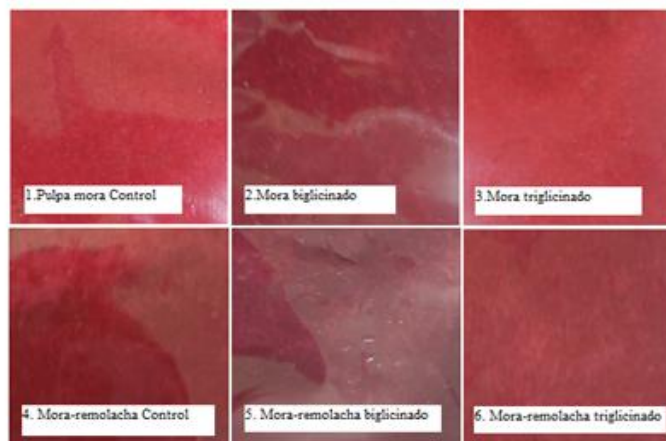


Figura 1. Color de las pulpas tras la adición de sales de hierro aminoquelado.

3. ANÁLISIS DE RESULTADOS

La selección del compuesto de hierro para la fortificación es muy importante para evitar las interacciones con la matriz alimentaria, porque un pequeño cambio en las características organolépticas de los alimentos, resultará en el rechazo de los consumidores. Cuando el compuesto de hierro, se añade, es necesario evaluar los posibles cambios a nivel sensorial con el tiempo y el almacenamiento en condiciones adversas de temperatura y humedad. Otras cuestiones importantes son la solubilidad, la reactividad química, la biodisponibilidad y los costos. Por ejemplo, el sulfato ferroso es altamente biodisponible y relativamente barato, pero debido a su reactividad produce cambios indeseables en algunos alimentos fortificados. Por otra parte, el hierro elemental (reducido, electrolítico o de carbono) es también barato pero se ha informado que tiene una baja biodisponibilidad, dependiendo del tamaño de partícula y el vehículo para la fortificación. Compuestos de hierro protegidos se han notificado que tienen una alta biodisponibilidad, pero generalmente son caros (22).

Actualmente muchos productos comerciales ya están fortificados con sales de hierro queladas o protegidas. Estos quelados fueron desarrollados originalmente para la industria de la alimentación animal (23). Pero hoy en día son usados como un fortificante excelente para alimentos como cereales (24 - 25), sal (11), alimentos infantiles (26), leche (27) y algunas bebidas de fruta (17).

El usar estas sales queladas para la fortificación de productos de origen vegetal resulta ser una estrategia excelente ya que no modifican las características sensoriales del producto en gran proporción. Para nuestro caso el uso de hierro bisglicinado aminoquelado y hierro triglicinado aminoquelado para fortificación de pulpas de fruta y hortalizas arrojó que:

- Estos compuestos permanecen estables a pH bajos como los que manejan algunas frutas y hortalizas, puesto que la concentración final de hierro medido por absorción atómica se acercaba a lo calculado teóricamente y aunque estudios (22) donde se analizó el cambio de la solubilidad de algunos compuestos de hierro tras la variación del pH y se concluyó que la solubilidad del hierro proveniente del glicinato quelado no fue afectada por los cambios de pH entre 2 a 6, probablemente debido a que el hierro permanece asociado a los respectivos compuestos lo confirman es importante realizar nuevas pruebas para ver el comportamiento de la sal queladas tras periodos de almacenamiento.

El hecho de que estos compuestos se mantengan estables a un amplio rango de pH significa que puede tener un comportamiento similar en el tracto

gastrointestinal, asegurando así que tendrá una alta biodisponibilidad. Lo anterior a sido ampliamente estudiado y a arrojado resultados favorables con lo que respecta a la biodisponibilidad del hierro proveniente de compuestos quelados; para el hierro bisglicinado aminoquelado los investigadores Olivares et al. en Chile (28), Fox et al. en Inglaterra (26), Bovell-Benjamin et al. en los Estados Unidos (24) y Layrisse et al. en Venezuela (29) han realizado estudios recientes donde usando isótopos radiactivos o estables y midiendo la cantidad de hierro incorporada en las células rojas de la sangre de aproximadamente dos semanas después demostraron que la biodisponibilidad es alta en relación a otros compuestos y que se puede adicionar a alimentos con una gran cantidad de inhibidores.

- El hierro bisglicinado aminoquelado genera leves cambios en el color de la pulpa que son perceptibles por los consumidores y aunque este comportamiento no se ha visto en otros productos como los lácteos donde no cambia el color o el sabor de la leche, y no causa la peroxidación de los lípidos de la leche, incluso durante el almacenamiento a largo plazo (23), en este tipos de producto interfiere de manera negativa. Aunque vale aclarar que es la única características sensorial que altera ya que su sabor es imperceptible. En el caso del hierro triglicinado aminoquelado se presenta una menor interacción (30) debida a que es un compuesto libre de sabor característica que le da el estar formado de tres moléculas de glicina combinado con una molécula de hierro férrico, limitando la combinación del sabor metalizado del hierro con el de la matriz alimentaria (23).
- Sensorialmente no es perceptible el sabor característico del hierro, hecho que se debe como ya mencionamos antes a que estas sales están protegidas por glicina limitando la aparición de sabores desagradables en el producto final. Al igual no se detecta en cuanto a textura la presencia de las sales ya que por ser un producto pastoso muy viscoso, si no hay una solución total de las sales estas se mezclan muy bien con el producto haciendo imperceptible al paladar humano.

4. CONCLUSIONES

Los resultados no son suficientes para determinar que el proceso seguido en este estudio es el adecuado para la fortificación de productos hortofrutícolas, los que si podemos decir es que:

- Las sales de hierro quelado son más estables a cambios drásticos de temperatura y de pH. El hierro bisglicinado es más soluble que el hierro triglicinado.
- Las sales de hierro tienen un mejor comportamiento en la pulpa de mora - remolacha, se requiere la adición de menores cantidades y se disminuyen los cambios en las características sensoriales en la matriz alimentaria.
- Dentro de las pulpas el hierro triglicinado aminoquelado interacciona en menor proporción con las características sensoriales de la matriz aunque este tiene una menor disponibilidad que el hierro bisglicinado.
- Sensorialmente no es perceptible la adición del hierro respecto al sabor, porque la glicina impide que el hierro entre en contacto directo con los componentes de la matriz alimentaria.
- La pulpa de mora con hierro bisglicinado aminoquelado presenta cambios sensoriales perceptibles sobretodo en color.

5. RECOMENDACIONES

Se debe general un nuevo diseño experimental para determinar la técnica adecuada de fortificación de los productos hortofrutícolas como lo son las pulpas de fruta.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) *Encuesta Nacional de la Situación Nutricional en Colombia 2005*. Instituto Colombiano de Bienestar Familia.
- (2) Jila Sadighia,_, Robabeh Sheikholeslamb, Kazem Mohammadc, Hamed Pouraramb, Zahra Abdollahib, Koroush Samadpourb, Fariba Kolahdoozb, Mohsen Naghavib. Flour fortification with iron: a mid-term evaluation. *Public Health* (2008) 122, 313–321.
- (3) Mohamed el guindi, sean r. Lynch and james d. Cook. Iron absorption from fortified flat breads. *British Journal of Nutrition* (1988) 59, 205-213.
- (4) Decreto 1944 de 1996. Por el cual se reglamenta la fortificación de la harina de trigo y se establecen las condiciones de comercialización, rotulado, vigilancia y control.
- (5) Chanakan Prom-u-thai: Shu Fukai, Ian D. Godwin, Benjavan Rerkasem and Longbin Huang, Iron-fortified parboiled rice – A novel solution to high iron density in rice-based diets, *Food Chemistry* 110 (2008) 390–398.
- (6) Ricardo Bressani, Ph.D. Instituto de Nutricion de Centro America y Panama (INCAP), Guatemala, Fortification of Corn Masa Flour with Iron and/or Other Nutrients: A Literature and Industry Experience Review. Publication by Sustain, washington D.C, 1997.
- (7) Tomas Walter, Eva Hertrampf, Fernando Pizarro, Manuel Olivares, Sandra Llaguno, Angélica Letelier, Virginia Vega and Abraham Stekel. Effect of bovine-hemoglobin-fortified cookies on iron status of schoolchildren: a nationwide program in Chile. *Ain J C/in Nuir* 1993;57:190-4.
- (8) Richard F Hurrell, Diane E Furniss, Joseph Burn, Paul Whittaker, Sean R Lynch, and James D Cook. Iron fortification of infant cereals: a proposal for the use of ferrous fumarate or ferrous succinate. *Am J C/in Nuir* 1989; 49: 1274-82.
- (9) Fernando E Viteri, Edmundo Álvarez, Ramiro Batres, Benjamin Torun, Oscar Pineda, Luis A Mejía, and John Sylvi, Fortification of sugar with iron sodium ethylenediaminetetraacetate (FeNaEDTA) improves iron status in semirural Guatemalan populations, *The American journal of Clinical Nutrition* 1995;61:1153-63.
- (10) P. B. Disler, s. R. Lynch, r. W. Charlton and t. H. Bothwell. Studies on the fortification of cane sugar with iron and ascorbic acid. *British Journal of Nutrition* (1975), 34, 141.
- (11) S. Ranganathan, K. Vasantha Lakshmi & Vinodini Reddy, Trial of ferrous glycine sulphate in the fortification of common salt with iron, *Food Chemisfry*, Vol. 57, No. 2, pp. 31 I-315, 1996.
- (12) L. F. Edmondson, f. W. Douglas, jr., and j. K. Avants, Enrichment of Pasteurized Whole Milk with Iron, *Journal of dairy science* vol. 54, No. 10.
- (13) Sana Raouche, Sebastien Naille, Marie Dobenesque, Arjen Bot, Jean-Claude Jumas, Jean-Louis Cuq and Sylvie Marchesseau, Iron fortification of

- skim milk: Minerals and Fe Mo" ssbauer study, *International Dairy Journal* 19 (2009) 56–63.
- (14) James D Cook, MD and Molly E Reusser. Iron fortification: an update. *The American Journal of Clinical Nutrition* 38: October 1983, pp 648-659.
 - (15) N. Martínez-Navarrete, M.M. Camacho, J. Martínez-Lahuerta, J. Martínez-Monzó, P. Fito. Iron deficiency and iron fortified foods—a review. *Food Research International* 35 (2002) 225–231.
 - (16) Ricardo Uauy, Eva Hertrampf and Manju Reddy. Iron Fortification of Foods: Overcoming Technical and Practical Barriers. *J. Nutr.* 132: 849S–852S, 2002.
 - (17) Juan Francisco Haro Vicente, Biodisponibilidad de diferentes compuestos de hierro añadidos a un néctar de frutas funcional. Interacción con las vitaminas y fructo-oligosacáridos, Facultad de Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los Alimentos Universidad de Murcia, 2006.
 - (18) STEPHEN D. Ashmead. The chemistry of ferrous bis –glycinate chelate. *Archivos latinoamericanos de nutrición*. Volumen 51 número 1. Páginas 7 – 12. 2001.
 - (19) Métodos oficiales de análisis de la AOAC Internacional (Asociación Oficial de Químicos Analíticos). Método 968.08. Para determinar el contenido de hierro elemental.
 - (20) Resolución 288 de 2008. Legislación Colombiana. Etiquetado y rotulado nutricional.
 - (21) Norma técnica colombiana 2681 de 2006. Análisis sensorial. Metodología. Prueba triangular.
 - (22) García María Nieves. The effect of change in pH on the solubility of iron bis-glycinate chelate and other iron compounds. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. Páginas 35 a 36. volumen 51 nº1. 2001.
 - (23) Lindsay H. Allen. Advantages and limitations of iron amino acid chelates as iron fortificants. *Nutrition reviews*. Pag. S18 – S21. July 2002
 - (24) Bovell –Benjamin AC, Viteri FE, Allen LH. Iron absorption from ferrous bisglycinate and ferric trsglycinate in whole maize is regulated by iron status. *Am J Clin Nutr* 2000; 71:1563-9.
 - (25) Bovell –Benjamin AC, Allen LH, Guinard J-X. Toddler's acceptance of whole maize meal porridge fortified with ferrous bisglycinate. *Food Quality and Preference*. 1999; 10: 123-8.
 - (26) Fox TE, Eagles J, Fairwather – Tait SJ. Bioavailability of iron glycine as a fortificant in infant foods, *Am J Clin Nutr* 1998; 67: 664-8.
 - (27) L. F. Edmondson, f. W. Douglas, jr., and j. K. Avants, Enrichment of Pasteurized Whole Milk with Iron, *Journal of dairy science* vol. 54, No. 10.
 - (28) Oliveres M, Pizarro F, Pineda O, et al. Milk inhibits and ascórbico acid favors ferrous bisglycine chelate bioavailability in humans. *J Nutr* 1997: 127:1407-11.

- (29)** Layrisse M, Garcia- Casal MN, Solano L, et al. Iron bioavailability in humans from breakfast enriched with iron bisglycine chelate, phytates and polyphenols. *J Nutr* 2000; 130:2195 – 9.
- (30)** Guías para América Latina y el Caribe, Compuestos de hierro para la fortificación de alimentos. 2002.
- (31)** Bovell –Benjamin AC, Allen LH, Guinard J-X. Sensory quality and lipid oxidation of maize porridge as affected by iron amino acid chelates and EDTA. *J Food Sci* 1999; 64: 371-6.