



Adición de hierro hemo, proveniente de hemoglobina bovina a un chocolate de consumo directo

Adriana Soto Méndez ¹, Luz Alba Caballero Pérez ²

¹Escuela de Nutrición y Dietética. Universidad Industrial de Santander.

²Departamento de Alimentos. Facultad de Ingenierías y Arquitectura. Universidad de Pamplona.

RESUMEN

La deficiencia de hierro es la carencia nutricional más frecuente. El objetivo del trabajo fue obtener y evaluar química y microbiológicamente un chocolate de consumo directo adicionado con hierro hemo, procedente de hemoglobina bovina desecada HBD. Teniendo en cuenta el contenido de hierro hemo encontrado en la HBD, a partir de una formulación de chocolate de consumo directo comercializado por Alnut Ltda; se elaboraron a escala de laboratorio, tres lotes de chocolate añadidos con HBD, con un contenido de hierro hemo, por porción de 25 g, equivalente al 10, 12 y 14% del valor diario de referencia de consumo de hierro. Para seleccionar el porcentaje apropiado de HBD a añadir se analizaron sensorialmente, utilizando una prueba de satisfacción global aplicada a 36 niños en edad escolar, estudiada mediante análisis de varianza de un factor. En planta piloto se definió el tiempo óptimo de mezclado de la HBD, se elaboraron 25 kg de chocolate adicionado y se almacenaron durante 15 días a temperatura ambiente (25 ± 3 °C). Se compararon química y microbiológicamente con el chocolate sin adición utilizando prueba t. Los resultados demostraron que es posible añadir 5,7% de HBD con un tiempo de mezclado de 20 minutos, al chocolate comercializado por la empresa, para obtener un alimento con un contenido de hierro hemo de 2.2 mg/porción, microbiológicamente apto para consumo humano; constituyéndose en una alternativa alimenticia que puede contribuir a incrementar la ingesta de hierro hemo en población en edad escolar

PALABRAS CLAVE: Hemoglobina bovina, chocolate de consumo directo, hierro, hierro hemo.

ABSTRACT

Addition of iron heme, from bovine hemoglobin to a chocolate of direct consumption

The iron deficiency is the most widespread nutritional deficiency. The objective of this work was to obtain and to evaluate chemically and microbiologically a direct consumption chocolate added with heme iron, from dried bovine hemoglobin DBH. Taking into account the content of heme iron found in DBH, from a chocolate formulation marketed by alnut Ltda; were prepared at laboratory scale, three DBH added chocolates, containing heme iron per serving of 25 g equivalent to 10, 12 and 14% of the daily reference value of iron intake. To select the appropriate percentage of DBH to add were sensorially analyzed, using a global satisfaction test applied to 36 school children, studied by one factor analysis of variance. In pilot plant was defined optimum mixing time of it, were produced 25 kg of chocolate added and stored for 15 days at room temperature (25 ± 3 °C). Were compared chemical and microbiologically with no added chocolate using t test. The results showed up that it is possible to add 5,7% of DBH with a mixing time of 20 minutes, to the direct consumption chocolate sold by the company, to obtain a food with heme iron content of 2.2 mg/serving, microbiologically suitable for human consumption, it becomes in a nutritious alternative that can help to increase the intake of heme iron in school-age population.

KEY WORDS: Bovine hemoglobin, direct consumption chocolate, iron, heme iron.

*Para citar este artículo: Soto Méndez A, Caballero Pérez LA. Adición de hierro hemo, proveniente de hemoglobina bovina a un chocolate de consumo directo. Bistua. 2011;9(1):21-31

+ Autor para el envío de correspondencia y la solicitud de las separatas: Escuela de Nutrición y Dietética. Universidad Industrial de Santander. email: adriana@uis.edu.co

Recibido: Febrero 23 de 2010 Aceptado: Enero 24 de 2011

INTRODUCCIÓN

La deficiencia de hierro causada por un aporte insuficiente de hierro en la dieta, es el problema nutricional más frecuente en el mundo, afecta a todos los sectores de la población y es la causa de por lo menos el 50% de las anemias. (WHO, 2001; FAO, 2002). Estudios realizados en el país muestran que el 37,6% de los niños colombianos, entre 5 y 12 años, sufren de anemia (ICBF, 2005). En niños en edad escolar la carencia de hierro limita el desarrollo intelectual y psicomotor y afecta el crecimiento (Umbreit, 2005).

La adición de hierro a los alimentos constituye un método práctico y eficiente para prevenir la deficiencia de hierro en la comunidad (OPS et al, 2001). La hemoglobina bovina desecada HBD, es una buena fuente de hierro para adicionar a alimentos (Hertramp et al, 1990) ya que posee hierro hemo que es mejor absorbido por el intestino humano que el hierro no hemo (Gaitan et al, 2006). Se ha utilizado satisfactoriamente en

Se ha utilizado satisfactoriamente en varios alimentos: galletas (Asenjo et al, 1985), bebidas instantáneas (Gutierrez y Gonzalez, 1997), caramelos (Gonzalez, 2002) y brownies (Cardona et al, 2003), pero no hay información publicada de la utilización en chocolate para consumo directo.

La HBD es un subproducto de la industria cárnica de poco valor comercial y de alto valor nutricional por su contenido de proteína e hierro (Lindent y Lorient, 1996). Es un polvo de color marrón intenso, con olor y sabor característico a sangre lo cual limita su uso en la alimentación humana y animal (Pedersen, 1988). Se obtiene de corpúsculos desecados por atomización a temperaturas de 150 a 200°C, obtenidos de sangre centrifugada e higiénicamente recolectada de bovinos técnicamente beneficiados, sometidos a inspección oficial ante y post-mortem (Martin et al, 1997).

El chocolate de consumo directo es un alimento de gran aceptación en los niños (Castillo y Romo, 2006) y hace parte de la canasta familiar de los colombianos (DANE, 2009). Tiene un contenido bajo de proteínas e hierro y a pesar de ser un alimento energético con un contenido alto de calorías procedentes de grasa, ésta presenta ventajas

alimenticias importantes dadas por el perfil de ácidos grasos de la manteca de cacao (Posada et al., 2006).

El trabajo tuvo como finalidad obtener y evaluar química y microbiológicamente un chocolate de consumo directo adicionado con hierro hemo, procedente de hemoglobina bovina desecada, con el propósito de disponer de un alimento que contribuya a incrementar la ingesta de hierro hemo en niños en edad escolar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Se trabajó con una formulación de chocolate de consumo directo con leche y arroz inflado, comercializada por Alnut Ltda. (Bucaramanga, Colombia). Como fuente de hierro hemo se utilizó hemoglobina bovina desecada por atomización (spray-drier) a 200°C, con una humedad de 2.9% y un contenido de proteína de 91%. Obtenida en el frigorífico Frigodan Ltda. (Bogotá, Colombia) (lote GUA 3111).

Evaluación de la HBD

Evaluación química

Por triplicado se determinó el contenido de hierro total, hierro no hemo e hierro hemo. Hierro total por el método de la AOAC (965.09), hierro no hemo siguiendo la técnica de Schiricker *et al.* (1982) con las modificaciones de Rhee y Ziprin (1987): Se pesó 0.05 g de muestra en un tubo de ensayo, usando una balanza analítica AB240 (Mettler Toledo, USA). Se diluyó con 0.5 mL de H₂O destilada, y se mezcló con 0.2 mL de una solución de NaNO₂ (0.39% peso/volumen). Se incubó en presencia de 15 mL de una mezcla ácida (1:1) de HCl 6 N y de ácido tricloroacético del 40% (peso/volumen) a 65°C por 20 horas, en un baño de calentamiento Basic WNB14. Se enfrió la mezcla a temperatura ambiente, se transfirió 1 mL de la solución sobrenadante a un tubo de centrifuga y se adicionó 5 mL del reactivo acomplejante (agua; solución saturada del acetato de sodio; batofenantrolina disulfonada, 0,162%) en proporción 20:20:1 respectivamente. Se centrifugó a 3.000 rpm durante 15 minutos. Inmediatamente se leyó la absorbancia a 537 nanómetros contra un blanco de muestra (1mL de muestra más 5 mL del reactivo



23

acomplejante sin batofenantrolina) utilizando un espectrofotómetro DR 5000 (HACH Company, USA). La concentración de hierro no hemo se determinó interpolando la absorbancia en una curva de calibración construida con patrones de hierro no hemo. La cuantificación de hierro hemo se realizó por diferencia entre el hierro total y el hierro no hemo. Los análisis se llevaron a cabo en el laboratorio de Consultas Industriales de la Escuela de Química de la Universidad Industrial de Santander. Los resultados se compararon con estudios previos en HBD (Martin et al, 1997).

Evaluación microbiológica

Para verificar la inocuidad de la HBD, por duplicado se realizaron análisis de bacterias mesófilas, coliformes totales y fecales, mohos y levaduras, *Staphylococcus coagulasa* positiva, esporas sulfito reductor, *Salmonella* y *Listeria monocytogenes*, utilizando los procedimientos descritos por el Ministerio de Salud de Colombia (1998),

Los resultados se analizaron teniendo como parámetros los requisitos microbiológicos para productos cárnicos procesados cocidos (ICONTEC, 2008).

Elaboración del chocolate a escala de laboratorio.

Utilizando la fórmula de chocolate comercializada por la empresa, se elaboraron cuatro lotes de 1 kg, uno sin adición y tres adicionados con HBD con un aporte de hierro hemo, por porción de chocolate de 25 g, equivalente al 10, 12 y 14% del valor diario de referencia de consumo de hierro establecido por la legislación nacional (Ministerio de la Protección Social de Colombia, 2008). Se añadió HBD (masa/masa) a partir de una base de cálculo, sustituyendo azúcar micro pulverizada por HBD y manteniendo controlada la humedad del ambiente (60% de humedad).

El procedimiento de elaboración del chocolate fue el siguiente: en un recipiente de acero inoxidable (calentado al baño maría a una temperatura de 50°C), se fundieron las coberturas de chocolate, se mezclaron con el azúcar micro pulverizada y los

saborizantes, durante 3 minutos, usando una batidora de mano Oster 3170 (Sunbeam Products, Inc. China). Se agregó la HBD batiendo constantemente a velocidad baja, durante 3 minutos, para lograr una distribución homogénea y se incorporó a la mezcla el arroz inflado, batiendo durante 1 minuto. Se atemperó la masa manualmente, se moldeó en forma de bombón (cada uno con un peso aproximado de 8 g), se llevó a cámara de enfriamiento 20 minutos a 18°C y 20 minutos a 6°C. Se desmoldaron los chocolates y se empacaron en papel aluminio y en bolsa de polipropileno bio-orientado (calibre 30 micras), cerrada con selladora térmica. Siguiendo el mismo procedimiento se preparó un lote de chocolate sin adición de HBD. Todos los chocolates se almacenaron por 15 días a temperatura ambiente ($25 \pm 3^\circ\text{C}$). Dicho tiempo de almacenamiento asegura la formación completa de la red cristalina de la manteca de cacao presente en el chocolate, para que éste tenga un aspecto y textura homogénea (QUAST et al, 2007). De cada lote se seleccionaron al azar 72 chocolates para ser evaluados en la siguiente etapa.

Selección de la concentración apropiada de HBD a añadir al chocolate de consumo directo

Para seleccionar la concentración apropiada de HBD a añadir al chocolate se analizó sensorialmente el efecto de la concentración de la HBD, sobre los chocolates elaborados en la etapa anterior, para ello se utilizó un panel de degustación no entrenado, constituido por 36 niños en edad escolar (6 a 10 años) de ambos géneros, consumidores frecuentes de chocolate, pertenecientes a estratos 2 y 3, alumnos del Colegio Artístico Pedagógico de Floridablanca, Santander, Colombia. La evaluación se llevó a cabo a las 10 de la mañana (antes del refrigerio). Los chocolates fueron degustados por duplicado en una misma sesión. El orden en que cada niño degustó las muestras se hizo en forma aleatoria. Se evaluó el grado de satisfacción global que generaron los chocolates añadidos y el control (chocolate no añadido

Bistua 2011 Vol 9(1);21-31. Adriana Soto Méndez, Luz Alba Caballero Pérez. Adición de hierro hemo, proveniente de hemoglobina bovina a



24

con HBD) al ser degustados con 5 variables de respuesta (me disgusta mucho, me disgusta, ni me gusta ni me disgusta, me gusta y me gusta mucho), utilizando una prueba hedónica gráfica (Espinosa, 2007). Para minimizar la adaptación entre muestras se usó como agente enjuagante, té de limonaria con poco azúcar. Se dejó un intervalo de 2 a 3 minutos entre muestras y se dispuso de una ficha nueva para cada muestra.

Definición del tiempo óptimo de mezclado para homogenizar el hierro, presente en la HBD, en el chocolate

Con la concentración de HBD seleccionada se mezclaron 25 kg de la fórmula de chocolate utilizada por la empresa, en una máquina mezcladora horizontal concéntrica, con chaqueta de termorregulación por agua y velocidad de mezclado 32 rpm construida por INTEC Ltda. (Bucaramanga, Colombia).

A los 5, 10, 15 y 20 minutos de mezclado, se tomaron al azar en diferentes puntos de la máquina 6 muestras de 150 g cada una. El cronometraje de los tiempos de muestreo se inició cuando se suministró al equipo la HBD. El contenido de hierro total de las muestras se examinó, por espectroscopía de absorción atómica de llama AOAC (965.09). Con el promedio del contenido de hierro de las muestras, se determinó el coeficiente de variación de hierro en cada tiempo de mezclado. Los resultados de la prueba, se analizaron en forma descriptiva asumiendo como parámetros de referencia, estudios previos de Moncada (1992), y Rielly et al. (1994) en mezclas de alimentos.

Elaboración del chocolate en planta piloto

Definido el tiempo óptimo de mezclado de la HBD, se elaboró un lote de 25 kg de chocolate añadido. Como control se preparó un lote de 25 kg de chocolate sin HBD. Los chocolates se elaboraron, manteniendo controlada en el 60% la humedad del ambiente. Para la elaboración del chocolate se empleó el procedimiento utilizado por la empresa el cual consistió en: mezclado de ingredientes, con HBD, atemperado, moldeado manual, vibrado mecánico, pre-

enfriamiento a 18°C por 20 minutos, enfriamiento en cuarto frío a 6°C por 20 minutos, empaque y almacenamiento (Figura 1). Los chocolates se moldearon en barras rectangulares de 25 g, se empacaron en papel aluminio y en bolsa de polipropileno bio-orientado (calibre 30 micras), se almacenaron por 15 días a temperatura ambiente ($25 \pm 3^\circ\text{C}$).

La muestra se calculó con un margen de error de 5%, se seleccionó en forma sistemática y se dividió en partes iguales para las diferentes evaluaciones. El tamaño de la muestra, fue de 286 chocolates adicionados y 286 no adicionados.

Evaluación del chocolate adicionado

Evaluación microbiológica

Por duplicado se realizaron análisis de mesófilos totales, coliformes totales, enterobacterias, mohos y levaduras, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella*. Para la preparación, dilución de muestras y análisis microbiológicos se utilizaron los procedimientos contemplados en el Manual de técnicas de análisis para control de calidad microbiológico de alimentos para consumo humano (Ministerio de Salud, 1998). Los resultados se analizaron teniendo en cuenta los requisitos microbiológicos establecidos para el chocolate de consumo directo (ICONTEC, 2008).

Evaluación de la composición química

Por triplicado se determinó el contenido de humedad, grasa total, proteína, cenizas, carbohidratos, hierro total, hierro hemo e hierro no hemo. Humedad por el método de desecación en estufa siguiendo las instrucciones de la AOAC (931.04). Proteína por el método Kjeldhal (AOAC 939.02). Grasa total por extracción Soxhlet (AOAC 963.15). Cenizas por gravimetría (AOAC 972.). Hierro total por espectroscopía de absorción atómica de llama AOAC (965.09) Hierro no hemo siguiendo la técnica de Rhee y Ziprin (1987). Hierro hemo por diferencia entre el hierro total y el hierro no hemo. Carbohidratos (C) por diferencia, mediante la fórmula $C = 100 - \text{humedad} - \text{cenizas} - \text{proteínas} - \text{grasa}$. Los análisis se

Bistua 2011 Vol 9(1);21-31. Adriana Soto Méndez, Luz Alba Caballero Pérez. Adición de hierro hemo, proveniente de hemoglobina bovina a



25

llevaron a cabo en el laboratorio de Consultas Industriales de la Escuela de Química de la Universidad Industrial de Santander.

El aporte nutricional del chocolate se analizó por porción de 25 g, a partir de los resultados de los análisis químicos de grasa, proteína, carbohidratos e hierro y teniendo en cuenta la norma Colombiana vigente para etiquetado nutricional de alimentos envasados (Ministerio de la Protección Social de Colombia, 2008). El valor calórico se calculó considerando los coeficientes de 4 kcal por g⁻¹ para carbohidratos y proteínas y 9 kcal por g⁻¹ para los lípidos.

Análisis estadístico de resultados

Para el estudio de la prueba sensorial, aplicada a los chocolates elaborados a escala de laboratorio, se utilizó el análisis de la varianza ANOVA de un factor (concentración de HBD añadida) y como variable dependiente grado de satisfacción. La comparación de promedios con respecto a la satisfacción se llevó a cabo con el método de la mínima diferencia significativa (LSD) de Fischer. Con base en los resultados estadísticos, se seleccionó para adicionar al chocolate, la concentración de HBD más alta, cuyo promedio de grado de satisfacción global no difiriera significativamente del promedio de grado de satisfacción global del chocolate no añadido o control.

El recuento de microorganismos aerobios mesófilos, y los análisis químicos del chocolate adicionado, se compararon con el chocolate no adicionado utilizando prueba t bilateral para muestras independientes.

El nivel de significancia fijado para las pruebas estadísticas fue 0.05. Los resultados fueron procesados en la versión 12.0 del programa informático Statistical Package for the Social Sciences (SPSS).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación química de la HBD

La cantidad de hierro total encontrada en la HBD fue de 245.60 (\pm 2,83) mg por 100 g, que corresponde al promedio de las réplicas.

Este valor es similar al reportado por Martín et al. (1997) en estudios realizados en Cuba (250 a 260 mg de hierro /100 g de HBD). E indica que cada gramo de HBD aporta 2.45 mg de hierro total; suficiente para cubrir el 13,6% del valor diario de referencia de consumo de hierro, para personas mayores de 4 años, establecido por el Ministerio de la Protección Social de Colombia (2008). En promedio, por 100 g, el hierro hemo fue 154 (\pm 1,69) mg, equivalente al 62% del hierro total presente en la HBD. El valor es 18% menor que el reportado por Martín et al. (1997) en HBD por atomización a 140°C y 17% menor que el determinado por KING et al. (1990) en HBD a 160°C. La temperatura de secado de la HBD utilizada en este estudio, 200°C, puede explicar la diferencia encontrada en el contenido de hierro hemo de la misma. KING et al. (1990) reportaron un aumento significativo de hierro no hemo en HBD, dependiente de la temperatura de secado cuando esta sobrepasa los 150°C y Oellingrath (1988) informaron incrementos en la concentración de hierro no hemo cuando la hemoglobina fue secada a temperatura mayor de 95°C.

Evaluación microbiológica de la HBD

La HBD presentó una excelente calidad microbiológica, que se refleja en los valores encontrados en las cuentas de mesófilos (<10 ufc/g) y coliformes (< 3 mic/g). Además no se detectó la presencia de *Salmonella* spp ni de *Listeria monocytogenes*. El resultado confirma que la HBD utilizada, es apta para el consumo humano ya que cumple los requisitos microbiológicos para productos cárnicos procesados cocidos mencionados en la Norma Técnica Colombiana 1325 (ICONTEC, 2008).

Elaboración del chocolate

Elaboración a escala de laboratorio

Teniendo en cuenta el contenido promedio de hierro hemo encontrado en la HBD (154 mg/100 g), se elaboraron, a escala de laboratorio, tres chocolates añadidos con HBD al 4,7; 5,7 y 6,7% y un chocolate no añadido (0% de HBD).

Selección de la concentración apropiada de HBD a añadir al chocolate

Bistua 2011 Vol 9(1);21-31. Adriana Soto Méndez , Luz Alba Caballero Pérez . Adición de hierro hemo, proveniente de hemoglobina bovina a

26

Los resultados del análisis ANOVA muestran que el porcentaje adicionado de HBD al chocolate, influyó significativamente ($p < 0,05$) sobre el grado de satisfacción global. Al aplicar la prueba de comparación de medias LSD (tabla 1) se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en el grado de satisfacción del chocolate añadido al 6,7%, con respecto a los añadidos al 0; 4,7 y 5,7%. Se observa que a mayor adición de HBD menor grado de satisfacción del chocolate, sin embargo el grado de satisfacción no fue significativamente diferente para los chocolates añadidos con HBD al 4,7 y al 5,7%.

Tabla 1. Influencia del porcentaje de adición de HBD sobre el grado de satisfacción global de chocolate.

HBD añadida (%)	Calificación satisfacción global ($\bar{x} \pm s$)
0	4,92 \pm 0,28 ^a
4,7	4,90 \pm 0,30 ^a
5,7	4,74 \pm 0,50 ^a
6,7	3,75 \pm 1,36 ^b

Medias con letras diferentes difieren significativamente para $p < 0,05$ (Prueba LSD de Fischer).

Con base en este resultado, se definió 5,7% como el porcentaje de HBD apropiado para adicionar al chocolate, ya que este, correspondió al mayor nivel de adición de HBD que no generó diferencias significativas ($p > 0,05$) en el grado de satisfacción global con respecto al chocolate sin adición

Definición del tiempo óptimo de mezclado para homogenizar el hierro, presente en la HBD, en el chocolate

En la tabla 2 se muestra el Coeficiente de Variación CV, de hierro total de las muestras de chocolate obtenidas en los diferentes

tiempos de mezclado. Se observa que después de 10 minutos la mezcla se logró razonablemente homogénea con respecto al contenido de hierro ($CV < 10\%$) y a los 20 minutos se logró un mezclado excelente ($CV = 5\%$). En consecuencia se eligió el tiempo de mezclado de 20 minutos, como el óptimo para mezclar la HBD con el chocolate.

Elaboración del chocolate en planta piloto

Teniendo en cuenta los resultados de las etapas anteriores, se añadió a la formulación de chocolate comercializada por Alnut Ltda. 5,7% de HBD con un tiempo de mezclado de 20 minutos. Se obtuvieron 1.000 chocolates en barras de aproximadamente 25 g cada una.

Evaluación del chocolate adicionado

Evaluación microbiológica

El chocolate añadido sólo presentó diferencia con el no añadido, en las cuentas de microorganismos mesófilos aerobios; Sin embargo dicha diferencia no fue significativa ($p > 0,05$) y el mismo cumple las especificaciones de la norma NTC 792 (ICONTEC, 2008), en lo referente a requisitos microbiológicos para chocolate de consumo directo, por tanto es apto para el consumo humano.

Evaluación química

La tabla 3 muestra la composición proximal y el contenido de hierro del chocolate no añadido y añadido con 5,7% de HBD. Como se aprecia en la misma, el contenido de humedad, grasa, cenizas y calcio no presentó diferencias significativas ($p > 0,05$) con respecto al chocolate no añadido. El contenido de hierro total, de no hemo y de hemo fue significativamente mayor ($p < 0,05$) en el chocolate añadido. El total aumentó 216%, el no hemo 105% y el hemo pasó de 0 mg a 8,2 mg / 100g. El contenido de proteína se incremento significativamente, en promedio aumentó el 72% con respecto al chocolate no añadido. Este resultado es de interés nutricional ya que un incremento de proteína de origen animal favorece la absorción del hierro presente en los alimentos (Hurrell, 1997).



27

El aporte nutricional de los chocolates se presenta en la tabla 4. En promedio el chocolate añadido aporta 5 mg de hierro total, equivalente al 28% del valor diario de referencia de consumo de hierro para mayores de 4 años, establecido para una dieta de 2.000 kcal por el Ministerio de la Protección Social de Colombia (2008). Del hierro total 2.2 mg (equivalente al 44% del hierro total) es hierro hemo, el cual por sí solo cubre el 11% de dicha recomendación.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los resultados demuestran que es posible añadir 5,7% de HBD al chocolate comercializado por la empresa, para obtener un chocolate de consumo directo con un contenido de hierro hemo de 2.2 mg/porción, equivalente al 44% del aporte de hierro total, microbiológicamente apto para consumo humano, constituyéndose en una alternativa alimenticia que puede contribuir a incrementar la ingesta de hierro hemo en población en edad escolar.

Con el propósito de dar continuidad al presente trabajo, se recomienda estimar la vida útil del chocolate adicionado, evaluando cambios químicos, microbiológicos y físicos sucedidos en períodos de tiempo superiores a 15 días y realizar un trabajo de investigación cuyo objeto sea la estimación de la biodisponibilidad del hierro hemo presente en el chocolate.

AGRADECIMIENTOS

Se deja constancia de gratitud a la Universidad de Pamplona por facilitar los reactivos para los análisis de hierro. A la dirección del laboratorio de Consultas Industriales de la Escuela de Química de la Universidad Industrial de Santander. Al director y a los niños del Colegio Artístico Pedagógico de la ciudad de Floridablanca y a los directivos y al personal técnico de Alnut Ltda. La realización del trabajo ha sido posible gracias a la comisión de estudios concedida por la Universidad Industrial de Santander a la autora principal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Asenjo JA, Amar M, Cartagena N, et al. (1985). Use of bovine heme iron concentrate in the fortification of biscuits. *J. Food Sci.* **50**: 795-799.

Association Of Official Analytica Chemists (1990). Official Methods of analysis of AOAC International. 15 ed. Washington, USA. AOAC.

Cardona A, Quintero A, Pertuz SL (2003). Elaboración de productos alimenticios con adición de hierro hemínico orientados a incrementar la ingesta y biodisponibilidad de este nutriente en la población en edad escolar. Memorias segundo coloquio Internacional y Nacional de Investigación en Alimentación y Nutrición. Medellín:130.

Castillo C y Romo M (2006). Las golosinas en la alimentación infantil. *Rev. chil. pediatr.* **77**:189-193.

Departamento Administrativo Nacional de Estadística (2009). Cambios entre la canasta familiar 1998 y 2008 DANE. http://www.dane.gov.co/files/investigaciones/fechas/Anexos_IPC_feb_2009.pdf febrero de 2009.

Espinosa J (2007). Evaluación Sensorial de los Alimentos. Universidad de la Habana. Universitaria. La Habana: 83-84.

Food And Agriculture Organization (2002). Nutrición humana en el mundo en desarrollo: carencia de hierro y otras anemias nutricionales.

Documentos de la FAO. <http://www.fao.org/DOCREP/006/W0073S/w0073s0h.htm#bm17x>. Febrero de 2008.

Gaitán D, Olivares M, Arredondo M, Pizarro A (2006). Biodisponibilidad de hierro en humanos. *Rev. chil. nutr.* **33**:142-148.

González A (2002). Fortificación con hierro hemínico, de Caramelo Blando, a partir de corpúsculos de sangre bovina desecada.



28

Tesis de grado (Ingeniería de Alimentos). Bucaramanga. Universidad Nacional Abierta y a Distancia:100.

Gutiérrez S, González A (1997). Utilización de corpúsculos bovinos y porcinos en polvo en productos para regimenes especiales de alimentación. II Taller nacional de hemoderivados y otros productos para la prevención de la anemia férrica. Instituto de investigaciones para la industria alimenticia. La Habana: 34-38.

Hallberg L (1981). Bioavailability of dietary iron in man. *Annu Rev. Nutr.* 1: 123-47.

Hertrampf E, Olivares M, Pizarro F (1990). Hemoglobin fortified cereal: a source of available iron to breastfed infants. *Eur J Clin. Nutr.* **44**:793-798.

Hurrell RF(1997). Preventing iron deficiency through food fortification. *Nutrition Reviews.* **55**:210–222.

Instituto Colombiano de Bienestar Familiar (2005). Encuesta Nacional de la situación nutricional en Colombia. Resumen de datos Nacionales. ICBF: 6.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (2008). Chocolate y sus sucedáneos para consumo directo. Bogotá DC. ICONTEC. NTC 792.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (2008). Industria Alimentaria. Productos cárnicos procesados no enlatados. Bogotá DC. ICONTEC. NTC 1325.

King J, De Pablo S, Montes De Oca F (1990). Non heme iron evaluation of a hemoglobin iron concentrate. *J. Food Sci.* **55**:593 – 594.

Linden G, Lorient D (1996). Bioquímica Agroindustrial. Revalorización alimentaria de la producción agrícola. Acribia S.A. España: 232-235

Martín M, Guerra M, Valladares C (1997). Seminario Procesamiento de la sangre de res

y cerdo para la nutrición humana. Memorias del Seminario de Procesamiento de la sangre de res y de cerdo para la nutrición humana. Cuba.

Ministerio de Protección Social (2008). Reglamento técnico sobre requisitos de rotulado o etiquetado nutricional que deben cumplir los alimentos envasados para consumo humano. Resolución Número 0288.

Ministerio de Salud (1998). Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos. Manual de técnicas de análisis para control de calidad microbiológico de alimentos para consumo humano. División laboratorio de alimentos y bebidas alcohólicas. Sección de microbiología de alimentos. Santa Fé de Bogotá.

Moncada L F (1992). Puntos de control en la fabricación de alimentos balanceados. Memorias del Tercer Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, 1996, UANL, Monterrey, Nuevo León, México. [online]:547.

w3.dsi.uanl.mx/publicaciones/maricultura/acuicolaIII/pdfs/8.pdf. Enero de 2008.

Oellingrath IM (1988). Heat degradation of heme in methemoglobin and metmyoglobin model systems measured by reversed-phase ion-pair high performance liquid chromatography. *J. Food Sci.* **53**: 40.

Organización Panamericana de la Salud (2002). Compuestos de hierro para la fortificación de alimentos. Guía para América Latina y el Caribe. Washington D.C. (OPS/ILSI/USAID/INADCG); 2-6. www.paho.org/Spanish/AD/FCH/NU/FRM03_HierroGuias.pdf. Febrero de 2008.

Pedersen JW (1988). Use of haemoglobin in foods: A review. *Meat Science.* **24**:32-47.

Pérez G, Vittori D, Pregi N, Garbosa G, Nesse A (2005). Homeostasis del hierro. Mecanismos de absorción, captación celular

Bistua 2011 Vol 9(1);21-31. Adriana Soto Méndez , Luz Alba Caballero Pérez . Adición de hierro hemo, proveniente de hemoglobina bovina a



29

y regulación. Acta Bioquím. Clín. Latinoam **39**:301-314.

Posada M, Pineda V, Agudelo GM (2006). El chocolate un placer saludable, Compañía Nacional de Chocolates. 2da ed. :43-46.

Quast LB, Luccas V, Roth T, Kieckbusch TG (2007). Optimizaçãõ do processo de cristalizaçãõ da manteiga de cacau. Braz. J. Food Technol. [online] **10**: 130-136. <http://www.ital.sp.gov.br/bj/artigos/bjft/2007/p06283.pdf>. Febrero de 2009

Rhee KS, Ziprin YA (1987). Modification of the Schricker nonheme iron method to minimize pigment effects for red meats. J. Food Sci. **52**:1174–1177

Rielly CD, Smith DL, Lindley JA, Niranjan K, Phillips VR (1994). Mixing Processes for Agricultural and Foods Materials: Part 4, Assessmnt and Monitoring of Mixing Systems. J. Agric. Engng Res. **59**:1-18.
Schricker BR, Miller DD, Stouffer JR (1982). Measurement and content of nonheme and total iron in muscle. J. Food Sci. **47**:740–743.

Umbreit J (2005). Iron deficiency A concise-review. Am J of Hematology **78**:225-231.
World Health Organization (2001). Iron Deficiencia Anaemia Assessment, Prevention and Control: A guide for programme managers. Geneve.

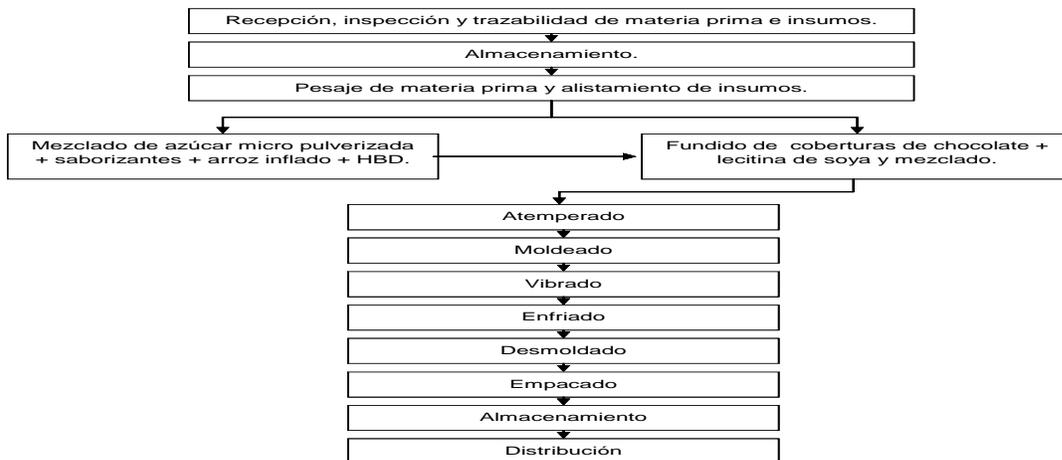


Figura 1. Diagrama de flujo de elaboración de chocolate. (Departamento de Aseguramiento de la Calidad, Alnut Ltda., Bucaramanga, Colombia, 2009).

Tabla 2. Coeficiente de variación de hierro total para diferentes tiempos de mezclado.

Muestra	Hierro Total / 100g de chocolate añadido			
	Tiempo de mezclado (min.)			
	5	10	15	20
1	20,76	18,57	17,80	19,03
2	16,45	16,50	15,54	19,10
3	15,56	12,83	16,45	21,36
4	8,50	20,41	20,35	20,48
5	22,86	19,43	18,50	18,41
6	19,92	18,04	20,83	19,75
Media	17,34	17,63	18,25	19,69
Desviación estándar	5,12	2,70	2,09	1,08
Coeficiente de Variación (%)	30	15	11	5

Tabla 3. Composición proximal y contenido de hierro de chocolate no añadido y añadido con HBD al 5,7%.

Composición química *	Media **	
	No añadido	añadido
Humedad (%)	1,85 ± 0,68 ^a	2,26 ± 1,52 ^a
Proteína (%)	7,25 ± 1,69 ^a	12,47 ± 0,60 ^b
Grasa total (%)	30,65 ± 0,15 ^a	30,75 ± 0,19 ^a
Hidratos de carbono (%)	58,94 ± 1,94 ^a	53,02 ± 2,37 ^b
Hierro no hemo (mg / 100 g)	5,03 ± 0,07 ^a	10,32 ± 0,30 ^b
Hierro hemo (mg / 100 g)	0,00 ± 0,00 ^a	8,20 ± 0,34 ^b
Hierro total (mg / 100 g)	6,28 ± 0,49 ^a	19,86 ± 0,16 ^b
Cenizas (%)	1,30 ± 0,11 ^a	1,49 ± 0,08 ^a

*Todas las determinaciones se realizaron en base húmeda.

** Las medias son los resultados de los análisis de tres réplicas. Medias con letras diferentes en las filas difieren significativamente para $p < 0,05$ (Prueba t).