



UNAP



FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE BROMATOLOGÍA Y
NUTRICIÓN HUMANA

TESIS

ENCAPSULACIÓN DE ACEITE DE *PLUKENETIA VOLUBILIS L.* (SACHA
INCHI) RECUBIERTAS CON PROTEÍNAS DE SANGRE BOVINA PARA
FORTIFICACIÓN DE GALLETAS.

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
LICENCIADA EN BROMATOLOGÍA Y NUTRICIÓN HUMANA

PRESENTADO POR:

LUZ CRISTINA AROCA VIENA

JENIFER ISAURA PROAÑO PANDURO

ASESORES:

Dr. WILSON GUERRA SANGAMA

McS. JESSY PATRICIA VÁSQUEZ CHUMBE

Dr. FERNANDO TELLO CÉLIS

IQUITOS, PERÚ

2020

ACTA DE SUSTENTACIÓN



FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

Escuela de Formación Profesional de Bromatología y
Nutrición Humana

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N° 009-CGT-FIA-UNAP-2020

A los 17 días del mes de setiembre de 2020, a horas 10.10 a.m. se conectaron vía ZOOM, dando inicio a la sustentación pública de la Tesis titulada : "ENCAPSULACION DE ACEITE DE *Plukenetia volubilis* L. (SACHA INCHI) RECUBIERTAS CON PROTEINAS DE SANGRE BOVINA PARA FORTIFICACIÓN DE GALLETAS", presentado por las Bachilleres: LUZ CRISTINA AROCA VIENA y JENIFER ISAURA PROAÑO PANDURO, aprobado con Resolución Decanal N° 007-FIA-UNAP-2019 para optar el Título Profesional de Licenciadas en Bromatología y Nutrición Humana, que otorga la Universidad de acuerdo a Ley y Estatuto.

El Jurado Calificador y dictaminador designado mediante Resolución Decanal N° 068-FIA-UNAP-2020 del 17 de setiembre de 2020, está integrado por:

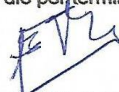
Ing° ELMER TREVEJO CHÁVEZ : Presidente
Ing° ALBERTO JOSE BAZÁN FERRANDO : Miembro Titular
Ing° MIRIAM RUTH ALVA ANGULO : Miembro Titular

Luego de haber escuchado con atención y formulado las preguntas necesarias, las cuales fueron RESPONDIDAS SATISFACTORIAMENTE

El Jurado después de las deliberaciones correspondientes, llegó a las siguientes conclusiones:

La sustentación pública y la tesis ha sido APROBADO con la calificación de MUY BUENA (con nota 18)

Estando las bachilleres aptas para obtener el Título Profesional de Licenciadas en Bromatología y Nutrición Humana Siendo las 12.30 p.m. se dio por terminado el acto de sustentación.




Presidente
Elmer Trevejo Chávez
Ingeniero Pesquero
CIP: 18492



Miembro
Alberto José Bazán Ferrando
Ingeniero en Industrias Alimentarias
CIP: 69126




Miembro
Miriam Ruth Alva Angulo
Lic. Nutrición
CNP: 0130



Asesora
Jessy Patricia Vásquez Chumbe
Bióloga
CBP: 2584



Asesor
Fernando Tello Celis
Ingeniero en Industrias Alimentarias
CIP: 47489



Asesor
Wilson Guerra Sangama
Ingeniero en Industrias Alimentarias
CIP: 32174



AUTORIZACIÓN DE LOS ASESORES


AUTORIZACIÓN DE LOS ASESORES


El Doctor Fernando Tello Célis, docente principal adscrito al Departamento de Ingeniería de Alimentos de la Facultad de Industrias Alimentarias y la Dra. Teresa de Jesús Mori Del Águila, docente principal adscrito al Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas.

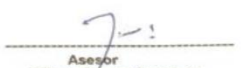
INFORMAN:

Que los Bachilleres, Bach. LUZ CRISTINA AROCA VIENA y JENIFER ISAURA PROAÑO PANDURO han realizado bajo nuestra dirección, el trabajo contenido en la memoria intitulada **Encapsulación de aceite de *plukenetia volubilis* l. (sacha inchi) recubiertas con proteínas de sangre bovina para fortificación de galletas** y considerando que el mismo reúne los requisitos necesarios para ser presentado, ante el Jurado Calificador, a tal efecto damos pase para su sustentación y posterior obtención del título de Ingeniero (a) en Industrias Alimentarias.

AUTORIZAMOS A los citados Bachilleres a presentar la Tesis, para proceder a su sustentación cumpliendo así con la normativa vigente que regula el Reglamento de Grados y Títulos en la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana.


Asesor
Fernando Tello Celis
Ingeniero en Industrias Alimentarias


Asesora
Jessy Patricia Vázquez Chumbe
Bióloga


Asesor
Wilson Guerra Sangama
Ingeniero en Industrias Alimentarias

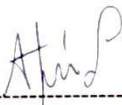
JURADO CALIFICADOR

MIEMBROS DEL JURADO

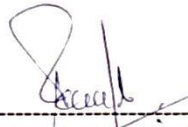
El jurado calificador certifica que el trabajo de investigación “Encapsulación de aceite de *plukenetia volubilis* L. (sacha inchi) recubiertas con proteínas de sangre bovina para fortificación de galletas” de responsabilidad de los bachilleres **LUZ CRISTINA AROCA VIENA** y **JENIFER ISAURA PROAÑO PANDURO**; han sido detalladamente revisados por los miembros del jurado, quedando autorizado para la sustentación.



Ing. Elmer Trevejo Chávez
Presidente



Ing. Alberto José Bazán Ferrando
Miembro



Lic. Miriam Ruth Alva Angulo
Miembro

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mi mamá Luz Marina Viena Oliveira, a mi tía Marcia Arbildo Ruíz por apoyarme, guiarme y ser el motivo de superación todos los días de mi vida, a mi familia y a Dios que gracias a él estoy aquí y me puso en el camino a las personas correctas para este importante paso en mi tránsito profesional.

Luz Cristina Aroca V.

Dedico esta investigación a mi madre, por exigirme y enseñarme la importancia de la educación. A mi familia por ser mi motivo de superación cada día. A las personas y amigos que dejaron grandes recuerdos y enseñanzas en mi formación personal. Y sobre todo dedicó a Dios por mantenerme saludable siempre.

Jenifer Isaura

AGRADECIMIENTO

A nuestros asesores, el Dr. Fernando Tello Célis, por su carisma, paciencia y ardua labor con el laboratorio de control de calidad en el CIRNA, por compartir su amplio conocimiento con nosotras, siendo él un ejemplo de dedicación y exigencia. Al Ing. Félix Humberto Cabrera Sánchez por ayudarnos y prestarnos las instalaciones de la panadería Oriental para la elaboración de nuestros productos. A la Blg. Katty Arista Flores y a la Ing. Hivelli Ericka Ricopa Cotrina por siempre prestarnos las instalaciones de sus laboratorios y estar dispuesta a ayudarnos en el proceso del proyecto.

También un agradecimiento al compañero y Bach. Ángelo Zúñiga, por apoyarnos con la elaboración de las galletas fortificadas.

Jenifer y Cristina

ÍNDICE

PORTADA.....	i
ACTA DE SUSTENTACIÓN.....	ii
JURADO CALIFICADOR	iv
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTO	vi
ÍNDICE	vii
LISTA DE TABLAS.....	xi
LISTA DE FIGURAS	xii
ABREVIATURAS	xiii
RESUMEN	xiv
ABSTRACT	xv
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	3
1.1 Antecedentes	3
1.2 Bases teóricas	4
1.2.1 Generalidades de la sangre	4
1.2.2 Generalidades del aceite de <i>Plukenetia volubilis</i> L.....	5
1.2.3 Generalidades del hierro.	5
1.2.4 Anemia.....	7
1.2.5 Microencapsulación	7
1.2.6 Polisacáridos	8
1.2.7 Gelificación iónica.....	8
1.2.8 Interacción electrostática.....	9
1.2.9 Liofilización.....	9
1.2.10 Fortificación de alimentos.....	10
1.3 Definición de términos básicos	13
1.3.1 Industria alimentaria.....	13
1.3.2 Sangre bovino	13
1.3.3 Hierro	13
1.3.4 Anemia.....	13
1.3.5 Hemoglobina	13
1.3.6 Polisacárido.....	13
1.3.7 Pectina.....	13

1.3.8	Gelificación	14
1.3.9	Microencapsulación	14
1.3.10	Interacción electrostática	14
1.3.11	Liofilización	14
1.3.12	Fortificación	14
CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES		15
2.1	Formulación de la hipótesis	15
2.2	Variables y su operacionalización	15
2.2.1	Variables independientes	15
2.2.2	Variables dependientes	15
2.2.3	Operacionalización de variables.	16
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA.....		17
3.1	Tipo y diseño.....	17
3.2	Diseño muestral.	18
3.2.1	Tamaño de la población de estudio	18
3.2.2	Muestra	18
3.2.3	Criterios de selección	19
3.3	Procedimientos de recolección de datos	20
3.3.1	Producción de micropartículas	20
3.3.2	Caracterización de las micropartículas	23
3.3.3	Recubrimiento de micropartículas por interacción electrostática ...	24
3.3.4	Caracterización de las micropartículas recubiertas con sangre bovino	24
3.3.5	Solubilidad de proteína de las micropartículas	27
3.3.6	Liofilización de las micropartículas.	28
3.3.7	Caracterización de las micropartículas liofilizadas	30
3.3.8	Descripción del proceso de elaboración de galleta	30
3.4	Procesamiento y análisis de los datos	35
3.5	Aspectos éticos	36
CAPÍTULO IV: RESULTADOS		37
4.1.	Micropartículas de aceite de <i>Plukenetia volubilis</i> L	37
4.1.1	Caracterización de las MASl (Micropartículas con Aceite de Sacha Inchi)	37
4.1.2	Tamaño y morfología	37

4.2. Recubrimiento de micropartículas por interacción electrostática.	38
4.2.1 Caracterización de las micropartículas recubiertas con sangre bovino	38
4.2.2 Tamaño y morfología	39
4.2.3 Microestructura de las micropartículas recubiertas con sangre bovino	40
4.3. Solubilidad de proteína de las micropartículas.....	40
4.4. Caracterización de aditivo nutricional (MRSBL)	41
4.5. Caracterización de las galletas fortificadas	41
4.5.1 Formulación de MRSBL en la elaboración de galletas fortificadas.	41
4.5.2 Composición centesimal de las galletas fortificadas	42
4.5.3 Análisis microbiológico	43
4.5.4 Evaluación de atributos sensoriales de las galletas fortificadas	43
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN.....	46
5.1 Micropartículas de pectina conteniendo aceite de <i>Plukenetia volubilis</i> L	46
5.1.1 Caracterización de las MASI (Micropartículas con Aceite de Sacha Inchi)	46
5.1.2 Morfología y tamaño	46
5.2 Recubrimiento de micropartículas por interacción electrostática.	47
5.2.1 Caracterización de las micropartículas recubiertas con sangre bovino	47
5.2.2 Morfología y tamaño	48
5.2.3 Microestructura de las micropartículas recubiertas con sangre bovino	49
5.3 Solubilidad de proteína de las micropartículas.....	49
5.4 Caracterización de aditivo nutricional (MRSBL)	49
5.5 Caracterización de las galletas fortificadas	50
5.5.1 Formulación de MRSBL en la elaboración de galletas fortificadas	50
5.5.2 Composición centesimal de las galletas fortificadas	51
5.5.3 Análisis microbiológicos.....	53
5.5.4 Evaluación de atributos sensoriales de las galletas fortificadas	53
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES	55
CAPITULO VII: RECOMENDACIONES	56

CAPITULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN.....	57
ANEXOS	62

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.	Operacionalización de las variables.....	16
Tabla 2.	Caracterización de micropartículas producidas por gelificación iónica.....	37
Tabla 3.	Tamaño de micropartículas producidas por gelificación iónica.....	37
Tabla 4.	Caracterización de micropartículas recubiertas con sangre bovino..	38
Tabla 5.	Tamaño de micropartículas recubiertas con sangre bovino.....	39
Tabla 6.	Solubilidad de micropartículas recubiertas con sangre bovino.....	40
Tabla 7.	Caracterización de la MRSBL.....	41
Tabla 8.	Formulación para elaboración de galletas fortificadas.....	41
Tabla 9.	Composición centesimal de las galletas fortificadas.....	42
Tabla 10.	Análisis microbiológico de las galletas fortificadas.....	43
Tabla 11.	Codificación de galletas fortificadas con MRSBL.....	44

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Flujo para obtención de micropartículas, mediante gelificación iónica.....	21
Figura 2. Flujo para liofilización de micropartículas.....	30
Figura 3. Flujo para la producción de galletas fortificadas.....	32
Figura 4. Morfología de las micropartículas por gelificación iónica.....	38
Figura 5. Morfología de las micropartículas recubiertas con sangre bovino.....	39
Figura 6. Microestructura de las micropartículas recubiertas con proteínas de sangre bovino.....	40
Figura 7. Proyección de Galletas Fortificadas (725, 301, 221) en el mapa CA.....	45

ABREVIATURAS

ANOVA:	Análisis de la Varianza
DCA:	Diseño Completamente Aleatorizado
EE:	Eficiencia de Encapsulación
GE:	Grado de Esterificación
GSF:	Galletas Sin Fortificar
GF:	Galletas Fortificadas
JGA:	Jugo Gástrico Artificial
JIA:	Jugo Intestinal Artificial
MASI:	Micropartículas con aceite de sachá inchi
MRSB:	Micropartículas Recubiertas con Sangre Bovino
MRSBL:	Micropartículas Recubiertas con Sangre Bovino Liofilizada
MSR:	Micropartículas Sin Recubrir
OMS:	Organización Mundial de Salud.

RESUMEN

El consumo deficiente de micronutrientes en la alimentación diaria conlleva al padecimiento de enfermedades no transmisibles a mediano o largo plazo, y esta condición pasa a ser un problema de salud pública, tanto nacional como internacional. No obstante, existen estrategias para ayudar a mejorar la calidad de vida de las personas y evitar el incremento de anemia y otras enfermedades en el mundo. Dentro de las estrategias se presentan la fortificación y microencapsulación de alimentos. En esta investigación se encapsuló aceite de *Plukenetia volubilis* L. (Sacha inchi) en micropartículas de pectina mediante el método de gelificación iónica. Las cuales se le añadió sangre bovino en cuatro concentraciones acuosas (4, 6, 8 y 10%). De estas cuatro concentraciones se prosiguió a elegir al tratamiento de mayor contenido de proteína para ser expuesta a condiciones gastrointestinales in vitro. Seguidamente ser liofilizada, y con ello formular tres niveles de fortificación (5, 10 y 15%), además de un producto sin fortificar (0%) para luego ser añadida a galletas. Las galletas fortificadas fueron analizadas de acuerdo a su composición centesimal, análisis microbiológico y evaluación de atributos sensoriales. Respecto a la composición centesimal, el contenido de hierro fue mayor en las galletas fortificadas con 5, 10 y 15% (11.55 mgr/100gr, 12.35 mgr/100gr, 12.59 mgr/100gr, respectivamente) que la galleta sin fortificar 6.17 mgr/100gr. Y según la diferencia en el contenido de micropartículas utilizadas, el nivel de fortificación 5% influye positivamente en el perfil sensorial del producto. En cuanto al sabor fue mayor en ser agradable. Y aumenta la sensación de crocantes de las mismas. Además, se encontró diferencia significativa (valor $p=0,001$) entre los tratamientos de galletas con nivel de fortificación de 0, 5, 10 y 15%. Por lo tanto, el uso de micropartículas de pectina recubiertas con sangre bovino en los alimentos puede ser utilizado con fines alimentarios y ser considerado como una estrategia adicional para los programas sociales de apoyo alimentario.

Palabras claves: Microencapsulación, *Plukenetia volubilis* L., sangre bovina, galletas fortificadas, fortificación

ABSTRACT

The deficient consumption of micronutrients in the daily diet leads to the suffering of non-communicable diseases in the medium or long term, and this condition becomes a public health problem, both nationally and internationally. However, there are strategies to help improve people's quality of life and prevent the increase in anemia and other diseases in the world. Among the strategies are food fortification and microencapsulation. In this research, *Plukenetia volubilis* L. (Sacha inchi) oil was encapsulated in pectin microparticles using the ionic gelation method. To which bovine blood was added in four aqueous concentrations (4, 6, 8 and 10%). From these four concentrations, it was continued to choose the treatment with the highest protein content to be exposed to gastrointestinal conditions in vitro. It will then be lyophilized, and thus formulate three levels of fortification (5, 10 and 15%), in addition to an unfortified product (0%) to later be added to cookies. The fortified cookies were analyzed according to their centesimal composition, microbiological analysis and evaluation of sensory attributes. Regarding the centesimal composition, the iron content was higher in the fortified biscuits with 5, 10 and 15% (11.55 mgr / 100gr, 12.35 mgr / 100gr, 12.59 mgr / 100gr, respectively) than the unfortified biscuit 6.17 mgr / 100gr. And depending on the difference in the content of microparticles used, the 5% fortification level positively influences the sensory profile of the product. As for the flavor, it was more pleasant. And it increases the crunchiness of them. In addition, a significant difference was found (p value = 0.001) between the biscuit treatments with a fortification level of 0, 5, 10 and 15%. Therefore, the use of pectin microparticles coated with bovine blood in food can be used for food purposes and be considered as an additional strategy for social food support programs.

Keywords: Microencapsulation, *Plukenetia volubilis* L., bovine blood, fortified biscuits, fortification

INTRODUCCIÓN

La salud en la actualidad, es uno de los pilares en la vida de las personas (Huamaní y Flores 2009). Sin embargo, un cierto grupo poblacional padece de deficiencia nutricional, que como consecuencia, sufren innumerables enfermedades no transmisibles (Bonilla 2016). Para evitar estas enfermedades y tener un adecuado crecimiento, se debe tener una dieta suficiente durante toda la etapa de la vida (Elias 2014; Bonilla 2016).

Cuando el consumo de vitaminas y minerales es insuficiente en la alimentación, empiezan las consecuencias en la salud dependiendo de cuan mayor sea la deficiencia del nutriente en el organismo (Boccio y Monteiro 2004). Los niños, son los principales afectados en la carencia nutricional de oligoelementos en la alimentación, que puede ser por diversos motivos como por ejemplo; la escasa ingesta de nutrientes, falta de disponibilidad de alimentos, o al síndrome de mala absorción (Martínez, Calderón y Barascout 2010).

Desde el punto de vista nutricional, la fortificación de alimentos es una estrategia para reducir la malnutrición por déficit de ingesta de micronutrientes, que son usados en casos donde existe falta de disponibilidad y acceso a los alimentos, y sobre todo cuando la dieta diaria no satisface los requerimientos nutricionales que necesita el ser humano (Allen et al. 2017). La fortificación básicamente es adicionar nutrientes que forman parte o están en cantidades mínimas en un alimento (Gibson et al. 1998). Por lo que, es considerada una estrategia de apoyo para los programas nutricionales, teniendo como prioridad, mejorar el estado nutricional de la población más vulnerable en el país (Allen et al. 2017).

Por otro lado, la microencapsulación es un método de conservación de nutrientes, que en los últimos años ha sido y es sujeto de investigación en la industria de alimentos. La finalidad de esta tecnología es preservar la vida útil del alimento, protegiendo de cambios químicos y físicos del ambiente como: la oxidación, temperatura, humedad, calor, pH, etc. Otra de las funciones de la microencapsulación, es enmascarar olores y sabores que son desagradables ante el sentido humano (Bonilla 2016).

De esta forma según [Li \(2016\)](#), al combinar ambas tecnologías de microencapsulación y fortificación de alimentos, se hace posible aprovechar los beneficios nutricionales de los alimentos en la dieta. Minimizando las pérdidas del principio activo, ya que las vitaminas y minerales se mantendrían en su forma estable hasta el momento de la ingesta.

En esta investigación, se usaron como materia prima el aceite de *Plukenetia volubilis* L y sangre bovino. El aceite de *Plukenetia volubilis* L contiene propiedades benéficas para la salud; donde el consumo con regularidad reducen la obesidad y favorece los tratamientos contra el cáncer, diabetes, enfermedades del corazón, presión arterial y estrés ([Huamaní y Flores 2009](#)), lo que indica que suplementar la alimentación con aceite de *Plukenetia volubilis* L. es beneficioso para la salud en general ([Castellanos y Rodríguez 2015](#)). También se realizó la elección de un alimento de origen animal, por el beneficio nutricional que aportan en la alimentación (por ejemplo carnes rojas, vísceras, sangre bovino). Por lo que elegimos la sangre bovino que es considerada una alternativa prescrita en la mayoría de centros de salud para prevenir y combatir la anemia ([Galarza y Cairo 2013](#)). Ya que se sabe que la sangre bovino como parte de su valor nutricional posee un alto contenido de hierro ([Lázaro 2017](#)).

El objetivo en la presente investigación, es encapsular aceite de *Plukenetia volubilis* L. (Sacha inchi) mediante el método de gelificación iónica, con posterior recubrimiento de proteínas (sangre bovino), mediante interacción electrostática. Asimismo, liofilizamos estas micropartículas recubiertas con proteínas de sangre bovino para la elaboración de galletas fortificadas, donde determinamos la composición centesimal, el análisis microbiológico y evaluación de los atributos sensoriales, cumpliendo así con los estándares de un producto de calidad para producción de galletas nutritivas.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes

Los alimentos fortificados tienen especial interés en las últimas investigaciones, debido a las ventajas nutricionales en la población vulnerable. Una de las investigaciones fue realizada en niños de 3 a 5 años de edad, durante 6 y 8 semanas, se administraron galletas fortificadas con hierro heme. Donde concluyeron que el estado intelectual de los niños fue mejorando en el proceso del tratamiento ([Salinas, Vega y Rojas 1998](#)).

En otro estudio realizado, se formularon galletas con dos niveles de fortificación (10% y 15%) y un nivel sin fortificar (0%), las galletas se fortificaron con harina de sangre bovino deshidratada, mediante atomización. Realizaron una prueba de aceptabilidad, donde participaron 60 escolares entre 13 y 15 años de edad. El trabajo concluyo que consumiendo 40 gr de la galleta fortificada, se cubrirían las indicaciones del consumo de 12,6 mg/día de hierro, y se pudiera prevenir la anemia por deficiencia de hierro ([Galarza y Cairo 2013](#)).

En estudios actuales de fortificación de alimentos, también se elaboraron galletas fortificadas con harina de sangre bovino de 3, 7 y 10 %, cuya obtención de la harina se realizó por medio del método de deshidratador de bandejas; donde caracterizaron el valor nutricional de la harina de sangre bovino y de las galletas fortificadas. Donde concluyeron que el método de obtención de harina a partir de sangre bovino es adecuada para obtener un producto alimenticio inocuo y de calidad ([Chang y Panduro 2017](#)).

Asimismo, en otro estudio se elaboraron galletas nutricionales, sustituyendo un porcentaje la harina de trigo por harina de sangre bovino. El estudio planifico varias etapas, la producción de galletas fortificadas, análisis de hemoglobina de la población de estudio, análisis sensorial y nutritivo de las galletas. El contenido de hierro según el porcentaje de adición de harina de sangre fue de 17.77 mg/100gr (20%), 22.24 mg/100gr (25%) y 26,65 mg/100gr (30%). El autor eligió el 30% para realizar los análisis. Llegando a la conclusión que con el consumo de estas galletas fortificadas se realizaría un ligero incremento de hemoglobina en sangre ([Lazaro 2017](#)).

1.2 Bases teóricas

1.2.1 Generalidades de la sangre

La sangre es un líquido viscoso, opaca debido a la presencia de células como: leucocitos, plaquetas y hematíes, y es de color rojo (Nontol 2016). El color rojo de la sangre es procedente del átomo del hierro (Anson y Mirsky 1930). La sangre contiene proteínas (18%), aminoácidos esenciales (lisina, leucina y triptófano) y sobre todo es fuente de hierro hemínico, por lo tanto, es un subproducto necesario e ideal en la fortificación de alimentos (Galarza y Cairo 2013).

1.2.1.1 Valor nutritivo de sangre bovino

La sangre bovino procedente de los mataderos municipales, contienen mayor fuente de hierro y proteína en comparación con otros alimentos de origen animal (Ofori y Hsieh 2012).

La sangre bovino contiene agua en 80.89 gr/100gr, hemoglobina 10.31 gr/100gr, otras proteínas 6,98 gr/100gr, azúcares 0.07 gr/100gr, colesterol 0.19 gr/100gr, grasa 0.06 gr/100gr, estos valores hacen referencia a ser considerado un nutriente necesario en la alimentación (Chang y Panduro 2017).

Debido a los valores nutritivos que presenta la sangre bovino, la industria científica no ha sido ajena en usarla en distintos campos de investigación, tales como en áreas farmacéutica, biomédica, industria alimentaria y sobre todo es muy recomendada en los centros médicos (Mullen et al. 2015). La industria alimentaria ha hecho mucho énfasis en el consumo de sangre bovino, tanto en su forma natural (sangrecita) y procesado en la industria (alimentos fortificados), con la finalidad de consumirla para mejorar el estado nutricional de la población (Ofori y Hsieh 2012).

1.2.1.2 En la industria alimentaria

En ciertos procesos industriales se generan desechos con alto poder contaminante en el ambiente. Sin embargo, estos desechos pueden ser reutilizados para el consumo humano. Claro es el caso de la sangre bovino que hoy en día es considerado un subproducto alimenticio. Y donde la industria alimentaria pudiera acondicionarlas y adicionarlas a productos dietéticos (Hoyo 2012).

Una clara referencia es la harina a partir de sangre bovino, la cual conserva su contenido proteico según método de obtención y temperatura adecuada. Por lo que conviene recuperar sangre bovina de desechos industriales para transformarla en albúmina o harina a partir de sangre ([Castro y Vinueza 2011](#)).

1.2.2 Generalidades del aceite de *Plukenetia volubilis* L.

El consumo del aceite de *Plukenetia volubilis* L. ha ido incrementándose en la alimentación, como medicina alternativa. Ya que si comparamos entre las fuentes de ácidos grasos más representativas, el contenido de Omega 6 en el germen de trigo, en la soya, en la semilla de calabaza y en el aceite de *Plukenetia volubilis* L. es de 5%, 7%, 15%, y 36% respectivamente ([Zanqui et al. 2016](#)).

1.2.2.1 Valor nutritivo

El aceite de *Plukenetia volubilis* L. contiene, algunos antioxidantes, vitamina A, vitamina E, algunos aminoácidos esenciales y no esenciales, y sobre todo Omega 3 (48.60%), Omega 6 (36.80%) y Omega 9 (8.28%). En comparación con otras fuentes vegetales de ácidos grasos polinsaturados (maní, oliva, girasol, palma, entre otras), el aceite de *Plukenetia volubilis* L. es considerada una de las mejores alternativas de consumo para el máximo aprovechamiento de sus nutrientes ([Tito y Bautista 2009](#)).

1.2.2.2 Beneficios en la alimentación

- Transporta el oxígeno de la célula del cuerpo a los tejidos.
- Previene la saturación de las arterias al ayudar a reducir el riesgo de sufrir de enfermedades coronarias.
- Mejora el sistema inmunológico.
- Reduce la inflamación de las arterias.
- Regula los niveles de glucemia en la sangre ([Tito y Bautista 2009](#)).

1.2.3 Generalidades del hierro.

El hierro es considerado uno de los minerales más esenciales en la alimentación. Gracias a su función principal en el organismo, como; transportar oxígeno a las células, formar parte de enzimas vinculadas a la respiración celular y en la regulación genética ([Chúa 2012](#)).

En la alimentación, el hierro está presente en algunos alimentos de origen animal y vegetal. Los alimentos que aportan buenas fuentes de hierro en la alimentación son las que contienen más 7 mgFe/ 100 gr, como el hígado y la sangrecita ([Document 2015](#)).

El hierro tras su ingestión, pasa por dos etapas, la primera absorción se inicia en el estómago (menor absorción), y la segunda absorción es realizada en las partes del intestino delgado (duodeno, y yeyuno). Que luego de cuatro horas está presente en los eritrocitos, que después de una semana forma parte de la hemoglobina. Es decir, el hierro que es absorbido por las células de la mucosa digestiva es almacenado en transferrina (transporta hierro a la célula) o en ferritina (transporta hierro a los músculos, hígado, médula, bazo). Cuando el hierro está presente en la sangre el organismo lo distribuye y almacena en los tejidos (medula ósea), donde se utilizaran para formar la hemoglobina. La hemoglobina cuando finaliza su función en el cuerpo, es degradada (bazo) a hemosiderina que luego en el hígado es trasformada en pigmentos biliares ([Document 2015](#)).

Según la distribución del hierro en nuestro cuerpo, solo el 10% del hierro en la dieta es absorbido por nuestro cuerpo. Es decir, si consumimos de 10 – 20 mg de hierro, nuestro organismo solo obtendrá de 1 - 2 mg de este mineral. En donde el 75 % es para la formación de hemoglobina, el 10 – 20% es almacenado en el hígado y corazón, y el 5 – 15% es utilizado en las demás funciones del organismo. Y el hierro no absorbido es excretado a través de la orina, las heces y el sudor ([Document 2015](#)).

Desde otro enfoque, el hierro se clasifica en hierro hemínico y hierro no hemínico. El hierro hemínico es absorbida en la mucosa intestinal y su absorción tiene más efecto en la alimentación. Sin embargo, el hierro no hemínico en la mayoría de las veces es insoluble, y la solubilización se realiza en un medio de pH ácido, y en presencia de ciertas proteínas que ayudan al hierro a solubilizarse ([Document 2015](#)).

1.2.3.1 Importancia del hierro en la alimentación.

Es muy importante incorporar el hierro en la alimentación, ya que la deficiencia de este mineral se inicia cuando el consumo de los alimentos es insuficiente en hierro ([Document 2015](#)).

Los grupos de población con mayor riesgo son los niños menores de dos años, adolescentes y jóvenes embarazadas, y adultos mayores. Este pequeño grupo pudiera evidenciar retraso en el desarrollo corporal, en el desarrollo cognitivo e intelectual y tasas de mortalidad innecesarias. Sumando consecuencias a mediano y largo plazo en la sociedad, ocasionando rendimientos bajos en el nivel intelectual y psicomotor en la educación, y en el ámbito laboral, ocasionaría ineficiencia en la productividad. Por lo tanto, es muy importante la presencia de hierro en la alimentación (Boccio y Monteiro 2004).

1.2.4 Anemia

Cuando la alimentación de las personas no cubre los requerimientos de hierro necesarios, como consecuencia aumenta el índice de anemia en el país, y sobre todo perjudica el desarrollo corporal e intelectual (Galarza y Cairo 2013). Existen otras razones que pueden causar anemia. Sin embargo, la anemia producida por bajo consumo de hierro en la dieta, es en la actualidad la más registrada en los centros de salud.

La anemia se clasifica en leve, moderada y severa, y se diagnostica según los valores en edad y sexo. “La anemia con un nivel de hemoglobina por debajo de 11,0 g/dl al nivel del mar, está asociada con una disminución del transporte de oxígeno a los tejidos y a una menor capacidad física y mental, y probablemente con reducción en la resistencia contra las infecciones” (INEI 2015).

1.2.5 Microencapsulación

La microencapsulación permite la obtención de matrices capaces de proteger y mantener la estabilidad de bioactivos en condiciones adversas (Rengifo y Torres 2018), es decir el principio de la microencapsulación es encapsular un material activo (vitaminas, aromas, aceites) para proteger de los cambios ambientales que pueden afectar su composición (Pedroza 2002). El material activo es la fase interna y quien lo cubre es llamado pared, ambos materiales no reaccionan entre sí (Pedroza 2002).

1.2.6 Polisacáridos

Los polisacáridos tienen la capacidad de solubilizar y formar geles, ya que tienen una buena estructura para la interacción molecular (Rascón C. et al. 2016). Los polisacáridos más empleados como material de pared incluyen pectina, alginato, goma arábica y almidones modificados (Rengifo y Torres 2018).

En esta investigación se usó polisacáridos de pectina. Las pectinas están compuestas por ácido α -galacturónico y con dos grado de esterificación (GE), mayor y menor en su estructura (Plaschina, Braudo y Tolstoguzov 1976); (Funami et al. 2011). Las pectinas con esterificación menor forman geles en presencia de iones de calcio y valores de pH bajos. y las más esterificadas, son las que presentan mayor velocidad en la formación de geles (Rascón C. et al. 2016). De acuerdo a lo mencionado anteriormente, las pectinas suelen formar geles, cuando interaccionar con iones de calcio a partir del bajo GE, por esta función es utilizada en la industria científica (Rinaudo 1996); (Renard y Jarvis 1999); (Braccini y Pérez 2001).

1.2.7 Gelificación iónica

El objetivo del sistema de microencapsulación es proteger los principios activos, como: sabores, minerales, vitaminas, fármacos, etc. Y uno de los métodos para la microencapsulación, es la gelificación iónica (Weiss, Takhistov y McClements 2006).

La gelificación iónica es un método que proporciona un ambiente de trabajo de bajo costo y sencillo. En este proceso interaccionan moléculas de biopolímero con iones de calcio (Rengifo y Torres 2018). Los iones son quienes mediante reacciones químicas producen el endurecimiento del gel con el paso del tiempo (King 1988). En este método, el principio activo que es encapsulado es suspendido en una solución acuosa (solución de polisacárido), que luego son impulsadas mediante goteo sobre una solución acuosa de CaCl_2 en agitación. Cuando esto sucede se inicia la gelificación de los compuestos, “obteniéndose una membrana o cubierta de polisacárido que es insoluble en agua pero permeable” (Lopez y Villalta 2009). La estructura del gel es manipulable, modificando las condiciones de pH, concentración de iones de calcio y polisacáridos, temperatura, entre otros (King 1988). Y el tamaño de la

micropartícula dependerá de la aguja por donde pasa el fluido (Whelehan, Marison 2011 ; Lewinska, et al 2008).

Las micropartículas obtenidas mediante gelificación iónica presentan poros en su estructura, lo cual puede acelerar la liberación del bioactivo (Sezer y Akbuga 1999). Por esta razón, es necesario complementar los complejos de polisacáridos con proteínas, y esta función se realiza mediante la interacción electrostática entre dos biopolímeros con carga opuesta (Ye 2008).

1.2.8 Interacción electrostática

La interacción proteína -polisacárido en la industria de la investigación, es usada en la “formación de estructura de alimentos y biomateriales como en el diseño de vehículos de liberación de compuestos bioactivos y farmacéuticos” (Elmer et al. 2011).

La interacción electrostática ocurren entre moléculas que poseen carga eléctrica opuesta (McClements 1999). En esta interacción las proteínas son las que adquieren carga positiva en un valor de pH debajo de su punto isoeléctrico (Ye 2008). Y sumado con el tiempo adecuado, las interacciones proteína – polisacáridos son asociadas entre sí en la superficie de micropartículas gelificadas, formando una nueva capa de protección (McClements, Decker y Weiss 2007 ; Ye 2008).

1.2.9 Liofilización

Según Alvarado (2013), “La liofilización es uno de los métodos de secado más utilizados para alargar la vida útil de los alimentos”. Y es considerado como el mejor método de secado, porque conserva las características nutritivas y organolépticas de los alimentos (Ramírez 2006). En otras palabras, no afecta a las característica físico químicas, y permite su conservación en ambientes con 15% de humedad (Alvarado 2013).

En un sentido más amplio, el proceso de liofilizado se realiza en estado de sublimación (Orrego 2008), en donde el contenido de agua del alimento en estado sólido pasa a vapor, omitiendo el estado líquido. Obteniendo finalmente un alimento con menor peso y mismo volumen, pero conservando el valor nutricional (Parzanese 2012). En esta función se trabaja en 0.01 °C y 4.5 mmHg (Universidad de Granada 2018).

1.2.9.1 Proceso de liofilización

- **Preparación.** Lo primero es verificar que las materias primas sean óptimas para el consumo, luego acondicionarlas de manera correcta en los equipos (Parzanese 2012).
- **Congelación.** Se realizan en congeladores que forman parte del liofilizador o congeladores independientes. En esta etapa el agua libre presente en el alimento es congelado entre temperatura de -20°C y -40 °C (Orrego 2008). La importancia de congelar la materia prima, es para obtener una estructura sólida y evitar presencia líquida, de manera que el secado se realice por sublimación. Durante la congelación los alimentos se cubren de cristales de hielo eutéctico (hielo muy compacto) (Parzanese 2012).
- **Desecación primaria.** Se inicia con la reducción inicial del agua mediante sublimación. En esta etapa se reduce la presión interior de la cámara usando bomba de vacío y aplicando calor al alimento (evitando subir la temperatura). Es decir, el hielo se sublima de la parte superficial del alimento y mientras avanza el proceso, el estado de sublimación retrocede para que el vapor pase por las capas secas y así poder salir del producto (Parzanese 2012).
- **Desecación secundaria.** En esta última etapa, la materia prima pasa por desorción, donde el agua que no fue congelada o también conocida como agua ligada es evaporada, obteniendo como resultado un producto con humedad menor al 2% (Parzanese 2012).

1.2.10 Fortificación de alimentos

La fortificación de alimentos se inicia con el índice de consumo deficiente de nutrientes y malos hábitos alimenticios, que como consecuencia afecta el estado de salud de las personas; y cuya estrategia para prevenir y controlar estas consecuencias, se decidió fomentar el consumo de alimentos fortificados (Dary y Hainsworth 2008).

La fortificación de alimentos es aumentar la composición nutricional de algún alimento, con la finalidad de incrementar su valor nutricional y aprovechar los beneficios en la salud (Dary y Hainsworth 2008).

Es preciso recalcar que la fortificación de alimentos es solo un método preventivo que ayuda en la escases nutricional, ya que la cantidad de dosis en un alimento fortificado es solo una fracción de los requerimientos diarios que necesita una persona para equilibrar su estado de salud (Gibson et al. 1998). Por ello, el consumo debe ser acompañada por otros alimentos que ayuden a mejorar la absorción (Dary y Hainsworth 2008).

1.2.10.1 Galletas

Las galletas se parecen a un pastel horneado de muchas formas. Una de las características principales es su bajo contenido en agua. Y están hechas con huevo, azúcar, harina, leche en polvo, y grasa (margarina, mantequilla).

La harina que más se utiliza en la elaboración de galletas, es el *Triticum aestrum*, por su característica débil de almacenar CO₂, aumentar el volumen, y sobre todo por ayudar a proporcionar las formas de las galletas. Para el sabor dulce a las galletas se usa sacarosa, y para aumentar aún más el sabor dulce se usa jarabes de sacarosa o almidón (Bardón et al. 2010). También, “se suele añadir leche en polvo y sal para potenciar el gusto y agentes esponjosos como las sales inorgánicas para expandirlo” (Bardón et al. 2010). Sin embargo, cuando las galletas aportan una gran cantidad de grasa están expuestas al proceso de oxidación. Por ello, es importante que sean almacenadas en un lugar libre de luz (Bardón et al. 2010).

Las galletas suelen tener presentaciones y sabores diferentes, suelen ser saladas, dulces, rellenas (frutos secos, chocolate, entre otros), o simples sin ningún aditivo en su interior (Bardón et al. 2010).

1.2.10.2 Galletas fortificadas

Para que la población consuma alimentos fortificados sin alguna objeción o perjuicio, es fundamental acondicionar los alimentos que consumen a diario con un agregado nutricional (vitamina, mineral, proteína, etc.), un claro ejemplo son las galletas fortificadas que usualmente son las más consumidas y fáciles de conseguir, y sobre todo tienen sabores y características agradables (Martínez, Calderón y Barascout 2010).

Las galletas fortificadas son elaboradas con ingredientes comunes de una receta galletera, que en algunos casos la harina de trigo está enriquecida con micronutrientes, o son añadido en la receta ([Martínez, Calderón y Barascout 2010](#)).

El público consumidor de galletas fortificadas en su mayoría son los niños y adolescentes, seguido de la población adulta en general, cuyo consumo son en horas del desayuno y merienda ([Lozano 2009](#)).

1.3 Definición de términos básicos

1.3.1 Industria alimentaria

Abarca un conjunto de actividades industriales dirigidas al tratamiento, transformación, preparación, conservación y al envasado de productos alimenticios ([Gutman, Lavarello y Grossi 2006](#)).

1.3.2 Sangre bovino

Es un líquido cuyo color característico es rojo, y contiene un alto valor nutricional que puede ser aprovechada en la alimentación. La sangre bovino es obtenida del ganado bovino en sacrificio ([Torres 2012](#)).

1.3.3 Hierro

Es un oligoelemento, que es necesario para la síntesis de la hemoglobina en los glóbulos rojos y en la síntesis de la mioglobina en las células musculares ([Torres 2012](#)).

1.3.4 Anemia

Es una deficiencia de glóbulos rojos en el organismo. Afecta a las células nerviosas, los músculos y el estado cognitivo de quien lo padece ([Beltrán y Perdomo 2007](#)).

1.3.5 Hemoglobina

Es una hemoproteína de la sangre. Es la responsable de indicar el riesgo de anemia en una persona ([Beltrán y Perdomo 2007](#)).

1.3.6 Polisacárido

Son biomoléculas, formadas por unión de monosacáridos. Tienen funciones de reservas estructurales y energéticas ([Ramírez 2006](#)).

1.3.7 Pectina

Es un polisacárido natural proveniente de manzanas, que son usados como gelificantes en la gran mayoría, ya que son más fáciles de conseguir por el bajo costo en el mercado ([Aza y Mendez 2011](#)).

1.3.8 Gelificación

Es un proceso donde soluciones líquidas forman una especie de gel, donde se espesa y estabiliza en condiciones adecuadas ([Ramírez 2006](#)).

1.3.9 Microencapsulación

Es un método de conservación del principio activo que será encapsulado, para evitar e impedir algún tipo de pérdida de su composición ([Aza y Mendez 2011](#)).

1.3.10 Interacción electrostática

Es el mecanismo de atracción o repulsión de los átomos (ion, dipolo, catión). “Donde se establece que dos cargas del mismo signo se repelen, mientras que dos cargas de signos opuestos se atraen” ([McClements 1999](#)).

1.3.11 Liofilización

Es un método de secado de materias primas, que a diferencia de otros métodos de secado conserva los valores nutritivos como en su estado inicial ([Ramírez 2006](#)).

1.3.12 Fortificación

Es adicionar a un alimento industrial vitaminas o minerales, con el propósito de incrementar el valor nutricional; “por ejemplo, cuando se le añaden vitaminas A y D a la margarina con el fin de emular el contenido natural de estas en la mantequilla” ([Allen et al. 2017](#)).

CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES

2.1 Formulación de la hipótesis

La producción de micropartículas por gelificación iónica conteniendo aceite de *Plukenetia volubilis* recubiertas con proteínas de sangre bovino tendrían estabilidad fisicoquímica y alta absorción de proteína. La adición de micropartículas incrementaría el valor nutricional y promovería efecto en los atributos sensoriales de las galletas.

2.2 Variables y su operacionalización

2.2.1 Variables independientes

2.2.1.1 Estudio para la producción de micropartículas

Concentración de sangre bovino (4, 6, 8 y 10%).

2.2.1.2 Estudio para la producción de galletas

Adición de micropartículas de pectina recubiertas con proteínas de sangre bovino liofilizadas (0, 5, 10 y 15%).

2.2.2 Variables dependientes

2.2.2.1 Estudio para la producción de micropartículas

Análisis fisicoquímico: humedad, cenizas, grasas y hierro

Absorción de proteína

Solubilidad de proteína

2.2.2.2 Estudio de producción de galletas

Valor nutricional de galletas fortificadas

Evaluación de los atributos sensoriales

2.2.3 Operacionalización de variables.

Tabla 1. Operacionalización de las variables

Variable	Definición	Tipo por su naturaleza	Indicador	Escala de medición	Categorías	Valores de las categorías	Medio de verificación
Independiente							
Concentración de sangre bovino	líquido rojo, circula por las venas y arterias, y tienen importantes funciones fisiológicas	Cuantitativa	Concentración	Ordinal	Muy bajo	4%	Reporte de análisis
					Bajo	6%	
					Medio	8%	
					Alto	10%	
Adición de micropartículas	Micropartículas conteniendo aceite de sacha inchi recubiertas con proteínas de sangre bovino (lío-filizada) que se añaden en galletas	Cuantitativa	Porcentaje de adición de Micropartícula	Intervalo	-	0%	Reporte de análisis
					Bajo	5%	
					medio	10%	
					Alto	15%	
Dependiente							
Análisis fisicoquímico	Conjunto de análisis de algún compuesto, abarca: humedad, ceniza, lípidos, etc.	Cuantitativa	% de humedad	Razón	-	1 - 100	Reporte de análisis
			% de ceniza		-	1 - 100	
			% de lípidos		-	1 - 100	
			proteína en gr/100gr		-	1 - 100	
			hierro en mgr/100gr		-	1 - 100	
Solubilidad de proteína	cantidad de proteínas que serán absorbidas en el organismo	Cuantitativa	% de proteína desprendida	Razón	-	> 80	Reporte de análisis
					-	(20-80)	
					-	< 20	
Valor nutricional de galletas fortificadas	Es el contenido de la composición centesimal que presenta la galleta	Cuantitativa	hierro en mgr/100gr	Razón	-	1 - 100	Reporte de análisis
			% de humedad		-	1 - 100	
			% de ceniza		-	1 - 100	
			% de lípidos		-	1 - 100	
			proteína en gr/100gr		-	1 - 100	
			% carbohidratos		-	1 - 100	
			% calorías		-	1 - 100	
Evaluación de los atributos sensoriales	Descripción de atributos sensoriales de mayor relevancia de un producto con nuevos ingredientes	Cualitativa	pruebas organolépticas: aroma, textura y sabor	categoría	Percepción de los sentidos	Olfato-gustativos Retronasales	Ficha de evaluación sensorial

Fuente: Elaborado por los autores, (2019)

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

Los análisis y ensayos experimentales fueron realizados en las instalaciones del Laboratorio de Investigación de Control de Calidad del CIRNA – UNAP. El recojo de materia prima (sangre bovino) se realizó en el camal municipal de Punchana. La producción de las galletas fortificadas fue realizada en las instalaciones de la “Panadería Oriental SRL”. Las micropartículas se realizaron en la Planta Piloto de la Facultad de Industrias Alimentarias-UNAP. Y la evaluación sensorial fue realizada en el colegio Rosa Agustina Donayre de Morey con la participación de 100 estudiantes quienes son potenciales consumidores de galleta.

3.1 Tipo y diseño

Para los experimentos fue aplicado un diseño completamente aleatorizado, donde el factor de estudio fue el aceite de *Plukenetia volubilis L.* y la sangre bovina acuosa, y como variable respuesta la eficiencia de encapsulación, adsorción de proteína y el análisis fisicoquímico. Para los datos de análisis fisicoquímico de las galletas fortificadas, los factores de estudio representan el porcentaje de micropartículas secas a adicionar 5, 10 y 15% y como variable respuesta el valor nutricional. Y para los datos de análisis sensorial fue aplicado un diseño en bloques completos al azar, teniendo como fuentes de variación el porcentaje de micropartículas secas (control, 5,10 y 15%) y los atributos sensoriales. La variación fue analizada mediante el test de comparación múltiple Tukey para observar diferencias significativas entre los promedios, a un nivel de significancia $P < 0.05$.

Las micropartículas fueron recubiertas con proteína proveniente de sangre bovino, asimismo, el diseño fue completamente aleatorizado con arreglo factorial de 1 x 4 x 3, donde el primer factor tuvo 1 nivel y el segundo factor 4 niveles, siendo el primer factor aceite de *Plukenetia volubilis L.* y el segundo factor la concentración de proteína como material de recubrimiento (concentración de 4, 6, 8 y 10%) y se realizaron 3 repeticiones, asimismo, las variables respuestas estudiadas fueron; porcentaje de humedad, ceniza, lípidos, eficiencia de encapsulación, morfología, tamaño medio y la adsorción de proteína en la micropartículas, la cual se buscó el mejor tratamiento de mayor concentración de proteínas adheridas a las micropartículas.

Una vez obtenido el mejor tratamiento de adsorción de proteína en las micropartículas, se estudió el contenido de desprendimiento de las proteínas con un solo factor, siendo el factor “Etapa gastrointestinal” a ser analizada, teniendo dos niveles y 6 repeticiones, totalizando 12 experimentos. La variable respuesta fue el porcentaje proteína desprendida en la etapa gástrica e intestinal.

Por último, para el estudio de las galletas fortificadas fue aplicado un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial de 1x3x3, con un solo factor, siendo el factor “adición de micropartículas”, teniendo tres niveles (5, 10 y 15%) y 3 repeticiones. Las variables respuestas fueron los porcentajes de proteína, humedad, ceniza, lípidos, carbohidratos, calorías y hierro. Para los datos de análisis sensorial fue aplicado un diseño experimental en bloques completos al azar, conducido a través de la técnica metodología de análisis de correspondencia (CA), teniendo como fuentes de variación el porcentaje micropartículas secas (5, 10 y 15%), sobre las variables respuestas: los atributos sensoriales por parte de los catadores (adolescentes de tercero de secundaria).

3.2 Diseño muestral.

3.2.1 Tamaño de la población de estudio

El aceite de *Plukenetia volubilis L.* y sangre bovino fueron adquiridos de proveedores nacionales. Y para el estudio de las galletas se consideró a estudiantes de nivel secundario.

3.2.2 Muestra

Las materias primas fueron aleatorizados, es decir, fueron adquiridos de diferentes proveedores nacionales. Y como segunda muestra 100 adolescentes entre 14 y 15 años de edad.

3.2.3 Criterios de selección

3.2.3.1 Inclusión

Micropartículas recubiertas con la mayor concentración de proteína en solución (10%).

Ganados vacunos en condiciones sanitarias óptimas.

Adolescentes en edad escolar para la evaluación de aceptación.

Galletas que cumplieron con el estándar microbiológico

3.2.3.2 Exclusión

Micropartículas recubiertas con proteínas de sangre bovino < 10% en solución.

Ganados vacunos que no cumplen con condiciones sanitarias óptimas

Adolescentes que no quieran participar en la investigación.

Galletas que no cumplieron con el estándar microbiológico

3.3 Procedimientos de recolección de datos

3.3.1 Producción de micropartículas

Solución de pectina

Fueron pesados 2.5 g de pectina en vaso precipitado de 250 ml, con adición de 200 ml de agua destilada, mantener en agitación por 2 horas a temperatura ambiente.

Solución de cloruro de calcio

Fueron pesados 25 g de cloruro de calcio y adicionados a 1000 ml de agua destilada, manteniendo en agitación para solubilidad total por 40 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente llevado a ajuste de pH 4.

Fase de emulsión

Fueron preparadas con soluciones acuosas de pectina, con adición de aceite de *Plukenetia volubilis* L (2g), a temperatura ambiente utilizando homogeneizador Ultra Turrax a 18000 rpm durante 5 minutos.

Solución de calcio

Se usó solución de cloruro de calcio durante la atomización, en donde la emulsión permaneció en agitación constante a temperatura ambiente, hasta que la solución de pectina sea pulverizada por completo.

Fase de pulverización

La emulsión fue pulverizada, utilizando un atomizador de doble flujo con orificio de 1.0 mm de diámetro, variando la altura de 12 cm entre el atomizador y la solución de cloruro de calcio, presión de aire de 0.250 kgf/cm² y velocidad de atomización de 555 ml/hora.

Endurecimiento

Las micropartículas inmediatamente después de la pulverización, se mantuvo en agitación durante 30 minutos, a 1000 rpm y a temperatura ambiente.

Tamizado y lavado

Posteriormente, las micropartículas fueron separados y lavados en tamiz de malla de acero (Φ 75 μ m) con agua destilada (pH 4.0).

Micropartículas de pectina

Finalmente, obteniendo las micropartículas de pectina pesamos el rendimiento, y realizamos 3 producciones independientes de micropartículas. Una fracción de las micropartículas fue utilizada para la interacción de la sangre siendo luego congelada y liofilizada, para la obtención de micropartículas secas. La siguiente fracción de micropartículas secas fue acondicionada en frascos con tapa y almacenados en refrigeración para los análisis correspondientes.

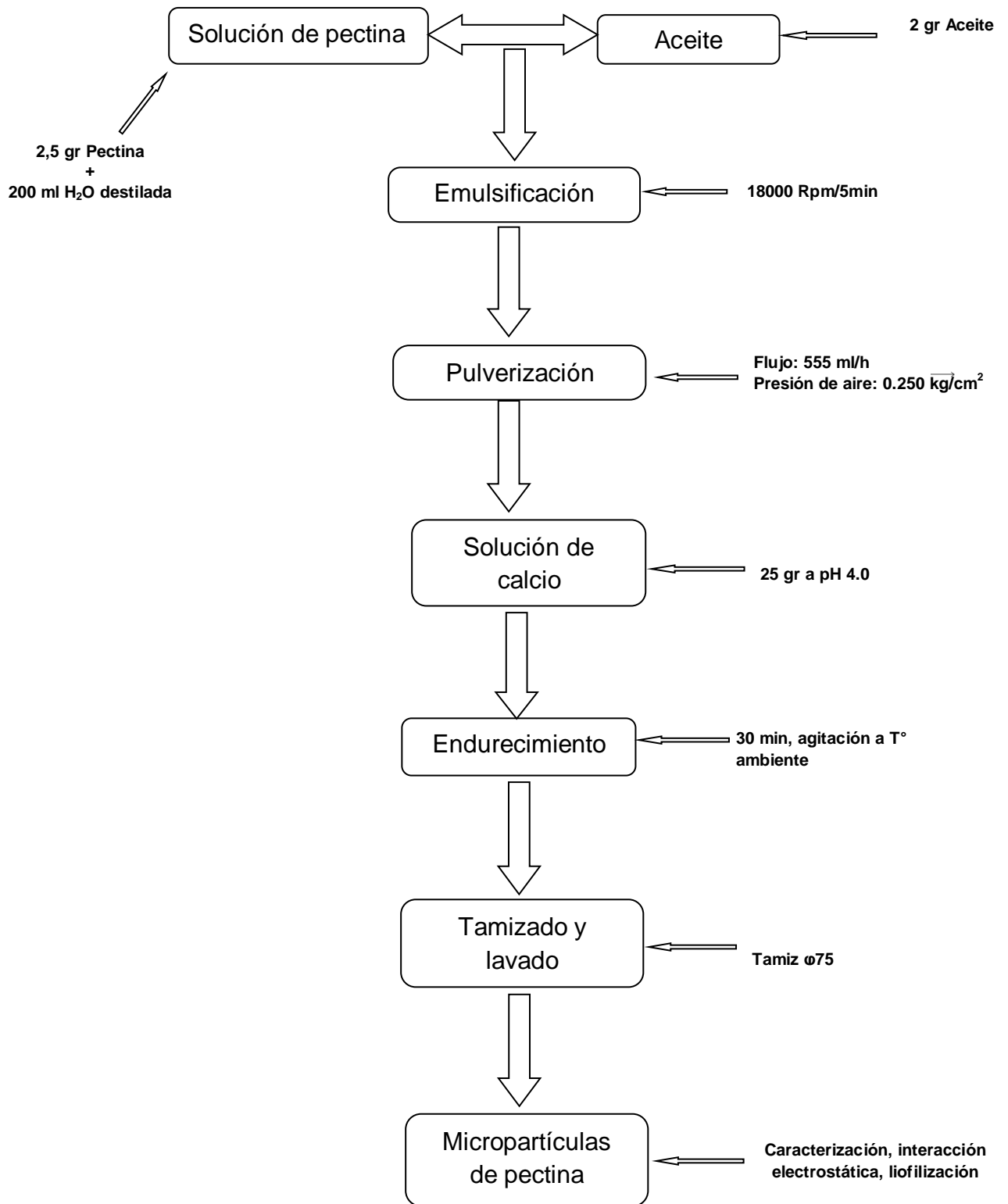


Figura 1. Flujo para obtención de micropartículas, mediante gelificación iónica
Fuente: Patil, kamalapur, marapur, kadam (2010)

3.3.2 Caracterización de las micropartículas

Las micropartículas fueron caracterizadas en relación al contenido de humedad y cenizas (A.O.A.C. 2012), y en relación al contenido de lípidos de acuerdo a la metodología de (Bligh y Dyer 1959).

3.3.2.1 Eficiencia de encapsulación

Para la determinación del aceite total de las micropartículas se utilizó la siguiente metodología: Se adicionó una solución de citrato de sodio en la concentración de 3% (m/m) a 5 g de micropartículas húmedas, para liberación del aceite. Después de esta etapa, la cuantificación del aceite fue realizada según la metodología de Bligh y Dyer (1959). Y fue cuantificada con la siguiente formula:

$$EE(\%) = \frac{\text{Aceite total en emulsión}(g) / \text{sólidos totales (g)}}{\text{Aceite inicial (g)} / \text{sólidos totales (g)}} \times 100$$

3.3.2.2 Tamaño medio

La determinación del tamaño medio y las fotos digitalizadas de las micropartículas fue realizada por microscopía óptica, utilizando microscopio óptico con captación de imágenes a través de cámara digital controlada por el programa MicrocalOrigin pro 9.1 (MicrocalSoftware, Inc., MA, USA).

3.3.2.3 Morfología de micropartículas

La observación de la morfología de las micropartículas húmedas y liofilizadas fue realizada por microscopía óptica (MO).

3.3.3 Recubrimiento de micropartículas por interacción electrostática

El recubrimiento de las micropartículas húmedas obtenidos en el ídem 3.3.1, fue realizado adicionando 75 g de micropartículas para 300 ml de solución acuosa de proteínas de sangre bovino ajustada a pH 4.0. Fueron utilizadas cuatro concentraciones (4, 6, 8 y 10%) para las soluciones proteicas. Las micropartículas se mantuvieron en las soluciones conteniendo proteínas durante 30 minutos, en agitación constante (700 rpm) a temperatura ambiente. Las micropartículas fueron posteriormente lavadas en tamices de mallas de acero (Φ 75 μ m) con agua destilada (pH 4.0) para remover la proteína que no fueron adsorbidas por micropartículas.

3.3.4 Caracterización de las micropartículas recubiertas con sangre bovino

Las micropartículas fueron caracterizadas en relación al contenido de humedad y cenizas según metodología de la Association of Official Analytical Chemistry (A.O.A.C, 2012). Y en relación al contenido de lípidos de acuerdo a la metodología de Bligh y Dyer (1959).

3.3.4.1 Tamaño medio

Ídem 3.3.2.2

3.3.4.2 Morfología y microestructura de micropartículas

La morfología fue realizada según el Ídem 3.3.2.3 y la microestructura de las micropartículas por microscopía electrónica de barrido.

3.3.4.3 Determinación de proteínas – Método Kjeldahl

El método se basa en determinar la concentración de nitrógeno presente en la muestra para luego ser transformado a través de un factor en proteína. El método es aplicable a alimentos en general (A.O.A.C, 2012).

PREPARACION DE SOLUCIONES

Solución de hidróxido de sodio 15%

Disolver 150 g de NaOH y completar a 1 litro.

Solución de ácido sulfúrico 0.1 N.

Tomar 2.7 ml de H₂SO₄ concentrado y completar a 1 litro,

Luego estandarizar con Na_2CO_3 anhidro p.a.

Solución de hidróxido de sodio al 30 %.

Disolver 300 g de NaOH y completar a 1 litro.

Solución indicadora de rojo de metilo al 1 % en etanol.

Disolver 1 g de rojo de metilo en 100 ml de etanol (95 %).

Solución de hidróxido de sodio 0.1 N.

Tomar 4 g de NaOH y enrasar a 1 litro con agua recientemente hervida y enfriada. Valorar con ácido succínico.

Solución de Ácido bórico al 3 %.

Disolver 30 g de ácido bórico y completar a 1 litro.

Indicador de Tashiro:

Rojo de metilo al 0.1 % y azul de metileno al 0.1 % en relación de 2:1, en alcohol etílico.

Solución de ácido clorhídrico 0.1 N.

Tomar 8.3 ml de HCl concentrado. y enrasar a 1 litro. Valorar con Na_2CO_3 anhidro.

ANÁLISIS CON LA MUESTRA.

Pesamos 1 g de muestra homogeneizada (m) en un matraz de digestión Kjeldahl. Agregamos 3 perlas de vidrio, 10 g de sulfato de potasio o sulfato de sodio, 0.5 g de sulfato cúprico y 20 ml de ácido sulfúrico concentrado. Conectamos el matraz a la trampa de absorción que contiene 250 ml de hidróxido de sodio al 15 %. Calentamos en manta calefactora y una vez que la solución esté transparente, dejamos en ebullición 15 a 20 min. Cumplido el tiempo dejamos enfriar. Después del enfriamiento, agregamos 200 ml de agua en un matraz de 250ml y conectamos al aparato de destilación, luego agregamos lentamente 100 ml de NaOH al 30 % por el embudo, y cerramos la llave. Destilamos no menos de 150 ml en un matraz que lleve sumergido el extremo del refrigerante o tubo colector en: 50 ml de una solución de ácido sulfúrico 0.1 N, 4 a 5 gotas de rojo de metilo y 50 ml de agua destilada. Aseguramos un exceso de H_2SO_4 para que se pueda realizar la retrotitulación y titulamos el exceso de ácido con NaOH 0.1 N hasta color amarillo o 50 ml de ácido bórico al 3 %. Luego titulamos con ácido clorhídrico 0.1 N hasta pH 4.6.

Cada cierto tiempo verificamos la hermeticidad del equipo de destilación usando 10 ml de una solución de sulfato de amonio 0.1 N (6.6077 g/L), 100 ml de agua destilada y 1 a 2 gotas de hidróxido de sodio al 30 % para liberar el amoníaco, así como también verificamos la recuperación destruyendo la materia orgánica de 0.25 g de L (-)-Tirosina. El contenido teórico en nitrógeno de este producto es de 7.73 %. Debe recuperarse un 99.7 %. Y finalmente se calculó el % de proteína:

$$\%N = \frac{14 \times N \times V \times 100}{m \times 1000}$$

$$\%Proteína = \frac{14 \times N \times V \times 100 \times Factor}{m \times 1000}$$

Donde:

V: 50 ml H₂SO₄ 0.1 N - gasto NaOH 0.1 N

Gasto de HCl 0.1 N

m: masa de la muestra, en gramos

Factor: 5.7

3.3.4.4 Determinación de hierro.

El análisis de Hierro fue determinado de acuerdo a la metodología de la A.O.A.C. (2012).

PROCEDIMIENTO

Se pesó 2.5 g de muestra de polvo de liofilizado, que se llevó a mufla durante 6 horas hasta obtener cenizas. Posteriormente, las cenizas fueron homogeneizadas con 10 ml de 2 M HCl y 10 ml de agua destilada. En seguida, la mezcla fue filtrada con papel filtro donde se adicionó 2.5 ml de 0.1 M de tiocianato de potasio. Esta mezcla fue llevada al espectrofotómetro de UV-Visible para lectura de la absorbancia a longitud de onda de 458 nm.

Para determinar la concentración de hierro se construyó una curva patrón de hierro (0.01 M Fe (NO₃)₃), el cual fue preparado en solución de 0.1 M HCl y mezclado con 2.5 ml de 0.1 M de tiocianato de potasio. Las concentraciones (mM/L) del patrón de hierro fueron de 0, 0.25, 0.5, 0.75 y 1%, a absorbancia de 458 nm.

3.3.5 Solubilidad de proteína de las micropartículas

Las MRSB (micropartículas de pectina recubiertas con sangre bovino) fueron sometidas a condiciones gastrointestinales simuladas de acuerdo con la metodología descrita por Mozzi et al. (2009); Dicho sea de paso para este método fueron usadas las variables de MRSB, con mayor porcentaje de proteína.

PROCEDIMIENTO:

SOLUCIÓN JUGO GASTRICO ARTIFICIAL (JGA):

Pesamos: 1.12 g / L KCl + 2g / L NaCl + 0.11 gr /L CaCl₂ + 0.4 g / L KH₂PO₄ g / L. luego añadimos en una fiola de 250 ml y agitamos durante 30 minutos, seguidamente ajustamos a pH 2.0 con HCL, y añadimos 0.26 gr/ml pepsina.

ANALISIS DE SIMULACIÓN JGA:

Pesamos 2 gr de micropartículas húmedas, en 12 tubos de 30 ml y se añadieron 20 ml de JGA en cada tubo. Agitamos durante 1 minuto y llevamos los tubos a baño maría durante 2 horas a 37° C. Cumplido el tiempo separamos 6 tubos y colocamos en baño de hielo durante 15 minutos, para inactivación de las enzimas y seleccionamos 6 tubos, para ser llevadas en centrifuga por 20 minutos a 5000 rpm. Trascurrido en tiempo la proteína que se desprendió de las micropartículas, quedó soluble en el sobrenadante y fue cuantificado por el método de Bradford descrita en A.O.A.C. (2012). Finalmente hicimos lectura en espectrofotómetro.

Solución bicarbonato: concentración 20% (m/v)

Pesamos 20 gr de bicarbonato de sodio (NaHCO₃) en un Becker de 150 ml. Añadimos 100 ml de agua destilada y mantuvimos en agitación hasta la preparación del JIA.

ANALISIS DE (JUGO INTESTINAL ARTIFICIAL) JIA:

Usamos los 6 tubos seleccionados anteriormente (baño de hielo), y se alteró el pH a 7.0 con la solución de NaHCO₃, y se agitó durante 1 minuto. Luego añadimos 1.95 g/L de pancreatina, y se agitó. Llevamos a baño maría durante 5 horas a temperatura de 37°C. Pasados los intervalos de tiempo de

cinco horas, colocamos en baño de hielo donde permanecieron inmersas durante 15 minutos para inactivación de las enzimas. Cumplido el tiempo los tubos fueron centrifugados por 20 minutos a 5000 rpm (centrífuga). La proteína que se desprendió de las micropartículas, quedó soluble en el sobrenadante y fue cuantificado por el método de Bradford descrita en A.O.A.C. (2012). Que fueron leídos en espectrofotómetro.

3.3.6 Liofilización de las micropartículas.

Recolección

La recolección la sangre bovino se realizó de ganados que previamente fueron sometidos a inspección veterinaria. Primero se desinfectó la superficie del cuello del animal, para luego proseguir con la incisión, depositando la sangre en un balde totalmente desinfectado. Para evitar la coagulación sanguínea se utilizó citrato de sodio en la proporción de 140ml/ml de sangre mezclándola por 20 minutos para mantener el estado líquido.

Transporte y almacenamiento

Se trasladaron los baldes con sangre bovino, dentro de un envase con hielo, con destino al Centro de Investigaciones de Recursos Naturales de la Amazonía – UNAP- laboratorio de control de calidad, para ser almacenado a temperatura de 5°C, refrigerando inmediatamente para evitar la contaminación y el crecimiento bacteriano.

Filtrado

Después de 24 horas de refrigeración, se procedió al filtrado, para separar partículas no propias de la sangre, realizando la acción lo más rápido y aséptico posible, (usando una tela tocuyo, embudos y demás materiales necesarios para este procedimiento), para luego llevar lo más pronto posible a refrigeración.

Interacción electrostática

En este procedimiento el recubrimiento de las micropartículas húmedas, fue realizado según el ídem 3.3.3, (usamos ácido cítrico para la concentración de pH 4.0) para este método usamos la concentración que contiene más proteína, el porcentaje adecuado fue la variable 10%. Las micropartículas ya

interaccionadas con la sangre, fueron puestos en los vasos de liofilizado, 100 gr aproximadamente.

Congelamiento:

Ya obtenidos las micropartículas recubiertas en los vasos de liofilizado, se llevaron al ultracongelador a una temperatura de -4°C durante 6 horas aproximadamente.

Liofilizado

Pasado el tiempo necesario de congelamiento, los vasos se pusieron en el liofilizador labconco FreeZone 12 plus a temperatura inicial: -40°C , Temperatura final: 25°C , presión: 0.125 kgf/cm^2 , tiempo total del ciclo de secado fue durante 4 días aproximadamente hasta que se obtuvieron las micropartículas secas.

Envasado

Terminado el proceso de secado, se envasaron en frascos limpios y secos.

Almacenado

En un lugar espacioso, seco y a temperatura ambiente.

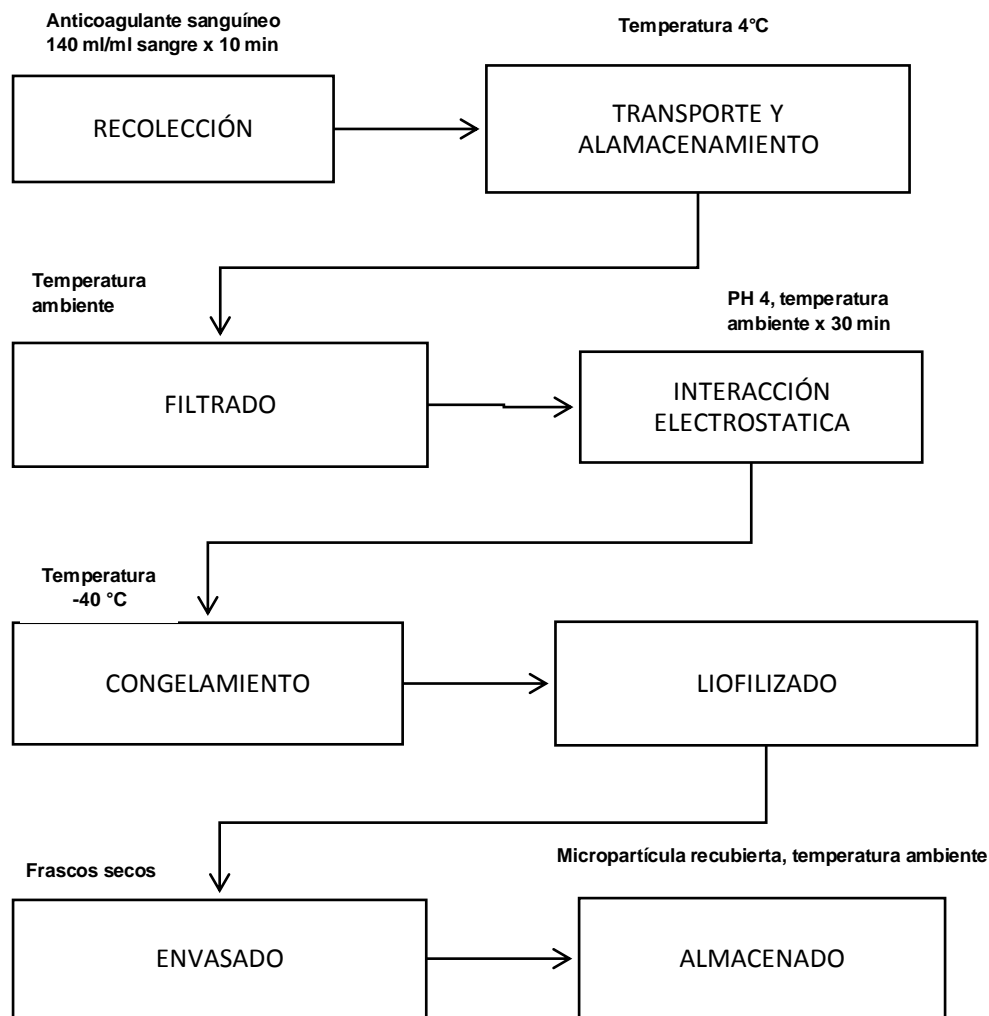


Figura 2. Flujo para liofilización de micropartículas.

Fuente: Elaborado por los autores, (2019).

3.3.7 Caracterización de las micropartículas liofilizadas

3.3.7.1 Determinación de proteínas – Método Kjeldahl

Ídem 3.3.4.3

3.3.7.2 Determinación de hierro.

Ídem 3.3.4.4

3.3.8 Descripción del proceso de elaboración de galleta

Se elaboraron galletas fortificadas con MRSBL (Micropartículas Recubiertas de Sangre Bovino Liofilizada) al 5%, 10% y 15%, también se elaboraron galletas no fortificadas (0%) como muestra control. Los insumos fueron calculados en base a la harina de trigo.

Dosificación y pesado

Se inició con la dosificación de insumos y el pesado de MRSBL, harina de trigo, azúcar blanca refinada, polvo de hornear, vainilla, anti-moho, margarina, leche en polvo y huevo.

Cremado

Mezclamos el azúcar blanca con la margarina, hasta formar una crema, para esta mezcla usamos una batidora manual durante 10 minutos. Luego se adicionaron huevo, leche en polvo, anti moho, bicarbonato de sodio, y se prosiguió a batir durante un tiempo aproximado de 5 minutos.

Mezclado y amasado

A la mezcla anterior adicionamos el MRSBL junto con la harina de trigo, y amasamos durante 15 minutos aproximadamente, hasta obtener una masa homogénea.

Laminado y cortado

La masa fue laminados con la ayuda de un rodillo, y cortado con ayuda de un molde de acero.

Horneado

Para el horneado se colocaron en bandejas engrasadas, y llevadas al horno a una $T = 130\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 25 min., aproximadamente, hasta alcanzar su cocción.

Enfriado

Las galletas fueron enfriadas a temperatura ambiente, en sus mismas bandejas de horneado.

Empacado

Las galletas fueron empacadas en bolsas de polietileno. En cada bolsa se sellaron cuatro unidades de galleta (48 gr), cada galleta tuvo un peso promedio de 12 gr. Y finalmente fueron almacenadas en cajas de cartón para su posterior análisis.

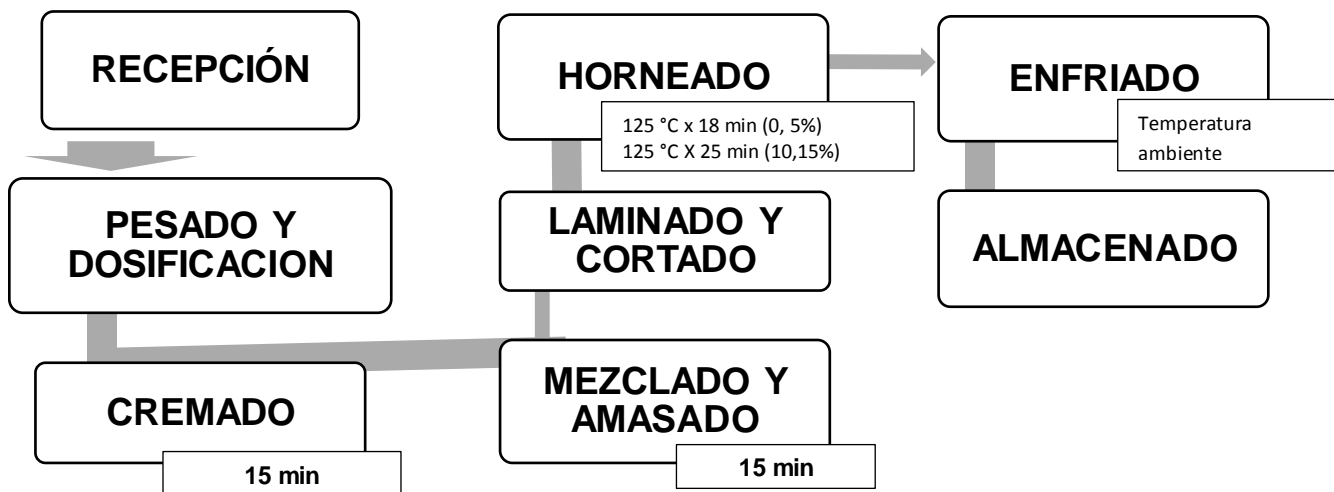


Figura 3. Flujo para la producción de galletas fortificadas
Fuente: Cerón a. (2015)

3.3.8.1 Composición centesimal de las galletas fortificadas

3.3.8.1.1 Determinación de humedad.

La determinación de la humedad de la galleta, se realizó de acuerdo con la metodología de la A.O.A.C, (2012), utilizando estufa a 105°C hasta obtener peso constante. La humedad es la cantidad de agua libre que se encuentra en un alimento, y se expresa en porcentaje.

Procedimiento

Se secaron las placas petri en estufa a 105°C durante 1 hora. Luego se pesaron y se anotaron los pesos.

Se pesó en la balanza analítica 2 gr de muestra en las placas petri, y se anotó el peso exacto de la muestra pesada. Llevamos las placas petri con la muestra a la estufa a 105°C durante 5 horas. Después de este tiempo, se retiraron las placas de la estufa y se colocó en un desecador hasta alcanzar temperatura ambiente. Finalmente, se pesó las placas + materia seca obtenida. La diferencia obtenida corresponderá a la materia seca a 105°C. Se realizó el análisis en triplicado. Y se expresaron los resultados en porcentaje.

CÁLCULO:

Materia Seca:

$$\% \text{ Materia Seca} = \frac{(\text{peso placa} + \text{Muestra Seca}) - \text{Peso de la placa}}{\text{Peso de la Muestra Húmeda}} \times 100$$

Humedad:

$$\% \text{ Húmedad} = 100 - \% \text{ Materia Seca}$$

3.3.8.1.2 Determinación de cenizas

La ceniza es el residuo inorgánico de una muestra incinerada a 550 °C, su cuantificación es el inicio para la determinación de los macro y micro minerales en los alimentos (A.O.A.C, 2012)

Procedimiento:

Pesamos en balanza analítica 2 g de muestra en el crisol ya previamente tarado (105 °C durante 1 hora). Seguidamente se puso el crisol con la muestra pesada a la mufla e ir controlando la temperatura hasta alcanzar los 550 ° C. Después de alcanzar la temperatura, se dejó en la mufla durante 6 horas. Terminado el tiempo apagar la mufla y dejar la mufla enfriar hasta 12 horas aproximadamente. Después de este período, se retiró el crisol de la mufla y se colocó en el desecador. Para ser pesado finalmente el crisol + cenizas obtenidas en balanza analítica. La diferencia obtenida corresponderá a cenizas a 550°C. Se expresaron los resultados en porcentaje.

CÁLCULO:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{\text{Peso Crisol con Residuo} - \text{Peso del Crisol vacío}}{\text{Peso de la Muestra Húmeda}} \times 100$$

3.3.8.1.3 Determinación de lípidos

Se desarrolló según la metodología de (Bligh y Dyer 1959). El método Bligh Dyer utiliza un sistema monofásico (en este caso una única fase líquida) formado por una mezcla de cloroformo, metanol y agua en relación (en volumen) que rápida y efectivamente disuelve los lípidos.

Solución de enzima pancreatina: concentración 20%

Pesar 0.0200 gr, de pancreatina y disolver en 20ml de agua destilada a pH 7.0, seguidamente agitar durante 30 min a temperatura ambiente.

Procedimiento

Pesamos 2 de muestra finamente molida y se transfirió para un tubo de 70 ml. Se añadió 4 ml de solución de pancreatina, agitar durante 5 min y llevar a baño maría durante 4 horas a 37°C (para el desprendimiento de proteína). Culminado el tiempo añadimos 4 ml de citrato de sodio, agitamos durante 1 min. Seguidamente añadimos exactamente 10 ml de cloroformo, 20 ml de metanol y se agitó en vortex manual durante 30 minutos. Tiempo cumplido se añadió 10 ml de cloroformo y 10 ml de solución de sulfato de sodio 1,5% se agitó durante dos minutos, y dejamos que las capas se separen naturalmente durante 12 horas a temperatura ambiente. Cumplido el tiempo succionamos la camada metanolica superior y descartamos, para luego filtrar la capa inferior en papel de filtro cualitativo en un tubo de 30 ml. Medir exactamente 5 ml del filtrado y transferir a un Becker de 8 ml previamente tarado. Se llevó a estufa a 105°C, durante 2 horas.

Cálculo:

$$\% \text{ Lipidos totales} = \frac{\text{Peso de los Lipidos} \times 4 \times 100}{\text{Peso de la Muestra (g)}}$$

3.3.8.1.4 Determinación de carbohidratos

Se obtuvo por diferencia de porcentaje según [A.O.A.C. \(2012\)](#).

$$\%CHOS = 100 - (\%Humedad + \%Ceniza + \%Grasa + \%Proteina)$$

3.3.8.1.5 Determinación calórica.

Se determinó por cálculo directo según [A.O.A.C. \(2012\)](#)

$$\% \text{ Calorica} = \%Grasa \times 9 + \%Proteina \times 4 + \%Carbohidrato \times 4$$

3.3.8.1.6 Determinación de proteínas

Ídem 3.3.4.3.

3.3.8.1.7 Determinación de hierro.

Ídem 3.3.4.4.

3.3.8.2 Análisis microbiológico

El análisis microbiológico fue realizado 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, Levaduras, Escherichia Coli y Salmonella sp. (MINSA 2011).

3.3.8.3 Evaluación de atributos sensoriales de las galletas fortificadas.

Para los datos de descripción de atributos sensoriales de las galletas fortificadas utilizamos la metodología descrita por Thuillier et al. (2015), Pivot Profile.

3.3.8.3.1 Pívor Profile.

Es una metodología sensorial descriptiva rápida, permite la evaluación de la influencia de diferentes ingredientes y concentraciones de las características sensoriales de las muestras. Donde cada panelista recibe muestras en pares (uno identificado como Pívor y otros codificados con números de tres dígitos en orden de presentación alternativo). Para cada par, se escribe los atributos sensoriales que se cree que la muestra tiene en mayor y menor intensidad que la muestra pívor, centrándose en los atributos de textura, aroma y sabor. Entre las evaluaciones de las muestras, cada panelista tiene que beber un poco de agua y esperar 30 segundos antes de continuar con la siguiente variable (Miraballes, Hodos y Gámbaro 2018).

3.4 Procesamiento y análisis de los 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), y si resultara de diferencia significativa a un nivel $\alpha= 0.05$ se aplicó el Test Tukey utilizando el programa SPSS versión 21.0.

3.5 Aspectos éticos

Toda la información recolectada durante la ejecución del proyecto proviene de fuentes netamente confiables, manteniendo la confidencialidad de estos, con el objetivo de salvaguardar la integridad de la misma. En el análisis sensorial de las galletas se consideró el consentimiento de cada uno de los participantes voluntarios. Asimismo, los análisis de caracterización de toda la investigación fueron realizados con mucha dedicación y certeza.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

4.1. Micropartículas de aceite de *Plukenetia volubilis* L

4.1.1 Caracterización de las MASI (Micropartículas con Aceite de Sacha Inchi)

Con el objetivo de obtener la composición centesimal de las micropartículas, fue realizada la caracterización de micropartículas producidos mediante el método de gelificación iónica. Los resultados se muestran en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Caracterización de micropartículas producidas por gelificación iónica

Caracterización de micropartículas por gelificación iónica				
Micropartículas	Humedad (%)	Ceniza (%)	Lípido (%)	EE (%)
MSR	94.60 ± 0.01	0.21 ± 0.01	39.23 ± 0.01	88.26 ± 0.04

MSR: Micropartículas Sin Recubrir; EE: Eficiencia de Encapsulación; Promedio ± desvío estadístico (n=3).

Fuente: Elaborado por los autores, (2019).

4.1.2 Tamaño y morfología

El tamaño medio de las micropartículas de pectina fue determinado por microscopía óptica. Estas presentaron un tamaño menor, dicha observación puede ser al tiempo de conservación para realizar el análisis, o a la presión de aire emitida por el atomizador.

Tabla 3: Tamaño de micropartículas producidas por gelificación iónica.

Micropartículas	TAMAÑO (µm)
MSR	121.18 ± 1.90

MSR: Micropartículas sin recubrir, Promedio ± desvío estadístico (n=3).

Fuente: Elaborado por los autores, (2019).

En la figura 4, podemos observar la morfología de las micropartículas que fueron observadas en microscopía óptica. Las cuales presentan forma esférica, y al mismo tiempo se observan gotas de aceite de *Plukenetia volubilis* L distribuidas en toda la matriz interna.

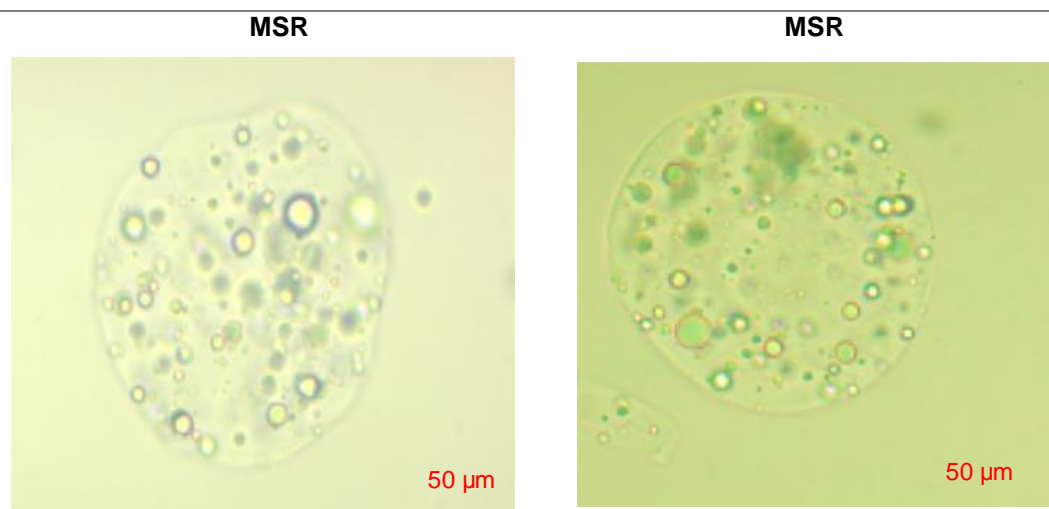


Figura 4. Morfología de las micropartículas por gelificación iónica

Imágenes obtenidas por MO. Barra MO = 100 μ m. Objetivo: 10x

Fuente: Elaborado por los autores (2019).

4.2. Recubrimiento de micropartículas por interacción electrostática.

4.2.1 Caracterización de las micropartículas recubiertas con sangre bovino

La **Tabla 4** muestra las cantidades de humedad, ceniza, lípidos, hierro y proteínas, contenidas en las micropartículas.

Tabla 4: Caracterización de micropartículas recubiertas con sangre bovino

Micropartículas	Humedad (%)	Ceniza (%)	Lípido (%)	Proteína (gr/100gr)	Hierro (mgr/100gr)
MRSB (4 %)	89.59 \pm 0.00 ^a	0.78 \pm 0.00 ^a	20.12 \pm 0.20 ^a	33.53 \pm 0.02 ^a	75.26 \pm 0.01 ^a
MRSB (6 %)	87.17 \pm 0.05 ^b	0.80 \pm 0.00 ^b	17.59 \pm 0.40 ^b	49.52 \pm 0.02 ^b	121.71 \pm 0.01 ^b
MRSB (8 %)	86.13 \pm 0.11 ^c	0.83 \pm 0.00 ^c	15.19 \pm 0.05 ^c	54.82 \pm 0.02 ^c	123.21 \pm 0.01 ^c
MRSB (10 %)	83.21 \pm 0.00 ^d	0.85 \pm 0.00 ^d	14.06 \pm 0.13 ^d	59.12 \pm 0.01 ^d	127.02 \pm 0.01 ^d

MRSB: Micropartículas Recubiertas con Sangre Bovino; Promedio \pm desvío estadístico (n=3). Letras diferentes representa diferencia significativa ($p > 0.05$) entre las medias determinadas utilizando el Test de Tukey

Fuente: Elaborado por los autores, (2019).

4.2.2 Tamaño y morfología

Para este análisis se tomó en cuenta el tamaño medio de las micropartículas de pectina recubiertas con sangre bovina (MRSB), solo del tratamiento 10% porque es la que presentó mayor absorción de proteína en comparación con los demás tratamientos.

Tabla 5. Tamaño de micropartículas recubiertas con sangre bovino

Micropartículas	Tamaño (μm)
MRSB (10%)	114.31 ± 1.94

MRSB: Micropartículas Recubiertas con Sangre Bovino; Promedio \pm desvío estadístico (n=3)
Fuente: Elaborado por los autores, (2019).

La **Figura 5**, muestra la morfología de las micropartículas recubiertas con sangre bovino que fueron observadas en microscopía óptica.

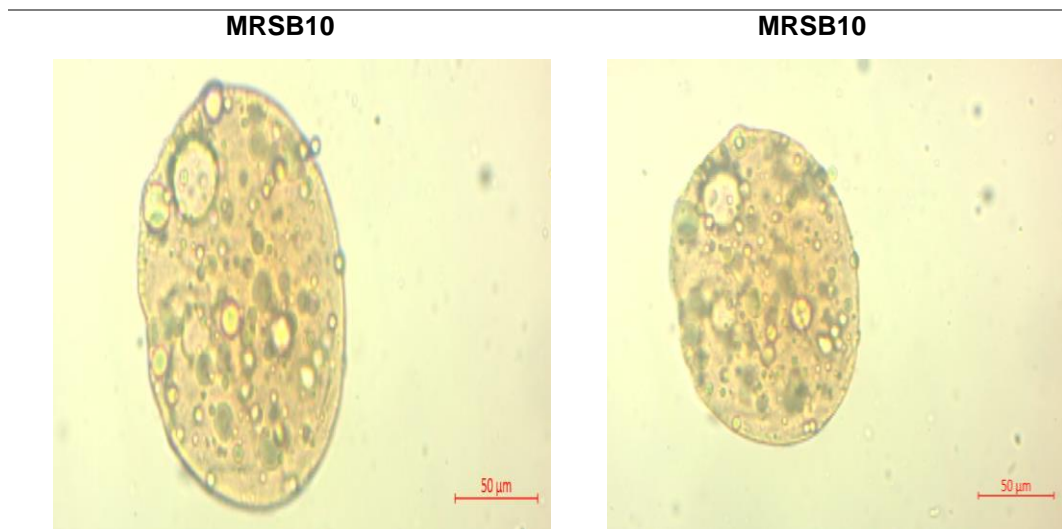


Figura 5. Morfología de las micropartículas recubiertas con sangre bovino

Imágenes obtenidas por MO. Barra MO = 100 μm . Objetivo: 10x

Fuente: Elaborado por los autores, (2019).

4.2.3 Microestructura de las micropartículas recubiertas con sangre bovino

Para tener un mayor detalle acerca de la característica física de la micropartícula, recalando que se realizó microscopia electrónica solo del tratamiento 10%.

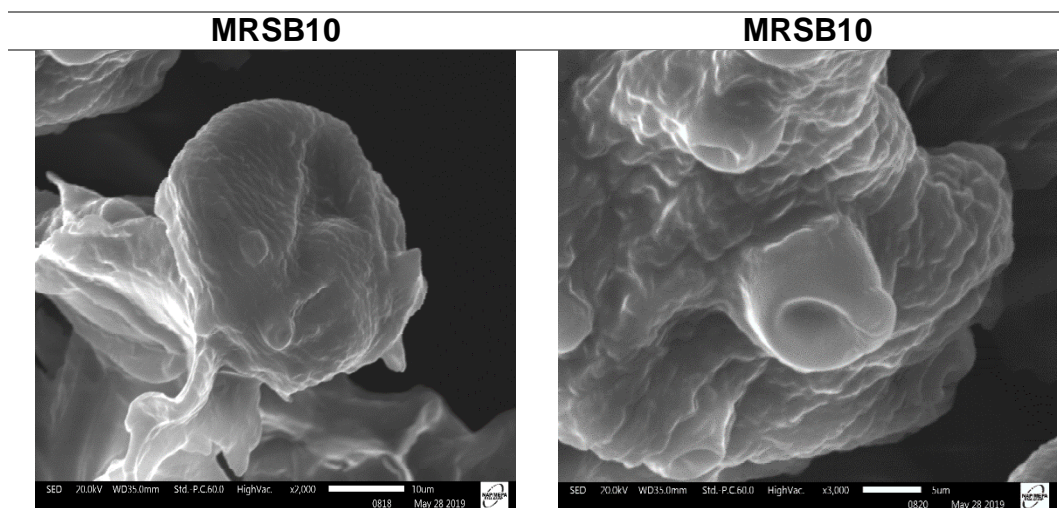


Figura 6. Microestructura de las micropartículas recubiertas con proteínas de sangre bovino

Fuente: Elaborado por los autores, (2019).

4.3. Solubilidad de proteína de las micropartículas.

Por otro lado, se sabe que para determinar la cantidad de proteína desprendida las MRSB se sometieron a condiciones gástricas e intestinales simuladas *in vitro*, cabe recalcar que fue realizada solo en el tratamiento con mayor porcentaje de proteína (10%). Los resultados se presentan en la siguiente **Tabla 6**:

Tabla 6: Solubilidad de micropartículas recubiertas con sangre bovino

Tratamiento	Ambiente gástrico (%)	Ambiente intestinal (%)
MRSB (10 %)	23.32 ± 6.45	82.09 ± 2.83

MRSB: Micropartículas Recubiertas con proteínas de Sangre Bovino; Promedio ± desvío estadístico (n=3).

Fuente: Elaborado por los autores, (2019).

4.4. Caracterización de aditivo nutricional (MRSBL)

En la **Tabla 7**, se presenta la determinación del contenido de hierro y proteína del aditivo nutricional, solo del tratamiento 10%.

Tabla 7: Caracterización de la MRSBL

Nutrientes	Composición	Unidades
Hierro	127.02 ± 0.01	mg /100gr
Proteína	59.12 ± 0.01	g /100gr

Promedio ± desvío estadístico (n=3).

Fuente: Elaborado por los autores, (2019).

4.5. Caracterización de las galletas fortificadas

4.5.1 Formulación de MRSBL en la elaboración de galletas fortificadas.

En esta etapa se realizaron 3 formulaciones como se puede observar en la **Tabla 8**, con distintos porcentajes de adición de MRSBL, sumando con los ingredientes de elaboración de una galleta común. Con la finalidad de realizar las comparaciones según el porcentaje de galletas. Cabe recalcar que fueron formuladas en base a 250 gr con respecto a la receta galletera.

Tabla 8: Formulación para elaboración de galletas fortificadas.

INSUMOS	FORMULACIÓN DE GALLETA CON ADICIÓN DE MRSBL (%)			
	0	5	10	15
MRSBL	0	12.5	25	37.5
Harina	250	250	250	250
Margarina	100	110	120	130
Azúcar	63	65	75	78
Leche en polvo	10	10	10	10
Huevo	50	50	50	50
Polvo de hornear	7.5	7.5	7.5	7.5
Vainilla	0.025	0.03	0.05	0.07
Saborizante sabor naranja	0.025	0.03	0.05	0.07
Anti-moho	1	1	1	1

MRSBL: Micropartículas Recubiertas con Sangre Bovino Liofilizada

Fuente: Elaborado por los autores, (2019).

4.5.2 Composición centesimal de las galletas fortificadas

En la composición centesimal, se observaron los siguientes resultados que se describen en la **Tabla 9**:

Tabla 9: Composición centesimal de las galletas fortificadas.

% Galletas	Humedad (%)	Lípido (%)	Ceniza (%)	Proteína gr/100 gr	Hierro mg/100 gr	Carbohidratos (%)	Calorías (%)
GSF (0 %)	4.53 ± 0.01 ^a	19.47 ± 0.00 ^a	2.98 ± 0.01 ^a	8.41 ± 0.14 ^a	6.17 ± 0.69 ^a	67.66 ± 0.14 ^a	488.40 ± 0.86 ^a
GF (5 %)	3.03 ± 0.01 ^b	22.03 ± 0.58 ^b	2.96 ± 0.01 ^a	9.31 ± 0.03 ^b	11.55 ± 0.58 ^b	64.72 ± 0.76 ^b	503.10 ± 0.01 ^b
GF (10 %)	2.18 ± 0.02 ^c	19.32 ± 0.01 ^a	2.96 ± 0.01 ^a	10.61 ± 0.05 ^c	12.35 ± 0.31 ^c	66.37 ± 0.07 ^c	486.59 ± 0.05 ^c
GF (15 %)	1.81 ± 0.01 ^d	18.20 ± 0.01 ^c	2.95 ± 0.01 ^a	10.97 ± 0.05 ^c	12.59 ± 0.07 ^c	67.29 ± 0.05 ^a	480.75 ± 0.08 ^d

GSF: Galletas Sin Fortificar. GF: Galletas Fortificadas; Promedio ± desvío estadístico (n=3), letras a, b; representa diferencia significativa (p>0.05) entre las medias determinadas utilizando el Test de Tukey

Fuente: Elaborado por los autores, (2019).

4.5.3 Análisis microbiológico

Los análisis microbiológicos analizados fueron mohos, levaduras, Escherichia C. y Salmonella sp; según la normativa sanitaria que establece el MINSA/DIGESA V01, (ver Anexo 4), nuestros resultados se muestran en la siguiente **Tabla 10**.

Tabla 10: Análisis microbiológico de las galletas fortificadas

GALLETA FORTIFICADA	MICROORGANISMOS	RESULTADOS
Galleta sin fortificar 0%	Mohos	1.5×10^3 (UFC*/g)
	Levaduras	< 10 (UFC*/g)
	Escherichia Coli	< 3.0 (UFC*/g)
	Salmonella sp	Ausencia en 25 gr
Galleta fortificada con 5 %	Mohos	1.3×10^2 (UFC*/g)
	Levaduras	< 10 (UFC*/g)
	Escherichia Coli	< 3.0 (UFC/g)
	Salmonella sp	Ausencia en 25 gr
Galleta fortificada con 10 %	Mohos	8.3×10^2 (UFC*/g)
	Levaduras	< 10 (UFC*/g)
	Escherichia Coli	< 3.0 (UFC*/g)
	Salmonella sp	Ausencia en 25 gr
Galleta fortificada con 15 %	Mohos	8.0×10^2 (UFC*/g)
	Levaduras	< 10 (UFC*/g)
	Escherichia Coli	< 3.0 (UFC*/g)
	Salmonella sp	Ausencia en 25 gr

*UFC: Unidades Formadoras de Colonias

Fuente: Elaborado por los autores, (2019).

4.5.4 Evaluación de atributos sensoriales de las galletas fortificadas

Esta evaluación fue realizada a 100 alumnos de tercero de secundaria entre los 14 y 15 años, a quienes se les suministró un formato de encuestas (ver Anexo 6) y muestras de galletas con adiciones diferentes de MRSBL (0, 5, 10 y 15%). Las cuales según el método fueron codificadas de la siguiente manera: 211, 301, 725, 510 respectivamente. Como se muestra en la **Tabla 11**. Por cada panelista se sirvieron una unidad de galleta por tratamiento.

Tabla 11: Codificación de galletas fortificadas con MRSBL.

CODIGO	GALLETAS	CANDIDAD FORTIFICADA POR GALLETA (gr)
221	GSF 0%	0
301	GF 5%	12.5
725	GF 15%	37.5
510	GF 10% (Pívor)	25

GSF: Galletas Sin Fortificar. GF: Galletas Fortificadas

Fuente: Elaborado por los autores, (2019).

La evaluación fue realizada en el Colegio Rosa Agustina Donayre de Morey. La evaluación fue estructurada con bases a observaciones y percepciones de los sentidos. Donde la muestra de galleta 725 fue usado como pivot, y las otras muestras de galletas (211, 301 y 510) fueron presentadas en orden aleatorio en relación al pivot. Para cada par (una de las muestras y el pivot), los participantes escribieron en el formato todos los atributos que percibieron en mayor o menor intensidad en comparación con el pivot (menos dulce, menos suave, más áspero, etc., como se muestra en el **Anexo 7**). Entre las evaluaciones de las muestras, cada panelista tuvo que beber un poco de agua y esperar 30 segundos antes de continuar con la siguiente muestra, hasta terminar con todas las muestras.

Por consiguiente, para cada atributo sensorial definido en la etapa anterior se creó una tabla de datos de la siguiente manera: cuantificamos el número de veces que el atributo fue mencionado como más intenso que el pivot (frecuencia positiva) y las veces que se mencionó como menos intenso que el pivot (frecuencia negativa). Tomando en consideración los puntajes resultantes, del cual se obtuvo una diferencia positiva y negativa (+, -), ver **Anexo 8**. A partir de la cuantificación de los datos, se realizó un análisis de correspondencia (CA) para verificar la variabilidad entre los atributos de las muestras, como se puede observar en la **Figura 3**. Donde la variabilidad total es igual a 99.9: porcentaje de variabilidad 30.39% y 69,60%.

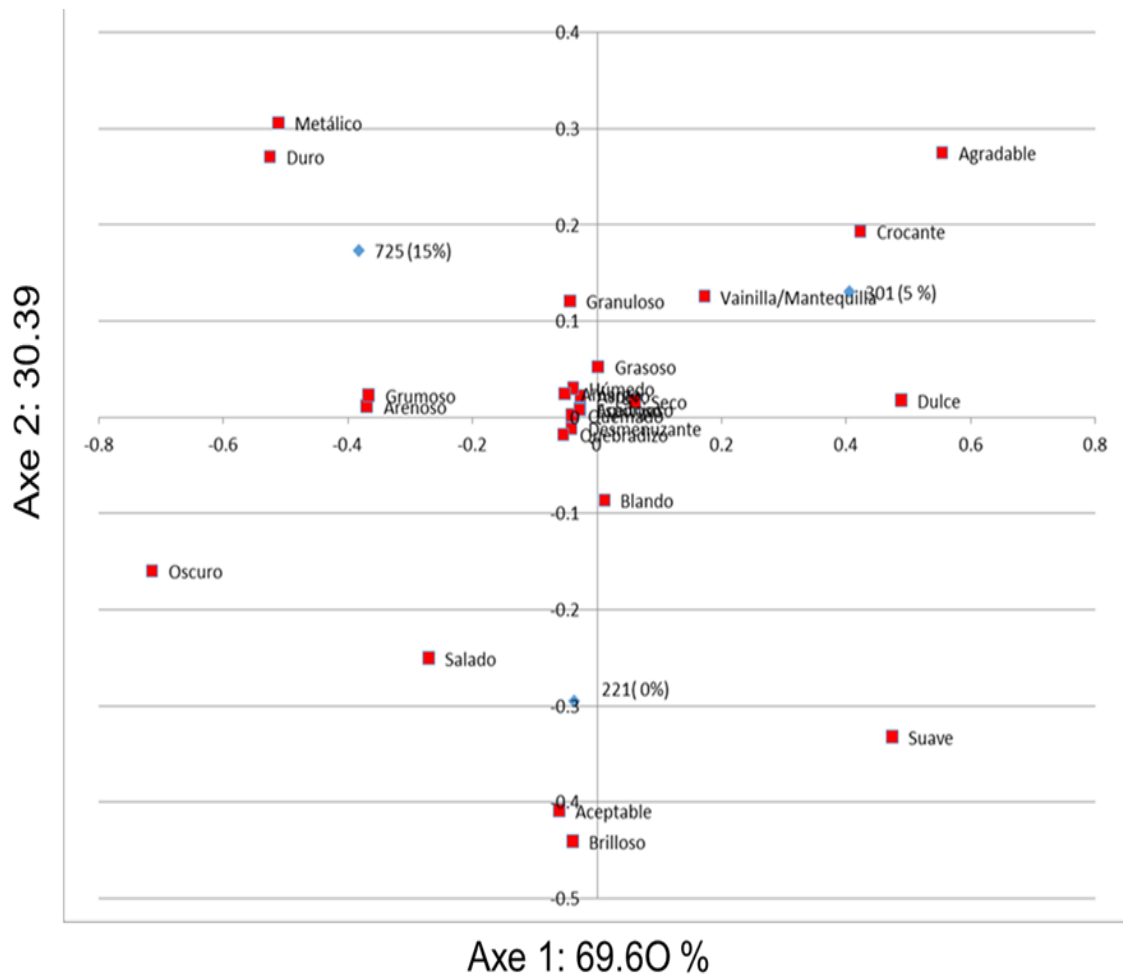


Figura 7: Proyección de Galletas Fortificadas (725, 301, 221) en el mapa CA.

Fuente: Elaborado por los autores, (2019)

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

5.1 Micropartículas de pectina conteniendo aceite de *Plukenetia volubilis L*

5.1.1 Caracterización de las MASI (Micropartículas con Aceite de Sacha Inchi)

El contenido de humedad en nuestra investigación fue de 94.60 ± 0.01 , (ver **Tabla 2**).

En investigaciones de Rengifo y Torres (2018); Castro y Gonzales (2018) reportaron el contenido de humedad de 94.73 ± 0.28 y 94.31 ± 0.10 respectivamente.

Nuestros resultados de humedad como de los autores no muestran diferencia significativa ($p > 0.05$). El alto contenido de humedad es debido a la función de retención de agua de las micropartículas (Liu, Fishman y Hicks 2007).

Nuestro contenido de ceniza fue de 0.21 ± 0.01 .

Según Rengifo y Torres (2018); y Castro y Gonzales (2018), obtuvieron 0.24 ± 0.01 y 0.23 ± 0.00 de contenido de minerales respectivamente.

Según nuestros datos y en comparación con los investigadores no hay diferencia significativa ($p > 0.05$), por lo que en nuestras micropartículas existe cierta presencia de minerales.

También determinamos el contenido de lípidos, obteniendo 39.23 ± 0.01 , en donde hubo una diferencia estadística significativa ($p < 0.05$). Y con respecto a la EE cuyos resultados fueron 88.26 ± 0.04 , con diferencia estadística significativa ($p < 0.05$). Es decir que con relación al 100% del aceite de *Plukenetia volubilis L* teórico, el 88% de aceite será absorbido en la digestión, y por ende la ganancia en el beneficio de los nutrientes.

5.1.2 Morfología y tamaño

El tamaño promedio obtenida de las micropartículas húmedas de *Plukenetia volubilis L*. obtenidas por GI fue de $121.18 \mu\text{m} \pm 1.90$, ver **Tabla 3**.

En estudios realizados por Rengifo y Torres (2018), se observó una variación de tamaños, ellos reportaron $202.75 \mu\text{m}$. Por su parte, Castro y

Gonzales (2018) reportaron 193.87 μm . La variación del tamaño, puede ser debido al tiempo de preparación para este análisis, ya que las micropartículas en su estructura presentan porosidad y como consecuencia se presenta liberación de algunas sustancias presentando un tamaño un poco más pequeño en comparación con los autores ya mencionados.

Con respecto a lo observado morfológicamente en la **Figura 4** se puede ver el recubrimiento y la conservación del principio activo (aceite de *Plukenetia volubilis* L.) de una manera eficiente, una clara referencia de que el método por Gelificación Iónica es adecuado para la producción de micropartículas con pectina ya que cumple con la función de encapsular sustancias bioactivas.

5.2 Recubrimiento de micropartículas por interacción electrostática

5.2.1 Caracterización de las micropartículas recubiertas con sangre bovino

Las MASI fueron recubiertas con sangre bovino en estado natural, en distintas concentraciones de 4, 6, 8 y 10 %. La cantidad de humedad fue de 89.59 ± 0.00 ; 87.17 ± 0.05 ; 86.13 ± 0.11 ; 83.21 ± 0.00 , respectivamente. Con diferencia estadística significativa ($p < 0.05$), ver **Tabla 4**.

Según Rengifo y Torres (2018) reportaron que el contenido de humedad fue decreciendo al incrementar la concentración de proteína en solución, independientemente del tipo de variable de 2, 4, 6, 8, 10 % en relación a la concentración de sangre bovino ellos reportaron 89.88 ± 0.33 ; 85.94 ± 0.17 ; 75.98 ± 0.65 ; 74.60 ± 0.86 de humedad respectivamente.

Por lo tanto, en ambas investigaciones se muestran las mismas características físicas con respecto a humedad en las micropartículas recubiertas, donde a mayor volumen de sangre bovino, la humedad va disminuyendo.

Por otro lado, los resultados de ceniza fueron 0.78 ± 0.00 ; 0.80 ± 0.00 ; 0.83 ± 0.00 ; 0.85 ± 0.00 cuyas variables 4, 6, 8, y 10 % respectivamente, nuestros resultados muestran diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

En los resultados observamos un crecimiento constante, esto es debido a que probablemente a mayor sea el volumen de sangre bovino, mayor es la materia orgánica presente.

En la caracterización de lípidos de MASI podemos decir que al igual que los resultados de humedad, van decreciendo en relación al incremento del volumen de la materia prima; esta característica es debido a que las MASI tienen en su estructura poros, que pudieran liberar el contenido de lípidos (Sezer y Akbuğa 1999).

En los análisis de proteínas, se comprobó que a mayor concentración de sangre bovino en solución mayor es el contenido de este.

Finalmente en relación a la determinación de hierro, obtuvimos 75.26 ± 0.01 ; 121.71 ± 0.01 ; 123.21 ± 0.01 ; 127.02 ± 0.01 , observando que las cantidades de Hierro presente en las micropartículas siempre va en aumento del 4% al 10 %, cuyos resultados presentan diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

5.2.2 Morfología y tamaño

El tamaño de las micropartículas recubiertas con proteínas de sangre bovino fue de $114.31 \mu\text{m} \pm 1.94$, en donde se muestra una disminución en el tamaño de la micropartícula, ver Tabla 5.

Según investigaciones de Rengifo y Torres (2018), reportan un tamaño de $156.73 \pm 10.54 \mu\text{m}$, por lo que se notó una diferencia significativa ($p < 0.05$).

Según las variaciones de los datos, pueden atribuirse a la presión de aire emitida por el atomizador, a la humedad, a la estructura del polisacárido o a la concentración de sangre en solución. Ellos utilizaron 200 ml de solución acuosa de sangre bovino y esta investigación 300ml.

En la **Figura 5** observamos dos características nuevas en la morfología de las micropartículas, una coloración de color marrón, y una fina capa que cubre aún más al principio activo. En estudios de Rengifo y Torres (2018), se describió características similares mostrando una superficie rugosa por la proteína que fue adsorbida. Así mismo, se observó una coloración marrón intensa. Por lo tanto, el método de GI, pudiera servir como una estrategia de enfoque alimentario.

5.2.3 Microestructura de las micropartículas recubiertas con sangre bovino

Las imágenes obtenidas por microscopía electrónica de barrido muestran que las micropartículas aparentemente soportaron el proceso de secado. Y se muestran alta performance y rugosidad en la superficie, es posible observar proteínas desplegadas en la superficie. Resultados semejantes fueron observados en micropartículas de pectina conteniendo aceite de modelo en Tello et al, (2015).

5.3 Solubilidad de proteína de las micropartículas

La solubilidad de proteína desprendida fue realizada del mayor porcentaje de proteína (10%). En la absorción a nivel gástrico obtuvimos 23.32 ± 6.45 , ver **Tabla 6**.

Según Rengifo y Torres (2018), reportaron 35.80 ± 1.34 , en la absorción gástrica de sus micropartículas.

Nuestros resultados en esta primera etapa de digestibilidad fueron favorables, ya que indican que las micropartículas son resistentes a las condiciones gástricas y no hay riesgo de alguna pérdida mayor antes de la absorción intestinal.

Cinco horas más tarde, se obtuvieron los resultados de las condiciones intestinales siendo de 82.09 ± 2.83 . En investigaciones de Rengifo y Torres (2018), reportaron 95.16 % en esta etapa el desprendimiento de nuestras micropartículas son menores. Sin embargo, estos resultados son deseables para la aplicación de proteínas en numerosas formulaciones de alimentos.

Dicho lo anterior decimos que las micropartículas recubiertas con proteínas de sangre bovino obtenidas por el método de gelificación iónica pueden ser utilizadas con fines alimentarios, y así mejorar la calidad nutricional de los alimentos.

5.4 Caracterización de aditivo nutricional (MRSBL)

En esta etapa de obtención del aditivo nutricional, se tomó en cuenta el tratamiento 10 % ya que como observamos en la **Tabla 7**, tiene una mayor absorción de proteína. En relación a la cantidad de proteína fue de 59.12gr/100 gr, ver **Tabla 7**.

según otras investigaciones Chang y Panduro (2017) reportaron 82.22 gr/100gr, por otro lado Galarza y Cairo (2013) obtuvieron 91,8 g/100 g, cabe recalcar que la diferencia de cantidades se debe a los distintos métodos de obtención de aditivos nutricionales como temperatura, método de recolección y la preparación de las materias primas, ya que ambos autores usaron sangre bovino en su forma natural y líquida, y en esta investigación se usaron micropartículas de aceite de *Plukenetia volubilis* L recubiertas con sangre bovino, y el método de secado fue mediante liofilización.

Por otro lado, en la **Tabla 7** podemos observar que el contenido de Hierro fue de 127.02 mg /100gr. Con diferencia significativa ($p < 0.05$)

En relación con los autores antes mencionados ellos reportaron 177 mg/100g y 210,39 mg/100 g respectivamente, por otro lado Lázaro (2017) reportó 224.17 mg/gr de contenido de Hierro.

De los contenidos de hierro observados entre diversos trabajos, pueden ser debido a diferentes metodologías empleadas para la determinación tanto de hierro y de preparación del aditivo fortificado.

5.5 Caracterización de las galletas fortificadas

5.5.1 Formulación de MRSBL en la elaboración de galletas fortificadas

Para la obtención de MRSBL se empleó el método de liofilización, al momento de modificar la formulación galletera se introdujo distintas cantidades en los insumos, en el caso de margarina, azúcar y saborizante, ya que las cantidades diferentes ayudaran a camuflar el sabor y olor característico a Hierro presente en las MRSBL. La propuesta de aumentar los ingredientes mencionados fue después de innumerables pruebas preliminares. A continuación analizaremos la importancia de incrementar las cantidades de algunos ingredientes:

En la **Tabla 8** podemos observar que se realizaron 3 formulaciones con distintos porcentajes de adición de MRSBL 5, 10 y 15 %, además de una formulación sin adición, con la finalidad de realizar las comparaciones correspondientes entre dichas formulaciones. Los insumos que no fueron necesario hacer un ajuste de cantidades son harina, (ya que de esta partimos para realizar la cantidad porcentual de adición de las MRSBL), leche en polvo,

huevos, polvo para hornear, y anti-moho, este último muy indispensable para preservar la vida útil de la galleta.

Por otro lado, están los insumos que fueron necesarios los ajustes de cantidades como margarina, azúcar y saborizante, si bien es cierto las cantidades que podemos observar en la formulación sin adición (variable 0%), son las que en un principio se tomaron en cuenta para la producción de las galletas fortificadas, sin cambiar nada con respecto a las cantidades de los insumos. Sin embargo, a raíz de la primera prueba observamos que tanto la textura y el olor de las galletas no fueron favorable para la presentación de un producto de calidad que queríamos presentar a la población. El primer cambio que decidimos fue el de aumentar la cantidad de margarina para mejorar la textura dura que observamos en las variables 10 y 15%, que a medida que adicionamos mayor cantidad de MRSBL más seco y duro era la masa, por lo tanto decidimos aumentar la cantidad de margarina para mejorar la textura. Con respecto al incremento de los otros dos insumos se hizo, para mejorar el sabor y olor, en un principio antes de realizar el ajuste de estos ingredientes, se observó que el sabor para las variables 10 y 15%, fueron un sabor y aroma metálico, al igual que en el caso anterior decidimos aumentar las cantidades. Siendo por tanto una estrategia fundamental que ayudó en el análisis sensorial realizado, para así tener una mayor aceptación por parte del consumidor.

Y con respecto a la formulación, 250 gr de harina producen 35 unidades de galletas fortificadas y cada galleta tubo un peso de 12 gramos.

5.5.2 Composición centesimal de las galletas fortificadas

La humedad en la galletas fortificadas fueron de 4.53 ± 0.01 (0%), 3.03 ± 0.01 (5%), 2.18 ± 0.02 (10%), 1.81 ± 0.01 (15%). Como podemos observar presenta diferencia significativa ($p < 0.05$), ver **Tabla 9**.

La humedad va decreciendo según porcentaje adicional de MRSBL; esto es debido a que a mayor adición, más seco es la masa y por ende tiene menos humedad, otras de las razones de las diferencias de humedad, es en el tiempo de cocción, para las variables 0 y 5 % se usaron 18 min a 125 °C, en cambio para el 10 y 15% se usaron la misma temperatura pero a 25 minutos de cocción. Sin embargo se encuentra dentro de los límites permitidos de la

Norma Sanitaria del Ministerio de Salud del Perú (MINSA 2011), ya que el límite permitido es del 12% de humedad en una galleta. (Ver **Anexo 3**).

Los lípidos de la **Tabla 9**, van disminuyendo de 22.03 ± 0.58 a 18.20 ± 0.01 . Por otro lado, entre las variables 0% (19.47 ± 0.00) y 10% (19.32 ± 0.01) no hay alguna diferencia significativa ($p > 0.05$).

En el estudio de Chang y Panduro (2017), se observó una disminución en el 7% de fortificación, pero entre los tratamientos 0% y 3%, igual que nuestra investigación. Chang y Panduro (2017), mencionan que la disminución en el porcentaje de grasa puede ser debido al aumento de proteína al añadir mayor porcentaje de sangre bovino en polvo.

En los valores de cenizas alcanzado en las galletas no hubo diferencia significativa ($p > 0.05$), como podemos ver en la **Tabla 9** todos los resultados se mantuvieron en 2%. Sin embargo los resultados se encuentran dentro de los límites permitidos de la Norma sanitaria del Ministerio de salud del Perú (MINSA 2011). Ver **Anexo 3**.

La proteína observada en la **Tabla 9** demuestran un ligero incremento de proteína, entre las variables 10 y 15 %, sin embargo si se obtiene una gran diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los porcentajes 0% y 5%; demostrando que a mayor adición de MRSBL, mayor cantidad de proteínas.

Tanto Chang y Panduro (2017), Galarza y Cairo (2013) y Lázaro (2017), llegaron a la misma conclusión que a mayor fortificación, el rango de proteínas se incrementa en las galletas fortificadas, esto es debido a que las proteínas presentes en las materias primas estudiadas, tienen un alto valor proteico.

Los valores de hierro en las galletas fortificadas reportadas en la **Tabla 9** muestran diferencia significativa ($p < 0.05$), al igual que en proteínas, se observan un ligero incremento entre las variables 5%, 10% y 15 %, a excepción del 0%.

Según Chang y Panduro (2017), el rango de hierro alcanzado en todos los tratamientos de las galletas fue desde 30 mg hasta 51 mg por 100 g de galleta, y el mayor valor observado fue a 10% de fortificación; igual que en nuestra investigación el hierro se incrementa según las adiciones. El aumento

en el porcentaje de hierro puede ser debido al alto valor de hierro que posee la sangre bovino (Ofori y Hseih, 2011).

Los resultados de los carbohidratos alcanzados en las variables estudiadas, fueron aumentando según la adición. Sin embargo, no hubo diferencia estadística significativa ($p>0.05$) entre el 0% y el 15 %, los carbohidratos no variaron en las galletas sin fortificar. Por lo que no tenemos una respuesta clara en el contenido de carbohidratos.

El rango de calorías alcanzado en todos los tratamientos de las galletas muestran una diferencia significativa ($p<0.05$) desde la variable 0% (488 kcal), hasta 15 % (480 kcal), según los resultados obtenidos, el 5% es la variable que tiene mayor cantidad de calorías, con 503.10 kcal, por lo que decimos que a mayor incremento de fortificación, menor es la cantidad de energía de la galleta fortificada.

En la investigación de Chang y Panduro (2017), también mencionan que existió una disminución en las cantidades de calorías contenidas en sus galletas.

5.5.3 Análisis microbiológicos

Los resultados del análisis microbiológico de la galleta indican que tanto el método de obtención del aditivo nutricional (MRSBL), la elaboración y almacenamiento de las galletas fueron las condiciones adecuadas, cuyos resultados obtenidos al comparar con la Norma Sanitaria (MINSA 2010), se encuentran dentro del requerimiento establecido (ver **Anexo 4**), cabe indicar que el análisis microbiológico de la galleta se realizó a los 7 días de salir del horneado (ver **Anexo 5**), llegando a la conclusión que la galleta fortificada elaborada y presentada en esta investigación cumplió con ser un producto inocuo y de calidad.

5.5.4 Evaluación de atributos sensoriales de las galletas fortificadas

Según el promedio de puntajes de los atributos sensoriales detallada por parte de los alumnos de 14 y 15 años de edad se encontró que sí hay diferencia significativa (valor $p=0,001$) entre las muestras de las galletas con nivel de fortificación de 0, 5, 10 y 15%.

Las muestras 0% y 5% tuvieron atributos similares con respecto a la apariencia y textura de las galletas ya que presentaron ser brillosas y crocantes, las cuales fueron mayores a la muestra 15% quien fue más duro y oscuro, esto puede ser atribuido a los factores de humedad, a las altas temperaturas que fueron sometidas y a una adición mayor de sangre bovino para el recubrimiento de la micropartículas en la valoración del 15%. En cuanto a los atributos de sabor y aroma el 15 % presentó un alto sabor amargo y con olor metálico, frente a 0% y 5%, el cual explica cómo influye la cantidad de sangre con la que es recubierta la micropartícula, siendo percibida con mayor facilidad frente a las últimas muestras ya mencionadas. La muestra 5% presentó sabor agradable, mejor aroma y textura; sin embargo, los atributos crocante, dulce, suave fueron mayores en relación a las muestras 0% y 15%. Por lo tanto, la galleta con adición de 5% de micropartículas, demostró que influye positivamente en el perfil sensorial del producto.

En investigaciones de Chang y Panduro (2017), presentaron al tratamiento 7% como el más agradable y aceptable por los jurados, ya que las galletas mostraron mayor aceptabilidad en apariencia y sabor frente a sus tratamientos 3% y 10%. Según Lázaro (2017), su galleta nutricional a base de harina de trigo y harina de sangre bovina al ser evaluada la aceptabilidad de los tres tratamientos (20%, 25% y 30%), el tratamiento 30% fue el de mejor aceptación. De acuerdo a los autores ya mencionados podemos interferir que la aplicación de sangre bovino en fortificación de alimentos es un hecho posible y adecuado.

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

Las micropartículas de pectina producidas por gelificación iónica conteniendo aceite de *Plukenetia volubilis* L. (sancha inchi), como material bioactivo muestran alta eficiencia de encapsulación, donde sumado a una nueva capa polisacárido-proteína presentan altos valores de proteínas y hierro.

Las micropartículas recubiertas con proteínas de sangre bovino presentan resistencia a condiciones gastrointestinales simuladas, donde el 80 % del contenido de proteína son desprendidas para su futura absorción, demostrando nuevamente que el método de gelificación iónica pueden ser utilizada con fines alimentarios, mejorando la calidad nutricional de los alimentos, y reduciendo pérdidas de nutrientes antes de la absorción intestinal.

La composición de las galletas fortificadas con micropartículas de pectina con aceite de *Plukenetia volubilis* L. y proteínas de sangre bovino presentó valores óptimos de humedad, ceniza, proteína, lípido, valor calórico, carbohidrato y hierro.

Las galletas fortificados con 0, 5, 10, y 15% cumplieron con los criterios microbiológicos establecidos por la Norma Técnica del MINSa.

De las diferentes adiciones de micropartículas con aceite de Sancha inchi y proteínas de sangre bovino (0, 5, 10 y 15%) para la elaboración de las galletas, el tratamiento que más prevaleció fue el 5%, según la diferencia en el contenido de micropartículas utilizadas, influye positivamente en el perfil sensorial del producto. En cuanto al sabor fue mayor en ser agradable. Y aumenta la sensación de crocantes de las mismas. Sin embargo, utilizar 15% como adición de fortificación podría ser perjudicial en la apariencia, aroma y sabor de las galletas, debido a que éstas presentaron atributos en su mayoría negativos.

CAPITULO VII: RECOMENDACIONES

Desarrollar nuevos productos que puedan ser realizados con micropartículas liofilizadas, ofreciendo nuevas alternativas dentro del mercado de productos fortificados.

Realizar nuevos estudios sobre el efecto de galleta fortificada con micropartículas recubiertas con proteína de sangre bovino en los niveles de hemoglobina de las personas.

Promocionar los productos fortificados como alimentación complementaria en las personas mayores de 1 años.

CAPITULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN

- A.O.A.C., 2012. *Official Methods of Analysis*. USA: s.n.
- ALLEN, L., DE BENOIST, B., DARY, O. y HURREL, R., 2017. *Guías para la fortificación de alimentos con micronutrientes*. S.I.: s.n. ISBN 9789243594019.
- ALVARADO, J. de D., 2013. *Principios de Ingeniería Aplicados en Alimentos*. S.I.: s.n. ISBN 9789942115072.
- ANSON, M. y MIRSKY, A., 1930. PROTEIN COAGULATION AND ITS REVERSAL PREPARATION OF INSOLUBLE GLOBIN , SOLUBLE GLOBIN. *The Journal of General Physiology*, pp. 8.
- AZA, M. y MENDEZ, M., 2011. *EXTRACCIÓN DE PECTINA DE NOPAL (Opuntia Ficus Indica) POR MEDIO ÁCIDO APLICANDO DOS NIVELES DE TEMPERATURA, TIEMPO Y ESTADOS DE MADUREZ*. S.I.: UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE.
- BARDÓN, R., BELMONTE, S., FÚSTER, F., MARINO, E. y RIBES, M., 2010. *Características de Calidad, actitudes en y percepción del consumidor* [en línea]. MADRID: s.n. Disponible en: <http://www.madrid.org/cs/Satellite?blobcol=urldata&blobheader=application/pdf&blobheadername1=Content-Disposition&blobheadervalue1=filename=Panboller09+en+baja.pdf&blobkey=id&blobtable=MungoBlobs&blobwhere=1310869609101&ssbinary=true>.
- BELTRÁN, C. y PERDOMO, W., 2007. *Aprovechamiento De La Sangre De Bovino Para La Obtencion De Harina De Sangre Y Plasma Sanguineo En El Matadero Santa Cruz De Malambo Atlantico*. S.I.: UNIVERSIDAD DE LA SALLE.
- BLIGH, E.G. y DYER, W.J., 1959. A rapid method of total extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, vol. 37, no. 8, pp. 911-917.
- BOCCIO, J. y MONTEIRO, J.B., 2004. Fortificación de alimentos con hierro y zinc pros y contras desde un punto de vista alimenticio y nutricional. *Revista de Nutricao*, vol. 17, no. 1, pp. 71-78. ISSN 14155273.
- BONILLA, A., 2016. Fortificación de alimentos en américa latina y el caribe. *Universidad de Costa Rica*, pp. 54.
- BRACCINI, I. y PÉREZ, S., 2001. Molecular basis of Ca²⁺-induced gelation in alginates and pectins: The egg-box model revisited. *Biomacromolecules*, vol. 2, no. 4, pp. 1089-1096. ISSN 15257797. DOI 10.1021/bm010008g.
- CASTELLANOS, L. y RODRIGUEZ, M., 2015. El efecto de omega 3 en la salud humana y consideraciones en la ingesta. *Rev Chil Nutr*, vol. 42, pp. 6.
- CASTRO, F. y GONZALES, N., 2018. *Encapsulación de aceite de Plukenetia volubilis L., Mauritia flexuosa por gelificación iónica y evaluación de la estabilidad oxidativa*. S.I.: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana.
- CASTRO, M. y VINUEZA, M., 2011. *Manual para el Manejo Adecuado de los Residuos Sólidos Generados en el Camal Municipal de Riobamba*. S.I.: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- CERÓN A., BUCHELI M., OSORIO O Elaboración de galletas a base de harina de papa de la variedad Parda Pastusa (Solanum tuberosum): Corporación Universitaria Lasalle, Grupo de Investigación Tecnologías Emergentes en Agroindustria (TEA).
- CHANG, I. y PANDURO, X., 2017. *Sangre bovina en polvo para fortificación de galletas* [en línea]. S.I.: Universidad Nacional de la Amazonia Peruana.

- Disponible en: <http://www.albayan.ae>.
- CHÚA, C., 2012. El hierro en la nutrición humana. *fao*.
- DARY, O. y HAINSWORTH, M., 2008. The Food Fortification Formulator: Technical Determination of Fortification Levels and Standards for Mass Fortification. *Food Fortification Formulator*.
- DEL HOYO, M.P., 2012. Valorización de sangre de mataderos mediante el desarrollo de nuevos materiales y productos. , pp. 319.
- DOCUMENT, K., 2015. *Evaluación Nutricional y sensorial de galletas fortificadas con hígado de res*. S.I.: Universidad de Piura.
- ELIAS, M.F., 2014. Industria y Fortificación de Alimentos: Una Historia de suceso. *Food Ingredients Brasil*, vol. 30, pp. 28-30.
- ELMER, C., KARACA, A.C., LOW, N.H. y NICKERSON, M.T., 2011. Complex Coacervation in Pea Protein Isolate – chitosan mixtures. *Food Research International*, vol. 44, no. 5, pp. 1441-1446. ISSN 0963-9969. DOI 10.1016/j.foodres.2011.03.011.
- FUNAMI, T., NAKAUMA, M., ISHIHARA, S., TANAKA, R., INOUE, T. y PHILLIPS, G., 2011. Food Hydrocolloids Structural modifications of sugar beet pectin and the relationship of structure to functionality. *Food hydrocolloids*, vol. 25, no. 2, pp. 221-229. ISSN 0268-005X. DOI 10.1016/j.foodhyd.2009.11.017.
- GALARZA, M.R. y CAIRO, A.Y., 2013. Calidad nutricional de un producto extruido fortificado con dos niveles de hierro proveniente de harina de sangre bovina. *Revista ECIPerú*, vol. 10, no. 1, pp. 65-72.
- GIBSON, R.S., YEUDALL, F., DROST, N., MTITIMUNI, B. y CULLINAN, T., 1998. Dietary interventions to prevent zinc deficiency. *American Society for Clinical Nutrition*, vol. 68, no. 7, pp. 484-487.
- GUTMAN, G., LAVARELLO, P. y GROSSI, J., 2006. La Biotecnología Y Las Industrias De Ingredientes alimentarios en argentina. , vol. 1, no. 3, pp. 121-130.
- HUAMANÍ, P.L.T. y FLORES, E.B., 2009. Estrategias de comercialización del sachá inchi. *Rev. de Investigación de la Fac. de Ciencias Administrativas - UNMSM*, vol. 12, no. 23, pp. 37-49.
- INEI, 2015. Encuesta Demográfica y de Salud Familiar-ENDES. . LIMA, PERU:
- KING, A.H., 1988. Flavor Encapsulation with Alginates. *Kelco Division of Merck and Company*, vol. 11, no. 6, pp. 122-125.
- LAZARO, C., 2017. *Evaluación de la aceptabilidad de galletas nutricionales fortificadas a partir de harina de sangre bovina para escolares de nivel primario que padecen anemia ferropénica*. S.I.: Escuela Profesional de Ingeniería de Industrias Alimentarias.
- LEWINSKA, D., BUKOWSKI, J., KOZUCHOWSKI, M., KINASIEWICZ, A. y WERYNSKI, A., 2008. Electrostatic Microencapsulation of Living Cells. *Biocybernetics and Biomedical Engineering*, vol. 28, no. 2, pp. 69-82.
- LI, Y.O., 2016. Nano-Microencapsulation Technology and Applications in Fortified and Functional Foods. En: T.& F. GROUP (ed.), *Functional Food Ingredients and Nutraceuticals*. 2. usa: s.n., pp. 54.
- LIU, L., FISHMAN, M.L. y HICKS, K.B., 2007. Pectin in Controlled drug delivery – a review. *Cellulose [en línea]*, vol. 14, no. 1, pp. 15-24. ISSN 0969-0239. DOI 10.1007/s10570-006-9095-7. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s10570-006-9095-7>.
- LOPEZ, L. y VILLALTA, M., 2009. *Propuesta De un Metodo Para La Elaboracion De Microesferas Matriciales De Acido Acetilsalicilico Utilizando*

- Alginato De Sodio Por La Tecnica De Gelificacion Ionica*. S.l.: s.n.
- LOZANO, M., 2009. *Obtención de Microencapsulados funcionales de zumo de opuntia stricta mediante secado por atomización*. S.l.: s.n.
- MARTÍNEZ, J.F., CALDERÓN, G. y BARASCOUT, L., 2010. *Reutilización de lactosuero para fortificación de galleta tipo escolar e incremento del contenido nutricional con adición de micronutrientes (vitaminas B1, B2, B6, B12 y Fumarato Ferroso)*. S.l.: Universidad de San Carlos de Guatemala.
- MCCLEMENTS, D.J., 1999. *Food Emulsions: Principles, Practices, and Techniques*. 3. S.l.: s.n. ISBN 9781498726696.
- MCCLEMENTS, D.J., DECKER, E.A. y WEISS, J., 2007. Emulsion-Based Delivery Systems for Lipophilic Bioactive Components. *Journal of Food Science*, vol. 72, no. 8, pp. 109-124. ISSN 00221147. DOI 10.1111/j.1750-3841.2007.00507.x.
- MINSA, 2010. Norma Sanitaria para la Fabricación , Elaboración y Expendio de Productos de Panificación , Galletería y Pastelería. . Lima/Perú:
- MINSA, 2011. Norma Sanitaria para la Fabricación , Elaboración y Expendio de Productos de Panificación , Galletería y Pastelería RM N ° 1020-2010. *Ministerio de Salud*, pp. 151.
- MIRABALLES, M., HODOS, N. y GÁMBARO, A., 2018. Application of a Pivot Profile Variant Using CATA Questions in the Development of a Whey-Based Fermented Beverage. *Beverages*, vol. 4, no. 11, pp. 1-10. DOI 10.3390/beverages4010011.
- MOZZI, F., GERBINO, E., FONT DE VALDEZ, G. y TORINO, M.I., 2009. Functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria in an in vitro gastric system. *Journal of Applied Microbiology*, vol. 107, no. 1, pp. 56-64. ISSN 13645072. DOI 10.1111/j.1365-2672.2009.04182.x.
- MULLEN, A.M., ÁLVAREZ, C., POJIÉ, M., HADNADEV, T.D. y PAPAGEORGIU, M., 2015. *Classification and target compounds*. Academic P. San Diego: s.n. ISBN 9780128003510.
- NONTOL, J.E., 2016. *Aprovechamiento de la sangre como subproducto del beneficio de animales de abasto* [en línea]. S.l.: s.n. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/7511>.
- OFORI, J.A. y HSIEH, Y.P., 2012. The Use of Blood and Derived Products as Food Additives. En: I. CHINA (ed.), *Food Additives*. China: s.n., pp. 256.
- ORREGO, C., 2008. *Congelación y Liofilización de Alimentos* [en línea]. S.l.: s.n. ISBN 1564142868. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajps.2015.10.025><https://doi.org/10.1016/j.al.2017.11.019><http://link.springer.com/10.1208/s12249-017-0768-3><http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9781845692162500244><http://www.bdigital.unal.edu.co/7837/1/978>.
- PARZANESE, M., 2012. Tecnologías para la Industria Alimentaria Liofilización de alimentos. *Alimentos argentinos* [en línea], pp. 1-12. Disponible en: www.alimentosargentinos.gob.ar.
- PATIL, J.S.; KAMALAPUR, M.V.; MARAPUR, S.C.; KADAM, D.V. (2010). Ionotropic gelation and polyelectrolyte complexation: The novel techniques to design hydrogel particulate Sustained, modulated drug delivery system: a review. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 5 (1), 241 – 248
- PEDROZA, R., 2002. Alimentos Microencapsulados : Particularidades de los Procesos para la Microencapsulación de Alimentos para Larvas de Especies Acuícolas. *Ruth Pedroza Islas Universidad Iberoamericana*.

- Departamento de Ingenierías (Tecnología de Alimentos)*, vol. 0, pp. 10.
- PLASCHINA, I.G., BRAUDO, E.E. y TOLSTOGUZOV, V.B., 1976. Circular-Dichroism Studies of Pectin Solutions. *Carbohydrate Research*, vol. 60, pp. 1-8.
- RAMÍREZ, J., 2006. *Liofilización de Alimentos*. S.l.: s.n.
- RASCÓN C., A., MARTÍNEZ L., A.L., CARVAJAL M., E. I., MARTÍNEZ R., K.G. y CAMPA M., A.C., 2016. Gelificación Iónica de Pectina de Bajo Grado de Esterificación Extraída de Manzanas Inmaduras de Raleo. *Rev. Fitotec. Mex. Vol.*, vol. 39, no. 1, pp. 17-24.
- RENARD, C.M.G. y JARVIS, M.C., 1999. Acetylation and methylation of homogalacturonans 2: Effect on ion-binding properties and conformations. *Carbohydrate Polymers*, vol. 39, no. 3, pp. 209-216. ISSN 01448617. DOI 10.1016/s0144-8617(99)00015-6.
- RENGIFO, E. y TORRES, A., 2018. *ADSORCIÓN DE PROTEÍNA EN HIDROGELES: PRODUCCIÓN, CARACTERIZACIÓN Y SIMULACIÓN GASTROINTESTINAL in vitro*. S.l.: Universidad Nacional de la Amazonia Peruana.
- RINAUDO, M., 1996. Physicochemical properties of pectins in solution and gel states. *Progress in Biotechnology*. S.l.: s.n., pp. 21-33.
- SALINAS-PIÉLAGO, J.E., VEGA-DIENSTMAIER, J.M. y ROJAS-OBLITAS, M., 1998. Efecto de las galletas fortificadas con hierro heme sobre el estado intelectual en preescolares. *Revista de Neurología*, vol. 27, no. 157, pp. 400-404. ISSN 02100010. DOI 10.33588/rn.27157.98133.
- SEZER, A.D. y AKBUGA, J., 1999. Release characteristics of chitosan treated alginate beads: II. Sustained release of a low molecular drug from chitosan treated alginate beads. *Journal microencapsulation*,
- SEZER, A.D. y AKBUGA, J., 1999. Release characteristics of chitosan treated alginate beads: I. Sustained release of a macromolecular drug from chitosan treated alginate beads. *Journal of Microencapsulation*, vol. 16, no. 2, pp. 195-203. ISSN 02652048. DOI 10.1080/026520499289176.
- TELLO, F., FALFAN-CORTÉS, R.N., MARTINEZ-BUSTOS, F., MARTINS DA SILVA, V., HUBINGER, M.D. y GROSSO, C., 2015. *Alginate and pectin-based particles coated with globular proteins: Production, characterization and anti-oxidative properties*. 2015. S.l.: s.n.
- TITO, H. y BAUTISTA, E., 2009. Estrategias de Comercialización del Sacha Inchi. *Rev. de investigación de la Fac. de Ciencias Administrativas UNMSM*, vol. 12, pp. 37-49.
- TORRES, C., 2012. *Valoración de la deficiencia de hierro en mujeres embarazadas que acuden al Policlínico Maternidad Municipal de la ciudad de Loja* [en línea]. S.l.: s.n. Disponible en: <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/handle/123456789/6368>.
- THUILLIER, B., VALENTIN, D., MARCHAL, R., y DACREMONT, C., 2015. Pivot profile: A new descriptive method based on free description. *Food Quality and Preference*, 42, 66-77. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2015.01.012>.
- UNIVERSIDAD DE GRANADA, 2018. Secado por Liofilización. *Prácticas Docentes en la Facultad de Ciencias* [en línea], pp. 4. Disponible en: <http://fciencias.ugr.es/practicadocentes/wp-content/uploads/guiones/SecadoPorLiofilizacion.pdf>.
- WEISS, J., TAKHISTOV, P. y MCCLEMENTS, D.J., 2006. Functional materials in food nanotechnology. *JOURNAL OF FOOD SCIENCE*, vol. 0, pp. r1--

- r10. DOI 10.1111/j.1750-3841.2006.00195.x.
- WHELEHAN, M. y MARISON, I., 2011. Microencapsulation using Vibrating Technology. *Journal of Microencapsulation*, vol. 28, no. 8, pp. 669-688. ISSN 02652048. DOI 10.3109/02652048.2011.586068.
- YE, A., 2008. Complexation between milk proteins and polysaccharides via electrostatic interaction: Principles and applications - A review. *International Journal of Food Science and Technology*, vol. 43, pp. 406-415. DOI 10.1111/j.1365-2621.2006.01454.x.
- ZANQUI, A.B., DA SILVA, C.M., DE MORAIS, D.R., SANTOS, J.M., RIBEIRO, S.A.O., SANTOS, J.M., OENNING, S.A.R., EBERLIN, M.N., FILHO, L.C., VISENTAINER, J.R., MARQUES, G.S.T. y MATSUSHITA, M., 2016. Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L .) oil composition varies with changes in temperature and pressure in subcritical extraction with n-propane. *Industrial Crops & Products*, vol. 87, pp. 64-70. ISSN 0926-6690. DOI 10.1016/j.indcrop.2016.04.029.

ANEXOS

Anexo 1. Instrumentos de recolección de datos

N°	MATERIALES/REACTIVOS	LOTE	% PUREZA	MARCA
1	Pectina	-	-	-
2	Sangre Bovina	-	-	-
3	Aceite de <i>Plukenetia volubilis</i> L (2%)	-	-	-
4	Ácido clorhídrico (HCl)	K47688817611	37%	Merk
5	Ácido cítrico	K49876589792	99%	Merk
6	Ácido sulfurico	K25748975432	PD	Merk
7	Bicarbonato de Sodio (NaHCO ₃)	SB86432167	PD	Merk
8	Cloroformo (CHCL ₃)	K49554945743	PD	Merk
9	Cloruro de calcio Anhidro	DD	PD	Merk
10	Citrato de sodio	TS258904563	3%	Merk
11	Cloruro de Potasio (KCL)	K69123	PD	J.T.Baker
12	Cloruro de Sodio (NaCl)	K50000204912	PD	Merk
13	etanol	K78935670258	95%	Merk
14	Hidróxido de sodio	B1644598905	15%	Merk
15	KH ₂ PO ₄	DD	PD	Merk
16	Metanol (CH ₃ OH)	I821009608	PD	Merk
17	Pancreatina (Enzima)	DD	PD	DD
18	Pepsina (Enzima)	DD	PD	DD
19	rojo de metilo	287643298	PD	Merk
20	Solución de sulfato de sodio (Na ₂ SO ₄)	BG986344281	1.50%	Merk
21	Sulfato cúprico	13267890	PD	Merk
22	Sulfato de potasio o sulfato de sodio	B765926142	PD	Fermont
23	Tiocianato de Potasio	546789	PD	Merk

PD: Pureza Desconocida. DD: Dato Desconocido

Fuente: Elaborado por los autores, (2019).

Anexo 2: Equipos usados en la investigación

N°	EQUIPOS	MARCA	MODELO	PROCEDENCIA
1	Balanza analítica	Ohaus	AX324	USA
2	Balanza gramera	KITCHEN SCALE	SF-400	DD
3	Baño maria	Marconi	MA184	Italia
4	Bomba Peristaltica	VELT	SP311/60	USA
5	centrifuga	Hettich	320R	Holanda
6	Destilador	Gessellseha	GLF	Germany
7	Espectrofotómetro UV	Thermo Scentific	GENESYS 150	USA
8	Estufa.	MEMMERT	30-750	DD
9	Equipo Kjeldahl	Prendo	dek-02	USA
10	Homogenizador Ultra Turrax	Ika-Werke	T25 Digital	Germany
11	Horno industrial	TECHNICOOK	DD	ITALIA
12	Horno mufla	Thermo Scentific	FB1410M	EE.UU.
13	Liofilizador	Free Zone	12Plus	USA
14	Manto calefactor	labconco	Labc05011	EE.UU.
15	microscopio óptico	Zeiss	Carl Zeiss	Germany
16	Potenciómetro	OHAUS	STARTER 2100	USA
17	Refrigeradora	Montero	DD	DD
18	ULTRACONGELADOR	Free Zone	DD	USA
19	Vortex (Mini Shake)	Ika	MSI Mini Shake	Germany

DD: Dato Desconocido

Fuente: Elaborado por los autores, (2019).

Anexo 3: límites de humedad y cenizas permitidos según la Norma Sanitaria para la Fabricación, Elaboración y Expendio de Productos de Panificación. Galletería y Pastelería, RM N° 1020-2010/MINSA.

PRODUCTO	PARÁMETRO	LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES
Pan de molde (blanco, integral y sus productos tostados)	Humedad	40% - Pan de molde
		6% - Pan tostado
	Acidez (expresada en ácido sulfúrico)	0.5% (Base seca)
	Cenizas	4.0% (Base seca)
Pan común o de labranza (francés, baguette, y similares)	Humedad	23% (mín.) – 35% (máx.)
	Acidez (expresada en ácido sulfúrico)	No más del 0.25% calculada sobre la base de 30% de agua
Galletas	Humedad	12%
	Cenizas totales	3%
	Índice de peróxido	5 mg/kg
	Acidez (expresada en ácido láctico)	0.10%
Biscochos y similares con y sin relleno (panetón , chancay, panes de dulce, pan de pasas, pan de camote, pan de papa, tortas, tartas, pasteles y otros similares)	Humedad	40%
	Acidez (expresada en ácido láctico)	0.70%
	Cenizas	3%
Obleas	Humedad	4% (Obleas)
		5% (Obleas rellenas)
		9% (Obleas tipo barquillo)
	Acidez (exp. en ácido oleico)	0.20%
	Índice de peróxido	5 mg/kg

Fuente: RM N° 1020-2010/MINSA

Anexo 4: Estándar microbiológico según norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano-MINSA/DIGESA V01.

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g	
					m	M
Mohos	2	3	5	2	10^2	10^3
<i>Escherichia coli</i> (*)	6	3	5	1	3	20
<i>Staphylococcus aureus</i> (*)	8	3	5	1	10	10^2
<i>Clostridium perfringens</i> (**)	8	3	5	1	10	10^2
<i>Salmonella</i> sp. (*)	10	2	5	0	Ausencia /25 g	----
(*) Para productos con relleno.						
(**) Adicionalmente para productos con rellenos de carne y/o vegetales.						

Fuente: MINSA/DIGESA V01 (2019).

Anexo 5: Análisis microbiológico de las galletas, realizadas en el laboratorio de Microbiología de la UNAP.



Facultad de Industrias Alimentarias
Planta Piloto
 Centro de Prestación de Servicio en Control de Calidad de Alimentos.
 "CEPRESE COCAL"

Laboratorio de Microbiología de Alimentos

INFORME DE ENSAYO N° 001-2019

I. DATOS DEL SOLICITANTE

Nombre	JENIFER ISAURA PROAÑO PANDURO LUZ CRISTINA AROCA VIENA
Dirección	--
Telefax	--

II. DATOS DEL SERVICIO

N° de solicitud de servicio	01/2019
Fecha de solicitud de servicio	10/09/19
Servicio solicitado	Análisis Microbiológico

II. DATOS DEL PRODUCTO

Nombre del producto	<i>Galleta Fortificado 0%</i>
Numero de muestra	UNO (01)
Tamaño de muestra	100 gr.
Código	"N"
Tamaño del lote	--
Forma de presentación	Envase bolsa de polietileno
Fecha de producción	--
Fecha de vencimiento	--

IV. RESULTADOS DEL ENSAYO

ENSAYO MICROBIOLÓGICO	RESULTADOS
Mohos (UFC/g)	1.5×10^3
Levaduras (UFC/g)	< 10
Escherichia coli (UFC/g)	< 3.0
Salmonella sp.	Ausencia en 25g



Dirección: calle Freyre N° 610, Iquitos, Perú
 Teléfono: (5165)234458, 242922 Telefax: (5165)242001

www.unapiquitos.edu.pe



Laboratorio de Microbiología de Alimentos

INFORME DE ENSAYO N° 003-2019

I. DATOS DEL SOLICITANTE

Nombre	JENIFER ISAURA PROAÑO PANDURO LUZ CRISTINA AROCA VIENA
Dirección	--
Telefax	--

II. DATOS DEL SERVICIO

N° de solicitud de servicio	03/2019
Fecha de solicitud de servicio	10/09/19
Servicio solicitado	Análisis Microbiológico

III. DATOS DEL PRODUCTO

Nombre del producto	<i>Galleta Fortificado 5%</i>
Numero de muestra	UNO (01)
Tamaño de muestra	100 gr.
Código	"N"
Tamaño del lote	--
Forma de presentación	Envase bolsa de polietileno
Fecha de producción	--
Fecha de vencimiento	--

IV. RESULTADOS DEL ENSAYO

ENSAYO MICROBIOLÓGICO	RESULTADOS
Mohos (UFC/g)	1.3×10^2
Levaduras (UFC/g)	< 10
Escherichia coli (UFC/g)	< 3.0
Salmonella sp.	Ausencia en 25g





UNAP

**Facultad de
Industrias Alimentarias
Planta Piloto**
Centro de Prestación de Servicio en Control de
Calidad de Alimentos.
"CEPRESE COCAL"

Laboratorio de Microbiología de Alimentos

INFORME DE ENSAYO N° 002-2019

I. DATOS DEL SOLICITANTE

Nombre	JENIFER ISAURA PROAÑO PANDURO LUZ CRISTINA AROCA VIENA
Dirección	-.-
Telefax	-.-

II. DATOS DEL SERVICIO

N° de solicitud de servicio	02/2019
Fecha de solicitud de servicio	10/09/19
Servicio solicitado	Análisis Microbiológico

III. DATOS DEL PRODUCTO

Nombre del producto	<i>Galleta Fortificado 10%</i>
Numero de muestra	UNO (01)
Tamaño de muestra	100 gr.
Código	"N"
Tamaño del lote	-.-
Forma de presentación	Envase bolsa de polietileno
Fecha de producción	-.-
Fecha de vencimiento	-.-

IV. RESULTADOS DEL ENSAYO

ENSAYO MICROBIOLÓGICO	RESULTADOS
Mohos (UFC/g)	8.3 x 10 ²
Levaduras (UFC/g)	< 10
Escherichia coli (UFC/g)	< 3.0
Salmonella sp.	Ausencia en 25g



Dirección: calle Freyre N° 610, Iquitos, Perú
Teléfono: (5165)234458, 242922 Telefax: (5165)242001

www.unapiquitos.edu.pe



UNAP

Facultad de
Industrias Alimentarias
Planta Piloto
Centro de Prestación de Servicio en Control de
Calidad de Alimentos.
"CEPRESE COCAL"

Laboratorio de Microbiología de Alimentos

INFORME DE ENSAYO N° 004-2019

I. DATOS DEL SOLICITANTE

Nombre	JENIFER ISAURA PROAÑO PANDURO LUZ CRISTINA AROCA VIENA
Dirección	--
Telefax	--

II. DATOS DEL SERVICIO

N° de solicitud de servicio	02/2019
Fecha de solicitud de servicio	10/09/19
Servicio solicitado	Análisis Microbiológico

III. DATOS DEL PRODUCTO

Nombre del producto	<i>Galleta Fortificado 15%</i>
Numero de muestra	UNO (01)
Tamaño de muestra	100 gr.
Código	"N"
Tamaño del lote	--
Forma de presentación	Envase bolsa de polietileno
Fecha de producción	--
Fecha de vencimiento	--

IV. RESULTADOS DEL ENSAYO

ENSAYO MICROBIOLÓGICO	RESULTADOS
Mohos (UFC/g)	8.0×10^2
Levaduras (UFC/g)	< 10
Escherichia coli (UFC/g)	< 3.0
Salmonella sp.	Ausencia en 25g



Dirección: calle Freyre N° 610, Iquitos, Perú
Teléfono: (5165)234458, 242922 Telefax: (5165)242001

www.unapiquitos.edu.pe



**Facultad de
Industrias Alimentarias
Planta Piloto**
Centro de Prestación de Servicio en Control de
Calidad de Alimentos.
"CEPRESE COCAL"


METODOS USADOS

- Recuento de mohos y levaduras. FDA. 1992. Cap. 18 7ma. Ed.
- APHA. Múltiple Tubes Fermentation Technique/ Total Coliforms.9221 B.
- Salmonella FDA. BAM. Capítulo 5. Rev. 8ava ed. 2007

NOTA:

- Se prohíbe la reproducción total o parcial del presente documento, sin la autorización de CEPRESE – COCAL FIA-UNAP (Laboratorios).

Iquitos, 18 de setiembre 2019


Bi. JESSY P. VASQUEZ CHUMBE
Jefa del Laboratorio de Microbiología de
Alimentos FIA -UNAP



Dirección: calle Freyre Nº 610, Iquitos, Perú
Teléfono: (5165)234458, 242922 Telefax: (5165)242001

www.unapiquitos.edu.pe

Anexo 6: Formato de evaluación sensorial **Pivot Profile**

Análisis descriptivo de Galletas Fortificadas

Usted recibirá tres muestras por vez de Galletas Fortificadas. Por favor describa las diferencias entre la muestra patrón y la muestra codificada. Escriba en el cuadro que es **menos** o **más** intenso en la muestra codificada comparada con la muestra patrón. Evite el uso de términos de preferencia; por ejem.: "*me gustó más la muestra patrón*"

Debe observar, oler y probar el producto. Consuma agua y galleta antes de cambiar de muestra codificada.

Muestra	Atributos menos intensos que el Patrón	Atributos más intensos que el Patrón
221		
301		
725		

Anexo 7: Definiciones de los atributos para las galletas fortificadas con sangre bovino liofilizada

CRITERIO SENSORIAL	ATRIBUTO SENSORIAL	DEFINICIÓN
Apariencia	Seco	Resequedad a la hora de la degustación
	Grasoso	Que tiene grasa o la grasa está impregnada
	Quemado	El color de la galleta es de color negro
	Brilloso	El color doradito que presenta la galleta
	Oscuro	El color de la galleta es oscura por la presencia de la sangre
	Aceitoso	De apariencia aceitosa u oleosa
Textura	Esponjoso	Galleta con apariencia porosa y elástica
	Áspero	Galleta con la superficie rugosa o rasposa
	Húmedo	Que está impregnada de agua
	Granuloso	Galleta con presencia de gránulos debido al polvo liofilizado
	Duro	Galleta con textura gruesa y muy solida
	Grumoso	Galleta con presencia de grumos en el exterior
	Arenoso	Con presencia arenosa en la superficie
	Crocante	Galleta entre duro y suave
	Quebradizo	Galleta fácil de cortar o romper
	Desmenuzante	Se desmenuza fácilmente con el contacto
	Blando	Se corta con facilidad especialmente al presionarla
	Suave	Galleta que es blando y/o liso al tacto
	Aroma	Vainilla/Mantequilla
Metálico		Galleta con aroma a metal o hierro
Sabor	Agradable	Galleta agradable al gusto
	Salado	Galleta con un poco más de la cantidad de sal deseada
	Amargo	Galleta cuyo sabor causa disgusto.
	Dulce	Galleta cuyo sabor es dulce
	Aceptable	Galleta que está en el punto medio de lo dulce y lo salado

Fuente: Elaborado por los autores, (2019)


Anexo 8: Análisis de atributos de las galletas con micropartículas Recubiertas con Sangre Bovino Liofilizada.

Galletas	Atributos	Frecuencia positiva	Frecuencia negativa	Diferencia positiva y negativa	Traducción frecuencia
221	Aceitoso	0	0	0	34
	Aceptable	0	51	51	85
	Agradable	0	1	1	35
	Amargo	2	0	-2	32
	Arenoso	18	7	-11	23
	Aspero	1	0	-1	33
	Blando	3	10	7	41
	Brilloso	2	52	50	84
	Crocante	11	12	1	35
	Desmenuzante	0	1	1	35
	Dulce	9	24	15	49
	Duro	14	6	-8	26
	Esponjoso	2	1	-1	33
	Granuloso	6	1	-5	29
	Grasoso	8	2	-6	28
	Grumoso	14	4	-10	24
	Húmedo	5	4	-1	33
	Metalico	6	12	6	40
	Oscuro	7	0	-7	27
	Quebradizo	2	3	1	35
	Quemado	0	0	0	34
	301	Salado	5	15	10
Seco		10	3	-7	27
Suave		7	27	20	54
vainilla/mantequilla		6	4	-2	32
Aceitoso		1	0	-1	33
Aceptable		0	2	2	36
Agradable		0	83	83	117
Amargo		3	0	-3	31
Arenoso		25	3	-22	12
Áspero		1	0	-1	33
Blando		2	3	1	35
Brilloso		2	3	1	35
Crocante		0	50	50	84
Desmenuzante		2	0	-2	32
Dulce		6	58	52	86
Duro		16	1	-15	19
Esponjoso		3	1	-2	32
Granuloso		2	3	1	35
Grasoso	4	1	-3	31	
Grumoso	24	3	-21	13	

	Húmedo	7	6	-1	33
	Metálico	0	0	0	34
	Oscuro	34	0	-34	0
	Quebradizo	3	0	-3	31
	Quemado	2	0	-2	32
	Salado	18	0	-18	16
	Seco	5	1	-4	30
	Suave	3	22	19	53
	Vainilla/Mantequilla	14	31	17	51
	Aceitoso	0	0	0	34
	Aceptable	0	4	4	38
	Agradable	0	0	0	34
	Amargo	0	0	0	34
	Arenoso	17	14	-3	31
	Áspero	0	0	0	34
	Blando	4	2	-2	32
	Brilloso	0	0	0	34
	Crocante	4	2	-2	32
	Desmenuzante	0	0	0	34
	Dulce	15	3	-12	22
	Duro	7	40	33	67
725	Esponjoso	1	0	-1	33
	Granuloso	3	7	4	38
	Grasoso	8	4	-4	30
	Grumoso	16	15	-1	33
	Húmedo	0	1	1	35
	Metálico	0	78	78	112
	Oscuro	0	0	0	34
	Quebradizo	0	0	0	34
	Quemado	0	0	0	34
	Salado	0	0	0	34
	Seco	10	1	-9	25
	Suave	28	0	-28	6
	Vainilla/Mantequilla	2	2	0	34

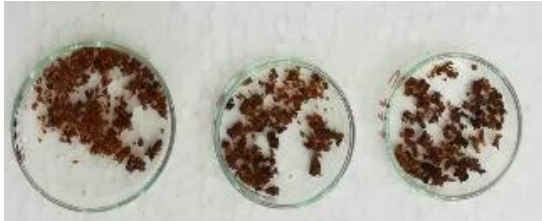
Fuente: Elaborado por los autores, (2019).

Anexo 9: Micropartículas obtenidas por gelificación iónica durante las tres etapas.

ETAPA	MICROPARTÍCULAS
<p>ETAPA 1: Micropartículas conteniendo aceite de <i>Plukenetia volubilis L</i></p>	
<p>ETAPA 2: Micropartículas Recubiertas con Sangre Bovino</p>	
<p>ETAPA 3: Micropartículas Recubiertas con Sangre Bovino Liofilizada</p>	

Fuente: Elaborado por los autores, (2019).

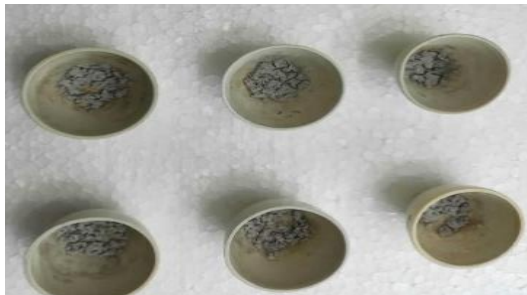
Anexo 10: Analisis fisicoquímicos



Determinación de humedad de MRSB



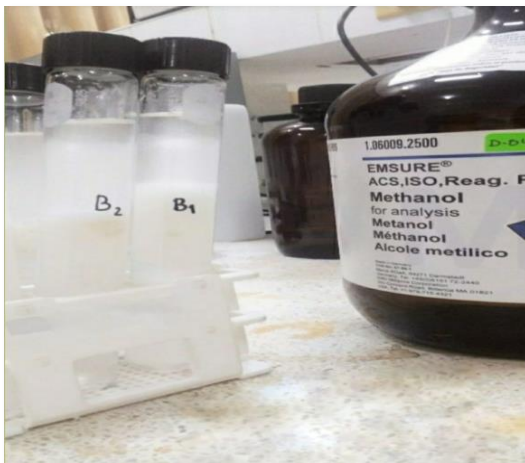
Determinación de humedad de las galletas fortificadas



Determinación de cenizas de micropartículas



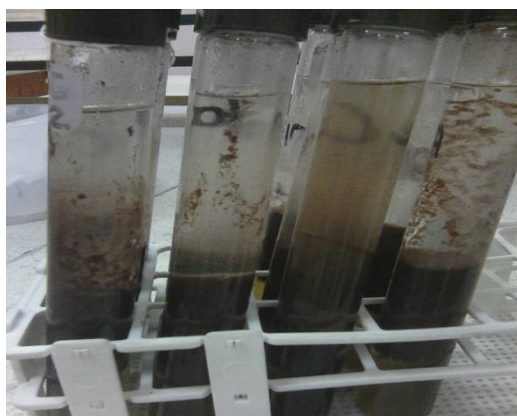
Determinación de galletas fortificadas



Determinación de lípidos de MSR



Determinación de lípidos



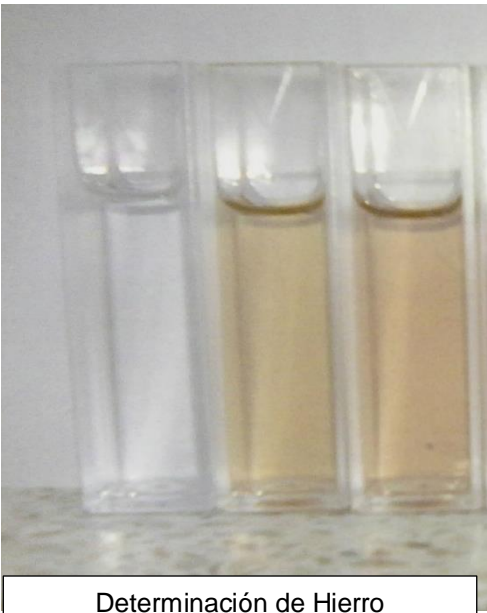
Determinación de lípidos de MRSB



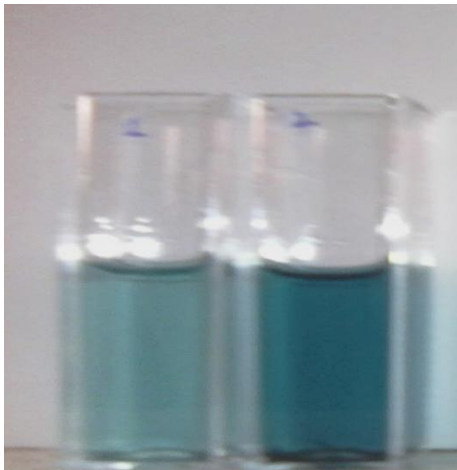
Determinación de lípidos de galletas fortificadas



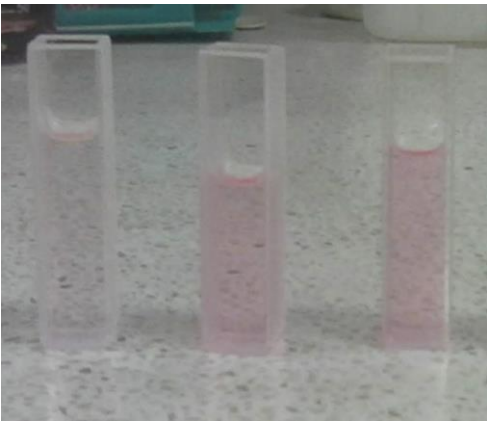
Recubrimiento de la micropartículas



Determinación de Hierro

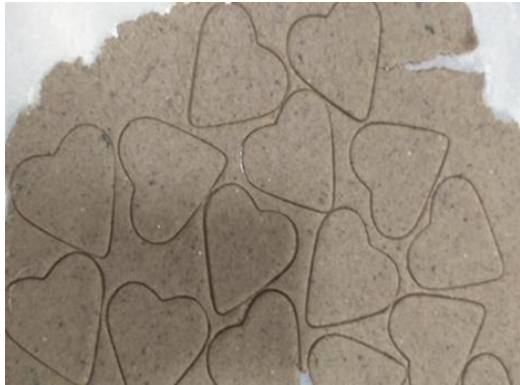


Determinación de proteínas
Bradford



Determinación de proteínas
kjeldahl

Anexo 11: Proceso de elaboración de las galletas fortificadas con micropartículas con *Plukenetia volubilis* L. (Sacha inchi) y sangre bovino.



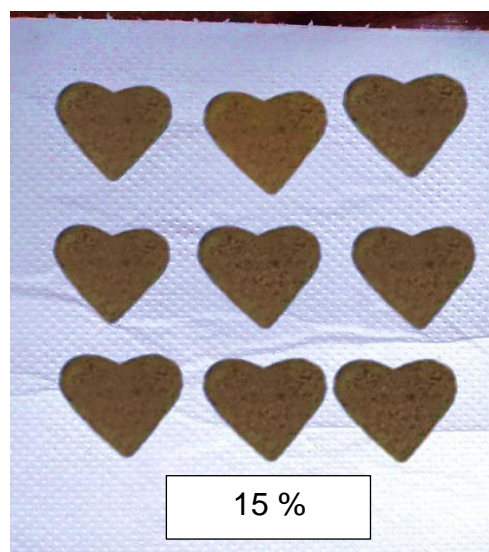
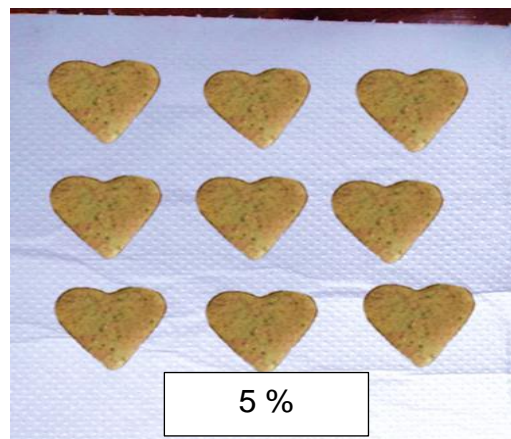
Moldeado de galletas



Galletas debidamente cortadas
antes de hornear



Proceso de cocción



Galletas según niveles de fortificación