



UNAP



FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

MAESTRÍA EN GESTIÓN ALIMENTARIA CON MENCIÓN EN NUTRICIÓN

TESIS

**PAN CON HIERRO HEME: PRODUCCIÓN, COMPOSICIÓN CENTECIMAL,
ACEPTABILIDAD Y BIOACCESIBILIDAD *IN VITRO***

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRA EN GESTIÓN
ALIMENTARIA CON MENCIÓN EN NUTRICIÓN**

PRESENTADO POR: ESTEFANY DEYHANYRA RENGIFO SILVANO

**ASESORES: ING. IND. ALIM. WILSON GUERRA SANGAMA, DR.
ING. IND. ALIM. RAFAEL SEGUNDO VELA PAREDES, MSC.
ING. IND. ALIM. FERNANDO TELLO CÉLIS, DR.**

IQUITOS, PERÚ

2024



UNAP



FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

MAESTRÍA EN GESTIÓN ALIMENTARIA CON MENCIÓN EN NUTRICIÓN

TESIS

**PAN CON HIERRO HEME: PRODUCCIÓN, COMPOSICIÓN CENTECIMAL,
ACEPTABILIDAD Y BIOACCESIBILIDAD *IN VITRO***

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRA EN GESTIÓN
ALIMENTARIA CON MENCIÓN EN NUTRICIÓN**

PRESENTADO POR: ESTEFANY DEYHANYRA RENGIFO SILVANO

**ASESORES: ING. IND. ALIM. WILSON GUERRA SANGAMA, DR.
ING. IND. ALIM. RAFAEL SEGUNDO VELA PAREDES, MSC.
ING. IND. ALIM. FERNANDO TELLO CÉLIS, DR.**

IQUITOS, PERÚ

2024



UNAP

Escuela de Postgrado
"Oficina de Asuntos
Académicos"



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS
N°048-2024-OAA-EPG-UNAP

En Iquitos en la Escuela de Postgrado (EPG) de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP) a los cuatro días del mes de abril de 2024 a las 10:00 a.m., se dió inicio a la sustentación de la tesis denominada "PAN CON HIERRO HEME: PRODUCCIÓN, COMPOSICIÓN CENTESIMAL, ACEPTABILIDAD Y BIOACCESIBILIDAD *IN VITRO*", aprobado con Resolución Directoral N°0568-2024-EPG-UNAP, presentado por la egresada ESTEFANY DEYHANYRA RENGIFO SILVANO, para optar el Grado Académico de Maestra en Gestión Alimentaria con mención en Nutrición, que otorga la UNAP de acuerdo a la Ley Universitaria 30220 y el Estatuto de la UNAP.

El jurado calificador designado mediante Resolución Directoral N°0399-2024-EPG-UNAP, esta conformado por los profesionales siguientes:

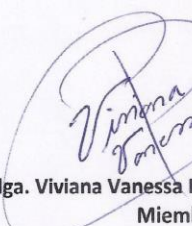
Ing.Ind.Alim. Alenguer Gerónimo Alva Arévalo, Dr. (Presidente)
Blga. Viviana Vanessa Pinedo Cancino, Dra. (Miembro)
Ing.Ind.Alim. Carlos Alfredo Vegas Pérez, Dr. (Miembro)

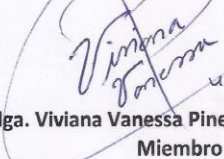
Después de haber escuchado la sustentación y luego de formuladas las preguntas, éstas fueron respondidas: satisfactoriamente

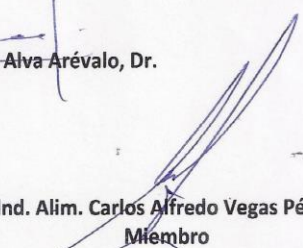
Finalizado la evaluación; se invitó al público presente y a la sustentante abandonar el recinto; y, luego de una amplia deliberación por parte del jurado, se llegó al resultado siguiente:


La sustentación pública y la tesis ha sido: Aprobada con calificación Muy buena.


A continuación, el Presidente del Jurado da por concluida la sustentación, siendo las 12:30 del cuatro de abril de 2024; con lo cual, se le declara a la sustentante apta, para recibir Grado Académico de Maestra en Gestión Alimentaria con mención en Nutrición.



Ing. Ind. Alim. Alenguer Gerónimo Alva Arévalo, Dr.
Presidente


Blga. Viviana Vanessa Pinedo Cancino, Dra.
Miembro


Ing. Ind. Alim. Carlos Alfredo Vegas Pérez, Dr.
Miembro


Ing.Ind.Alim. Wilson Guerra Sangama, Dr.
Asesor


Ing.Ind.Alim. Rafael Segundo Vela Paredes, MSc.
Asesor


Ing.Ind.Alim. Fernando Tello Celis, Dr.
Asesor


Somos la Universidad licenciada más importante de la Amazonía del Perú, rumbo a la acreditación
Calle Los Rosales cuadra 5 s/n, San Juan Bautista, Maynas, Perú
Celular: 953 664 439 - 956 875 744
Correo electrónico: postgrado@unapiquitos.edu.pe www.unapiquitos.edu.pe



TESIS APROBADA EN SUSTENTACIÓN PÚBLICA EL 04 DE ABRIL DEL 2024 EN LA ESCUELA DE POSTGRADO DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONÍA PERUANA, EN LA CIUDAD DE IQUITOS-PERÚ




ING. IND. ALIM. ALENGUER GERÓNIMO ALVA ARÉVALO, DR.
PRESIDENTE




BLGA. VIVIANA VANESSA PINEDO CANCINO, DRA.
MIEMBRO



ING. IND. ALIM. CARLOS ALFREDO VEGAS PÉREZ, DR.
MIEMBRO



ING. IND. ALIM. WILSON GUERRA SANGAMA, DR.
ASESOR



ING. IND. ALIM. RAFAEL SEGUNDO VELA PAREDES, MSc.
ASESOR



ING. IND. ALIM. FERNANDO TELLO CÉLIS, DR.
ASESOR

NOMBRE DEL TRABAJO

EPG_MAESTRÍA_TESIS_RENGIFO SILVA
NO.pdf

AUTOR

ESTEFANY DEYHANYRA RENGIFO SILVA
NO

RECUENTO DE PALABRAS

14005 Words

RECUENTO DE CARACTERES

73609 Characters

RECUENTO DE PÁGINAS

55 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

956.5KB

FECHA DE ENTREGA

Oct 23, 2023 5:16 PM GMT-5

FECHA DEL INFORME

Oct 23, 2023 5:17 PM GMT-5

● **9% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base c

- 7% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 4% Base de datos de trabajos entregados
- 2% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossr

● **Excluir del Reporte de Similitud**

- Material bibliográfico
- Coincidencia baja (menos de 10 palabras)

A DIOS por su plan perfecto en mi vida.

A mis padres por confiar en mí, por su apoyo y amor incondicional.

AGRADECIMIENTO

Un especial agradecimiento a la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana por el financiamiento de este proyecto de investigación aprobado con R. R. N°1156-2020-UNAP. Asimismo, agradezco a mis asesores Dr. Wilson Guerra, MSc. Rafael Vela y Dr. Fernando Tello por su dedicación, paciencia y exigencia durante la ejecución de este proyecto.

La culminación de este presente trabajo de investigación no habría sido posible sin la ayuda de las siguientes personas:

Blga. Jessy Patricia Vásquez Chumbe, MSc., Ing. Gabriel Vargas, Dr. y al Ing. Felix Cabrera por permitirme utilizar sus ambientes de trabajo, así como por los valiosos aportes y recomendaciones que fueron de mucha ayuda para el desarrollo de este proyecto

Al Ing. Juan Darío Ríos Mera. Dr., por compartir sus conocimientos para la realización de la prueba sensorial.

A Flavia, Regina, Lenny, Celia y Milagros, por su ayuda desinteresada durante el desarrollo de la tesis.

A todos muchas gracias.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Páginas
Carátula	i
Contracarátula	ii
Acta de sustentación	iii
Jurado	iv
Resultado del informe de similitud	v
Dedicatoria	vi
Agradecimiento	vii
Índice de contenido	viii
Índice de tablas	x
Índice de figuras	xi
Resumen	xii
Abstract	xiii
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	3
1.1 Antecedentes	3
1.2 Bases teóricas	5
1.3 Definición de términos básicos	22
CAPÍTULO II: VARIABLES E HIPÓTESIS	24
2.1 Variables y su operacionalización	24
2.2 Formulación de hipótesis	25
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	26
3.1 Tipo y diseño de la investigación	26
3.2 Población y muestra	29
3.3 Técnicas e instrumentos de recolección de datos	29
3.4 Procedimientos de recolección de datos	30
3.5 Procesamiento y análisis de datos	36
3.6 Aspectos éticos	36
CAPITULO IV: RESULTADOS	37
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	46
CAPÍTULO VI: PROPUESTA	51
CAPÍTULO VII: CONCLUSIONES	53
CAPÍTULO VIII: RECOMENDACIONES	54
CAPITULO IX: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55

ANEXOS

1. Dictamen de evaluación del comité de ética
2. Consentimiento informado para la prueba de aceptabilidad
3. Matriz de consistencia
4. Tabla de operacionalización de las variables
5. Producción de micropartículas
6. Análisis del contenido de lípidos e índice de peróxidos
7. Prueba sensorial de los panes enriquecidos con micropartículas
8. Prueba de bioaccesibilidad de hierro
9. Cartilla de Evaluación Sensorial

ÍNDICE DE TABLAS

	Páginas
Tabla N° 1. Contenido de hierro de diferentes grupos de alimentos	7
Tabla N° 2. Ingesta recomendada de Hierro (mg/día)	9
Tabla N° 3. Formulación de los panes	33
Tabla N° 4. Caracterización de la sangre bovina	37
Tabla N° 5. Caracterización de micropartículas de pectina	39
Tabla N° 6. Caracterización fisicoquímica de los panes	42
Tabla N° 7. Calidad microbiológica de los panes	43
Tabla N° 8. Resultados de la prueba de aceptabilidad general	44
Tabla N° 9. Contenido total de hierro en las fracciones solubles después de la digestión gástrica y gastrointestinal.	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Páginas

Figura N° 1. Flujograma de la producción de micropartículas recubiertas con proteínas de sangre bovina	26
Figura N° 2. Flujograma de la producción de pan	27
Figura N° 3. Flujograma de la determinación de bioaccesibilidad de hierro	28
Figura N° 4. A= Imágenes de micropartículas de pectina sin recubrir (MSR). B= Micropartículas recubiertas con sangre bovina (MSB). C= Micropartículas recubiertas con sangre bovina y alginato de sodio (MSBR).	37
Figura N° 5. Imágenes obtenidas por MO. A= Micropartículas de pectina sin recubrir (MSR). B= Micropartículas recubiertas con sangre bovina (MSB). C= Micropartículas recubiertas con sangre bovina y alginato de sodio. Barra MO = 100 µm. Objetivo: 10x.	38
Figura N° 6. Flujograma final de la producción del pan.	40
Figura N° 7. Imágenes de cortes transversales de los panes. T1= Pan control. T2= Pan con Fumarato Ferroso. T3= Pan con Micropartículas 10%. T4= Pan con Micropartículas 15%. T5= Pan con Micropartículas 20%. T6= Pan con Micropartículas 25%.	41
Figura N° 8. Índice de peróxidos de los panes	43

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue utilizar micropartículas recubiertas con sangre bovina (SB) como fuente de hierro heme en pan blanco. Las micropartículas fueron producidas utilizando pectina cítrica mediante el método de gelificación iónica, y mediante interacción electrostática estas fueron recubiertas con proteínas de sangre bovina y posteriormente con alginato de sodio. Seis tratamientos de pan fueron considerados: pan control, pan con fumarato ferroso y panes con el 10%, 15%, 20% y 25% de nivel de adición de micropartículas con sangre bovina recubiertas con alginato (MSBR). Los panes fueron caracterizados fisicoquímicamente, y sometidos a pruebas de aceptabilidad, calidad microbiológica y bioaccesibilidad de hierro. Los resultados indican que la incorporación de micropartículas recubiertas con sangre bovina no modificó el perfil del sabor del pan blanco. Asimismo, los resultados muestran que los niveles de hierro en los panes aumentaron gradualmente al aumentar la concentración de micropartículas. Lo que indica que las micropartículas producidas en el presente estudio pueden ser consideradas como una fuente de hierro con potencial de ser utilizado en diferentes matrices alimenticias.

PALABRAS CLAVE: *Microencapsulación, pectina, pan, sangre bovina, bioaccesibilidad, hierro.*

ABSTRACT

The objective of the present study was to use microparticles coated with bovine blood (BB) as a source of heme iron in white bread. The microparticles were produced using citrus pectin through the ionic gelation method, and through electrostatic interaction they were coated with bovine blood proteins and subsequently with sodium alginate. Six bread treatments were considered: control bread, bread with ferrous fumarate and breads with 10%, 15%, 20% and 25% level of addition of alginate-coated bovine blood microparticles (MSBR). The panels were characterized physicochemically, and subjected to tests of acceptability, microbiological quality and iron bioaccessibility. The results indicate that the incorporation of microparticles coated with bovine blood did not modify the flavor profile of white bread. Likewise, the results show that iron levels in the panels gradually increase with increasing microparticle concentration. This indicates that the microparticles produced in the present study can be considered as a source of iron with the potential to be used in different food matrices.

Keywords: *Microencapsulation, pectin, bread, bovine blood, bioaccessibility, iron.*

INTRODUCCIÓN

La anemia por deficiencia de hierro es uno de los problemas de salud pública que más preocupación ha causado a nivel mundial, según la OMS ⁽¹⁾ se estima que alrededor del 30% de la población (más de 1.76 billones) la padece, siendo las mujeres y los niños los más vulnerables. El Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI) a través de la Encuesta Demográfica y de Salud Familiar en 2022, reportaron que 33.6% de niños menores de cinco años residentes en el país, presentaron anemia. Estos datos demuestran que, la anemia es el principal problema nutricional que afecta aproximadamente a 4 de cada 10 niños. El departamento de Loreto es uno de los más afectados, pues el 55.5% de niños menores de cinco años y el 32.9% de mujeres sufren algún tipo de anemia ⁽²⁾.

La entrega de alimentos, la distribución de micronutrientes en polvo, suplementos de hierro, y la fortificación de alimentos básicos son las formas más frecuentes de intervención nutricional para la prevención de anemia por deficiencia de hierro ⁽³⁾. En el Perú, fue ensayando la fortificación de alimentos de consumo masivo, como es el caso del arroz fortificado con 10 micronutrientes realizada por el Instituto Nacional de Salud (INS) y el Centro Nacional de Alimentación y Nutrición (CENAN) ⁽⁴⁾. Sin embargo, en los últimos años, términos como bioaccesibilidad y biodisponibilidad han cobrado importancia a la hora de fortificar un alimento. Pues, existen dos formas de hierro dietario: hierro heme (de origen animal) y hierro no heme (sales de hierro inorgánico), siendo que el hierro heme es altamente biodisponible (25 - 30%) mientras que la absorción de hierro no heme es más variable (1–10%) ⁽⁵⁾.

Hasta la fecha, el hierro de tipo inorgánico es el que generalmente se emplea en las estrategias masivas de fortificación de alimentos. Sin embargo, estos productos fortificados pueden presentar ciertas limitaciones, como baja biodisponibilidad y reactividad del hierro con otros componentes, lo cual, puede causar cambios sensoriales que no son agradables para el consumidor ⁽⁶⁾.

Además, el consumo de hierro inorgánico puede ocasionar efectos secundarios como irritación gástrica, náuseas y estreñimiento ⁽³⁾. En este contexto, la búsqueda de fuentes alternativas de hierro que puedan ser incorporados a productos de consumo masivo que no afecten las propiedades sensoriales y que posean altos valores de bioaccesibilidad es de gran interés.

La sangre, es un subproducto de la industria cárnica que ha llamado la atención debido a su contenido de hierro altamente biodisponible, el cual está contenido en la hemoglobina de los glóbulos rojos ⁽⁷⁾. Por lo que, existen diversos reportes de su uso en la fortificación de matrices alimenticias, tales como leche ⁽⁸⁾, chocolate ⁽⁶⁾, galletas ⁽⁹⁾, pan ⁽¹⁰⁾ etc. No obstante, la fortificación de alimentos con hierro representa un desafío significativo debido a la naturaleza reactiva y oxidativa del hierro, la cual puede impactar la calidad, aceptación y estabilidad de los productos fortificados ⁽¹¹⁾. Ante esto, la microencapsulación, tecnología que atrapa a compuestos de interés hierro dentro de matrices poliméricas puede ser empleada para impedir la interacción del hierro con otros componentes del alimento ⁽¹²⁾.

Ante lo anteriormente expuesto, el objetivo del presente estudio de investigación fue obtener panes enriquecidos con hierro heme mediante la incorporación de micropartículas recubiertas con sangre bovina. Los panes fueron analizados en cuanto a su composición centesimal, aceptabilidad y la bioaccesibilidad del hierro mediante simulación gastrointestinal *in vitro*.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes

En el 2016 Pastore y Muizniece-Brasava ⁽⁶⁾, en su estudio de tipo experimental fortificaron galletas con concentrado de hierro heme extraído de la albúmina bovina en diferentes concentraciones, los cuales fueron evaluados en cuanto su apariencia, sabor textura, textura, aroma. Los autores reportaron que la concentración óptima para fortificación fue de 6%, siendo que los niveles de proteína y hierro fueron 1.6 y 8 veces mayor que la muestra sin fortificar. A pesar de que fue observado una relación negativa entre la adición del concentrado de hierro heme sobre la producción de peróxidos, los autores concluyeron que el uso de hierro heme es una alternativa interesante para la prevención de la anemia.

En el año 2019, Bryszewska et al. ⁽¹⁰⁾ desarrolló una investigación tipo experimental en el que se determinó la bioaccesibilidad y la biodisponibilidad del hierro microencapsulado utilizado para la fortificación de panes. Para ello se realizaron 8 tratamientos en la elaboración del pan, 4 de ellos fueron elaborados con fermentación convencional con levadura y 4 a base de masa fermentada, además de realizar 1 control de cada tipo de proceso. Durante la elaboración del pan fue añadido hierro encapsulado mediante spray drying en las formas de sulfato de hierro y lactato de hierro. El contenido de hierro promedio en los panes fortificados fue de 25.36 ± 2.11 mg Fe/100 g. El cual puede cubrir el IDR para mujeres de 19-50 años cuyo requerimiento es de 18mg/día. En cuanto a la determinación bioaccesibilidad, los mayores valores fueron reportados para los panes producidos por fermentación convencional, alcanzando hasta 99.31%. El estudio concluyó que la encapsulación del hierro, parece ser una estrategia efectiva para reducir al mínimo o incluso evitar por completo la retención del hierro en la matriz alimentaria, lo cual se traduce en una mejora de la absorción y accesibilidad del hierro para el transporte intestinal.

En el 2020, Aroca y Proaño ⁽¹³⁾, en su estudio de tipo experimental formularon galletas con adición de micropartículas recubiertas de sangre bovina a diferentes concentraciones. El tratamiento con mayor aceptación sensorial fueron las galletas con 5% de micropartículas, la cual registró valores de hierro de 11.55 mg/100 gr y proteína de 9.31 gr. El estudio concluye que las micropartículas recubiertas con sangre bovina pueden ser un medio ideal para la fortificación de hierro en productos alimenticios.

En el 2022 García et al. ⁽⁵⁾, elaboraron leche chocolatada fortificada con hierro heme de un polvo comercial de sangre completa de origen porcino. Fueron evaluados la composición centesimal, la aceptabilidad del producto y se realizaron análisis microbiológicos de acuerdo a la normativa peruana. Los análisis de laboratorio indicaron que la leche fortificada presentó significativamente mayores niveles de hierro. Asimismo, el análisis de aceptabilidad demostró que estuvo influenciado por la concentración de hierro y la interacción con el sabor a chocolate. Los análisis microbiológicos indicaron que la duración de la leche chocolatada es de un estimado de 5 días. Los autores concluyeron que la leche saborizada puede funcionar como un vehículo de hierro heme con buena aceptabilidad sensorial en niños.

En el 2021, Huaraca et al. ⁽¹⁴⁾, realizó un estudio de tipo experimental, utilizaron harina de sangre de cerdo en diferentes concentraciones (5,10 y 15%) para la fortificación de yogures. Los cuales fueron evaluados en cuanto a sus características fisicoquímicas y su aceptabilidad sensorial. Las formulaciones de yogurt presentaron entre 70.93 a 79.43% de humedad, proteínas entre 4.26 a 6.45%, lípidos entre 3.27 a 4.89%, y hierro entre 2.09 a 4.53%. No obstante, el color del yogurt fue oscureciendo a medida que el porcentaje de adición de la harina de sangre de cerdo precocida aumentaba. Por último, al evaluarla aceptabilidad de los productos en niños beneficiarios del programa Qaliwama, el tratamiento más aceptado fue el que contenía 10% de harina de

sangre de cerdo. Los autores concluyeron que el uso de la harina de sangre de cerdo puede ser utilizada en la fortificación de productos alimenticios, ya que es una fuente valiosa de proteínas y hierro, por lo que, resulta una alternativa interesante para combatir la anemia en niños y tiene potencial para ser incorporados a un programa social como programa Qali Warma.

1.2 Bases teóricas

1.2.1 Hierro

El hierro (Fe), es el cuarto elemento más abundante de la tierra. Es considerado un elemento vital en términos biológicos, pues participa en la hematopoyesis, transporte de oxígeno, transferencia de electrones, actividades de la enzima oxidasa así como en el metabolismo de energía ⁽¹⁵⁾. En las reacciones REDOX, es capaz de actuar como oxidante y reductor al aceptar y donar electrones ⁽¹⁶⁾. La hemoglobina (HB) consta de cuatro unidades que contienen un grupo hemo y una cadena proteica, lo que le permite captar oxígeno en los pulmones. En los músculos, el hierro se almacena en la mioglobina, una proteína similar a la hemoglobina, pero con una sola unidad hemo y una cadena de globina.

Asimismo, diversas enzimas contienen hierro en su estructura, siendo importantes en la producción de hormonas esteroides y ácidos biliares; desintoxicación de sustancias extrañas en el hígado; y control de señales en algunos neurotransmisores, como los sistemas de dopamina y serotonina en el cerebro ⁽¹⁷⁾.

Por otro lado, en el cuerpo al menos entre 65 a 75% del hierro se encuentra almacenado en su forma heme, 10 a 20% se encuentra como ferritina y hemosiderina, 4% en la mioglobina, 3 a 4% en enzimas y alrededor de 2% se encuentra en una especie de piscina lábil que forma especies reactivas de oxígeno. La mayor parte del hierro que se encuentra circulando en la sangre proviene del reciclaje de eritrocitos, mientras que una pequeña porción de alrededor 1-2 mg diarios se obtiene de la dieta para compensar las

pérdidas gastrointestinales, así como la pérdida mediante la sudoración y descamación de la piel ⁽¹⁸⁾. En el cuerpo, la hemoglobina se encuentra en una concentración media de 16 g/100 ml. Por lo que, esto significa que existe aproximadamente 150.500.000.000.000.000.000 moléculas de HB en total por cada 100 ml de sangre ⁽¹⁹⁾.

1.2.2 Fuentes alimenticias de hierro

El hierro dietario puede presentarse en dos formas:

- a. Hierro heme, proviene hemoglobina y mioglobina procedente del consumo de productos de origen animal como la carne de res, aves y el pescado. Asimismo, este se encuentra contenido en las vísceras y subproductos del animal, como la sangre.
- b. Hierro no heme, puede ser encontrado en productos vegetales como cereales, frutas, legumbres, café y té ⁽¹⁸⁾. Asimismo, los suplementos de hierro también entran en esta categoría.

Es importante señalar que las fuentes de hierro de origen animal también pueden contener pequeñas cantidades de hierro no heme, aunque las fuentes vegetales solo contienen este último ⁽²⁰⁾. La tabla 1, muestra el contenido de hierro de diferentes grupos de alimentos, donde se observa que no todas las carnes presentan la misma cantidad de hierro. Pues, existen diferencias en la presencia de este mineral entre las carnes rojas y las carnes blancas. Las primeras, presentan un tono rojo oscuro debido a su mayor concentración de mioglobina, el cual es un pigmento que contiene hierro que se encuentra en las fibras musculares. Asimismo, la cantidad de mioglobina varía según la especie del animal, su edad y sexo, etc. ⁽²¹⁾. Estudios previos han demostrado, que los animales de mayor edad presentan mayores niveles de mioglobina y hierro, por ende, su carne presenta un color más oscuro, lo que resulta en un mayor número de fibras oxidativas. Incluso, también ha sido reportado que la cantidad de hierro heme varía según el tipo de corte de la carne derivada de un mismo animal ⁽²²⁾.

Tabla 1. Contenido de hierro de diferentes grupos de alimentos

Categoría de alimento	Alimento	Contenido de hierro (mg/100g)	
Hierro heme			
Carnes	Pollo	1.50	
	Cerdo	1.30	
	Res	3.40	
	Pato	1.80	
	Pavo	3.80	
	Bofe de carnero	6.20	
	Churrasco de cerdo	6.20	
	Hígado de carnero	6.30	
	Vísceras	Riñon de res	6.80
		Molleja cocida de pollo	7.80
Higado frito de res		19.11	
Bazo de res cocida		28.70	
Sangre cruda de res		64.40	
Subproductos cárnicos	Sangre cruda de pollo	27.30	
	Sangre cruda de carnero	59.20	
Pescado	Zúngaro, seco salado	6.00	
	Paña, seco salado	7.10	
	Bonito, músculo oscuro	8.66	
Hierro no heme			
Cereales	Pan	2.5	
	Pasta	2.5	
	Arroz	2.9	
Legumbres	Fresco	2.3	
	Seco	6-8	
Frutas	Frutas frescas	0.4-0.5	
	Aceituna	1.6	
	Frutos secos	2.1-2.6	
Vegetales	Acelga	14.40	
	Espinaca blanca	4.6	
	Alcaparras	4.0	
Tubérculos y raíces	Papa blanca	0.50	
	Beterraga	0.31	

Fuente: Tabla Peruana de Composición de Alimentos ⁽²³⁾.

1.2.3 Requerimiento de hierro

Los niños nacidos a término, presentan altos niveles de hemoglobina (policitemia), lo cual constituye una reserva extra de hierro que, sumado al consumo de leche materna, suple la demanda de este mineral hasta los primeros 6 meses de vida. No obstante, los niños prematuros y con bajo peso al nacer, presentan menores niveles de hierro, por lo que, podrían encontrarse en riesgo de padecer anemia. Pasados los 6 meses, el hierro tiene que ser suplido por alimentos administrados al inicio de la alimentación complementaria ⁽²⁴⁾. Entre el primer hasta el sexto año de vida, el hierro requerido por el cuerpo se duplica. Luego, la demanda de hierro vuelve a aumentar en la etapa de la adolescencia, esto debido al periodo de rápido crecimiento ⁽²⁵⁾.

En las mujeres, debido a la menstruación las pérdidas de sangre, son constantes, pero varía en gran manera de mujer a mujer. Se calcula que la pérdida de hierro es de aproximadamente 0.56 mg/día durante todo el ciclo menstrual de 28 días. En base a esto, se estima que el requerimiento diario total de hierro es de aproximadamente 15-18 mg al día, lo que equivale a 1.36 mg de hierro diariamente ^(26,27). No obstante, debido a que las pérdidas de sangre no son homogéneas en todas las mujeres, aquellas con flujo abundante podrían necesitar de algún tipo de suplementación ⁽²⁸⁾.

Durante el embarazo el cuerpo necesita alrededor de 1.5 mg de hierro al día para un correcto crecimiento del feto. Siendo que, durante el segundo y el tercer trimestre de la gestación es donde se requiere un aporte extra de este mineral, y generalmente se requiere de suplementación ⁽²⁴⁾.

Asimismo, es importante señalar que la ingesta de hierro recomendada es casi diez veces más comparada los requerimientos fisiológicos. Por ejemplo, si una persona sana, requiere 1 mg de hierro por día, esta debe consumir aproximadamente 10 mg de hierro al día. De la misma manera, las personas que presentan deficiencia

de hierro tienen la capacidad de absorber este mineral de manera más eficaz y en mayores cantidades en comparación con aquellos individuos con niveles normales de hierro en su organismo. En general, las personas sanas absorben solo entre un 5% y un 10% del hierro presente en sus alimentos, mientras que aquellos con carencia de hierro pueden absorber el doble de esa cantidad. Por lo tanto, en el caso de una dieta que aporta 15 mg de hierro, una persona sin deficiencia de hierro absorbería de 0.75 a 1.5 mg, en contraste, una persona con carencia de hierro podría absorber hasta 3 mg ⁽²⁴⁾.

Este margen resulta valioso, dado que la absorción de hierro aumenta de acuerdo a la necesidad de las personas. Es importante destacar que la absorción de hierro también suele incrementarse, después de una hemorragia y en otras circunstancias en las que la demanda de hierro en el organismo es mayor ⁽²⁹⁾. La tabla 2, muestra los niveles de hierro recomendados durante diferentes etapas de la vida.

Tabla 2. Ingesta recomendada de Hierro (mg/día)

Requerimientos de hierro	Mujeres	Varones
Niños de 6 meses a 8 años		11
Niños de 9 años a adolescentes de 13 años		8
Adolescentes de 14 a 18 años	15	11
Gestantes	30	
Mujeres que dan de lactar	15	-

Fuente: Norma técnica - Manejo terapéutico y preventivo de la anemia en niños, adolescentes, mujeres gestantes y puérperas ⁽²⁷⁾.

1.2.4 Absorción del hierro en el organismo

Hasta la fecha, los mecanismos de la absorción del hierro heme aún no son completamente entendidos, sin embargo, existe evidencia para afirmar que su vía de absorción difiere del hierro no heme, siendo que la absorción de este último es menos eficiente. La absorción del hierro no heme tiene lugar en el duodeno, y en la parte superior del yeyuno a través de una proteína transportadora llamada

DMT1 (transportador de metal divalente 1) ⁽²⁵⁾. Por lo que, para que el hierro sea absorbido, debe estar unido a una proteína, como el hemo, o estar en su forma ferrosa o bivalente (Fe^{2+}). El ambiente ácido del ácido gástrico permite que la enzima Dcytb (citocromo B duodenal), ubicada en la superficie apical de las células del intestino delgado, convierta la forma insoluble de hierro, que es férrica o trivalente, en una forma soluble y absorbible (Fe^{3+}). Luego de su absorción por parte del enterocito, el hierro penetra en la corriente sanguínea a través del canal de exportación de hierro, conocido como ferroportina, ubicado en la cara basolateral de los enterocitos. La ferroportina también se encuentra en los hepatocitos y macrófagos, funcionando como el principal almacén de hierro ⁽³⁰⁾. Se cree que la hepcidina actúa como un regulador crucial en el equilibrio del hierro, y su producción está minuciosamente controlada por factores como los niveles de hierro, la inflamación y la actividad eritroide. Como resultado, la hepcidina se enlaza con la ferroportina, obstaculizando el transporte de hierro y, en última instancia, provocando la degradación de la ferroportina ⁽¹⁵⁾. Considerando que las dietas occidentales contienen alrededor del 85 al 90% de hierro no heme, el mayor aporte de este nutriente se absorbe de la forma antes mencionada ⁽³¹⁾.

En cambio, la absorción de hierro heme, que se encuentra unida a la molécula de porfirina probablemente es transmitido hacia el interior de los enterocitos con la ayuda de la proteína hemoportadora 1 (HCP1) o un receptor hemo. Luego, dentro de los enterocitos el grupo hemo es degradado por la enzima hemo oxigenasa y una vez en la circulación, es capturado por haptoglobina o hemopexina, formándose un complejo. El cual es fagocitado por las células del sistema reticuloendotelial, donde se distribuyen las moléculas del grupo heme ⁽³²⁾.

1.2.5 Anemia por deficiencia de hierro como problema de salud pública

Según la OMS, la anemia es un problema de salud pública de gran relevancia a nivel mundial, pues afecta tanto a países desarrollados como a aquellos en vía de desarrollo. La etiología de la anemia es multifactorial y compleja, ya que existen diferentes tipos; sin embargo, se ha reportado que la deficiencia de hierro es responsable de al menos el 50% de los casos totales de anemia en todo el mundo ⁽³³⁾. El padecimiento de anemia, conlleva a serias consecuencias en la salud, en niños, puede causar disminución de peso y la aparición frecuente de infecciones respiratorias e intestinales. Durante la infancia, uno de los impactos más significativos de la anemia es la alteración en el desarrollo de su comportamiento y habilidades psicomotoras. Debido a que, la respuesta inmunológica mediadas por las células de los linfocitos se ve afectada y que existe una reducción en la síntesis de ADN, el cual depende de una enzima que requiere hierro para su funcionamiento ^(11, 27). De forma similar, en adultos la anemia tiene efectos directos en la reducción de la capacidad para la realización de tareas que requieran de esfuerzo físico, lo que impacta directamente su productividad, y por ende en el PBI de un país. Pues, estudios previos han demostrado que las pérdidas por productividad física son mayores en países con altos índices de anemia ⁽³⁶⁾. Se estima que los costos económicos derivados de la anemia por deficiencia de hierro, debido a las pérdidas anuales en la productividad física, son aproximadamente de US \$ 2,32 por persona, lo que equivale al 0,57% del producto interno bruto en países de ingresos bajos y medianos ⁽³⁷⁾.

No obstante, la población materno-infantil es la más vulnerable y está en mayor riesgo de sufrir anemia. Aunque se sabe que la deficiencia de hierro durante el período perinatal afecta el desarrollo neurocognitivo del feto, sus efectos pueden perdurar durante la infancia y ser irreversibles. Por lo que, como medida de prevención, la OMS aconseja a mujeres gestantes en áreas con alta

prevalencia de anemia a tomar suplementos de hierro y ácido fólico. Considerando que los niños son los más afectados, se hace necesario poner nuestro enfoque en estos y trabajar para apalancar sus efectos ⁽³⁸⁾.

Por otro lado, la deficiencia de hierro puede ser a causa de diferentes factores que incluye la ingesta insuficiente de hierro, aumento en el requerimiento, pérdida crónica de sangre y malabsorción del hierro ⁽³⁹⁾. En países en vías de desarrollo, también puede incluir otros factores como otras deficiencias nutricionales existentes, enfermedades crónicas, infecciones parasitarias como la malaria y envenamiento por plomo. Siendo que, en estas zonas, la causa primordial de la deficiencia de hierro no es debido a una dieta baja en hierro, sino más bien a la baja biodisponibilidad. Debido a que, la composición de sus dietas predomina en cereales o legumbres, los cuales, son ricos en fitatos y fenoles, agentes quelantes del hierro ⁽¹⁸⁾.

1.2.6 Estrategias para la prevención y el tratamiento de la anemia

Para combatir esta deficiencia, se pueden aplicar diferentes estrategias de intervención: educación nutricional, biofortificación, suplementación dietética, fortificación de alimentos y fortificación de alimento a alimento ⁽⁴⁰⁾.

a. Educación nutricional

Este enfoque se basa en el entrenamiento nutricional y alienta la diversificación de alimentos, con énfasis en productos cárnicos. Además, se destaca la importancia de ingerir estos alimentos junto con vitamina C para potenciar su absorción. Por otro lado, se hace énfasis en aquellos alimentos que pueden reducir o inhibir la absorción de hierro ⁽⁴¹⁾.

b. Biofortificación

Esta estrategia consiste en incrementar el contenido de hierro de algunos cultivos mediante procesos biotecnológicos, los cuales

incluyen la biofortificación convencional, agronómica y transgénica ⁽⁴²⁾.

c. Suplementación

Es la más utilizada en la prevención y tratamiento de la anemia. Siendo que, las formas de hierro más empleadas son el sulfato ferroso y el gluconato ferroso, debido a que presentan mayor absorción intestinal. No obstante, se requiere entre 3 y 6 meses de tratamiento para restablecer las reservas de hierro y volver a niveles normales de ferritina en la sangre ⁽⁴³⁾. Por lo que, el uso prolongado de suplementos de hierro por vía oral se ve restringido debido a los efectos secundarios asociados, pues, se ha reportado que aproximadamente 32 por ciento de sus usuarios pueden experimentar síntomas adversos como dolor abdominal, náusea, diarrea, vómito y estreñimiento ⁽³⁹⁾. Estos efectos adversos pueden ser atribuidos principalmente a dos factores: a) Generación de radicales libres en el lumen intestinal y superficie de la mucosa mediante el ciclo redox inducido por el hierro, lo cual provoca inflamación. b) Alteración de los componentes de la microbiota o en el metabolismo ⁽⁴⁴⁾. Sumado a esto, algunas formas de hierro pueden teñir el esmalte dental, presentar baja aceptabilidad por su sabor metálico, y transitar por el sistema gastrointestinal sin ser digeridos. Considerando lo anterior, la calidad de vida de las personas puede verse afectada, lo cual, también causa poca adherencia a su consumo ⁽³⁰⁾.

d. Fortificación de alimentos

Varios estudios consideran que este es el enfoque más rentable en la reducción de anemia y deficiencia de hierro a nivel poblacional. Por lo que, diferentes países desarrollados han adoptado esta estrategia con resultados satisfactorios en el control de las deficiencias de micronutrientes. Pues, provee una rápida mejora a un costo relativamente bajo, lo cual es, particularmente interesante

en países donde existe deficiencia en el consumo de alimentos apropiados debido a la falta de suministro o recursos limitados ⁽⁴⁵⁾.

Los alimentos a fortificar deben cumplir ciertos requerimientos para proveer efectos significativos a la población. Principalmente el alimento debe ser consumido con frecuencia y en cantidades suficientes por una proporción de la población o por aquellos individuos en situación vulnerable ⁽⁴⁶⁾. Además, es importante considerar el tipo de compuesto de hierro a ser utilizado para la fortificación, esto implica la adición de sustancias que contienen hierro a la formulación del producto; sea compuestos aislados como sales o quelatos, así como ingredientes ricos en hierro como productos y subproductos cárnicos. El compuesto elegir dependerá de las características del producto a fortificar, así como de su estabilidad. Generalmente, en la industria es común utilizar compuestos insolubles o fuertemente quelados, debido a que presentan reactividad química menor, lo cual, desde el punto de vista tecnológico es una solución para evitar que el hierro interactúe con los demás componentes del producto. Sin embargo, como se mencionó antes, este tipo de hierro presenta menor biodisponibilidad ⁽⁴²⁾.

Los compuestos sintéticos de hierro más utilizados pueden ser clasificados como: compuestos solubles en agua (sulfato de hierro y gluconato de hierro), insolubles en agua y solubles en ácido (fumarato ferroso), insolubles en agua y medianamente soluble en jugo gástrico (pirofosfato de hierro), y finalmente los quelatos de hierro soluble ⁽⁴⁵⁾.

e. Fortificación de alimento a alimento.

Esta estrategia se refiere a la adición de micronutrientes en polvo a alimentos que se encuentran listos para consumir, lo cual complementa a las estrategias antes mencionadas ⁽⁴⁷⁾. Tanto en la fortificación tradicional como en la fortificación de alimento a alimento, el principal propósito es elevar la calidad nutricional de los

alimentos fortificados manteniendo la consideración de los estándares de aceptación, especialmente en lo que respecta a la calidad organoléptica de los alimentos ⁽⁴⁸⁾.

1.2.7 Ingredientes naturales para la fortificación de alimentos

Actualmente existen, una amplia gama de recursos para el desarrollo de suplementos de hierro, entre ellos los más populares son la ferritina, lactoferrina y el hierro heme. El primero se deriva de cultivos de leguminosas, donde se almacena hierro mineralizado en forma soluble. La lactoferrina se deriva de la leche humana y bovina, esta proteína es la segunda más abundante de leche materna, siendo una fuente de hierro de alto valor biológico con potenciales aplicaciones en la industria médica y alimentaria ⁽⁴¹⁾. Por último el hierro heme derivado de la sangre, tiene la ventaja de que no causa irritación gastrointestinal y se absorbe directamente por las células, por lo que tiene gran potencial para ser utilizada como un potencializador de la nutrición ⁽³⁰⁾.

La sangre animal contiene alrededor de 40 mg de hierro por cada 100 g. También es conocido como porfirina de hierro, se encuentra en la carne magra, hígado, cuajada de sangre, mariscos y carne de pescado ⁽⁴¹⁾. Existen reportes en los que se afirma que el hierro heme añadido a los alimentos no afecta drásticamente a la calidad de los alimentos, tanto las propiedades organolépticas como los nutrientes propios de productos de panificación ⁽¹²⁾. Es por esto, que esta categoría de productos son uno de los vehículos de carga de hierro más utilizados, lo cual incluye galletas, panes, dulces, pasteles y pastas.

1.2.8 Sangre bovina

La sangre es considerada como el medio de transporte de los sistemas animales, donde las células intercambian materiales como gases, nutrientes y desechos. Actualmente, la utilización de la sangre bovina se encuentra limitada por diferentes aspectos ⁽⁴⁹⁾. No obstante, existen culturas donde su consumo es una práctica común,

por ejemplo, las comunidades africanas de Hima, Karamajong y Masai, suelen procesar y consumir la sangre recolectada durante el sacrificio del ganado. Por el contrario, los musulmanes, condenan su consumo, porque va en contra de sus leyes islámicas ⁽⁵⁰⁾. Se estima que solo el 30% de la sangre resultante del beneficio del ganado es utilizada, siendo en la industria cárnica donde se la emplea como agente gelificante y colorante natural. Como es el caso de varios países europeos, donde se utiliza la sangre entera para la preparación de salchichas que son muy populares ⁽⁴⁹⁾.

La sangre, como principal residuo en los mataderos, se produce en cantidades significativas y posteriormente se elimina en el medio ambiente, lo que representa un importante desafío ambiental ⁽⁵¹⁾. Es por esto que la eliminación de la sangre y otros subproductos del matadero debe realizarse de manera responsable, aunque esto resulta considerablemente costoso, aumentando el precio de la carne aumente. Asimismo, a pesar que tiene un gran potencial para el desarrollo de productos con valor agregado, solo una pequeña parte pasa a la cadena alimentaria ⁽⁵²⁾. Por lo que, encontrar nuevas formas de utilizar los subproductos de la industria no solo aumentaría sus ganancias, sino también ayudaría a mitigar su impacto con el ambiente ⁽⁴⁹⁾.

Según reportes previos, la sangre además de su alto contenido de agua (80.9%), también presenta en su composición proteínas (17.3%), lípidos (0.23%), carbohidratos (0.07%) y minerales (0.62%). Por lo que, la sangre bovina puede ser útil para contrarrestar la deficiencia de proteínas y de hierro de las poblaciones en riesgo ⁽⁵³⁾. Por lo cual, sumado a los beneficios ambientales y económicos de la utilización de sangre, se suma la recuperación de una valiosa fuente de proteínas, así como de nutrientes de bajo costo para el beneficio de las personas. Resultando de vital importancia en países en desarrollo, donde también existe la desnutrición por deficiencia de proteínas, pues

muchas personas no tienen los recursos para comprar productos proteicos de alta calidad en forma de carne y aves ⁽⁴⁹⁾.

1.2.9 Desafíos de la fortificación de alimentos con hierro

Un aspecto importante a tener en cuenta al producir alimentos fortificados con hierro es la formación de radicales libres, los cuales a su vez inducen la peroxidación de lípidos en las membranas biológicas, destrucción de la estructura del ADN e inactivación de enzimas. Lo cual, puede causar alteraciones en el color, sabor, apariencia, precipitación, y degradación de vitaminas y minerales en el alimento ⁽⁵⁴⁾.

Asimismo, los cambios de color también pueden ser debido a la interacción con antocianinas, flavonoides y taninos. Los compuestos más biodisponibles, son los que presentan mayor reactividad, causando un decrecimiento en la estabilidad química alimento. Por lo que, desde un punto de vista industrial, el producto alimenticio enriquecido con hierro debe ser compatible con otros componentes y estable en las condiciones de procesamiento y almacenamiento ⁽⁵⁵⁾.

Ante esto, los tecnólogos de alimentos afirman que el hierro es el micronutriente más desafiante para producir alimentos enriquecidos. representa el mayor desafío entre los micronutrientes al producir alimentos fortificados. Por consiguiente, se planteó el uso de la tecnología de microencapsulación como solución para este problema, dado que posibilita la separación física del hierro de los componentes susceptibles a la oxidación ⁽⁵⁶⁾.

1.2.10 Microencapsulación

La microencapsulación consiste en la formación de una estructura protectora alrededor de un compuesto de interés para protegerlo ante condiciones adversas del medio ambiente tales como luz, oxígeno, temperatura, pH, etc. ⁽⁵⁷⁾. De esta manera, el núcleo contenido en su interior, se mantiene intacto y estable, lo cual evita interacciones químicas no deseadas y cambios en sus

propiedades fisicoquímicas y organolépticas ⁽⁵⁸⁾. Además de esto, la microencapsulación permite la liberación controlada y mejora la biodisponibilidad del componente activo al ser ingerido, facilitando su transporte y manipulación ⁽⁵⁶⁾.

Por lo que, esta tecnología, es ampliamente utilizada en diversas industrias como la farmacéutica, cosmética, alimentaria, entre otros. Siendo en esta última, donde se aplica en la encapsulación de sustancias bioactivas como antioxidantes, minerales, vitaminas, fitoesteroles, ácidos grasos, licopeno y luteína; así como células vivas (Probióticos) ⁽⁵⁹⁾.

1.2.11 Técnicas de microencapsulación

Actualmente, existen diversas técnicas de microencapsulación. las cuales deben ser utilizadas de acuerdo al material a encapsular y su aplicación ⁽⁶⁰⁾.

1.2.11.1 Spray drying

También conocido como secado por aspersión, es considerada como una de las técnicas más significativas en la preservación de diversos componentes, incluyendo minerales como el hierro. Este procedimiento implica exponer la sustancia a temperaturas elevadas (100 a 200°C) para convertirla en polvo deshidratado, resultando en un tamaño de partícula que varía entre 903.7 nm y 20 µm ⁽⁶⁰⁾. Su extensa aplicación de la industria se debe principalmente a su relativa simplicidad y a su costo económico. No obstante, también presenta ciertas limitaciones significativas. En primer lugar, su ámbito de aplicación es limitado, debido a que se centra en inmovilizar al compuesto en lugar de recubrirlo, resultando en que algunos elementos bioactivos queden expuestos ⁽⁶¹⁾.

1.2.11.2 Gelificación iónica

Las ventajas de la gelificación iónica incluyen la posibilidad de llevarse a cabo en condiciones suaves, sin necesidad de altas temperaturas ni solventes orgánicos y es económico ⁽⁶²⁾. Además de eso, sus estructuras son sólida, permiten obtener altas eficiencias de microencapsulación y utiliza polisacáridos como materiales de pared, los cuales puede formar complejos con el hierro. Estas características, podrían resultar beneficiosas para la absorción de hierro con posible liberación a nivel de duodeno, ya que en esas condiciones presentan niveles de pH similares ⁽⁵⁶⁾.

No obstante, las micropartículas resultantes poseen una estructura porosa que compromete la retención y protección de algunos compuestos solubles ⁽⁶³⁾. Por lo que, la literatura sugiere el recubrimiento con sustancias de carga opuesta, como proteínas, con el objetivo de promover interacción electrostática y formar un complejo estable en la superficie de la micropartícula ⁽⁶⁴⁾.

1.2.12 Alginato y pectina como materiales encapsulantes

El alginato es un polisacárido natural aniónico compuesto de monómeros de ácido β -D-manurónico (M) y ácido α -L-gulurónico (G) conectado por enlaces β -(1-4) glicosídicos, el cual se extrae de algas pardas (Phaeophyceae), y también es sintetizado por algunas bacterias ⁽⁶⁶⁾. La pectina es un polisacárido obtenido de la pared celular de algunas plantas ⁽⁶⁷⁾. Su estructura consiste en una cadena principal de ácido d-galacturónico α -1, 4 enlazados ⁽⁶⁸⁾. Tanto la pectina como el alginato presentan características ideales para su uso como materiales encapsulantes pues son seguros para su consumo, de bajo costo y por su capacidad de formar emulsiones estables a bajas concentraciones (1 y 2%) ⁽⁶⁹⁾. Que, al encontrarse en contacto con iones divalentes como el Ca^{2+} , producen interacciones específicas con los grupos carboxílicos cargados negativamente, dando como resultado una red tridimensional similar al modelo “caja de huevos” ⁽⁷⁰⁾.

1.2.13 Pan

Los productos a base de cereales como el trigo, son uno de los principales alimentos básicos a nivel mundial, siendo el pan el más consumido. Se ha reportado que la cantidad promedio de pan consumido en muchos países sobrepasa los 100 gr. (aproximadamente 3 tajadas por día) ⁽⁷¹⁾. Aproximadamente, 100 gr de pan blanco, contiene entre 250 a 270 calorías, 35 a 43% de humedad, 6-16% de proteínas, 45-58% de carbohidratos, 05-1.5% de sal ⁽⁷²⁾. También contiene hierro, el cual proviene de la harina de trigo, sin embargo, debido a la presencia de fitatos y sales de ácido fítico, puede presentar baja bioaccesibilidad ⁽⁷³⁾. Por lo que, diferentes estrategias se han implementado para promover la biodisponibilidad del hierro en productos derivados del trigo, tales como suplementación y fortificación ⁽³⁴⁾. En el caso del Perú, hace años se comenzó a fortificar la harina de trigo con hierro como estrategia de prevención ⁽⁷⁴⁾. No obstante, existen resultados contradictorios en sí realmente esta práctica es efectiva, según Field et al. ⁽⁷⁵⁾, el consumo de productos preparados con harina fortificada con hierro, tiene efectos mínimos o ningún efecto en la anemia. Por su parte, Sadighi et al. ⁽⁷⁶⁾ afirma que esta práctica si mejora los niveles de hierro de las personas, pero no tiene un impacto significativo en la anemia por deficiencia de hierro.

1.2.14 Bioaccesibilidad

La bioaccesibilidad, definida como la fracción de cualquier componente de un alimento liberado en el tracto gastrointestinal (TGI) ⁽⁷⁷⁾, es crucial, pues, solo los componentes liberados de la matriz alimenticia y absorbidos en el intestino delgado tienen potencial biodisponibilidad y bioactividad. Es importante tener en cuenta que la biodisponibilidad de un compuesto no garantiza su bioactividad ⁽⁷⁸⁾. Asimismo, aunque a veces se utiliza los términos “Bioaccesibilidad” y “Biodisponibilidad” para referirse a lo mismo, es importante señalar que el primer término es parte del segundo ⁽⁷⁹⁾.

1.2.15 Biodisponibilidad

Desde el punto de vista nutricional, la biodisponibilidad, puede ser definida como la fracción del nutriente que después de ser ingerido alcanza la circulación, llegando hasta los órganos o tejidos para ser utilizado o almacenado. En otras palabras, es la proporción del nutriente que el cuerpo será capaz de utilizar ⁽⁷⁹⁾. El estudio de la biodisponibilidad se considera muy importante para corroborar la efectividad de alimentos funcionales, pues es una herramienta que nos permite evaluar la relación que existe entre el compuesto bioactivo y sus beneficios en la salud ⁽⁸⁰⁾. Aumentando la bioeficiencia y reduciendo los riesgos de toxicidad.

Por otro lado, existen factores que comprometen la biodisponibilidad, como por ejemplo, como la estructura química del compuesto y su interacción con otros elementos, tiempo insuficiente de residencia gástrica, reducida permeabilidad y/o solubilidad en el tracto gastrointestinal (TGI) e inestabilidad durante el procesamiento/almacenamiento de alimentos o en el TGI, entre otros ⁽⁸¹⁾. Es por esto, que este es un término involucra otros conceptos como: bioaccesibilidad, absorción, distribución de tejidos y bioactividad ⁽⁸²⁾.

1.2.16 Digestión *in vitro*

Los métodos de digestión *in vitro* son ampliamente utilizados para evaluar la bioaccesibilidad de nutrientes de los alimentos, permitiendo imitar las condiciones y secuencia de los procesos bioquímicos en el tracto gastrointestinal humano ⁽⁸³⁾. Generalmente, se utilizan métodos *in vitro* para simular los procesos que ocurren en dos áreas diferentes pero relacionadas del sistema digestivo humano: el estómago y el intestino delgado (a veces, la boca) ⁽⁷³⁾. Esta técnica simple, de bajo costo e informativa, nos permite monitorear si es que cierto compuesto bioactivo se ve afectado por la digestión o si es que se generan interacciones con otros compuestos alimentarios ⁽⁸⁴⁾.

1.3 Definición de términos básicos

Fortificación de alimentos

Adición de nutrientes a los alimentos independientemente de si esos nutrientes estaban presentes inicialmente, se considera a menudo como el enfoque a largo plazo más rentable para reducir deficiencias nutricionales ⁽⁸⁵⁾.

Pan

Alimento básico alto en carbohidratos ampliamente consumido a nivel mundial, preparado principalmente con harina de trigo refinada, agua y levadura ⁽⁷²⁾.

Micropartículas

Matriz polimérica que recubre compuestos activos en estado sólido, líquido y gaseoso, con el objetivo de protegerlos ante agentes estresores del ambiente y otorgar liberación controlada ⁽⁸⁶⁾.

Hierro

Oligoelemento esencial implicado en la síntesis de hemoglobina y mioglobina, además forma parte de importantes enzimas. Se encuentra presente en 2 formas: Hierro heme proveniente de una dieta de origen animal, y hierro no heme de origen vegetal, el cual es menos absorbible ⁽⁸⁷⁾.

Interacción electrostática

Es la interacción que se da entre las cargas eléctricas de partículas que se encuentran en reposo o equilibrio ⁽⁸⁸⁾.

Bioaccesibilidad

Porción de un compuesto presente en un alimento que se desprende de la matriz alimentaria durante el proceso digestivo en el tracto gastrointestinal, quedando disponible para su absorción en el intestino ⁽⁸⁹⁾.

Digestión *in vitro*

Proceso en el que se incorporan las condiciones enzimáticas y de pH presentes en la boca, el estómago e intestino, también se puede incluirse fuerzas mecánicas y/o hidrodinámicas ⁽⁹⁰⁾.

Aceptabilidad sensorial

Evaluación del nivel de agrado o desagrado que un alimento o producto genera en los consumidores, a partir de la percepción que tienen de sus características sensoriales, tales como el gusto, el aroma, la consistencia y el aspecto visual ⁽⁹¹⁾.

CAPÍTULO II: VARIABLES E HIPÓTESIS

2.1 Variables y su operacionalización

2.1.1 Variable independiente

Formulación

- **Definición conceptual:** La formulación se refiere a la mezcla de la materia prima, sumado a las fuentes de hierro a ser utilizadas en este estudio para la fortificación (micropartículas recubiertas con proteínas de sangre bovina y sal de fumarato ferroso).
- **Definición operacional:** Cantidades de cada ingrediente a utilizar en la elaboración del pan.
- **Indicadores:** Tipo de pan
- **Ítems:** Pan control, pan con sal de fumarato ferroso, pan con micropartículas 10%, pan con micropartículas 15%, pan con micropartículas 20%, pan con micropartículas 25%.
- **Instrumentos:** Tablero de apuntes

2.1.2 Variables dependientes

Composición centesimal

- **Definición conceptual:** Se refiere al porcentaje, en masa, de cada elemento que constituye un producto.
- **Definición operacional:** Composición porcentual de nutrientes que aporta cada 100 g de pan
- **Indicadores:** Proteína, humedad, cenizas lípidos, hierro, fibra.
- **Ítems:** g/100g,
- **Instrumentos:** Reporte de análisis

Aceptabilidad

- **Definición conceptual:** Criterio que establece si un producto es aceptado luego de la interacción entre el alimento y el consumidor en un momento determinado.
- **Definición operacional:** Rango en el que el consumidor acepta o rechaza un alimento
- **Indicadores:** Nivel de aceptación y Nivel de rechazo

- **Ítems:** súper malo, realmente malo, malo, más o menos, bueno, realmente bueno, súper bueno.
- **Instrumentos:** Escala hedónica facial de 7 puntos

Bioaccesibilidad

- **Definición conceptual:** Cantidad del nutriente liberado de la matriz alimenticia en el tracto gastrointestinal y que se vuelve disponible para la absorción intestinal ⁽³⁷⁾.
- **Definición operacional:** Composición porcentual de los nutrientes liberados después de la digestión gastrointestinal *in vitro*.
- **Indicadores:** Hierro
- **Ítems:** mg/100g
- **Instrumentos:** Reporte de análisis

2.2 Formulación de hipótesis

La obtención de micropartículas cargadas con hierro heme obtenida de la sangre bovina, permitirá enriquecer panes con un compuesto de hierro altamente biodisponible y aumentará su valor nutricional

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1 Tipo y diseño de la investigación

El estudio fue de tipo experimental, con un diseño completamente aleatorizado.

- Diseño experimental

El diseño de estudio será dividido para el cumplimiento de los objetivos específicos.

1er Diseño: Producción y caracterización de micropartículas recubiertas con proteínas de sangre bovina.

Para la primera parte del estudio se aplicó estadística descriptiva, la cual permitió obtener los promedios y desvíos estadísticos para los análisis de proteína, hierro, humedad, cenizas, lípidos y determinación de tamaño.

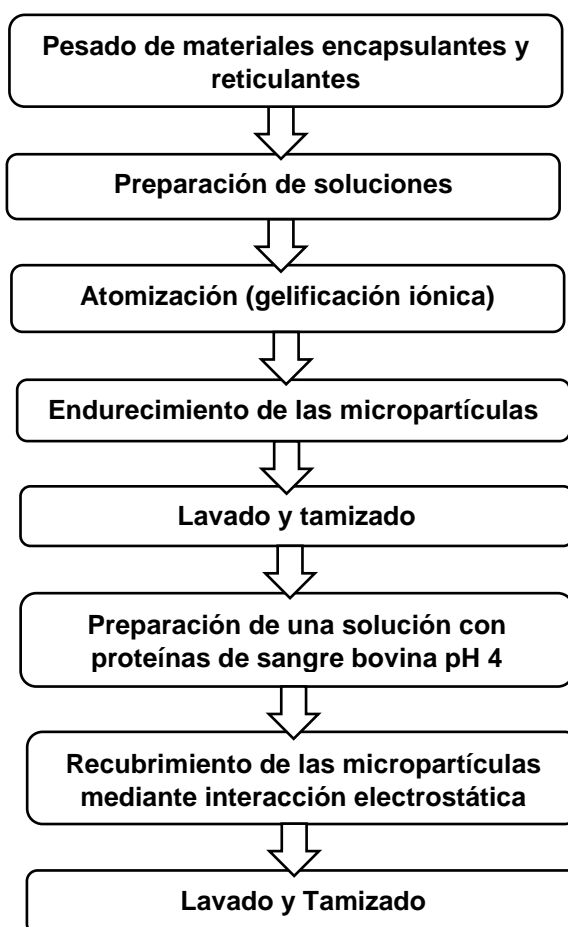


Figura 1. Flujograma de la producción de micropartículas recubiertas con proteínas de sangre bovina

2do Diseño: Producir y caracterizar pan fortificado con micropartículas recubiertas con proteínas de sangre bovina (hierro) y sal de fumarato ferroso.

La producción de pan se realizó de acuerdo a diseño completamente aleatorizado (DCA), con un 1 factor **tipo de formulación** con 5 niveles (pan control, pan con sal de fumarato ferroso, pan con micropartículas recubiertas con proteínas sangre bovina 10%, pan con micropartículas recubiertas con proteínas de sangre bovina 15%, pan con micropartículas recubiertas con proteínas de sangre bovina 20% y pan con micropartículas recubiertas con proteínas de sangre bovina 25%) y 3 repeticiones. Los cuáles fueron evaluados mediante diferentes análisis para ver las diferencias significativas entre los tratamientos.

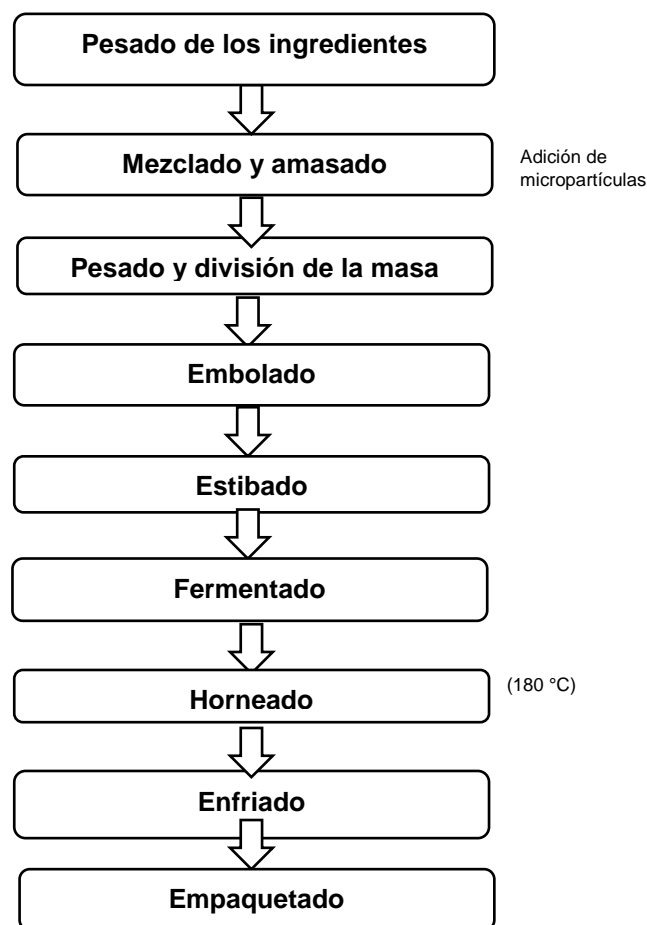


Figura 2. Flujograma de la producción de pan

3er Diseño: Evaluar la bioaccesibilidad de hierro del pan enriquecido con micropartículas recubiertas con proteínas de sangre bovina mediante simulación gastrointestinal *in vitro*.

Para la cuantificación de bioaccesibilidad, un DCA fue empleado con un solo factor **etapa** con 4 niveles (tiempo cero, oral, gástrico e intestinal) y 3 repeticiones. El cual, se evaluó en cuanto al contenido de hierro.

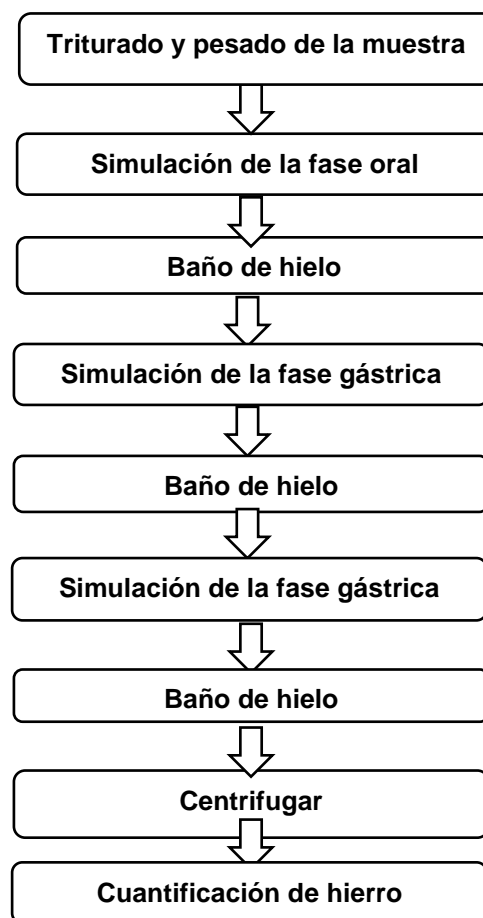


Figura 3. Flujograma de la determinación de bioaccesibilidad de hierro

- **Diseño muestral**

Fue utilizado un diseño probabilístico cuyos tratamientos fueron tomadas al azar con 3 repeticiones.

3.2 Población y muestra

- Población

El ámbito de estudio se considera la región Loreto, asimismo como población de estudio fue la sangre bovina que se utilizó para recubrimiento de las micropartículas. Para realizar la prueba sensorial de aceptabilidad de los panes, la población estuvo conformada por los alumnos de una institución de educación primaria.

- Muestra

Sangre bovina (150 litros) obtenida del camal municipal de Punchana, Iquitos-Perú. Y panes enriquecidos con micropartículas recubiertas con sangre bovina

- Criterios de selección

Criterios de inclusión

La materia prima, la sangre bovina que se utilizó para la elaboración de micropartículas fue seleccionada teniendo en cuenta características de frescura, textura, olor, y color.

Criterios de exclusión

Se excluyeron las muestras que no cumplan con los parámetros de calidad (frescura, textura, olor, color, etc.).

3.3 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

- Materiales

Principalmente fueron utilizados los siguientes materiales: vasos precipitados, fiolas, tubos de ensayo, matraces Elenmeyer con tapa rosca, fiolas graduadas, placas Petri, varillas de vidrio, tubos falcón, bandejas de acero inoxidable.

- Reactivos

Los reactivos e insumos utilizados incluyen pectina cítrica (PC) GENU® de baja masa molar y bajo contenido de metoxilación

amidada (lote SK33139, CP Kelco, Limeira, SP, Brasil), alginato de sodio (AS) de alta masa molar y alto contenido de ácido gulurónico (lote GQB0303301, Manugel DMB, FCM Biopolymer, Campinas, SP, Brasil). Para interacción electrostática se utilizó sangre bovina obtenida del camal municipal de Punchana, Iquitos, Perú. Cloruro de calcio anhidro (lote K47498778), ácido clorhídrico (lote K476888817611), ácido sulfúrico (lote K4746131545), cloroformo (lote K47769245) e hidróxido de sodio (K47498778) fueron adquiridos de la empresa Merck Peruana S.A., Lima, Perú. Asimismo, para los ensayos de bioaccesibilidad se utilizaron las siguientes enzimas: amilasa de saliva humana (SLCD9952, pepsina de mucosa gástrica de cerdos (código: P7012, lote SLCJ3493, actividad declarada >2500 unidades/mg sólido), enzima pancreatina de páncreas de cerdos (código: P7545-25G, lote SLBP9482V, actividad 8 x USP especificaciones), adquiridas de la empresa Sigma-Aldrich. Agua destilada y los demás reactivos utilizados fueron de grado analítico.

- **Ingredientes**

Para la producción de pan se utilizaron los siguientes materiales: harina blanca de panificación, harina integral, azúcar, sal, levadura, gluten, mejorador, manteca y agua potable. Asimismo, como fuente de hierro se utilizaron micropartículas de sangre bovina y fumarato ferroso.

3.4 Procedimientos de recolección de datos

3.4.1 Caracterización de la materia prima

La recolección de la sangre bovina se realizó en condiciones asépticas, inmediatamente después del sacrificio del ganado esta fue trasladada a un contenedor limpio y fue puesta en un baño de hielo, entre 2 a 5°C. Luego se reservó hasta su uso y fue caracterizada en cuanto a su contenido de proteína, carbohidratos,

lípidos, pH, humedad y cenizas según metodología de la Association of Official Analytical Chemistry ⁽⁴⁶⁾.

3.4.2 Producción de micropartículas

Las micropartículas recubiertas con sangre bovina, fueron producidas mediante gelificación iónica de acuerdo a la metodología descrita por Rengifo Silvano et al. ⁽⁹²⁾ con modificaciones. Como primer paso, se preparó una solución (100 mL) de pectina y alginato al 2% (1:1 p/p). Que, luego se dejó caer sobre 500 mL de solución de CaCl₂ al 2% (pH 4.0) a través de un atomizador de doble fluido con orificio de 1 mm a una altura de 12 cm, presión de aire de 0.250 kgf/cm² y velocidad de atomización de 555 mL/hora. Luego, se mantuvo en agitación constante por 30 minutos y se lavó en un tamiz con malla de acero.

Para el recubrimiento con proteínas de sangre bovina, primero se diluyó 55,56 mL de sangre y se completó con agua destilada hasta alcanzar un volumen total de 100 mL. La solución resultante fue filtrada y su pH ajustado a 4.0. Fue pesado 25 gr. de micropartículas húmedas, obtenidas en el paso anterior y se adicionó a la solución de sangre bovina por 30 min en agitación constante. Después fueron lavadas las micropartículas con abundante agua destilada (pH 4.0) para eliminar residuos.

Una vez obtenidas las micropartículas recubiertas con sangre bovina (MSB), se procedió a recubrirlas con una segunda capa, la cual consistió en añadir 25 gr de MSB en 100 mL de una solución de alginato al 0.25% (p/p) ajustada a pH 4. La cual, se mantuvo en agitación constante por 30 minutos, luego, las micropartículas resultantes (MSBR), se lavaron con agua destilada (pH 4.0) para eliminar residuos. Las micropartículas fueron mantenidas en refrigeración hasta su uso.

3.4.3 Caracterización de las micropartículas

Las micropartículas fueron caracterizadas con relación al contenido de humedad, cenizas, así como el contenido de hierro y

proteínas, según la metodología de Association of Official Analytical Chemistry ⁽⁹³⁾. El método kejdhall se basó en determinar la concentración de nitrógeno presente en la muestra.

Con relación a la morfología y al tamaño medio se utilizó un microscopio óptico con captación de imágenes a través de cámara digital controlada por el programa. Las fotos digitalizadas de micropartículas de cada muestra fueron realizadas con el programa Microcal Origin pro 9.1 (Microcal Software, Inc., MA, USA).

3.4.4 Descripción del proceso de elaboración del Pan

La tabla 3 muestra la formulación de los seis tratamientos de panes realizados en este estudio. Donde fueron elaborados, panes blancos con adición de 10%, 15%, 20% y 25% de micropartículas de pectina y alginato recubiertas con proteínas de sangre bovina, asimismo, se produjeron un pan blanco fortificado con fumarato ferroso y un pan control, de acuerdo al siguiente procedimiento:

- Dosificación y pesado de ingredientes
- Mezclado y amasado de los ingredientes (incluidas las micropartículas y el fumarato ferroso) hasta obtener una masa blanda y homogénea.
- Afinado para desarrollar el gluten de la masa
- Pesado y división con la ayuda de una divisora
- Embolado y formado con la finalidad de lograr el diseño del pan
- Estibado en bandejas de acero inoxidable
- Fermentado para darle un volumen adecuado a los panes.
- Horneado se realiza a una temperatura de 170 °C durante 25 min.
- Enfriado a temperatura ambiente
- Empacado en bolsas de polietileno

Tabla 3. Formulación de los panes

Insumos	Tratamientos					
	F1	F2	F3	F4	F5	F6
Harina blanca	59	58.78	57.91	57.46	57.02	56.58
Azúcar	4.72	4.72	4.72	4.72	4.72	4.72
Manteca	3.54	3.54	3.54	3.54	3.54	3.54
Sal	1.18	1.18	1.18	1.18	1.18	1.18
Mejorador	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59
Agua 3 °C	29.5	29.5	29.5	29.5	29.5	29.5
Micropartículas	0	0	0.88	1.33	1.77	2.21
FF* (mg)	0	0.01	0	0	0	0
AA**(mg)	0	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21
Gluten	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59
Levadura	0.88	0.88	0.88	0.88	0.88	0.88
Total	100	100	100	100	100	100

F1= Pan Control. F2= Pan con fumarato ferroso. F3= Pan con Micropartículas 10%. F4=Pan con micropartículas 15%. F5= Pan con micropartículas al 20%. F6= Pan con micropartículas al 25%. *FF= Fumarato Ferroso. **AA= Ácido ascórbico

3.4.5 Caracterización del pan

La caracterización del pan fortificado fue realizada de acuerdo a la metodología descrita en el ítem 3.4.3. Además de los análisis antes mencionados, también se consideró la determinación de fibra total según la AOAC ⁽⁹³⁾.

Asimismo, se evaluó la estabilidad del pan en condiciones de almacenamiento. Para ello se analizó la calidad microbiológica y se determinó la producción de peróxidos mediante método estándar IDF (74A:1991) en el día 0, 5 y 10 de almacenamiento a temperatura ambiente. Las pruebas microbiológicas se realizaron en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, ubicado en la planta piloto de la universidad de acuerdo a la Norma

técnica de Salud N°071 “los indicadores microbiológicos tomados en cuenta fueron: Mohos ⁽⁹⁴⁾.

3.4.6 Aceptabilidad

- Participantes

Un total de 101 niños (8-12 años, 54 varones y 47 mujeres) participaron en este estudio con previa autorización de sus padres, quienes firmaron un consentimiento informado. Los niños fueron reclutados aleatoriamente en la I.E.P “Ruy Guzmán Hidalgo” (San Juan, Iquitos, Perú). Este estudio fue aprobado por el comité de ética de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (PI-059-14/12/22-CIEI-UNAP).

- Muestras

Para la prueba sensorial cuatro tratamientos fueron seleccionados: pan control, pan fumarato ferroso, pan MSB 15% y pan MSB 25%.

- Procedimiento

La evaluación de la aceptabilidad de los panes se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Rocha et al. ⁽⁹⁵⁾ en la cual se utilizó una escala facial hedónica de 7 puntos, variando de -1 “super malo” a 7- “muy bueno”. Para la prueba se acondicionó un aula de la institución educativa, la cual fue equipada con cabinas individuales de degustación. Para cada evaluación de la muestra, a los niños se les proveyó un trozo de pan de aproximadamente 10 g en platos plásticos identificados con un código aleatorio, bajo la luz normal. Las muestras se presentaron siguiendo un orden monádico, y se pidió que mastiquen un pedazo de pan y se enjuaguen la boca con agua entre cada muestra, para limpiar el paladar. La prueba se realizó bajo la vigilancia de los investigadores y profesores.

3.4.7 Bioaccesibilidad de hierro contenido en panes enriquecidos

Para determinar la bioaccesibilidad, los panes se sometieron a digestión *in vitro* simulada de acuerdo a la metodología descrita en

el protocolo armonizado INFOGEST⁽⁹⁶⁾, el cual consiste de tres etapas: oral, gástrica e intestinal. Para ello primero se prepararon las soluciones madre, fluido salival simulado a pH 7.0 (FSS), fluido gástrico simulado a pH 3.0 (FGS) y fluido intestinal simulado a pH 7.0 (FIS), los cuales fueron calentados en un baño maría antes de la simulación, la figura 4 muestra el cronograma y diagrama de flujo del método. Para formar el bolo se procedió a pesar 20 gr. de pan desmenuzado en matraces de vidrio con tapa rosca y se diluyó con 16 ml de FSS además de 2 mL de α -amilasa salival humana (75 U/mL EC 3.2.1.1. Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA), 100 μ L de CaCl_2 (0.3 M) y 1.9 mL de agua destilada, haciendo un volumen total de 40 ml entre la muestra y los fluidos orales 1:1 (v:v). Después de que la mezcla fue incubada por dos minutos a 37°C en un baño maría, se añadió el fluido gástrico 1:1 (v/v) conteniendo 30 mL de FGS, 20 μ L de CaCl_2 (0.3 M) y 6.4 mL de solución de pepsina (2000 U/mL), luego fue ajustado el pH a 3.0 utilizando HCL 1N, se completó con agua destilada hasta alcanzar un volumen de 40 ml, y se incubó a 37°C por 2 h, el volumen final en la etapa gástrica fue de 80 mL. La etapa intestinal, fue simulada mediante la adición de 44 mL de líquido intestinal simulado (SIF), 10 mL de bilis, 20 ml de solución de pancreatina, 160 μ L de CaCl_2 0.3 M, se ajustó el pH a 7.0 con NaOH 1N y se completó con agua destilada hasta alcanzar un volumen de 80 mL, el volumen final en la etapa intestinal fue de 160 mL. Finalmente, las muestras fueron llevadas a incubación por 2h a 37°C. Inmediatamente después de la culminación de cada etapa, las muestras fueron congeladas para la inactivación de las enzimas, luego se descongelaron para ser divididas por centrifugación (5000 rpm por 20 min) en una fracción soluble (S) e insoluble (P).

3.5 Procesamiento y análisis de datos

Para la determinación de los efectos de las variables independientes sobre las variables dependientes en estudio se utilizó el análisis de la Varianza (ANOVA) a un nivel $\alpha = 0.05$. Asimismo, se aplicó el Test Tukey utilizando el paquete estadístico SAS versión 9.0.

3.6 Aspectos éticos

Toda la información recopilada durante la realización del proyecto se ha obtenido de fuentes altamente fiables y se ha manejado de manera confidencial para garantizar su integridad. Para el análisis sensorial del pan, se contó con la aprobación del comité de ética de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (N°059-2022-CIEI-VRINV-UNAP) y se obtuvo el consentimiento informado de los padres de los niños que participaron del estudio. Además, todos los análisis de caracterización en el marco de esta investigación se llevaron a cabo con meticulosidad y precisión.

CAPITULO IV: RESULTADOS

4.1 Caracterización de la sangre bovina

Los resultados de la caracterización fisicoquímica de la sangre bovina se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Caracterización de la sangre bovina

Muestra	Composición centesimal (%)				
	Humedad	Proteína	Lípidos	Carbohidratos(*)	Cenizas
SB	80.69±1.02	17.80±0.44	0.38 ± 0.03	0.11 ± 0.01	1.02 ± 0.10

Promedio ± desvío estadístico (n=3). (*) Por diferencia. SB= Sangre Bovina

4.2 Producción de micropartículas recubiertas con sangre bovina

Inicialmente, las micropartículas producidas con la mezcla de pectina y alginato no absorbieron la cantidad de hierro esperada, por lo que, se optó por utilizar únicamente pectina como material encapsulante. Las micropartículas resultantes se muestran en la figura 5. Asimismo, con el objetivo de poder aislar el hierro adherido a la superficie de las micropartículas y evitar su interacción con los demás componentes del pan; se realizó un segundo recubrimiento a la micropartícula con sangre bovina, el cual consistió en añadir 25g de MSB a 200mL de solución de alginato al 0.25% a pH 4.0. Resultando en una micropartícula con doble recubrimiento.

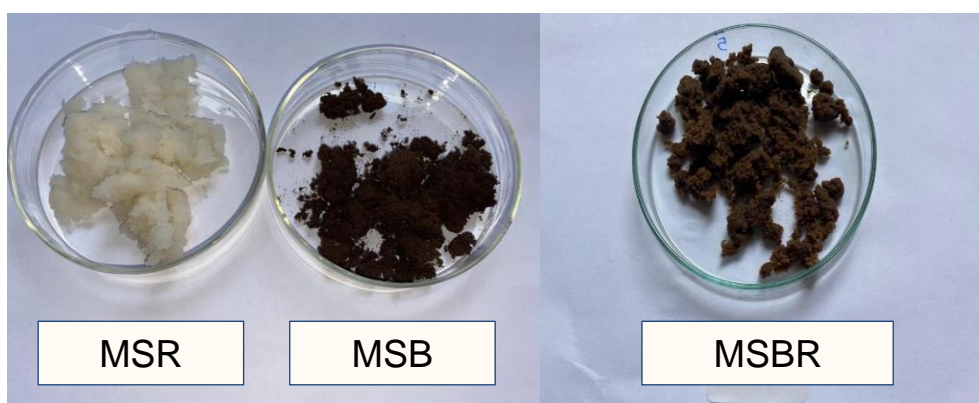


Figura 4. A= Imágenes de micropartículas de pectina sin recubrir (MSR). B= Micropartículas recubiertas con sangre bovina (MSB). C= Micropartículas recubiertas con sangre bovina y alginato de sodio (MSBR).

4.3 Caracterización de micropartículas recubiertas con sangre bovina

La figura N° 5, muestra imágenes de micropartículas de pectina recubiertas con proteínas de sangre bovina obtenidas por microscopía óptica. Es posible observar que las micropartículas presentaron formas esféricas e irregulares. Asimismo, como es característico de la sangre las micropartículas recubiertas son de color marrón claro, el cual no fue alterado, cuando se realizó el segundo recubrimiento con alginato.

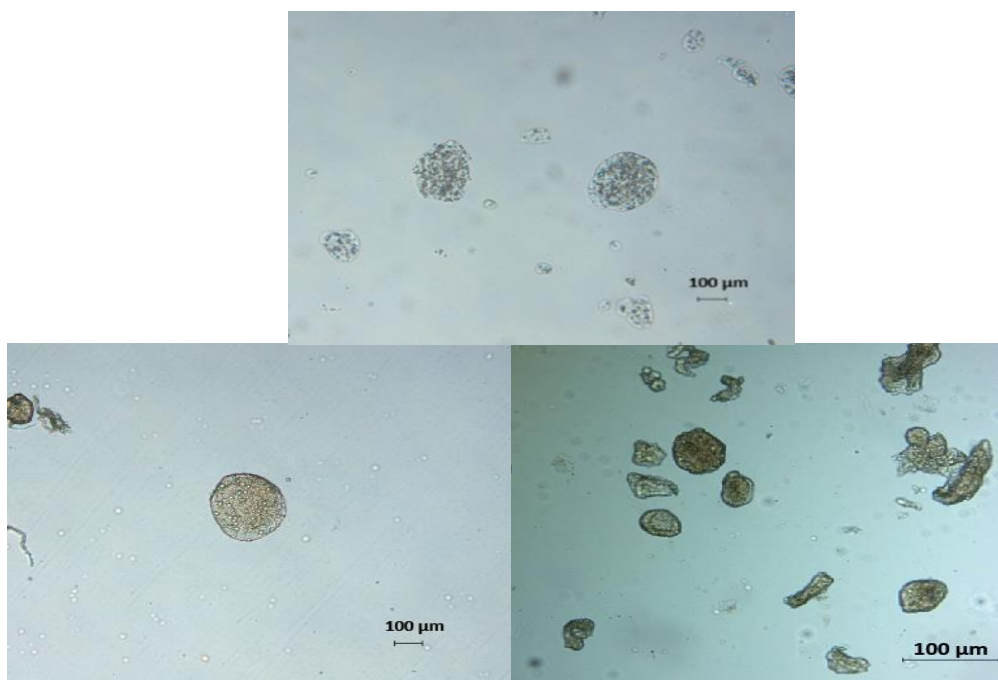


Figura 5. Imágenes obtenidas por MO. A= Micropartículas de pectina sin recubrir (MSR). B= Micropartículas recubiertas con sangre bovina (MSB). C= Micropartículas recubiertas con sangre bovina y alginato de sodio. Barra MO = 100 µm. Objetivo: 10x.

La tabla 5 muestra la caracterización de las diferentes micropartículas de pectina. Entre los tratamientos, las micropartículas sin recubrir presentaron significativamente el menor contenido de humedad, así como el mayor tamaño medio, y no se evidenció presencia de proteínas y hierro. Después del recubrimiento de MSR con la solución de sangre bovina a pH 4, las micropartículas disminuyeron su contenido de humedad y tamaño, contrariamente, los niveles de proteína y hierro aumentaron significativamente. Lo cual, demuestra la gran capacidad de adsorción de proteínas que tienen las micropartículas de pectina. Por último, la aplicación de segunda capa a

las MSB utilizando una solución de alginato, provocó un aumento en el contenido de humedad y cenizas, y una disminución del contenido de proteínas, lípidos y hierro.

Tabla 5. Caracterización de micropartículas de pectina

Micropartículas	Humedad	Cenizas	Lípidos	Proteína	Hierro	Tamaño
	(%)				(mg/100g)	(μm)
MSR	92.57 \pm 0.68 _a	1.94 \pm 0.01 _a	0.97 \pm 0.03 _c	n.d.	n.d.	180.04 \pm 0.61 _a
MSB	73.15 \pm 0.23 _c	0.51 \pm 0.03 _b	1.61 \pm 0.04 _a	76.45 \pm 0.02 _a	150.77 \pm 0.01 _a	159.78 \pm 0.5 _c
MSBR	77.34 \pm 0.22 _b	0.88 \pm 0.34 _b	1.38 \pm 0.09 _b	73.02 \pm 0.01 _b	144.2 \pm 0.05 _b	170.56 \pm 1.9 _b

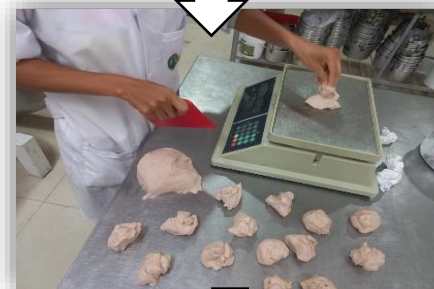
Promedio \pm desvío estadístico (n=3); MSR= Micropartículas sin recubrimiento de pectina. MSB= micropartículas de pectina recubiertas con sangre bovina. MSBR= micropartículas de pectina recubiertas con sangre bovina y alginato de sodio Nota: Letras diferentes en la misma columna representan diferencia significativa ($p>0.05$) entre las medias determinadas utilizando la prueba Tukey.

4.4 Producción de pan fortificado

A continuación, se muestra el flujograma final que se siguió para la producción de panes.



} 10 min.



} Pesado de 50 g de masa





Fermentado
por 1 hora a
32 C°



Horneado a
170 °C
durante 25
minutos



Empaquetado
de los panes en
bolsas de
polietileno

Figura 6. Flujo de la producción final del pan.

La figura 7 muestra imágenes de cortes transversales de los distintos tratamientos de panes realizados en este estudio. Tanto la muestra control como el pan conteniendo fumarato ferroso, presentaron el mismo color, siendo que la adición de este no provocó cambios sustanciales en el color del pan. No obstante, cuando se realizó la producción de panes con distintas concentraciones de MSBR, es posible observar un patrón donde a medida que se aumenta la concentración de micropartículas, van adquiriendo un color marrón que va intensificándose hasta alcanzar un color marrón oscuro. Asimismo, es posible observar que la distribución de color es uniforme, por lo que indica un buen proceso de mezclado. Por otro lado, todos los panes presentaron una miga uniforme y aireada, independientemente de su color.



Figura 7. Imágenes de cortes transversales de los panes. T1= Pan control. T2= Pan con Fumarato Ferroso. T3= Pan con Micropartículas 10%. T4= Pan con Micropartículas 15%. T5= Pan con Micropartículas 20%. T6= Pan con Micropartículas 25%.

4.5 Caracterización de los panes enriquecidos con micropartículas

4.5.1 Análisis proximal

La composición proximal de los panes producidos en este estudio se muestra en la tabla 6. No se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre el pan de control y el pan con fibra funcional (FF), excepto por el aumento en el contenido de hierro. Sin embargo, en los panes con micropartículas, se observaron diferencias significativas, donde todos los componentes analizados aumentaron con la concentración de micropartículas, excepto la fibra. El tratamiento de pan con mayor contenido de micropartículas aumentó su contenido de proteínas en más de un gramo y su contenido de hierro fue más de dos veces mayor que el del pan control. Esto sugiere que las micropartículas fueron capaces de aportar los nutrientes de interés a los panes, lo que es de especial interés debido al proceso de horneado que puede perder nutrientes.

Tabla 6. Caracterización fisicoquímica de los panes

Tratamiento	Humedad	Cenizas	Lípidos	Proteína	Fibra	Hierro
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	mg/100gr
T1	26.22±0.58 ^c	1.69±0.18 ^a	6.50±0.25 ^b	8.85±0.02 ^b	0.35±0.01 ^a	3.71±0.02 ^e
T2	26.32±0.97 ^c	1.77±0.08 ^a	6.70±0.33 ^b	8.92±0.03 ^b	0.34±0.01 ^{ba}	6.93±0.11 ^d
T3	28.99±0.39 ^{bc}	1.33±0.07 ^b	6.53±0.24 ^b	9.71±0.40 ^a	0.35±0.0 ^a	6.76±0.02 ^c
T4	30.11±1.92 ^{ba}	1.61±0.07 ^a	6.89±0.11 ^b	9.78±0.01 ^a	0.32±0.01 ^{bc}	7.43±0.05 ^b
T5	32.56±0.44 ^a	1.64±0.02 ^a	7.20±0.21 ^{ab}	9.82±0.09 ^a	0.31±0.01 ^c	7.52±0.04 ^b
T6	32.84±0.55 ^a	1.67±0.01 ^a	7.62±0.22 ^a	9.94±0.12 ^a	0.29±0.02 ^d	7.77±0.05 ^a

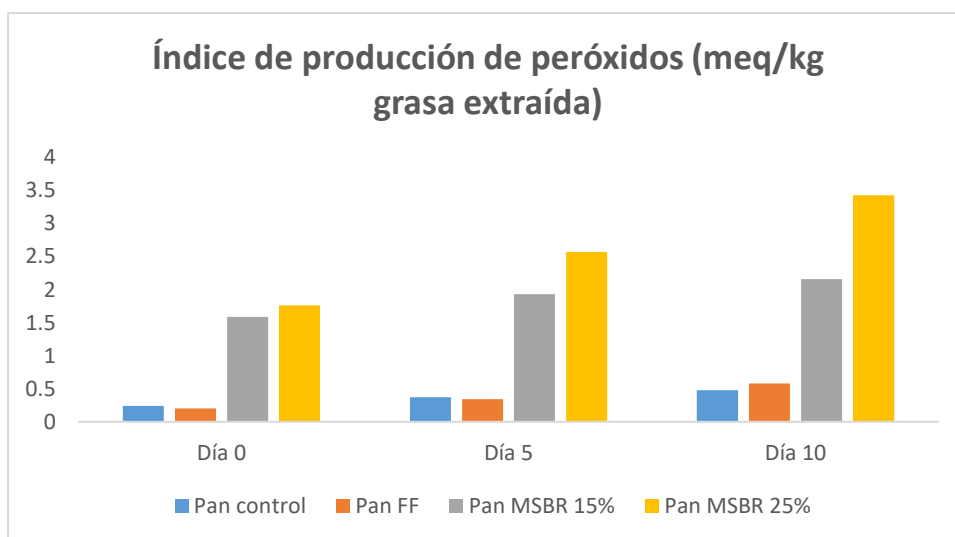
Promedio \pm desvío estadístico (n=3). Nota: Letras diferentes en la misma columna representan diferencia significativa ($p > 0.05$) entre las medias determinadas utilizando la prueba Tukey. T1= Pan control. T2= Pan con Fumarato Ferroso. T3= Pan con Micropartículas 10%. T4= Pan con Micropartículas 15%. T5= Pan con Micropartículas 20%. T6= Pan con Micropartículas 25%.

4.5.2 Índice de peróxidos

La figura 8 muestra los resultados de producción de peróxidos (compuestos primarios de oxidación) de los panes. Para ello, debido a insuficiencia de reactivos, se seleccionaron los tratamientos de pan MSBR 15% y Pan MSBR 25%, la prueba se realizó cada 5 días hasta

alcanzar el día 10. El pan control fue el que presentó menores valores de peróxidos, seguido del pan con FF. El tratamiento con el mayor porcentaje de micropartículas mostró niveles más altos de peróxidos; sin embargo, estos se mantienen dentro de los límites permitidos (hasta 10meq/kg grasa extraída).

Figura 8. Índice de peróxidos de los panes



4.5.3 Calidad microbiológica

De acuerdo a lo establecido por La NTS N°071 ⁽⁹⁷⁾, los indicadores microbiológicos para el pan, indica determinar la presencia de moho, siendo que los resultados encontrados están dentro del rango permitido (Tabla 7).

Tabla 7. Calidad microbiológica de los panes

Muestra	Recuento de mohos UFC/gr		
	Día 0	Día 5	Día 10
T1	<10	<10	<10
T2	<10	<10	<10
T4	<10	<10	<10
T6	<10	<10	<10

T1= Pan control. T2= Pan con Fumarato Ferroso. T4= Pan con Micropartículas 15%. T6= Pan con Micropartículas 25%.

4.6 Aceptabilidad

Los resultados para la prueba de aceptabilidad general de los panes son mostrados en la tabla 8. Se tuvo como panelistas a 101 niños entre 8 a 12 años, los cuales realizaron una prueba hedónica facial de 7 puntos. Según los puntajes obtenidos, el pan control el que presentó mayor puntaje de aceptación, no obstante, no se encontraron diferencias entre los tratamientos y el control ($p < 0.05$). Esto sugiere que el color de los panes no fue una determinante para su aceptabilidad. Los puntajes variaron entre 5.92 a 5.64, considerando que el mayor puntaje de la escala es 7, es posible asumir que todos los tratamientos presentaron una buena aceptabilidad.

Tabla 8. Resultados de la prueba de aceptabilidad general

Tratamiento	T1	T2	T4	T6
PUNTAJE	5.92±0.91 ^a	5.74±1.06 ^a	5.61±1.21 ^a	5.64±1.22 ^a

Promedio ± desvío estadístico (n=3). Nota: Letras diferentes en la misma columna representan diferencia significativa ($p > 0.05$) entre las medias determinadas utilizando la prueba Tukey. T1= Pan control. T2= Pan con Fumarato Ferroso. T4= Pan con Micropartículas 15%. T6= Pan con Micropartículas 25%.

4.7 Bioaccesibilidad de hierro

La bioaccesibilidad in vitro de los panes preparados con fuentes de hierro heme y no heme fueron comparados. La tabla 9 muestra el contenido de hierro de los supernadantes después de la digestión in vitro de pan con fumarato ferroso y MSBR 25%. El pan con fumarato ferroso mostró mayor porcentaje de bioaccesibilidad al final de la digestión in vitro comparado con el pan con MSBR 25%. La cantidad de hierro en las fracciones solubles incrementó en la etapa intestinal de forma significativa para el pan con MSBR 25% ($p < 0.05$) comparado a la etapa gástrica. Estos resultados sugieren que la fuente de hierro utilizada afecta la bioaccesibilidad del mineral en los panes, siendo el fumarato ferroso más biodisponible que el hierro proveniente de las micropartículas de MSBR.

Tabla 9. Contenido total de hierro en las fracciones solubles después de la digestión gástrica y gastrointestinal.

Muestra	Contenido de hierro (mg/100g de pan)			
	Sin digerir	Gástrico	Intestinal	% Bioaccesible al final de la digestión
Pan FF	6.93±0.04 ^{bA}	0.44±0.01 ^{aB}	0.47±0.01 ^{aB}	6.78
Pan MSBR 25%	7.57±0.01 ^{aA}	0.38±0.01 ^{bC}	0.46±0.24 ^{aB}	6.08

Promedio ± desviación estándar (n=3). FF= Fumarato ferroso. MSBR= Micropartículas de pectina recubiertas con proteínas de sangre bovina y alginato Promedios seguidos de letras diferentes en minúscula en la misma columna presentan diferencias significativas entre tipo de pan (P<0,05) por el Test de Tukey. Promedios seguidos de letras diferentes en mayúscula en la misma columna presentan diferencias significativas entre la etapa de la digestión in vitro (P<0,05) por el Test de Tukey.

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

La presente investigación tuvo como objetivo, utilizar la sangre bovina como fuente de hierro heme en el recubrimiento de micropartículas de pectina producidas por gelificación iónica y utilizar estas micropartículas para enriquecer panes blancos. Para posteriormente, evaluar las propiedades fisicoquímicas, aceptabilidad, y bioaccesibilidad de hierro de los panes.

5.1 Caracterización de la sangre bovina

La adición de anticoagulante EDTA, durante la recolección de la sangre nos permitió mantener la sangre en estado líquido hasta su transporte al laboratorio. Los anticoagulantes como el citrato de sodio o el ácido etilendiaminotetraacético, basan su función al transformar el calcio presente en la sangre a una forma no ionizada, lo cual funcionan como un inhibidor de la coagulación proteolítica ⁽⁵²⁾.

De acuerdo a la tabla 4 podemos ver que la sangre bovina tiene un contenido considerable de proteínas, debido a esto, es un subproducto de la industria cárnica con potencial para el desarrollo de alimentos funcionales. Lynch et al. ⁽⁹⁸⁾, en su estudio reportan que la sangre a pesar de todas sus propiedades beneficiosas, sigue siendo un producto subvalorado. Por este motivo, en este estudio se recubrió micropartículas con sangre bovina, que aparte de tener proteínas, también se presenta como una fuente de hierro heme, el cual es altamente biodisponible y podría ser utilizado para combatir el problema de anemia infantil en la región ⁽⁹⁹⁾.

5.2 Producción de micropartículas recubiertas con sangre bovina

Con el objetivo de obtener micropartículas capaces de adsorber la mayor cantidad de proteínas de la sangre bovina, se cambió la formulación de las micropartículas. Teniendo al final solo a la pectina como material encapsulante. Similares resultados fueron encontrados por Rengifo et al. ⁽³⁾ y Tello et al. ⁽⁴⁾, quienes trabajaron con pectina y alginato como materiales encapsulantes en la microencapsulación de aceites por gelificación iónica con posterior

adsorción de proteínas. Lo cual se debe a que, el alginato es un polisacárido que presenta una estructura más estable y ordenada, promoviendo mayor interacción entre grupos carboxílicos e iones de calcio durante la gelificación iónica. Mientras que la pectina, tiene una estructura desordenada que no interacciona completamente durante la gelificación. Esto influye en la absorción de proteínas, siendo menor en partículas con alginato por falta de cargas negativas, pero mayor en partículas con pectina debido a la disponibilidad de grupos carboxílicos para interactuar con las proteínas de sangre bovina.

5.3 Caracterización de panes

Según la tabla 6, se observa que el tratamiento control y el pan con fumarato ferroso no varían significativamente en cuanto a su composición fisicoquímica, a excepción del contenido de hierro el cual se vio incrementado, como se esperaba debido a la adición del polvo de fumarato ferroso. Sin embargo, un comportamiento diferente fue observado en los panes con MSBR, pues tanto el contenido de humedad, lípidos y hierro se vieron incrementados significativamente ($p < 0.05$), aunque también se observó un ligero incremento gradual del contenido de proteínas ($p > 0.05$), a medida que el nivel de adición de micropartículas fue mayor. El mayor contenido de hierro (7.77 ± 0.05 mg/100g) fue reportado en el pan con MSBR 25% y según la Norma Técnica - Manejo Terapéutico Y Preventivo De La Anemia En Niños, Adolescentes, Mujeres Gestantes Y Puérperas ⁽¹⁰⁰⁾ el requerimiento de hierro en niños entre 6 meses a 8 años es 11 mg/día, y en niños entre 9 a 13 es de 8 mg/día, por lo que dos porciones de pan MSBR 25% (equivalente a 100 g) cubrirían aproximadamente el 71% y el 97% del IDR de hierro en niños, respectivamente.

Estos resultados demuestran que las micropartículas formuladas en el estudio, son un vehículo de carga de hierro y que pueden ser utilizadas como fuente de hierro heme para mejorar el contenido nutricional de los alimentos. Según Carpenter y Mahoney ⁽¹⁰¹⁾, el hierro heme es menos consumida por la población anémica en países en vías de desarrollo, en este sentido los panes producidos en este

estudio son una buena alternativa para la población en riesgo.

Asimismo, Conrad y Umbreit ⁽¹⁰²⁾ reportaron que el hierro heme tiene promueve la absorción del hierro no heme, entonces el hierro proveniente de las partículas con sangre bovina contenido en los panes, podría potenciar la absorción del hierro no heme presente en la harina de trigo, pues como es sabido, en nuestro país, la fortificación de la harina con sales de hierro es de carácter obligatorio.

5.4 Índice de peróxidos y calidad microbiológica

Los efectos prooxidantes del hierro son bien conocidos, no obstante, los bajos niveles de peróxidos en los panes puede ser debido a la presencia de vitamina C, así como al proceso de microencapsulación y a la segunda capa que se añadió utilizando una solución de alginato de sodio, lo que posiblemente funcionó como una barrera física entre el hierro que se encontraba adherido a la superficie de las micropartículas. Similares resultados, fueron encontrados por Cengiz et al. ⁽¹⁰³⁾, que en su estudio formularon partículas de alginato cargadas con hierro y evaluaron su estabilidad en emulsiones agua/aceite. Los autores encontraron mayores niveles de oxidación lipídica en micropartículas con menor tamaño, no obstante, cuando se añadió una capa extra de alginato, se inhibió la oxidación de lípidos considerablemente.

Por otro lado, también se ha reportado trabajos en los que se combinó fuentes de hierro heme con vitamina C, siendo que este no solo funciona como un antioxidante si no también como promotor de la absorción de hierro ⁽⁸⁾.

5.5 Aceptabilidad

De acuerdo a la tabla 8, no se presentaron diferencias entre los tratamientos. Por lo que, los resultados demuestran que los niños en etapa escolar están dispuestos a consumir la propuesta de este estudio, siendo que el pan es una matriz alimentaria con gran potencial para la fortificación con hierro ya que es un alimento de consumo masivo. Asimismo, es importante destacar la metodología para evaluar la

aceptabilidad utilizada en este estudio. Diversos estudios han demostrado la confiabilidad del uso de escalas hedónicas faciales o con emojis en grupos infantiles, por ser una herramienta que permite relacionar el nivel de agrado o desagrado con emociones que los niños son capaces de entender ⁽¹⁰⁴⁾. Para esto, las 7 “caritas” de la escala, fueron discretas en apariencia para evitar algún tipo de confusión que podría alterar nuestros resultados.

La edad de los participantes de la evaluación estuvo comprendida entre los 8 a 12 años, los cuales, en este rango de edad se encuentran en la etapa "operacional concreta", donde desarrollan capacidades tanto de comprensión a ideas más complejas. Siendo que debido a las similitudes que existe en este grupo de edad, combinarlos en un solo grupo para la evaluación fue apropiado ⁽¹⁰⁵⁾.

5.6 Bioaccesibilidad

La bioaccesibilidad *in vitro* de los panes preparados con fuentes de hierro heme y no heme fueron comparados. Como fue mostrado en la Tabla 9, el contenido de hierro de los supernadantes después de la digestión *in vitro* de pan con fumarato ferroso y pane con MSBR 25%. Pan FF, mostró mayor % de bioaccesibilidad al final de la digestión *in vitro* cuando comparado con el pan con MSBR 25%. La cantidad de hierro en las fracciones solubles incrementó en la etapa intestinal de forma significativa para el pan MSBR 25% ($p < 0.05$) cuando comparado a la etapa gástrica, esto puede ser debido al cambio de pH (3.0 a 7.0). Mayores valores de bioaccesibilidad del hierro en el ambiente intestinal, son deseables, ya que es en el duodeno y en la parte alta del jejunio donde se da la absorción del hierro en el cuerpo ⁽¹⁰²⁾.

La cantidad de hierro convertido a formas solubles después de las condiciones gastrointestinales fue menor cuando comparado a estudios previos. Brywcezca et al. ⁽¹⁰⁶⁾ encontraron valores de bioaccesibilidad de hierro de hasta 99% en panes hechos con harina de trigo por fermentación convencional fortificados con sulfato ferroso. Está diferencia en los valores de bioaccesibilidad comparados con el

presente estudio puede ser debido al método que se utilizó para la digestión *in vitro* ya que ellos utilizaron un Digestor dinámico gastrointestinal (DGD-siglas en inglés), el cual es un digestor multicompartimental controlado por computadora imita el tracto gastrointestinal superior de los humanos. Estudios sobre la determinación de bioaccesibilidad de hierro contenido en panes utilizando el protocolo estándar del INGOGEST, son escasos. Por lo que este estudio, es de vital importancia para la generación de nuevo conocimiento, y revalorizar una fuente valiosa de hierro como lo es la sangre bovina.

Por otro lado, los bajos valores de bioaccesibilidad, también pueden explicarse con la posible presencia de agentes quelantes de hierro que podrían haber estado presentes en la harina, tales como el ácido fítico. Además de los fitatos, existen otros inhibidores dietéticos que pueden afectar la liberación del hierro, tales como el ácido oxálico, fibras dietéticas y polifenoles ⁽¹⁰⁷⁾. Asimismo, según Fernández-García ⁽⁷⁹⁾ la bioaccesibilidad de los compuestos nutricionales está directamente relacionado por la composición de la matriz alimenticia y la interacción con los demás componentes. Es posible, que el segundo recubrimiento de las MSB con alginato de sodio, no funcionó como se esperaba, y podría deberse a que el hierro se encontraba adsorbido en la superficie de las micropartículas interaccionó con los agentes quelantes posiblemente contenidos en la harina de trigo. Asimismo, reportes previos detallan que la pectina puede disminuir la absorción de hierro, debido a que la pectina presenta una alta ligación al hierro y forma complejos inadsorbibles ⁽¹⁰⁸⁾.

Por último, es importante mencionar que la simulación *in vitro* puede no representar la complejidad del proceso de digestión humana, pero que, con o sin modificaciones, en la actualidad son ampliamente utilizados con el objetivo de estimar la disponibilidad de nutrientes en los alimentos, que se los correlaciona con modelos *in vivo* ⁽¹⁰⁹⁾.

CAPÍTULO VI: PROPUESTA

La anemia es un problema de salud pública que afecta a muchas regiones del mundo, incluida la región de Loreto, en Perú. En respuesta a esta problemática, nuestra propuesta es utilizar la sangre bovina como fuente de hierro heme para producir micropartículas y ser incorporadas en la producción de panes enriquecidos con hierro. Este proyecto no solo aborda un problema de salud, sino que también tiene un impacto social y ambiental en la región Loreto.

Uno de los impactos más evidentes y valiosos de este proyecto es la mejora de la salud de la comunidad local. Al proporcionar una fuente accesible de hierro heme a través de los panes enriquecidos, se espera contribuir a la prevención de anemia en la región. Esto tendrá un efecto directo en la calidad de vida de los habitantes de Loreto, especialmente en los grupos más vulnerables, como los niños y las mujeres embarazadas, que son más propensos a sufrir de anemia. Asimismo, al abordar la causa subyacente de la anemia y prevenirla a través de una dieta enriquecida en hierro heme, se puede esperar una disminución en la necesidad de atención médica relacionada con la anemia. Esto libera recursos médicos para otras necesidades de salud y reduce la carga financiera en las familias.

La producción de panes enriquecidos hierro podría generar nuevas oportunidades económicas en la región de Loreto. La producción de estos panes enriquecidos podría crear empleos en la panadería local y la cadena de suministro de alimentos. Además, la venta de estos productos enriquecidos podría generar ingresos para los proveedores locales. Esto fomentaría la economía local y mejoraría la calidad de vida de la comunidad.

La implementación de este proyecto también ofrece una oportunidad para promover la educación nutricional en la región. La educación nutricional puede tener un impacto a largo plazo al empoderar a la comunidad para tomar decisiones alimenticias más saludables y sostenibles.

En resumen, el proyecto de enriquecimiento de panes con hemo a partir de sangre bovina tiene el potencial de tener un impacto social significativo en la región Loreto. Además de combatir la anemia y mejorar la salud de la comunidad, también promueve la economía local, la educación nutricional y la sostenibilidad. Al abordar este problema de manera integral, se sientan las bases para un futuro más saludable y próspero en Loreto.

CAPÍTULO VII: CONCLUSIONES

1. Micropartículas recubiertas con sangre bovina presentaron altos contenidos de proteína y hierro. A mayor concentración de micropartículas se incrementó el contenido de nutrientes en los panes.
2. La adición de micropartículas en las concentraciones de 10%, 15% y 20% a la formulación de pan blanco resultó en panes con buen sabor y aspecto visual. Los cuales, se vieron evidenciados en la prueba de aceptabilidad, donde no se encontró diferencias significativas entre los tratamientos y el pan control.
3. Los panes fortificados con hierro presentaron niveles de oxidación por debajo de los límites y una calidad microbiológica adecuada.
4. Los resultados de la bioaccesibilidad de los panes utilizando el protocolo del INFOGEST, fueron mayores para panes con fumarato ferroso.

CAPÍTULO VIII: RECOMENDACIONES

1. Realizar una evaluación prolongada de la estabilidad oxidativa de los panes.
2. Realizar estudios de biodisponibilidad del hierro mediante métodos *in vivo*.
3. Realizar estudios completamente aleatorizados en personas con el objetivo de comprobar la eficacia en los consumidores.
4. Utilizar otras matrices alimenticias para ser fortificadas con hierro heme.

CAPITULO IX: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. OMS. Iron deficiency anemia: assessment, prevention and control [Internet]. 2008 [cited 2022 Jun 12]. Available from: <https://www.who.int/publications/m/item/iron-children-6to23--archived-iron-deficiency-anaemia-assessment-prevention-and-control>
2. Instituto Nacional de Estadística e Informática. Encuesta demográfica y de salud familiar-ENDES 2022- nacional y departamental. Encuesta Demogr y salud Fam ENDES 2022 [Internet]. 2023;1–378. Available from: <https://www.gob.pe/institucion/inei/informes-publicaciones/4233597-peru-encuesta-demografica-y-de-salud-familiar-endes-2022>
3. Preedy VR, Rajaventhana S, Patel VB. Handbook of Food Fortification and Health. Vol. 1. 2013.
4. Ley N°6895. Ley que propone la fortificación de arroz en el Perú. 2020.
5. Skolmowska D, Głabska D. Analysis of heme and non-heme iron intake and iron dietary sources in adolescent menstruating females in a national Polish sample. Vol. 11, Nutrients. 2019.
6. Pastore D, Muizniece-Brasava S. Fortified chocolate snacks with increased level of iron. Res Rural Dev. 2016;1:111–5.
7. Lynch SA, Mullen AM, O'Neill EE, Garcia C. Harnessing the Potential of Blood Proteins as Functional Ingredients: A Review of the State of the Art in Blood Processing. Compr Rev Food Sci Food Saf. 2017;16:330–44.
8. García D, Changanaqui K, Vásquez RE, Neira E, Espinoza JB, Moran JRV, et al. Heme iron fortified flavored milk: quality and sensory analysis. Brazilian J Food Technol. 2022;25:1–10.
9. Garay Barrios JJ. FORMULACIÓN Y EVALUACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y SENSORIAL DE GALLETAS ANTIANÉMICAS ENRIQUECIDAS CON QUINUA (*Chenopodium quinoa*) Y SANGRE

BOVINA. 2018.

10. Hoppe M, Brün B, Larsson MP, Moraesus L, Hulthén L. Heme iron-based dietary intervention for improvement of iron status in young women. *Nutrition*. 2013;29(1):89–95.
11. Alemán M, Bou R, Tres A, Polo J, Codony R, Guardiola F. Oxidative stability of a heme iron-fortified bakery product: Effectiveness of ascorbyl palmitate and co-spray-drying of heme iron with calcium caseinate. *Food Chem*. 2016;196:567–76.
12. Alemán M, Bou R, Tres A, Polo J, Codony R, Guardiola F. Oxidative stability of a heme iron-fortified bakery product: Effectiveness of ascorbyl palmitate and co-spray-drying of heme iron with calcium caseinate. *Food Chem*. 2016;196:567–76.
13. Aroca Viena LC, Proaño Panduro JI. Encapsulación de aceite de *Plukenetia volubilis* L. (Sacha inchi) recubiertas con proteínas de sangre bovina para fortificación de galletas. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; 2020.
14. Huaraca Aparco R, Taípe Pardo F, Delgado Laime M del C. Fortification of yogurt with hemic iron and its acceptance in children of the rural sector of the Apurímac region. *Manglar*. 2021;18(2):117–22.
15. Tandara L, Salamunic I. Iron metabolism: Current facts and future directions. *Biochem Medica*. 2012;22(3):311–28.
16. West AR, Oates PS. Mechanisms of heme iron absorption: Current questions and controversies. *World J Gastroenterol*. 2008;14(26):4101–10.
17. Hänsch R, Mendel RR. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Curr Opin Plant Biol*. 2009;12(3):259–66.
18. Mantadakis E, Chatzimichael E, Zikidou P. Iron deficiency anemia in children residing in high and low-income countries: Risk factors, prevention, diagnosis and therapy. *Mediterr J Hematol Infect Dis*.

- 2020;12.
19. Gupta CP. Role of Iron (Fe) in Body. IOSR J Appl Chem. 2014;7(11):38–46.
 20. Kongkachuichai R, Napatthalung P, Charoensiri R. Heme and nonheme iron content of animal products commonly consumed in Thailand. J Food Compos Anal. 2002;15(4):389–98.
 21. Faustman C, Suman SP, Ramanathan R. The eating quality of meat: I Color. Lawrie's Meat Sci. 2023 Jan 1;363–92.
 22. Cross AJ, Harnly JM, Ferrucci LM, Risch A, Mayne ST, Sinha R. Developing a Heme Iron Database for Meats According to Meat Type, Cooking Method and Doneness Level. Food Nutr Sci. 2012;03(07):905–13.
 23. Reyes García M, Gómez-Sánchez Prieto I, Espinoza Barrientos C. Tablas Peruanas de Composición de Alimentos [Internet]. Repositorio.Ins.Gob.Pe. 2017. 146 p. Available from: <https://repositorio.ins.gob.pe/xmlui/bitstream/handle/INS/1034/tablas-peruanas-QR.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
 24. FAO/WHO. Nutrición Humana en el Mundo en Desarrollo [Internet]. 2002. Roma; [cited 2023 Oct 2]. Available from: <https://www.fao.org/3/W0073S/w0073s0e.htm>
 25. Abbaspour N, Hurrell R, Kelishadi R. Review on iron and its importance for human health. J Res Med Sci. 2014;19(2):164–74.
 26. Coad J, Pedley K. Iron deficiency and iron deficiency anemia in women. Scand J Clin Lab Invest. 2014;74(SUPPL. 244):82–9.
 27. García PJ, Pessah SE, Lavado P, Villarán R, Calle M. NORMA TÉCNICA - MANEJO TERAPÉUTICO Y PREVENTIVO DE LA ANEMIA EN NIÑOS, ADOLESCENTES, MUJERES GESTANTES Y PUÉRPERAS. 2017.
 28. World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Human Vitamin and Mineral Requirements. Hum Vitam Miner Requir [Internet]. 2001;303. Available from:

<http://www.fao.org/3/y2809e/y2809e.pdf>carotenoid

29. Hess SY, Owais A, Jefferds MED, Young MF, Cahill A, Rogers LM. Accelerating action to reduce anemia: Review of causes and risk factors and related data needs. *Ann N Y Acad Sci.* 2023;1523(1):11–23.
30. Lo JO, Benson AE, Martens KL, Hedges MA, McMurry HS, DeLoughery T, et al. The role of oral iron in the treatment of adults with iron deficiency. *Eur J Haematol.* 2023;110(2):123–30.
31. Czerwonka M, Tokarz A. Iron in red meat – friend or foe. *Meat Sci.* 2017;123:157–65.
32. Wick M, Pinggera W, Lehmann P. Concepts in the Clinical aspects and laboratory. Iron metabolism, anemias: concepts in the anemias of malignancies and renal and rheumatoid diseases. [Internet]. Springer Science & Business Media.; 2012 [cited 2023 Oct 5]. Available from: [https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=71aKkkzw4Q8C&oi=fnd&pg=PP3&dq=Wick,+M.,+Pinggera,+W.,+%26+Lehmann,+P.+\(2011\).+Clinical+aspects+and+laboratory.+Iron+metabolism,+anemias:+Concepts+in+the+anemias+of+malignancies+and+renal+and+rheumatoid+disease](https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=71aKkkzw4Q8C&oi=fnd&pg=PP3&dq=Wick,+M.,+Pinggera,+W.,+%26+Lehmann,+P.+(2011).+Clinical+aspects+and+laboratory.+Iron+metabolism,+anemias:+Concepts+in+the+anemias+of+malignancies+and+renal+and+rheumatoid+disease)
33. Skolmowska D, Głąbska D. Analysis of heme and non-heme iron intake and iron dietary sources in adolescent menstruating females in a national Polish sample. *Nutrients.* 2019;11(5).
34. Rodriguez-Ramiro I, Brearley CA, Bruggraber SFA, Perfecto A, Shewry P, Fairweather-Tait S. Assessment of iron bioavailability from different bread making processes using an in vitro intestinal cell model. *Food Chem* [Internet]. 2017;228:91–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.130>
35. Zimmermann MB, Hurrell RF. Nutritional iron deficiency. *Seminars* [Internet]. 2007;370:511. Available from: www.thelancet.com
36. Shubham K, Anukiruthika T, Dutta S, Kashyap A V, Moses JA,

- Anandharamakrishnan C. Iron deficiency anemia: A comprehensive review on iron absorption, bioavailability and emerging food fortification approaches. *Trends Food Sci Technol.* 2020;99(February):58–75.
37. Organizacion Mundial de la salud. Recomendaciones para la prevención y el tratamiento de la deficiencia de hierro en mujeres en edad fértil , embarazadas y en lactancia, y niños y niñas menores de 2 años. Minist Salud Publica [Internet]. 2019;41. Available from: <https://platform.who.int/docs/default-source/mca-documents/policy-documents/guideline/URY-MN-32-04-GUIDELINE-2018-esp-GUIA-DE-DEFICIENCIA-DE-HIERRO---SET-2018.pdf>
 38. Joo EY, Kim KY, Kim DH, Lee JE, Kim SK. Iron deficiency anemia in infants and toddlers. *Blood Res.* 2016;51(4):268–73.
 39. Moscheo C, Licciardello M, Samperi P, La Spina M, Di Cataldo A, Russo G. New Insights into Iron Deficiency Anemia in Children: A Practical Review. *Metabolites* [revista en Internet] 2022 [acceso 10 de mayo de 2023]; 12(1):1-13. 2022; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9029079/>
 40. Bryszewska MA. Comparison study of iron bioaccessibility from dietary supplements and microencapsulated preparations. *Nutrients.* 2019;11(2).
 41. Man Y, Xu T, Adhikari B, Zhou C, Wang Y, Wang B. Iron supplementation and iron-fortified foods: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr* [Internet]. 2021;0(0):1–22. Available from: <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1876623>
 42. Hurrell RF. Efficacy and Safety of Iron Fortification. *Food Fortif a Glob World.* 2018 Jan 1;195–212.
 43. Camaschella C. Iron-Deficiency Anemia. *N Engl J Med.* 2015;372:1832–43.
 44. Cancelo-Hidalgo MJ, Castelo-Branco C, Palacios S, Haya-Palazuelos J, Ciria-Recasens M, Manasanch J, et al. Tolerability of

- different oral iron supplements: A systematic review. *Curr Med Res Opin.* 2013;29(4):291–303.
45. Evlash V, Aksonova O, Gubsky S. Food-Based Intervention Strategies for Iron Deficiency Prevention. 2022;52.
 46. Karthikappallil R, Atkinson SH. Universal iron supplementation: the best strategy to tackle childhood anaemia in malaria-endemic countries? *Wellcome Open Res.* 2023;8:345.
 47. Salam RA, Macphail C, Das JK, Bhutta ZA. Effectiveness of micronutrient powders (MNP) in women and children. *BMC Public Health.* 2013;13(SUPPL.3).
 48. Chadare FJ, Idohou R, Nago E, Affonfere M, Agossadou J, Fassinou TK, et al. Conventional and food-to-food fortification: An appraisal of past practices and lessons learned. *Food Sci Nutr.* 2019;7(9):2781–95.
 49. Ofori JA, Hsieh YHP. Issues Related to the Use of Blood in Food and Animal Feed. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2014;54(5):687–97.
 50. Kikafunda J, Sserumaga P. PRODUCTION AND USE OF A SHELF-STABLE BOVINE BLOOD POWDER FOR FOOD FORTIFICATION AS A FOOD-BASED STRATEGY TO COMBAT IRON DEFICIENCY ANAEMIA IN SUB- SAHARAN AFRICA. *African J food Agric Nutr Dev.* 2005;(2).
 51. Mathi P. DEVELOPMENT OF BEEF SAUSAGES THROUGH BOVINE BLOOD UTILIZATION AS FAT REPLACER TO REDUCE SLAUGHTERHOUSE BY-PRODUCT LOSSES By Pius Mathi (B . Sc . FST , University of Nairobi) A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT OF REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF MAST. 2016;
 52. Lynch SA, Mullen AM, O'Neill EE, Garcia C. Harnessing the Potential of Blood Proteins as Functional Ingredients : A Review of the State of the Art in Blood Processing. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2017;16:330–44.

53. Parés D, Saguer E, Carretero C. Blood by-products as ingredients in processed meat [Internet]. *Processed meats: Improving safety, nutrition and quality*. Woodhead Publishing Limited; 218–242 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1533/9780857092946.2.218>
54. Kazemi-Taskooh Z, Varidi M. Food-based iron delivery systems: A review. *Trends Food Sci Technol* [Internet]. 2021;116(October 2020):75–89. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.07.005>
55. Kumari A, Kumar A. Iron nanoparticles as a promising compound for food fortification in iron deficiency anemia: a review. *J Food Sci Technol* [Internet]. 2021; Available from: <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05184-4>
56. Muñoz-More HD, Nole-Jaramillo JM, Valdiviezo-Marcelo J, Espinoza-Delgado M del P, Socola-Juarez ZM, Ruiz-Flores LA, et al. Microencapsulated iron in food, techniques, coating material, efficiency, and sensory analysis: a review. *Front Sustain Food Syst*. 2023;7(July).
57. de Moura SCSR, Berling CL, Garcia AO, Queiroz MB, Alvim ID, Hubinger MD. Release of anthocyanins from the hibiscus extract encapsulated by ionic gelation and application of microparticles in jelly candy. *Food Res Int*. 2019;121:542–52.
58. Xia Q, Wang B, Akanbi TO, Li R, Yang W, Adhikari B, et al. Microencapsulation of lipase produced omega-3 concentrates resulted in complex coacervates with unexpectedly high oxidative stability. *Journal Funct Foods*. 2017;35:499–506.
59. Nedovic V, Kalusevic A, Manojlovic V, Levic S, Bugarski B. An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Sci*. 2011;1:1806–15.
60. Yang M, Liang Z, Wang L, Qi M, Luo Z, Li L. Microencapsulation Delivery System in Food Industry - Challenge and the Way Forward. *Adv Polym Technol*. 2020;2020.

61. Vos P De, Faas MM, Spasojevic M, Sikkema J. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. *Int Dairy J* [Internet]. 2010;20(4):292–302. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.11.008>
62. Aguilar KC, Tello F, Bierhalz ACK, Garnica Romo MG, Martínez Flores HE, Grosso CRF. Protein adsorption onto alginate-pectin microparticles and films produced by ionic gelation. *J Food Eng.* 2015;154:17–24.
63. Silverio GB, Sakanaka LS, Alvim ID, Shirai MA, Grosso CRF. Production and characterization of alginate microparticles obtained by ionic gelation and electrostatic adsorption of concentrated soy protein. *Cienc Rural.* 2018;48(12):1–12.
64. Sampaio GLA, Pacheco S, Paula A, Ribeiro O, Galdeano MC, Gomes FS, et al. Encapsulation of a lycopene-rich watermelon concentrate in alginate and pectin beads: Characterization and stability. *LWT - Food Sci Technol.* 2019;116(September):108589.
65. Kazemi-Taskooh Z, Varidi M. Designation and characterization of cold-set whey protein-gellan gum hydrogel for iron entrapment. *Food Hydrocoll* [Internet]. 2021;111:106205. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106205>
66. Doderio A, Pianella L, Vicini S, Alloisio M, Ottonelli M, Castellano M. Alginate-based hydrogels prepared via ionic gelation: An experimental design approach to predict the crosslinking degree. *Eur Polym J.* 2019;118(April):586–94.
67. Rehman A, Ahmad T, Aadil RM, Spotti MJ, Bakry AM, Khan IM, et al. Pectin polymers as wall materials for the nano-encapsulation of bioactive compounds. *Trends Food Sci Technol* [Internet]. 2019;90(June):35–46. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.05.015>
68. Sun X, Cameron RG, Bai J. Microencapsulation and antimicrobial activity of carvacrol in a pectin-alginate matrix. *Food Hydrocoll.* 2019;92(October 2018):69–73.

69. Sun X, Cameron RG, Manthey JA, Hunter WB, Bai J. Microencapsulation of tangeretin in a citrus pectin mixture matrix. *Foods*. 2020;9(9).
70. Burey P, Bhandari BR, Howes T, Gidley MJ. Hydrocolloid gel particles: Formation, characterization, and application. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2008;48(5):361–77.
71. Angelino D, Cossu M, Marti A, Zanoletti M, Chiavaroli L, Brighenti F, et al. Bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds in bread: A review. *Food Funct*. 2017;8(7):2368–93.
72. Ak B, Avşaroğlu E, Işık O, Özyurt G, Kafkas E, Etyemez M, et al. Nutritional and Physicochemical Characteristics of Bread Enriched with Microalgae *Spirulina platensis*. *Int J Eng Res Appl [Internet]*. 2016;6(12):30–8. Available from: www.ijera.com
73. Bryszewska MA. Comparison Study of Iron Bioaccessibility from Dietary Supplements and Microencapsulated Preparations. 2019;
74. Ranjbar A, Heshmati A, Momtaz JK, Vahidinia A. Effect of iron-enrichment on the antioxidant properties of wheat flour and bread. *J Cereal Sci [Internet]*. 2019;87(November 2018):98–102. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.03.010>
75. Field M, Mithra P, Estevez D, Peña-rosas J. Wheat flour fortification with iron for reducing anaemia and improving iron status in populations (Review). 2020;
76. Sadighi J, Nedjat S, Rostami R. Systematic review and meta-analysis of the effect of iron-fortified flour on iron status of populations worldwide. *Public Health Nutr*. 2019;22(18):3465–84.
77. Benito P, Miller D. Iron Absorption and Bioavailability: an Updated Review. *Nutr Res*. 1998;18(3):581403.
78. Gutiérrez-Grijalva EP, Ambriz-Pérez DL, Leyva-López N, Castillo-López RI, Heredia JB. Review: Dietary phenolic compounds, health benefits and bioaccessibility. *Arch Latinoam Nutr*. 2016;66(2):87–100.

79. Fernández-García E, Carvajal-Lérida I, Pérez-Gálvez A. In vitro bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency. *Nutr Res.* 2009;29:751–60.
80. Dima C, Assadpour E, Dima S, Jafari SM. Bioavailability and bioaccessibility of food bioactive compounds; overview and assessment by in vitro methods. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2020;19(6):2862–84.
81. Gonçalves RFS, Martins JT, Duarte CMM, Vicente AA, Pinheiro AC. Advances in nutraceutical delivery systems: From formulation design for bioavailability enhancement to efficacy and safety evaluation. *Trends Food Sci Technol.* 2018;78(January):270–91.
82. Mateo Anson N, van den Berg R, Havenaar R, Bast A, Haenen GRMM. Bioavailability of ferulic acid is determined by its bioaccessibility. *J Cereal Sci* [Internet]. 2009;49(2):296–300. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2008.12.001>
83. Suliburska J, Krejpcio Z. Evaluation of the content and bioaccessibility of iron, zinc, calcium and magnesium from groats, rice, leguminous grains and nuts. *J Food Sci Technol.* 2014;
84. Kurek MA, Wyrwicz J, Karp S, Wierzbicka A. Particle size of dietary fiber preparation affects the bioaccessibility of selected vitamin B in fortified wheat bread. *J Cereal Sci* [Internet]. 2017;77:166–71. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2017.07.016>
85. Gera T, Sachdev HS, Boy E. Effect of iron-fortified foods on hematologic and biological outcomes: Systematic review of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr.* 2012;96(2):309–24.
86. Bakry AM, Abbas S, Ali B, Majeed H, Abouelwafa MY, Mousa A, et al. Microencapsulation of Oils: A Comprehensive Review of Benefits, Techniques, and Applications. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2016;15(1):143–82.
87. Cilla A, García-Nebot MJ, Perales S, Lagarda MJ, Barberá R, Farré R. In vitro bioaccessibility of iron and zinc in fortified fruit beverages.

- Int J Food Sci Technol. 2009;44(6):1088–92.
88. Zhou HX, Pang X. Electrostatic Interactions in Protein Structure, Folding, Binding, and Condensation. *Chem Rev.* 2018;118(4):1691–741.
 89. Verhoeckx K, Cotter P, López-Expósito I, Kleiveland C, Lea T, Mackie A, et al. The impact of food bioactives on health: In vitro and Ex Vivo models. *The Impact of Food Bioactives on Health: In Vitro and Ex Vivo Models.* 2015. 1–327 p.
 90. Bornhorst GM, Gouseti O, Wickham MSJ, Bakalis S. Engineering Digestion: Multiscale Processes of Food Digestion. *J Food Sci.* 2016;81(3):R534–43.
 91. Beltrán C. Evaluación sensorial de hamburguesa, utilizando carne de soya como sustituto parcial de la carne de res. 2014;17. Available from:
http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/4485/1/CD00736-2015-TRABAJO_COMPLETO.pdf
 92. Rengifo Silvano E, Paredes Vela R, Paredes RR, Arce Saavedra T, Tello Célis F. Microparticles coated with proteins in their natural state and in vitro gastrointestinal simulation. *Brazilian J Food Technol* [Internet]. 2022;1–10. Available from:
<https://www.scielo.br/j/bjft/a/Q56JSHzB6SH98y7DR7kvwcw/?format=pdf&lang=en>
 93. AOAC. Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analytical Chemists of Association Chemistry.* 19th Ed. 2012.
 94. MINSA. Norma Sanitaria Que Establece Los Criterios Microbiologicos De Calidad Sanitaria E Inocuidad Para Los Alimentos Y Bebidas De Consumo Humano [Internet]. *El Peruano.* 2008. p. 7–22. Available from:
https://www.saludarequipa.gob.pe/desa/archivos/Normas_Legales/alimentos/RM591MINSANORMA.pdf%0Ahttp://eva.upch.edu.pe/plugifnfile.php/537859/mod_resource/content/1/RM591MINSANORMA.pdf

95. Rocha C, Ribeiro JC, Costa Lima R, Prista C, Raymundo A, Vaz Patto MC, et al. Application of the CATA methodology with children: Qualitative approach on ballot development and product characterization of innovative products. *Food Qual Prefer.* 2021;88(September 2020).
96. Brodkorb A, Egger L, Alming M, Alvito P, Assunção R, Ballance S, et al. INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nat Protoc [Internet].* 2019;14(4):991–1014. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41596-018-0119-1>
97. Ministerio de Salud del Perú, Dirección General de Salud. Norma Técnica Sanitaria N°071 - MINS/DIGESA-V.01 “Que establece los Criterios Microbiológicos de Alimentos y Bebidas de Consumo Humano.” 2008.
98. Lynch SA, Mullen AM, O’Neill E, Drummond L, Álvarez C. Opportunities and perspectives for utilisation of co-products in the meat industry. *Meat Sci [Internet].* 2018;144:62–73. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.06.019>
99. In MJ, Jeong Chae H, Oh NS. Process development for heme-enriched peptide by enzymatic hydrolysis of hemoglobin. *Bioresour Technol.* 2002;84(1):63–8.
100. MINS/DIGESA. NORMA TÉCNICA - MANEJO TERAPÉUTICO Y PREVENTIVO DE LA ANEMIA EN NIÑOS, ADOLESCENTES, MUJERES GESTANTES Y PUÉRPERAS. 2017; Available from: <http://www.minsa.gob.pe/>
101. Carpenter CE, Mahoney AW. Contributions of heme and nonheme iron to human nutrition. 2009;(July 2012):37–41.
102. Conrad ME, Umbreit JN. Pathways of iron absorption. *Blood Cells Mol Dis.* 2002;29(3):336–55.
103. Cengiz A, Schroën K, Berton-Carabin C. Lipid oxidation in emulsions fortified with iron-loaded alginate beads. *Foods.* 2019;8(9).
104. Swaney-Stueve M, Jepsen T, Deubler G. The emoji scale: A facial

- scale for the 21st century. *Food Qual Prefer* [Internet]. 2018;68(March):183–90. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2018.03.002>
105. Guinard JX. Sensory and consumer testing with children. *Trends Food Sci Technol*. 2000;11(8):273–83.
 106. Bryszewska M, Tomás-Cobos L, Gallego E, Villalba M, Rivera D, Laure D, et al. In vitro bioaccessibility and bioavailability of iron from breads fortified with microencapsulated iron. *LWT - Food Sci Technol*. 2019;99(April 2018):431–7.
 107. Blanco-Rojo R, Vaquero MP. Iron bioavailability from food fortification to precision nutrition. A review. *Innov Food Sci Emerg Technol*. 2019;51(January 2018):126–38.
 108. Monnier L, Colette C, Aguirre L. Evidence and mechanism for pectin-reduced intestinal inorganic iron absorption in idiopathic hemochromatosis. 1980;(June):1225–32.
 109. Viadel B, Perales S, Barberá R, Lagarda MJ, Farré R. Ferritin synthesis by Caco-2 cells as an indicator of iron bioavailability: Application to milk-based infant formulas. *Food Chem*. 2007;102(3):925–31.

ANEXOS

Anexo 1. Dictamen de evaluación del comité de ética.



UNAP

Universidad Nacional de la Amazonía Peruana

**COMITÉ INSTITUCIONAL DE
ÉTICA EN INVESTIGACIÓN-(CIEI)**

"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

DICTAMEN DE EVALUACIÓN Nº 059-2022-CIEI-VRINV-UNAP

Iquitos, 14 de diciembre de 2022

Ing^o ESTEFANY DEYHANYRA RENGIFO SILVANO
Investigadora Tesista – Escuela de Postgrado

TÍTULO DEL PLAN DE INVESTIGACIÓN DE MAESTRÍA: **"PAN CON HIERRO HEME: PRODUCCIÓN, CARACTERIZACIÓN Y BIOACCESIBILIDAD IN VITRO"**, recepcionado el 23 de noviembre de 2022.

Código asignado por el Comité:

Le informo que el proyecto de referencia ha sido evaluado por el Comité obteniendo los resultados que se describen a continuación:



	Nº Y FECHA VERSIÓN	DECISIÓN
PROTOCOLO	PI-059-14/12/22-CIEI-UNAP	(1)
CONSENTIMIENTO INFORMADO	PI-059-14/12/22-CIEI-UNAP	(1)

Se concluye que:

Ha sido **APROBADO SIN MODIFICACIONES EN EL PROTOCOLO (1) Y EN EL CONSENTIMIENTO INFORMADO (1)**.

Este protocolo tiene vigencia del 14/12/2022 hasta 14/06/2023, por un periodo de 6 meses.

En caso de requerir una ampliación, le rogamos tenga en cuenta que deberá enviar al Comité Institucional de Ética en Investigación de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (CIEI-UNAP), un reporte de progreso al menos 30 días antes de la fecha de término de su vigencia.

El Comité dispone de un formato estándar que podrá usarse al efecto, ubícanos al correo electrónico: comite_etica@unapiquitos.edu.pe.

OBSERVACIONES AL PROTOCOLO

1. El Plan de Investigación, titulado: **"PAN CON HIERRO HEME: PRODUCCIÓN, CARACTERIZACIÓN Y BIOACCESIBILIDAD IN VITRO"**, fue **Aprobado sin Modificación en el Protocolo con valoración (1)**, sin ninguna observación.



UNAP

Universidad Nacional de la Amazonía Peruana

**COMITÉ INSTITUCIONAL DE
ÉTICA EN INVESTIGACIÓN-(CIEI)**

OBSERVACIONES AL CONSENTIMIENTO INFORMADO

1. El Plan de Investigación, titulado: **"PAN CON HIERRO HEME: PRODUCCIÓN, CARACTERIZACIÓN Y BIOACCESIBILIDAD IN VITRO"**, fue **Aprobado sin Modificación** en el **Consentimiento Informado con valoración (1)**, sin ninguna observación.

Atentamente,

HERMANN FEDERICO SILVA DELGADO
Presidente

Comité Institucional de Ética en Investigación – UNAP



Nota:

- La Tasa por Servicio de Evaluación del CIEI-UNAP, se realizó por doscientos cincuenta y uno con 00/100 soles (S/. 251.00) con el Voucher N° 569100094, efectuado en el Banco de la Nación.

C.c.: Interesada, Archivo.

Ulliveth

Calle Nauta N° 555, Distrito de Iquitos – Provincia de Maynas – Departamento de Loreto

<http://www.unapiquitos.edu.pe> – E mail: comite_etica@unapiquitos.edu.pe

**COMITÉ INSTITUCIONAL DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN**

Anexo 2. Consentimiento informado para la prueba de aceptabilidad

INFORMACIÓN GENERAL DEL PROYECTO

Sr. Padre de Familia

Considerando las características de la investigación, se requiere que usted lea detenidamente y si está de acuerdo con su contenido, exprese su consentimiento firmando el siguiente documento:

Facultad, departamento Unidad académica	Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Amazonía Peruana
Título del proyecto de investigación	“PAN CON HIERRO HEME: PRODUCCIÓN, CARACTERIZACIÓN Y BIOACCESIBILIDAD IN VITRO”
Objetivo de la investigación	Formular panes fortificados con micropartículas conteniendo hierro heme de la sangre bovina
Etapas de la investigación	<ol style="list-style-type: none">1. Producción y caracterización de micropartículas recubiertas con sangre bovina2. Producción y caracterización de panes enriquecidos con micropartículas recubiertas de sangre bovina o fumarato ferroso3. Prueba de aceptabilidad de los panes4. Bioaccesibilidad de hierro contenido en los panes
Participación del niño	El público objetivo de la presente investigación son niños en etapa escolar entre 8 a 12 años. La participación de los niños será en la etapa 3 de la investigación, en el cual los niños deberán evaluar los panes formulados y expresar su opinión sobre ellos utilizando una escala hedónica facial de siete puntos.
Datos generales del investigador principal	Nombre: Estefany Rengifo Silvano
	DNI: 72621157
	Correo electrónico: estefany.deyhanyra@gmail.com



CONSENTIMIENTO INFORMADO



Presentación

Señor(a), soy Lic. en Bromatología y Nutrición Humana, mi nombre es: ESTEFANY DEYHANYRA RENGIFO SILVANO, estoy concluyendo mis estudios de postgrado y con el fin de obtener el grado académico de Maestro en Gestión Alimentaria con Mención en Nutrición, estoy realizando un estudio titulado: **“PAN CON HIERRO HEME: PRODUCCIÓN, CARACTERIZACIÓN Y BIOACCESIBILIDAD IN VITRO”**, con el objetivo de desarrollar pan fortificado con micropartículas de alginato y pectina, utilizando como fuentes de hierro a la sangre bovino y fumarato ferroso.

Los datos obtenidos se analizarán en forma agrupada y con la ayuda de códigos, en ningún caso se manejará información individualizada. Luego del procesamiento de los datos obtenidos, los instrumentos usados para la recolección de datos serán destruidos, con el fin de proteger la integridad física y moral de cada participante del estudio. Los resultados de este proyecto serán de conocimiento solo de mi persona y los resultados finales estarán a disposición mediante publicaciones y sus datos personales no serán revelados a terceros en ningún momento, su participación en este estudio es de suma importancia porque permitirá sacar al mercado un producto con tecnología innovadora y con muchas propiedades nutritivas con el fin de mejorar la nutrición de los consumidores.

Yo declaro que he leído y conozco el contenido del presente documento, he sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Y, por ello, firmo este consentimiento informado de forma voluntaria para **MANIFESTAR MI DESEO DE QUE MI HIJO/A PARTICIPE EN ESTE ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN**

Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

Firma del padre/madre o tutor
Del participante

Firma del Investigador

Fecha

Anexo N°3. Matriz de Consistencia.

FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	TIPO DE DISEÑO DE ESTUDIO	POBLACIÓN Y DISEÑO DE ESTUDIO	INTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN
<p>¿Cuál será el efecto de la adición de micropartículas recubiertas con proteínas de sangre bovina en la composición centesimal, aceptabilidad y bioaccesibilidad de hierro en panes?</p>	<p>GENERAL</p> <p>Evaluar el efecto de la adición de micropartículas recubiertas con proteínas de sangre bovina o sal de fumarato ferroso en la composición centesimal, aceptabilidad y bioaccesibilidad de hierro en pan.</p> <p>ESPECÍFICOS</p> <ul style="list-style-type: none"> • Producir y caracterizar micropartículas de alginato-pectina recubiertas con proteínas de sangre bovina utilizando la técnica de gelificación iónica. • Producir y caracterizar pan enriquecido con micropartículas recubiertas con proteínas de sangre bovina o sal de fumarato ferroso. • Evaluar la aceptabilidad del pan por consumidores directos • Evaluar la bioaccesibilidad de hierro en pan enriquecido 	<p>Es posible obtener pan enriquecido y aceptable con alto nivel de bioaccesibilidad de hierro contenido en pan con micropartículas recubiertas con proteínas de sangre bovina.</p>	<p>El estudio es de tipo experimental, con un diseño completamente aleatorizado</p>	<p>Población: Para la elaboración de los panes enriquecidos, se consideró como población a la sangre bovina, la cual se utilizó para recubrimiento de las micropartículas.</p> <p>Procedimiento de recolección de datos:</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Producción y caracterización de micropartículas recubiertas con proteínas de sangre bovina ✓ Producción y caracterización de panes enriquecidos con micropartículas y fumarato ferroso. ✓ Determinación de bioaccesibilidad 	<p>Fichas de resultado de análisis.</p>

Anexo N°4. Tabla de operacionalización de variables

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador	Ítems	Instrumento
Variable Independiente					
Formulación	La formulación se refiere a la mezcla de la materia prima, sumado a las fuentes de hierro a ser utilizadas en este estudio para la fortificación (micropartículas recubiertas con proteínas de sangre bovina y sal de fumarato ferroso).	Cantidades de cada ingrediente a utilizar en la elaboración del pan.	Tipo de pan	PAN CONTROL PAN CON SAL DE FUMARATO FERROSO PAN CON MICROPARTÍCULAS 10% PAN CON MICROPARTÍCULAS 15% PAN CON MICROPARTÍCULAS 20% PAN CON MICROPARTÍCULAS 25%	Cuaderno de apuntes
Variable dependiente					
Composición centesimal	Se refiere a la composición química del pan. Así como al valor energético y la carga de nutrientes.	Composición porcentual de nutrientes que aporta 100 g de pan	Proteína, humedad, cenizas lípidos, hierro, fibra.	g/100g	Reporte de análisis,
Aceptabilidad	Resultado de la interacción entre el alimento y el consumidor en un momento determinado.	Rango en el que el consumidor acepta o rechaza un alimento	Nivel de aceptación y Nivel de rechazo	súper malo Realmente malo Malo Más o menos Bueno Realmente bueno Súper bueno	escala hedónica facial de 7 puntos
Bioaccesibilidad	Fracción del compuesto que se libera de la matriz en el tracto gastrointestinal y que se vuelve disponible para la absorción intestinal (77).	Composición porcentual de los nutrientes liberados después de la digestión gastrointestinal in vitro	Hierro	mg/100 g de muestra	Reporte de análisis

Anexo 5. Producción de micropartículas



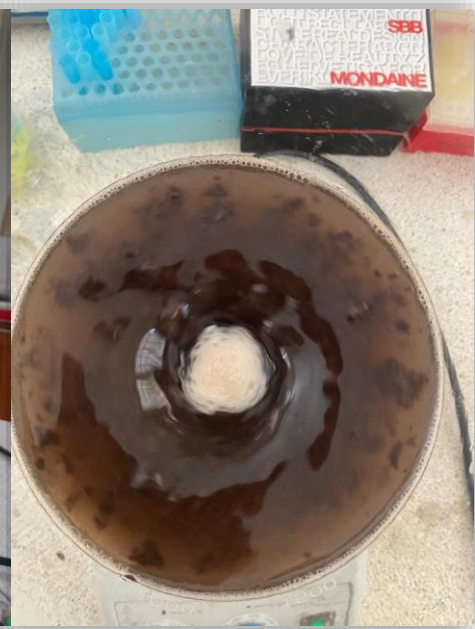
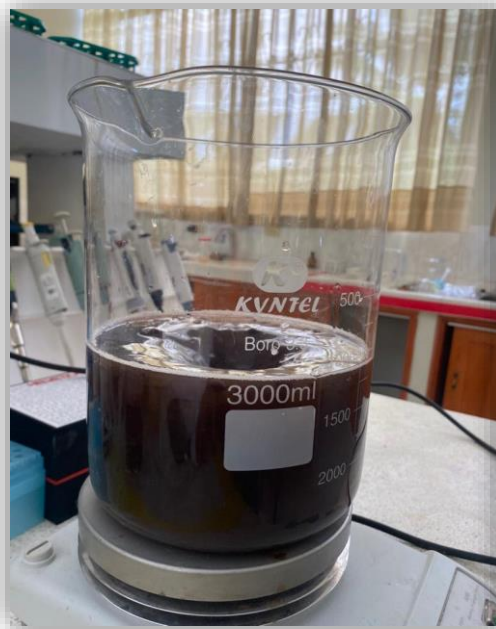
Producción de micropartículas de pectina



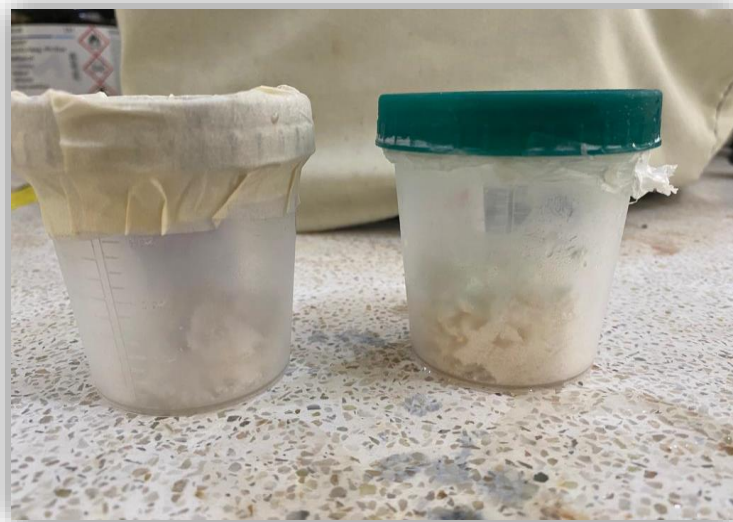
Recubrimiento de micropartículas de pectina con sangre bovina



Lavado de micropartículas

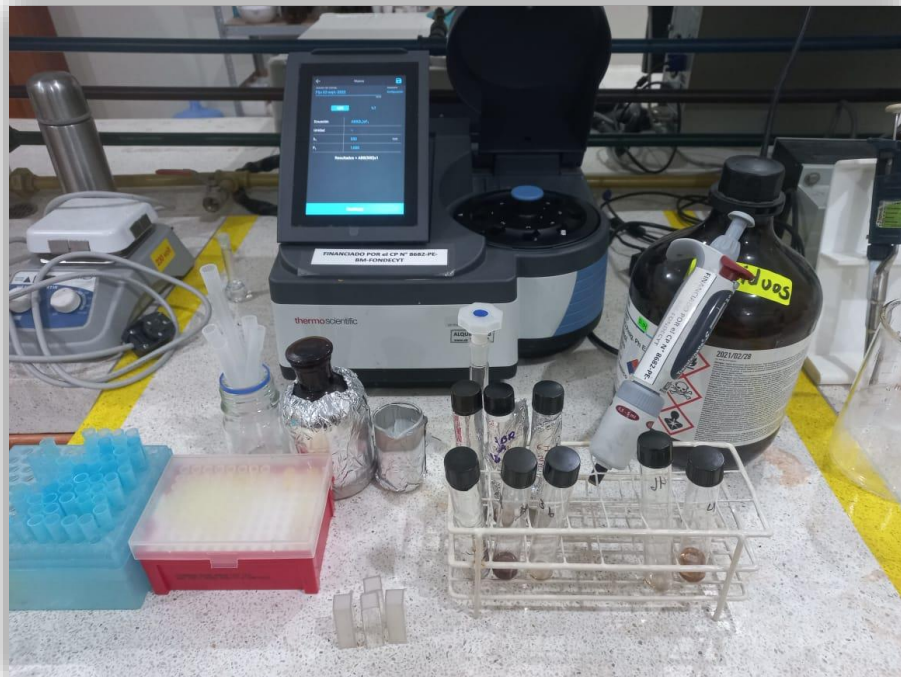


Segunda capa de alginato de micropartículas
son sangre bovina



Micropartículas liofilizadas

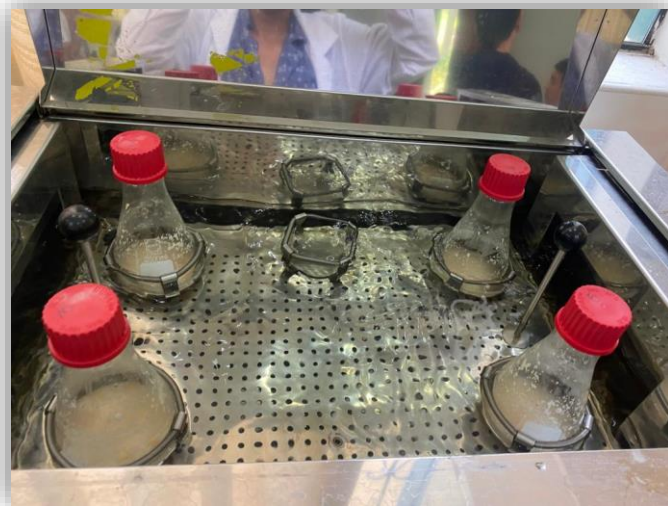
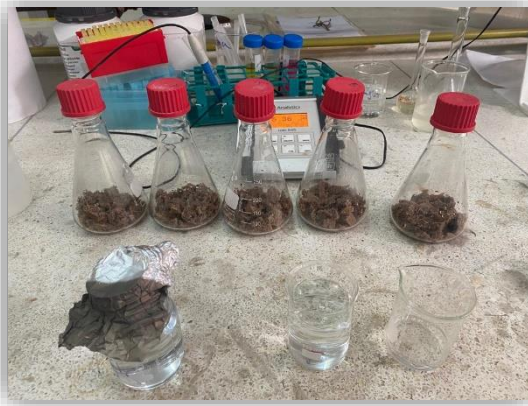
Anexo 6. Análisis de contenido de lípidos e índice de peróxidos.



Anexo 7. Prueba sensorial de los panes enriquecidos con micropartículas.



Anexo 8. Prueba de bioaccesibilidad de hierro



Anexo 9. Cartilla de Evaluación sensorial

PRUEBA DE ACEPTABILIDAD

Nombre:

Edad:

Fecha:/...../.....

INSTRUCCIONES

Por favor marque con una X, sobre la carita que describa mejor su agrado o desagrado sobre el producto que acaba de probar.



Código del producto:



Código del producto:

Comentarios:

.....
.....



Código del producto:



Código del producto:

MUCHAS GRACIAS