

INTI/CID  
4580  
y

Ministerio de Economía y Producción  
Secretaría de Industria, Comercio  
y de la Pequeña y Mediana Empresa

 Instituto Nacional  
de Tecnología Industrial  
Extensión y Desarrollo  
División Biblioteca

21 ENE 2009



«2008 Año de la Enseñanza  
de las Ciencias»

INTI

304636

# **DESARROLLO DE PRODUCTOS ALIMENTICIOS FORTIFICADOS CON HEMOGLOBINA, SUBPRODUCTO DE LA INDUSTRIA CÁRNICA**

Proyecto SeCyT N° 33/06

## **Informe Técnico**

INTI-Carnes  
INTI-Cereales y Oleaginosas  
INTI-Programa de Extensión  
Fundación Saber Cómo  
Instituto Superior Experimental de Tecnología Alimentaria  
Quickfood S.A.

*Julio de 2008*



**INTI**

**30 46 36**

## **INSTITUCIONES PARTICIPANTES**

- Instituto Nacional de Tecnología Industrial, a través de los Centros INTI-Carnes, INTI-Cereales y Oleaginosas, INTI-Concepción del Uruguay e INTI-Envases y Embalajes y el Programa de Extensión
- Fundación Saber Cómo (Entidad Beneficiaria)
- Instituto Superior Experimental de Tecnología Alimentaria (ISETA)
- Quickfood S.A.

## **RESPONSABLE ANTE PYPE**

Ing. Enrique Mario Martínez

## **RESPONSABLE OPERATIVO**

Prof. Enrique Palmeyro

## **DIRECTOR TÉCNICO DEL PROYECTO**

Ing. Ana Svensen

## **RECURSOS HUMANOS Y FÍSICOS**

INTI-Carnes

Personal:

Ing. Ana Svensen

Bioq. Valeria La Manna

Lic. Enrique Vivino

Lic. Daiana Drodz Borelli

Téc. Javier Gasulla

Instalaciones:

Laboratorios fisicoquímico y microbiológico

Planta Piloto

INTI-Cereales y Oleaginosas

Personal:

Lic. Graciela Freile

Lic. Mariano Liber

Lic. Ramiro Blasco

Instalaciones:

Laboratorio de Harinas

Planta Piloto

INTI-Concepción del Uruguay

Personal:

Téc. Alberto Pazos

Instalaciones:

Laboratorio de Espectrometría

INTI-Envases y Embalajes

Personal:

Lic. Diego Szkvarka

Instalaciones:

Área de Envasamiento y Procesos

INTI-Programa de Extensión

Personal:

Lic. Erica Smutt (Subprograma ABC)

Fundación Saber Cómo

Personal:

Prof. Enrique Palmeyro

Cdor. Adrián Borea

Cdora. Elina Buffa

Instituto Superior Experimental de Tecnología Alimentaria

Personal:

Lic. Miriam Sosa



**INTI**

Lic. Lorena Garitta

Quickfood S.A.

Personal:

Lic. Maricel Turina





**INTI**

## INDICE

<b>1</b>	<b>RESUMEN</b>	<b>6</b>
<b>2</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>7</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS GENERALES DEL PROYECTO</b>	<b>8</b>
<b>4</b>	<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS DEL PROYECTO</b>	<b>9</b>
<b>5</b>	<b>DESARROLLO</b>	<b>9</b>
<b>5.1</b>	<b>MATERIA PRIMA PARA LA FORTIFICACIÓN</b>	<b>9</b>
<b>5.2</b>	<b>PRODUCTOS FORMULADOS</b>	<b>10</b>
5.2.1	BUDINES	11
5.2.2	GALLETITAS	12
<b>5.3</b>	<b>ENSAYOS DE LABORATORIO</b>	<b>13</b>
<b>5.4</b>	<b>PUESTA A PUNTO DEL MÉTODO PARA DETERMINAR HIERRO HEMÍNICO</b>	<b>16</b>
<b>5.5</b>	<b>EVALUACIÓN SENSORIAL</b>	<b>19</b>
<b>5.6</b>	<b>TRANSFERENCIA</b>	<b>20</b>
<b>5.7</b>	<b>DISCUSIÓN DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES</b>	<b>20</b>
<b>5.8</b>	<b>POSIBILIDADES A FUTURO</b>	<b>22</b>
5.8.1	DESARROLLO	22
5.8.2	ESTUDIOS DE CAMPO	22
5.8.3	COMEDORES ESCOLARES BONAERENSES	22
<b>6</b>	<b>REFERENCIAS</b>	<b>23</b>



**INTI**

## **1 RESUMEN**

La anemia por déficit de hierro (anemia ferropénica) es la deficiencia nutricional más frecuente en la mayoría de las poblaciones. En los países en desarrollo se estima que del 30 % al 40 % de los niños pequeños sufren este tipo de anemia.

La hemoglobina bovina es un subproducto de la industria cárnica de escaso valor comercial y alto valor nutricional. La importancia desde el punto de vista nutricional radica en su contenido de hierro de buena disponibilidad para el organismo humano (hierro hemínico) y proteínas. Dado que la hemoglobina es un polvo de color amarronado, es fácil de incorporar en productos panificados con sabor "chocolate".

Se desarrollaron budines y galletitas con agregado de distintos porcentajes de hemoglobina, llegando a una cantidad de 6% (en base harina y harina + almidón de maíz, respectivamente). Tanto una porción de budín (60 g) como una porción de galletitas (30 g) con 6 % de hemoglobina cubren hasta aproximadamente un 25% de la ingesta diaria recomendada de hierro para adolescentes entre 11 y 14 años y un 40 % de la recomendada para niños de 7 a 10 años. Esta ingesta es la establecida para un valor promedio de absorción del 10%. Si tenemos en cuenta que el hierro utilizado para la fortificación tiene una mejor absorción, ya que para el hierro hemínico el porcentaje de absorción es de alrededor del 23%, el aporte de estos productos se hace más significativo aún.

Debido a que gran parte del hierro aportado por la hemoglobina está en forma hemínica, se puso a punto un método para su determinación. Los laboratorios de alimentos rutinariamente sólo determinan hierro total.

El producto desarrollado fue sometido a ensayos microbiológicos, fisicoquímicos y sensoriales. La aceptabilidad sensorial de galletitas con 4 % y 6% de hemoglobina adicionada fue evaluada por un panel de niños en edad escolar. Los resultados fueron satisfactorios, ya que el valor de aceptabilidad resultó por encima de 7 (en una escala de 1 a 10) en todos los atributos evaluados para las dos variantes. La galletita fortificada con un 4 % de hemoglobina fue la más aceptada, habiendo obtenido la mayor aceptabilidad en los atributos de apariencia y consistencia, como así también valores altos de aceptabilidad en el resto de los atributos.

A partir del estudio de vida útil llevado a cabo en las galletitas fortificadas, se infiere para ellas una duración de 14 días a temperaturas no superiores a 30 °C.

El costo estimado de la fortificación resulta de aproximadamente \$0.20 por cada kilo de harina utilizado.

El Subprograma Abastecimiento Básico Comunitario (ABC) del Programa de Extensión del INTI llevó a cabo la transferencia de este desarrollo, capacitando a



**INTI**

panaderos de los locales ABC que actualmente funcionan en Entre Ríos, Tucumán y La Matanza, para la fabricación de estos productos fortificados.

## **2 INTRODUCCIÓN**

La deficiencia de hierro es el problema nutricional más frecuente en todo el mundo, y si bien los sectores carenciados son los más afectados, este déficit nutricional se detecta en todos los sectores de la población. Esto se debe a que el hierro presente en los alimentos, excepto el hierro aportado por las carnes (carnes rojas, de ave y de pescado), tiene muy bajo porcentaje de absorción [1]. El problema podría llegar a solucionarse modificando costumbres de alimentación, pero esto no siempre es posible, haciendo necesario un aporte suplementario de hierro.

Cuando el aporte de hierro en la dieta es insuficiente, comienzan a agotarse los reservorios de hierro del organismo, con la consiguiente alteración de la síntesis de hemoglobina, originando así una anemia ferropénica. Los individuos afectados tienen en su sangre glóbulos rojos con menor cantidad de hemoglobina que la normal.

Las consecuencias de la deficiencia de hierro son múltiples, ya que la hemoglobina es la molécula que transporta el oxígeno a los tejidos del organismo, dentro de los glóbulos rojos. Al alterarse la cantidad de hemoglobina, se ve afectado el sistema inmune, disminuyendo la resistencia a infecciones; se altera la capacidad de mantener la temperatura corporal en ambientes fríos; se ve afectado el rendimiento en el trabajo, y un tema que es primordial es la alteración en el desarrollo psicomotor y el rendimiento intelectual, con lo cual la prevención de la deficiencia de hierro a partir de la primera infancia es una acción pro-activa, necesaria para una futura comunidad sana. La prevención se logra aumentando el contenido y la biodisponibilidad del hierro en la dieta de la población [2]. Se entiende por biodisponibilidad a la fracción del nutriente efectivamente aprovechada por el organismo.

Encuestas nutricionales efectuadas en el país indican que dos de cada tres chicos tienen déficit de hierro y que este nutriente falta en cualquier nivel socioeconómico. También un tercio de las embarazadas tiene anemia por deficiencia de hierro. En el caso de sectores carenciados, el 80 % de las dietas de niños menores de 3 años no aporta la cantidad de hierro necesaria y el 60 % no aporta la cantidad de vitamina C necesaria, siendo este nutriente un agente promotor de la absorción de hierro. Un estudio efectuado recientemente por la Fundación Argentina contra la Anemia en 1000 porteños no seleccionados, detectó distintos grados de anemia en el 52,1 % de los casos [3][4].





**INTI**

Como ya se mencionó, la deficiencia de hierro puede prevenirse aumentando su contenido y biodisponibilidad en la dieta. Cuando se recurre a la fortificación de alimentos con hierro, es necesario el uso de compuestos de adecuada biodisponibilidad. Para diferentes productos (ej. panificados, lácteos) suele utilizarse sulfato ferroso, el cual se absorbe bien pero facilita la oxidación de las grasas acelerando el enranciamiento de los productos [2].

La hemoglobina bovina es un subproducto de la industria cárnica de escaso valor comercial y alto valor nutricional. La importancia desde el punto de vista nutricional radica en su contenido de hierro de buena disponibilidad para el organismo humano (hierro hemínico) y proteínas. Para su uso en productos alimenticios, es absolutamente necesario que la sangre de la cual proviene sea obtenida y procesada de forma totalmente higiénica. La sangre se recolecta en la faena durante el sangrado del animal, se le agrega anticoagulante y luego, por centrifugación se separa el plasma (fracción incolora), de los eritrocitos (fracción roja), cuyo componente principal es la hemoglobina. Habitualmente el término "hemoglobina" se aplica como equivalente a "fracción roja". Luego de la separación, la hemoglobina es secada mediante spray y se obtiene así un polvo amarronado. El plasma es comúnmente utilizado en la elaboración de diferentes productos cárnicos para mejorar el contenido de proteína y aumentar la capacidad de retención de agua. La hemoglobina tiene como principal destino la elaboración de alimentos balanceados, desaprovechándose sus propiedades nutricionales para la alimentación humana.

#### Antecedentes

La posibilidad del uso de hemoglobina de origen vacuno como fuente de hierro en productos panificados y lácteos fue estudiada anteriormente en INTI (en CITECA, actualmente INTI-Carnes, en colaboración con el actual Centro INTI-Cereales y Oleaginosas), aunque los resultados obtenidos en esa oportunidad no fueron transferidos [5].

Existen antecedentes de fortificación de alimentos con hierro hemínico en Chile [6] y en España [7]. En Chile se desarrolló un programa a nivel nacional con galletitas fortificadas, hallándose diferencias significativas en el estado nutricional (concentración de hemoglobina) del grupo poblacional que consumió este producto, a pesar de que la prevalencia de anemia era muy baja en ambos grupos. En España se utilizó un concentrado de hierro hemínico de origen porcino para fortificar alimentos para bebés, con buenos resultados.

### **3 OBJETIVOS GENERALES DEL PROYECTO**



**INTI**

- Mejora del estado nutricional de la población respecto de la prevalencia de anemia y problemas asociados
- Agregado de valor al subproducto de la industria cárnica hemoglobina bovina

#### **4 OBJETIVOS ESPECÍFICOS DEL PROYECTO**

- Desarrollo de productos panificados fortificados con hierro hemínico, proveniente de hemoglobina de origen bovino
- Selección y puesta a punto de un método para determinación de hierro hemínico en alimentos
- Transferencia de los productos desarrollados para su elaboración en panaderías sociales

#### **5 DESARROLLO**

##### **5.1 MATERIA PRIMA PARA LA FORTIFICACIÓN**

En el desarrollo del proyecto se utilizó hemoglobina aportada por el frigorífico Quickfood S.A. Esta empresa, en su planta de San Jorge, Pcia. de Santa Fe, cuenta con un sistema diseñado especialmente para la obtención higiénica de este subproducto, lo cual permite su aplicación en alimentación humana.

La hemoglobina utilizada en los ensayos responde a las siguientes especificaciones:

-Denominación del producto: Hemoglobina en polvo

-Descripción del producto: hemoglobina comestible en polvo, proveniente de la faena de reses vacunas. La sangre del animal es colectada higiénicamente y se le agrega una cantidad determinada de anticoagulante (*Fibralaf*). Luego se separa mediante centrifugación el plasma (fracción incolora) de los eritrocitos (fracción roja), cuyo componente principal es la hemoglobina. El secado de esta fracción se realiza a baja temperatura mediante spray.

-Aspectos fisicoquímicos:

Solubilidad en agua: 100% (a 37 °C)

Humedad: 5 a 7 % (Método: secado en estufa a 100 °C)

Proteínas: 85 a 95 % (Método: Kjeldahl)  
Cenizas: 2 a 3 % (Método: mufla a 525 °C)  
pH: 7,5 a 8,5 (Método: peachímetro)

-Aspectos microbiológicos:

Aerobios totales: < 10<sup>4</sup> UFC/g

Coliformes totales: < 10 UFC/g

-Características organolépticas:

Apariencia: polvo fluido

Color: rojo escarlata

Olor: a sangre

-Temperatura de conservación: ambiente (20°C)

-Vida útil: 1 año, a partir de la fecha de elaboración

-Contenido de:

Lisina	8,89 %
Alanina	8,21 %
Valina	7,78 %
Isoleucina	0,22 %
Calcio	8,08 mg/100g
Hierro	282,1 mg/100g
Magnesio	< 1,0 mg/100g
Sodio	0,66 % p/p
Fósforo	0,2 %
Cloruros	0,75 %
Urea	<0,1 %
Plomo	0,02 ppm

(Estos valores pueden variar de lote a lote)

-Parámetros del proceso:

Temperatura de la cocción: entre 270 y 275 °C

Tiempo de cocción: 90 ± 5 segundos

Temperatura en el embolsado: 50 ± 2 °C

## 5.2 PRODUCTOS FORMULADOS

La hemoglobina es un polvo de color amarronado. Es fácil de incorporar en productos panificados, motivo por el cual fueron seleccionados para este proyecto. Debido al color que confiere a las preparaciones, se desarrollaron productos a base de cacao y sabor chocolate, logrando enmascarar de este modo el color de la hemoglobina.

Se trabajó sobre formulaciones básicas de galletitas y budines, a las que se agregaron distintas cantidades de hemoglobina.

Si bien en una primera etapa se formularon, elaboraron y analizaron tanto budines como galletitas, sólo se avanzó hasta la etapa de transferencia con las galletitas, debido a su mayor vida útil y facilidad de manipulación para los fines propuestos.

### 5.2.1 Budines

Se seleccionó una formulación base de muy bajo costo.

Formulación

En la Tabla 1 se muestran las formulaciones ensayadas.

Ingrediente	Fórmula testigo (%)	Fórmula 3 % (%)	Fórmula 6 % (%)
Azúcar	111,11	111,11	111,11
Harina 0000	100,00	100,00	100,00
Huevo entero	83,33	83,33	83,33
Agua	72,22	72,22	72,22
Cacao amargo	11,11	11,11	11,11
Sal común	2,78	2,78	2,78
Hemoglobina	-	3,00	6,00
Polvo para hornear	1,00	1,00	1,00
Esencia de vainilla	0,56	0,56	0,56

*Tabla 1.* Formulaciones de budines. Los porcentajes fueron calculados en base a la cantidad de harina

Forma de preparación

- Se batieron el azúcar, los huevos, el agua y la esencia de vainilla en una amasadora (Hobart), durante 9 minutos a 115 rpm.



- Aparte se mezclaron manualmente la harina, la hemoglobina, el cacao, el polvo de hornear y la sal (mezcla seca).
- Una vez finalizado el batido, se detuvo la amasadora y se agregó la mezcla seca, lentamente, con movimientos envolventes, cuidando de no “bajar” el batido.
- Se volcó la masa en un molde rectangular previamente enmantecado y se cocinó en horno (Welker) a 180 °C durante 40 minutos.

### 5.2.2 Galletitas

#### Formulación

En la Tabla 2 se muestran las formulaciones ensayadas.

Ingrediente	Fórmula testigo (%)	Fórmula 3 % (%)	Fórmula 4 % (%)	Fórmula 6 % (%)
Harina leudante	72,46	72,46	72,46	72,46
Azúcar	27,54	27,54	27,54	27,54
Almidón de maíz	43,48	43,48	43,48	43,48
Margarina	25,36	25,36	25,36	25,36
Agua	16,67	16,67	16,67	16,67
Huevo entero	10,87	10,87	10,87	10,87
Cacao amargo	10,87	10,87	10,87	10,87
Leche en polvo	5,80	5,80	5,80	5,80
Hemoglobina	-	3,01	3,99	6,01
Esencia de vainilla	1,09	1,09	1,09	1,09
Aroma chocolate	0,20	0,20	0,20	0,20
Sal común	0,07	0,07	0,07	0,07

*Tabla 2.* Formulaciones de galletitas. Los porcentajes fueron calculados en base a la cantidad de harina + almidón de maíz

#### Forma de preparación



- Se batieron la margarina, el azúcar, la sal y la esencia de vainilla en una amasadora (Hobart), durante 4 minutos a 115 rpm (“encremado”).
- Sin dejar de batir, se agregaron (de a uno, en el orden indicado) el huevo, el agua, la hemoglobina, la leche en polvo, el cacao y el aroma chocolate, continuándose el proceso durante 2 minutos, a la misma velocidad.
- Aparte se mezclaron manualmente la harina y el almidón de maíz y sobre una mesada se armó una “corona” con esta preparación.
- Se colocó el batido dentro de la “corona” y se unieron los ingredientes en forma envolvente.
- Se extendió la masa hasta lograr 1 cm de espesor y se cortó con moldes circulares de 3 cm de diámetro para formar las galletitas.
- Las galletitas se colocaron en una asadera enmantecada y se cocinaron en horno (Welker) a 180 °C durante 8-9 minutos.

En la Figura 1 se muestra el aspecto de las galletitas fortificadas.



*Figura 1.* Galletitas fortificadas terminadas.

### 5.3 ENSAYOS DE LABORATORIO

A lo largo del trabajo se realizaron varios ensayos de laboratorio, tanto fisicoquímicos como microbiológicos, a fin de conocer la calidad de la materia prima y de los productos elaborados. Se incluyó la determinación de hierro hemínico, la cual se hizo empleando un método puesto a punto en INTI-Carnes (ver 5.4). Todos



INTI

los ensayos fueron realizados en laboratorios del INTI. A continuación se resumen los resultados obtenidos.

Se realizaron las siguientes determinaciones microbiológicas en la hemoglobina en polvo: Recuento Total de Aerobios Mesófilos, *S. aureus*, Coliformes Totales y *E. coli*. Los resultados se muestran en la Tabla 3.

Se determinó el contenido de hierro total en la hemoglobina en polvo y en los productos elaborados (ver Tabla 4). En la Tabla 5 se indica el porcentaje de la Ingesta Diaria Recomendada (IDR) de hierro (WHO/FAO, 2004 [8]) que cubre una porción de cada producto, asumiendo una biodisponibilidad del 10 %. El tamaño de la porción es el establecido para rotulado nutricional en el Reglamento Técnico MERCOSUR [9]. Tanto al budín como a la galletita con 6 % de hemoglobina se le determinó el contenido de hierro hemínico, el cual resultó 3,2 mg/100 g y 6,0 mg/100 g respectivamente.

En la Tabla 6 se muestran los resultados de la determinación de humedad, materia grasa, proteínas y cenizas en las galletitas con 6 % de hemoglobina adicionada. La Tabla 7 contiene los resultados del estudio de vida útil desde el aspecto microbiológico en ese mismo producto.

Determinación	Método de referencia	Resultado
Recuento total de aerobios mesófilos (UFC/g)	ICMSF, 1988	80
<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)	ICMSF, 1988	<100
Coliformes totales (UFC/g)	AOAC 998.08, 2003	<10
<i>Escherichia coli</i> (UFC/g)	AOAC 998.08, 2003	<10

**Tabla 3.** Determinaciones microbiológicas en hemoglobina bovina en polvo. UFC: Unidades formadoras de colonias



**INTI**

Muestra	Método de referencia	Hierro (mg/100 g)
Hemoglobina bovina en polvo	FSIS-MTL-01/07/1991	266
Budín sin fortificar	FSIS-MTL-01/07/1991	2,09
Budín 3% Hb	FSIS-MTL-01/07/1991	4,10
Budín 6% Hb	FSIS-MTL-01/07/1991	5,98
Galletitas sin fortificar	FSIS-MTL-01/07/1991	4,08
Galletitas 3% Hb	FSIS-MTL-01/07/1991	6,68
Galletitas 6% Hb	FSIS-MTL-01/07/1991	11,2

**Tabla 4.** Determinación de hierro en hemoglobina bovina en polvo (Hb) y productos

Producto	Tamaño porción (g)	Contenido de hierro por porción (mg)	% IDR	
			7-10 años	11-14 años (mujer <sup>1</sup> /mujer/varón)
Budín 3% Hb	60	2,5	28,1	17,9 / 7,6 / 17,1
Budín 6% Hb	60	3,6	40,4	25,7 / 11,0 / 24,7
Galletitas 3% Hb	30	2,0	22,5	14,3 / 6,1 / 13,7
Galletitas 6% Hb	30	3,4	38,2	24,3 / 10,4 / 23,3

**Tabla 5.** Porcentaje de la IDR de hierro cubierta por una porción de producto

<sup>1</sup> No menstruante



Determinación	Método de referencia	Resultado
Humedad (g/100g)	AACC 44-40	12,0
Cenizas (g/100g)	AOAC 923.03, 16 <sup>th</sup> Ed.	1,8
Materia Grasa (g/100g)	AACC-30-10	11,6
Proteínas (%N x 6,25) (g/100g)	Método Kjeldahl	9,0

**Tabla 6.** Determinaciones fisicoquímicas en galletitas con 6 % de hemoglobina

Determinación	Método de referencia	Resultado					
		t=0	t=4	t=7	t=10	t=12	t=14
Recuento en placa (UFC/g)	ME 302, FDA-BAM Online, Enero 2001	<2,5 10 <sup>2</sup> EAPC	<10 EAPC	<10 EAPC	<2,5 10 <sup>2</sup> EAPC	<2,5 10 <sup>2</sup> EAPC	<2,5 10 <sup>2</sup> EAPC
Recuento de hongos y levaduras (UFC/g)	Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, APHA 3 <sup>rd</sup> Ed., 1992	<10 EAPC	<1,5 10 <sup>2</sup> EAPC	<10 EAPC	<10 EAPC	<10 EAPC	<10 EAPC

**Tabla 7.** Estudio de vida útil en galletitas con 6 % de hemoglobina (muestras mantenidas a 30 °C). UFC: Unidades formadoras de colonias; EAPC: Recuento en placa estimado; t: Tiempo en días

#### 5.4 PUESTA A PUNTO DEL MÉTODO PARA DETERMINAR HIERRO HEMÍNICO

Existen métodos para evaluar la biodisponibilidad del hierro en alimentos. Algunos emplean cultivos celulares y otros, animales de laboratorio. No resultó posible contactar un laboratorio especializado en estas técnicas, las cuales además no serían aplicables al trabajo de rutina. También existen para esto métodos in vitro. Uno de ellos es el método de dializabilidad [10], con el cual se trabajó en colaboración con la Cátedra de Bromatología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UBA. Este método, basado en digestión-diálisis, no arrojó los resultados esperados, muy probablemente debido al tamaño relativamente grande del grupo hemo.

Frente a esta situación se decidió realizar la determinación de hierro hemínico, para poder evaluar qué porcentaje del hierro de los panificados era aportado en forma

hemínica.

Actualmente los laboratorios de alimentos locales no cuentan con una metodología analítica para la determinación de hierro hemínico; sólo se determina hierro total (hemínico + no hemínico). Se trabajó en la puesta a punto de un método para la determinación de hierro hemínico en alimentos basado en la técnica diseñada por Hornsey [11][12].

Materiales y métodos

Se utilizaron los siguientes equipos:

Espectrofotómetro UV-Visible Shimadzu, modelo UV-1601PC  
Balanza semimicro Sartorius, modelo MC120S  
Centrífuga Luguimac, modelo RP-46R  
Agitador tipo Vortex

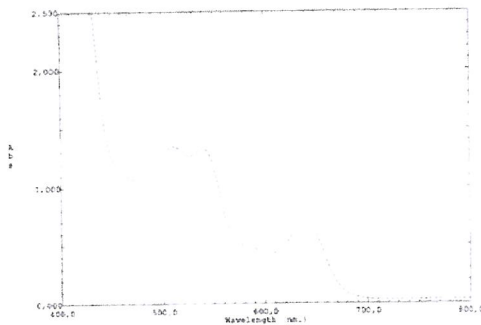
Previamente a comenzar la validación del método, se calibró el material volumétrico utilizado y los equipos que requieren calibración.

El patrón utilizado es hematina (Ht) porcina, con contenido de hierro hemínico conocido. La conversión de hematina a hierro hemínico se efectúa a través de un factor teórico y el resultado se expresa en *mg Fe hem/100 g de muestra*.

La técnica consiste en la homogeneización de la muestra y posterior extracción de la hematina con una solución ácida de acetona, llamada solución extractante. El analito extraído, hematina ácida, posee una coloración pardo-amarronada, por lo que su cuantificación puede realizarse por espectrofotometría UV-Visible.

Para comenzar a poner a punto este método en el laboratorio, se buscó la combinación de acetona y ácido que permitió disolver la hematina patrón. La proporción acetona/agua en la solución extractante es crítica, ya que no todas las combinaciones aseguran la total disolución del compuesto en cuestión.

Posteriormente, se barrió el espectro del patrón de hematina entre los 400 y 800 nm, para confirmar a qué longitud de onda este compuesto presenta su pico de máxima absorción (ver Figura 2).

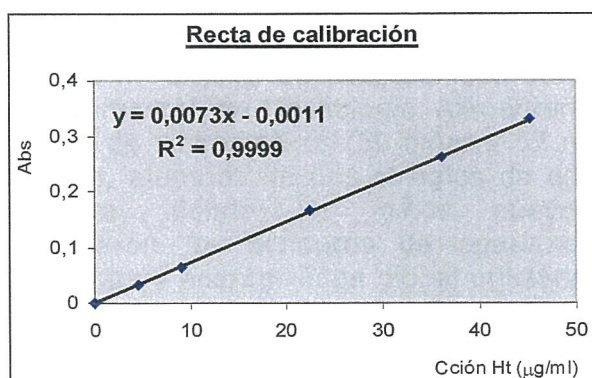


**Figura 2.** Espectro de absorción de la hematina a  $\lambda = 400-800$  nm

Debido a que el pico a  $\lambda = 640$  nm tiene mejor definición que el pico a  $\lambda = 512$  nm, la medición de la absorbancia de la hematina ácida se realizó a esa longitud de onda. También se verificó que la relación de coeficientes de extinción entre ambas longitudes de onda fuera cercano a 2, o sea,  $\epsilon_{640}/\epsilon_{512} = 2$ , tal como indica Hornsey [11].

El tratamiento del patrón de hematina finalizó con la búsqueda del rango en que la concentración de hematina es directamente proporcional a la absorbancia medida (relación lineal). Para ello se midió la absorbancia para concentraciones comprendidas en el rango  $0 \mu\text{g}/\text{cm}^3 - 52,0 \mu\text{g}/\text{cm}^3$  Ht. Cada punto se replicó 5 veces. Los resultados se sometieron a un análisis estadístico mediante el uso del gráfico de residuos, comprobándose que en el rango de concentraciones elegido, la respuesta es lineal.

En la Figura 3 se observa una de las rectas de calibración obtenidas y en la Figura 4, el equipo y soluciones empleados.



**Figura 3.** Recta de calibración del patrón de hematina

**Figura 4.** Soluciones pertenecientes a la recta de calibración y espectrofotómetro utilizado





**INTI**

Para calcular los parámetros de precisión y exactitud, así como el porcentaje de recuperación medio, mínimo nivel cuantificable (MNC) y mínimo nivel detectable (MND), se analizaron galletitas fortificadas con hemoglobina y sin fortificar. Luego de varias extracciones y filtrados, se extrajo la hematina y se cuantificó tal como los patrones.

También se realizaron pruebas para controlar robustez del método, entre ellos:  
-Estabilidad química de la hematina en presencia de luz UV y diferentes cantidades de agua en la solución extractante y a lo largo del tiempo.  
-Agregado de cisteína a la solución de acetona ácida para generar un ambiente reductor que retarde la descomposición de la hematina.

## 5.5 EVALUACIÓN SENSORIAL

Dado que no existen en el mercado este tipo de productos con agregado de hemoglobina, se consideró de gran importancia la etapa de evaluación sensorial. Lograr un producto nutritivo, pero "no aceptable" sensorialmente no cumpliría los objetivos. Además, en este caso, se trata de un ingrediente que genera un preconcepción erróneo, especialmente respecto del sabor y aroma que pudiera conferir a los alimentos.

A lo largo del desarrollo, finalizada cada elaboración, se realizaron degustaciones a modo de evaluaciones sensoriales "informales" con degustadores semientrenados, integrantes de los Centros INTI-Carnes e INTI-Cereales y Oleaginosas. Los resultados y las opiniones fueron tenidos en cuenta para avanzar en el diseño de formulaciones con el aporte buscado de hierro, sin presencia de sabor extraño atribuible a la hemoglobina.

Dado que las galletitas llegaron hasta la etapa final, muestras con 4% y 6% de hemoglobina fueron sometidas a un ensayo de aceptabilidad sensorial organizado por el Instituto Superior Experimental de Tecnología Alimentaria. El ensayo se realizó con un total de 102 niños de ambos sexos (50 niñas y 52 niños) con edades comprendidas entre 9 y 13 años, alumnos de dos colegios de educación primaria básica, de jornada completa, donde los niños pueden almorzar y desayunar/merendar. Se evaluaron los atributos de apariencia, consistencia, aroma, sabor dulce, sabor chocolate y aceptabilidad global utilizando escalas de 1 - me disgusta mucho- a 10 -me gusta mucho-. El valor de aceptabilidad resultó por encima de 7 en todos los atributos evaluados, tanto para las dos variantes fortificadas como para la muestra sin fortificar (control). Esto significa que en promedio ninguna muestra fue rechazada ya que no se observaron valores por debajo de 5. Los atributos que presentaron diferencias significativas fueron: apariencia y consistencia. La muestra control fue la de menor aceptabilidad en apariencia y la muestra fortificada con un 6 % de hemoglobina fue la de menor



**INTI**

aceptabilidad en el atributo consistencia. La galletita fortificada con un 4 % de hemoglobina fue la más aceptada, ya que obtuvo la mayor aceptabilidad en los atributos de apariencia y consistencia, como así también valores altos de aceptabilidad en el resto de los atributos.

Se adjunta al presente informe el texto completo del Informe "Aceptabilidad sensorial de galletitas sabor chocolate fortificadas con hemoglobina" del Departamento de Evaluación Sensorial de Alimentos, Instituto Superior Experimental de Tecnología Alimentaria (19/06/08).

## 5.6 TRANSFERENCIA

En el marco de las Sextas Jornadas de Innovación y Desarrollo del INTI, capacitadores del Subprograma Abastecimiento Básico Comunitario (ABC) del Programa de Extensión del Instituto, llevaron a cabo la primera etapa de transferencia, capacitando a panaderos de los locales ABC que actualmente funcionan en Entre Ríos, Tucumán y La Matanza, para la fabricación de estos productos fortificados.

También dentro del marco del ABC, se realizó la transferencia a docentes de dos escuelas especiales de la ciudad de Balcarce, donde actualmente los productos son elaborados por los propios alumnos para su consumo. Esto es acompañado con talleres de educación alimentaria nutricional para docentes, quienes serán multiplicadores a la comunidad educativa.

## 5.7 DISCUSIÓN DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Se desarrollaron budines y galletitas con agregado de distintos porcentajes de hemoglobina, hasta una cantidad de 6% (calculado en base harina en budines y harina + almidón de maíz en galletitas). Sólo se avanzó hasta la etapa de transferencia con las galletitas, debido a su mayor vida útil y facilidad de manipulación para los fines propuestos.

Los productos desarrollados fueron sometidos a ensayos microbiológicos, fisicoquímicos y sensoriales. Tanto una porción de budín como una porción de galletitas con 6 % de hemoglobina cubren hasta aproximadamente un 25% de la IDR de hierro para adolescentes entre 11 y 14 años y un 40 % de la IDR para niños de 7 a 10 años. Esta ingesta está establecida para un valor promedio de absorción del 10%. Si tenemos en cuenta que el hierro utilizado para la fortificación tiene una mejor absorción, ya que para el hierro hemínico el porcentaje de absorción es de alrededor del 23%, el aporte de estos productos se hace más significativo aún. En casos de poblaciones con dietas muy carentes de hierro, la cantidad de hemoglobina adicionada podría incrementarse a efectos de lograr un mejor resultado.





A partir del estudio de vida útil llevado a cabo en las galletitas fortificadas, se infiere para ellas una duración de 14 días a temperaturas no superiores a 30 °C. Se elaboró un lote al cual se le adicionó un conservante -0,2 % de propionato de calcio calculado en base harina + almidón de maíz-. En estas condiciones, el estudio de vida útil indicó un período de estabilidad de 28 días, para las mismas condiciones de almacenamiento.

La aceptabilidad sensorial de galletitas con 4 % y 6% de hemoglobina adicionada fue evaluada por un panel de niños en edad escolar, con un elevado nivel de aceptación.

Es importante destacar que el costo de fortificación de los productos es de sólo \$ 0,20 aproximadamente por cada kilo de harina utilizado.

Como conclusión, se puede afirmar que los objetivos específicos del proyecto fueron cumplidos exitosamente. Se desarrolló y evaluó un producto, galletitas de chocolate, cuyo contenido de hierro cubre los % esperados de Ingesta Diaria Recomendada para ese mineral. Las galletitas fueron aceptadas sensorialmente, resultado de importancia por la novedad del uso de hemoglobina como ingrediente en este tipo de productos. Cabe destacar también que es un producto de fácil "manejo" para las posibles transferencias.

Se seleccionó y puso a punto un método para determinar hierro hemínico en alimentos. Este tema ya despertó interés en organismos vinculados al estudio de la anemia; por ejemplo, la Fundación Argentina contra la Anemia ya ha solicitado a INTI-Carnes esta determinación en otros productos.

Se efectuó la transferencia a través del Subprograma Abastecimiento Básico Comunitario (ABC) del Programa de Extensión del INTI. Los panaderos no sólo recibieron la capacitación para el uso adecuado de la hemoglobina, sino también charlas sobre anemia y nutrición. En algunos lugares, por ejemplo Ranchillos, Tucumán, incluso trabajaron con modificaciones a la formulación base, siempre respetando el porcentaje de hemoglobina, para adaptar el producto a las costumbres locales.

Respecto a los objetivos generales, se puede concluir que al difundir el uso de la hemoglobina bovina como ingrediente para fortificar alimentos con hierro, se está cumpliendo con el objetivo de asignarle un valor agregado a este subproducto de la industria cárnica. Si bien resulta evidente que el producto desarrollado contribuirá a mejorar el estado nutricional de la población respecto de la prevalencia de anemia y problemas asociados, resta aún encarar una evaluación sistemática, la cual está fuera del alcance de este proyecto, por cuestión de los tiempos requeridos para este tipo de estudios. Pero siendo esto fundamental, se contempla en el ítem 5.8, y ya se está trabajando en pos de su realización.



## 5.8 POSIBILIDADES A FUTURO

Debido a la relevancia y repercusión que tuvo el proyecto en distintos ámbitos –el trabajo obtuvo el primer puesto entre los presentados en la Categoría Alimentos de las Sextas Jornadas de Innovación y Desarrollo del INTI y la fórmula desarrollada fue declarada de interés por la Honorable Cámara de Diputados de la Nación (por Resolución de fecha 11/06/08)- se incluyó este ítem, que se dividió en tres áreas diferentes:

### 5.8.1 *Desarrollo*

Aplicación del uso de hemoglobina como fuente de hierro en el desarrollo de productos lácteos, como por ejemplo leche chocolatada. Ya se tomó contacto con INTI-Lácteos para evaluar esta posibilidad.

### 5.8.2 *Estudios de campo*

Estudios tendientes a evaluar el impacto del consumo del producto desarrollado en el estado nutricional de grupos poblacionales respecto de la prevalencia de anemia y problemas asociados, cumpliendo así el otro objetivo general del proyecto.

En tal sentido se han realizado encuentros con responsables del Ministerio de Desarrollo Social de la Nación quienes se interesaron en la posibilidad de realizar una medición de impacto en la provincia de Tucumán, donde participarían INTI, la Universidad Nacional de Tucumán, la Secretaría de Articulación Territorial y Desarrollo Local del Ministerio de Desarrollo Social de la Provincia de Tucumán, la Fundación Este Solidario, las Escuelas N° 2 de Ranchillos y la Radio comunitaria local.

También se establecieron contactos con el Ministerio de Salud de la Provincia de Entre Ríos para evaluar la posibilidad de replicar allí la medición de impacto.

### 5.8.3 *Comedores escolares bonaerenses*

La cartera educativa bonaerense atiende a lo largo del año la siguiente matrícula, de acuerdo a datos del año lectivo 2007: 607.701 alumnos (comedor), 349.505 alumnos (copa de leche), 132.885 alumnos (copa de leche reforzada) y 966.216 alumnos (desayuno y merienda completos). Se presentará el trabajo para evaluar la posibilidad de aplicar el producto desarrollado, de acuerdo a las necesidades nutricionales de las distintas poblaciones que componen esta cartera educativa.



**INTI**

## 6 REFERENCIAS

- [1] L.B. López, M.M. Suárez. "Fundamentos de Nutrición Normal", El Ateneo, Buenos Aires, 2002
- [2] E.E. Ziegler, L.J. Filer, Jr. Eds. "Conocimientos Actuales sobre Nutrición", 7ª Edición, ILSI-OPS-OMS, 1997
- [3] N. Bär. "Dos de Cada Tres Chicos Tienen Déficit de Hierro", Ciencia/Salud, La Nación, 29/10/04
- [4] F. Czubaj. "Detectan Elevados Niveles de Anemia", Ciencia/Salud, La Nación, 12/04/05
- [5] M.C. Porcelli, A.A. Eiris, N.B. Stein. "Posibilidad de Enriquecer Productos Alimenticios con Hierro Hemínico Proveniente de Hemoglobina Deshidratada de Origen Vacuno", NOTICITECA 17, 32-36, 1987
- [6] T. Walter, E. Hertrampf, F. Pizarro, M. Olivares, S. Llaguno, A. Letelier, V. Vega, A. Stekel. "Effect of Bovine-hemoglobin-fortified cookies on Iron Status of Schoolchildren: a Nationwide Program in Chile", Am. J. Clin. Nutr., 57, 190-194, 1993
- [7] C. Martínez Graciá, G. López Martínez, G. Ros Berruezo, M.L. Vidal Guevara, P. Abellán Ballesta. "Use of Heme Iron Concentrate in the Fortification of Weaning Foods", J. Agric. Food Chem., 48, 2930-2936, 2000
- [8] WHO/FAO. "Vitamin and Mineral Requirements in Human Nutrition", 2<sup>nd</sup>. Edition, 2004
- [9] MERCOSUR/GMC/RES. Nº 47/03. "Reglamento Técnico MERCOSUR de Porciones de Alimentos Envasados a los Fines del Rotulado Nutricional", 2003
- [10] R. Wolfgor, S.R. Drago, V. Rodríguez, N.R. Pellegrino, M.E. Valencia. "In Vitro Measurement of Available Iron in Fortified Foods", Food research International, 35, 85-90, 2002
- [11] H.C. Hornsey. "The Colour of Cooked Cured Pork. I. Estimation of the Nitric oxide-Haem Pigments", J. Sci. Food Agric. 7 (8), 1956
- [12] G. Lombardi-Boccia, B. Martínez-Domínguez, A. Aguzzi, F. Rincón-León. "Optimization of Heme Iron Analysis in Raw and Cooked Red Meat", Food Chemistry 78, 505-510, 2002.



Interno

INTI - Carnes 165 / 08

Ref: Informe Técnico del Proyecto SeCyT N° 33/06  
(productos fortificados con hemoglobina)

Fecha: 10/09/08

A: Fundación Saber Cómo - Ing. Enrique Martínez

Página: 1

CC:

De: INTI - Carnes

Por motivo de la finalización del Proyecto SeCyT N° 33/06 "**Desarrollo de Productos Alimenticios Fortificados con Hemoglobina, Subproducto de la Industria Cárnica**", se envía el Informe Técnico del proyecto y el texto completo del informe "Aceptabilidad Sensorial de Galletitas Sabor Chocolate Fortificadas con Hemoglobina" del Departamento de Evaluación Sensorial de Alimentos del Instituto Superior Experimental de Tecnología Alimentaria (ISETA), el cual es citado en el anterior.

Se destaca y agradece la valiosa participación de la Fundación Saber Cómo en el mencionado Proyecto.

AS/lc  
Adj.:2 cuadernillos



ING. ANA INES SVENSEN  
COORDINADORA U.T.  
PROCESOS TERMICOS  
INTI-CARNES

