UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
UNIDAD DE POSTGRADO

Evaluación nutricional de galletas fortificadas con sangre entera de bovino secada por atomización

TESIS Para optar el grado de Magíster en Ciencias Y Alimentos

AUTOR
Orlando Alberto Lucas Aguirre

LIMA – PERÚ 2005

A mis padres **ALBERTO** y **REYNALDA**, por ser fuente inagotable de amor, fuerza y valores que guían mi vida.

A mi amorcita **LOURDES**, cuyo amor de esposa me dio las fuerzas necesarias en la culminación de esta tesis.

A mi adorado **ALEJITO**, por su cariño y ternura infantil que tiene el don de endulzar los momentos más amargos de la vida.

A mí querida suegra **ELENA** por su cariño y sabios consejos.

A mis hermanos, **Sayda** y **Nancy** por el cariño y el apoyo incondicional.

A mi hermano **Walter**, su esposa y mis sobrinos **Marcelo**, **Nicolas** y **Ana**. Por su cariño y apoyo.

A la Dra. **Eloiza Hernandez** F. y Dra. **Teresa Abaiza F**. por su apoyo permanente y asesoria en la ejecución de la presente tesis.

A mis colegas Docentes del Laboratorio de Bioquímica, Nutrición y Alimentación Animal por el apoyo en la ejecución de la presente tesis: Dra **Teresa Arbaiza**, Dr. **Fernando Carcelén C.** y Dr. **Felipe San Martín. H**.

A los Miembros del Jurado calificador

- Dra. Luz Oyola de Bardales
- Dra. Elizabeth Gonzales
- Dra. Nancy Lozano Reyes
- Dr. Pablo Bonilla Rivera.

Un agradecimiento especial a la Dra. **Haydee Zúñiga** por su amistad y apoyo incondicional en la ejecución la tesis.

Un agradecimiento muy especial a la Dra. **Martha Ortega de Palti** y al Laboratorio **BIORPAL S.A**. por el apoyo en el análisis microbiológico de las galletas.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTO
CONTENIDO i
RESUMEN iii
SUMMARY iv

I. INTRODUCCIÓN 1

II. GENERALIDADES

1. IMPORTANCIA DEL HIERRO EN LA NUTRICION HUMANA
   1.1 Distribución del hierro en el organismo 3
   1.2 Absorción de hierro 4
   1.3 Consecuencias funcionales de la deficiencia de hierro 5
   1.4 Prevalencia de la deficiencia de hierro 8
   1.5 Fuentes alimentarias de hierro 9

2. IMPORTANCIA DE LAS PROTEINAS EN LA NUTRICIÓN HUMANA
   2.1 Digestión y absorción de proteico 10
   2.2 Anabolismo y catabolismo proteico 11
   2.3 Desnutrición proteico-energética 11
   2.4 Prevalencia de la desnutrición proteico-energética 12

3. UTILIZACIÓN DE LA SANGRE EN LA ALIMENTACIÓN HUMANA
   3.1 Matanza y sangrado de los animales 13
   3.2 Disponibilidad y recolección de sangre 13
   3.3 La sangre como alimento humano 15

III. MATERIALES Y METODOS

1. Elaboración de la Sangre Bovina Secada por Atomización (SBSA) 17
2. Análisis proximal y contenido de hierro de la sangre bovina secada por atomización (SBSA), sangre bovina y caseína 18

3. Elaboración de las galletas 19
4. Análisis microbiológico de las galletas 19
5. Evaluación nutricional de las galletas 19
6. Análisis estadístico 23

IV. RESULTADOS 24

V. DISCUSIÓN 30

VI. CONCLUSIONES 34

VII. BIBLIOGRAFÍA 35

VIII. ANEXOS 39

RESUMEN

El presente estudio se realizo con el objetivo de evaluar la calidad nutricional de galletas fortificadas con sangre bovina secada por atomización (SBSA). Se determinó la composición proximal, contenido de hierro, Índice de Eficiencia Proteica (PER), Digestibilidad Proteica Aparente *in vivo* (DA), porcentaje de aceptabilidad y las características sensoriales. Se ensayaron 2 niveles de fortificación: 5% (G5) y 8 % (G8) y un grupo control de galletas no fortificadas (G0).

El rendimiento de la deshidratación fue de 150 gramos de SBSA por litro de sangre. Se hallo que la SBSA tiene un alto contenido proteico (83,71 g/100g) y de hierro (385,20 mg/100g). Los resultados del análisis microbiológico indicaron que las galletas fortificadas estuvieron aptas para el consumo humano. La galleta G8 tuvo el mas alto contenido proteico (13,07 g/100g) le siguió la galleta G5 (10,99 g/100g) y en último lugar la galleta G0(8,72 g/100g); similar tendencia se observó para el contenido de hierro: G8 (24,04 mg/100g), G5 (20,96 mg/100g) y G0 (8,32 mg/100g). La DA de las galletas G5 (88,0 %) y G8 (88,7 %) fueron estadísticamente similares y menores que la DA de la caseína (94,2%). El PER de la galleta G8 (1,43) fue estadísticamente mayor que el de la galleta G5 (1,27); ambas galletas fortificadas tuvieron menor PER que la caseína (3,10). En la prueba sensorial, se hallo diferencias significativas entre los promedios de las calificaciones de sabor (G0=3,62, G5=3,18 y G8=3,08) y apreciación general (G0=3,60, G5=3,02 y G8=2,56); en cambio, no hubo diferencias significativas entre los promedios de las calificaciones de olor (G0=3,34, G5=3,18 y G8=3,08). La galleta G0 tuvo la mayor aceptabilidad (40 %), le siguió la galleta G5(35 %) y en último lugar la galleta G8 (25 %).

Se concluye que La fortificación de galletas con Sangre Bovina Secada por Atomización (SBSA) incrementa notablemente el contenido proteico y de hierro. Las galletas fortificadas con SBSA presentan elevada digestibilidad proteica y sus valores de PER son similares al de otras galletas horneadas. De los dos niveles de fortificación ensayados en el presente trabajo (5% y 8%), el nivel mas adecuado de fortificación sería el de 5% (G5), ya que estas galletas muestran mayor aceptabilidad y mayores calificaciones de sabor y apreciación general que las galletas fortificadas al 8% (G8).

Palabras claves: Sangre bovina, galletas fortificadas, atomización, calidad proteica, hierro.

SUMMARY

This study was realized with the aim to assess the nutritional quality of fortified cookies with bovine whole blood spray-dried (SBSA). Proximal composition, iron content, Protein Efficiency Ratio (PER), Apparent Protein Digestibility *in vivo* (DA), acceptability percentage and sensorial qualities was determined. It was tested two levels of cookies fortification: 5% (G5) y 8% (G8) and a control group of unfortified cookies (G0).

The dehydration yield was 150 grams of SBSA by liter of blood. It was found that the SBSA has a high content of protein (83,71 g/100g) and iron (385,20 mg/100g). The results of microbiologic analysis of the cookies showed that they were adequate for human consumption. The G8 cookie had the highest protein content (13,07 g/100g), followed by the G5 cookie (10,99 g/100g), and at last G0 cookie (8,72 g/100g); similar tendency was observed for iron content: G8 (24,04 mg/100g), G5 (20,96 mg/100g) y G0 (8,32 mg/100g). The DA of G5 (88,0 %) and G8 (88,7 %) cookies were statistically similar and smaller than the DA of casein (94,2%). The PER of cookie G8 (1,43) was statistically higher than G5 cookie (1,27), both fortified cookies had a lower PER than casein (3,10). In the sensorial test, it was found significant differences between the averages of the flavor score (G0=3,62, G5=3,18 y G8=3,08) and general appreciation (G0=3,60, G5=3,02 y G8=2,56); in contrast, there was not significant differences between the averages of the odor score (G0=3,34, G5=3,18 y G8=3,08). The G0 was the cookie with the highest acceptability percent (40%), continued by the G5 cookie (35%) and in the last place the G8 cookie (25%).

It was concluded that fortification of cookies with bovine whole blood spray-dried (SBSA) increases notably the protein and iron content. The cookies fortified with SBSA present high protein digestibility and his values of PER are similar to that of other baked cookies. Of two levels of fortification tested in the present work (5 % and 8 %), the most suitable level of fortification would be that of 5 % (G5), since these cookies show major acceptability and major score of flavor and general appreciation that the cookies fortified to 8 % (G8).

Key words: Bovine blood, fortified cookies, spray-dried, protein quality, Iron.

I. INTRODUCCIÓN

La anemia por deficiencia de hierro y la desnutrición crónica son los problemas nutricionales de mayor prevalencia a nivel mundial.

En el Perú, los datos publicados el año 2000 por el Instituto Nacional de Estadística e Informática (1), indican que la anemia afecta: al 31,6 % de las mujeres en edad fértil, al 38,6% de mujeres gestantes, al 40% de mujeres en periodo de lactancia y al 50% de niños menores de 5 años; y que la desnutrición crónica afecta al 25,4% de niños menores de 5 años.

La deficiencia de hierro afecta adversamente el rendimiento cognitivo, el comportamiento y el desarrollo físico de los niños (2,3); el estado de la inmunidad y la morbilidad a partir de infecciones de todos los grupos de edad (4). Durante el embarazo, la deficiencia de hierro incrementa el riesgo perinatal de las madres y los neonatos e incrementa toda la mortalidad infantil. La desnutrición crónica impide conseguir un crecimiento normal y pueden conducir a una enfermedad o mortalidad creciente y daños precoces en el cerebro, que afectan a la capacidad de aprender.

La anemia se origina principalmente por el aporte insuficiente de hierro en la alimentación, sobre todo el hierro hemo, el cual se encuentra principalmente en las

carnes rojas, hígado, pescado, pollo, y en la sangre. La desnutrición crónica, se origina principalmente por el consumo de alimentos deficientes en proteínas de alto valor biológico.

La sangre de bovino seria un producto adecuado para combatir estas deficiencias nutricionales; ya que posee un contenido proteico (18 g/100g) similar a la carne (5) y elevados niveles de hierro (45 mg/100g) (6) y de aminoácidos esenciales (5).

Se ha demostrado que los alimentos fortificados con hemoglobina mejoran el estatus de hierro de los niños (7) y que son altamente efectivos para combatir la anemia (8).

En la industria de alimentos se utiliza el plasma sanguíneo desecado como sucedáneo barato de la albúmina de huevo, en cambio, la fracción celular sanguínea generalmente se desecha, debido al oscurecimiento que origina la hemoglobina en el producto final; sin embargo, junto con la remoción de las células sanguíneas, también son removidos la mayor parte de las proteínas y el hierro hemo; por lo tanto, seria recomendable incluir la fracción celular sanguínea en la fortificación de productos alimenticios y emplear sangre entera.

Se ha determinado que el producto que se obtiene mediante el secado por atomización de la sangre de bovino tiene características apropiadas para la panificación (9). Sin embargo, aun no se han realizado estudios sobre la evaluación de la calidad nutricional de estos productos de panificación.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la calidad nutricional de galletas fortificadas con sangre entera de vacuno desecada por atomización. La evaluación nutricional incluyo las siguientes determinaciones: porcentaje de aceptabilidad y pruebas sensoriales en consumidores, calidad proteica y contenido proximal y de hierro. La evaluación de la calidad proteica se realizo mediante pruebas biológicas en ratas, determinándose el Índice de Eficiencia Proteica (PER) y la Digestibilidad Aparente (DA). Se ensayaron 2 niveles de fortificación: 5% (G5) y 8 % (G8) y un grupo control de galletas sin fortificación (G0).

II. GENERALIDADES

1. IMPORTANCIA DEL HIERRO EN LA NUTRICIÓN HUMANA

1.1 Distribución del hierro en el organismo

En el varón adulto normal (70 kg de peso) el contenido total de hierro es de 4 a 5 g. De esta cantidad, el 60% del hierro corporal total se encuentra en la hemoglobina, aproximadamente el 5% en la mioglobina, el 5% en enzimas que contienen hierro, y el resto en compuestos de depósito como la ferritina (20%) y la hemosiderina (10%). Apenas un 0,1% de hierro se encuentra en el plasma o fluidos extracelulares, unido a la proteína transferrina, que lo transporta hacia los diversos tejidos del organismo. Por otra parte, en los primeros meses de vida, la distribución de hierro en el organismo del niño sufre una serie de cambios que se pueden dividir en tres etapas: en el recién nacido, los niveles de hierro son de 75 mg/kg de peso, (aproximadamente 250 mg en un niño de 3,5 kg). Tras el nacimiento, los niveles de hemoglobina son particularmente altos, reflejando el ambiente intrauterino pobre en oxígeno, pero también existe una cantidad considerable de hierro almacenado en forma de ferritina y hemosiderina. En los

primeros meses de vida la eritropoyesis está disminuida debido al aumento de oxígeno que llega a los tejidos del neonato y a la corta vida de los glóbulos rojos fetales (el 60% de los adultos); por lo tanto, aunque el nivel de hierro total del niño no cambia, la hemoglobina desciende desde 170 g/l en el nacimiento hasta 125 g/l en la cuarta semana de vida. Paralelamente, la ferritina sérica aumenta así como los depósitos de hierro hepático. A partir del segundo mes de vida y hasta el cuarto mes apenas hay variaciones en el contenido total de hierro del niño; sin embargo, la eritropoyesis aumenta, la concentración de hemoglobina se estabiliza y la ferritina sérica disminuye, así como los depósitos de hierro hepáticos. A partir del cuarto mes de vida, el aumento del tamaño corporal del niño conlleva a un aumento del hierro corporal total, que llega a ser de 420 mg a los 12 meses de vida. En el sexto mes de edad los depósitos hepáticos de hierro se agotan, a menos que el niño reciba este elemento a partir de una fuente dietética adecuada.

1.2 Absorción de hierro

El hierro hemo se absorbe por un mecanismo distinto al descrito para el hierro inorgánico y las formas de hierro alimentario no hemo. La mayoría del hemo es ingerido en la forma de hemoglobina o mioglobina. El hemo puede ser absorbido directamente por las células de la mucosa después de remoción de la globina por las enzimas proteolíticas duodenales, o la porción proteica puede ser removida dentro del epitelio de la mucosa. En ambos casos, una vez dentro de las células, el hierro es liberado del hem probablemente por la enzima heme oxigenasa. Este puede luego atravesar las células para ser transferido al plasma como Fe (III). Solamente una pequeña porción del hemo absorbido por las células mucosas ingresa a la sangre portal como hem.

La absorción de hierro hemo dietario no se incrementa por el ácido ascórbico, ni es inhibida por sustancias como los fitatos. Su absorción es sólo ligeramente inhibida por la administración simultánea de hierro inorgánico y hierro no hemo.

En la dieta humana las principales fuentes de hierro hemo son la hemoglobina y la mioglobina que proceden del consumo de carne, pollo y pescado, mientras que el hierro no hemo es obtenido a partir de cereales, legumbres, frutas y vegetales. La absorción promedio de hierro hemo a partir de alimentos que contienen carne es alrededor de 25% (10). La absorción de hierro hemo puede variar desde 40 por ciento durante la

deficiencia de hierro hasta alrededor de 10 por ciento durante la repleción de hierro (11).

El hierro hemo puede ser degradado y convertido a hierro no hemo en alimentos que son cocidos a altas temperaturas por largo tiempo. El calcio es el único factor dietario que influencia negativamente la absorción de hierro hemo en la misma extensión que influencia la absorción de hierro no hemo.

El hierro no hemo es la principal forma de hierro dietario. La absorción de hierro no hemo está influenciada por el estatus individual de hierro y por varios factores en la dieta. Los compuestos de hierro utilizados para la fortificación de los alimentos estarán solo parcialmente disponibles para la absorción. Una vez que el hierro es disuelto, su absorción a partir de los fortificantes y de los contaminantes alimentarios es influenciado por los mismos factores que el hierro nativo de los alimentos. El hierro procedente del suelo (por ejemplo a partir de cierto tipo de arcilla) está algunas veces presente en cantidades considerables sobre la superficie de los alimentos como un contaminante originado a partir del polvo en alimentos secados al aire o a partir del agua usada en la irrigación.

Las sustancias reductoras (por ejemplo, sustancias que mantienen el hierro en la forma ferrosa) deben estar presentes para que el hierro sea absorbido (12).

1.3 Consecuencias funcionales de la deficiencia de hierro

La palidez de la anemia fue asociada con debilidad y cansancio mucho tiempo antes que su causa fuera conocida. Actualmente es reconocido que aún sin anemia, una ligera a moderada deficiencia de hierro tiene consecuencias funcionales adversas.

La deficiencia de hierro afecta adversamente:

- El rendimiento cognitivo, el comportamiento y el desarrollo físico de los infantes, preescolares y niños en edad escolar;
- El estado de la inmunidad y la morbilidad a partir de infecciones de todos los grupos de edad; y
- El uso de la fuente de energía por los músculos y por lo tanto la capacidad física y rendimiento en el trabajo de adolescentes y adultos de todos los grupos de edad.

Específicamente, la anemia por deficiencia de hierro durante el embarazo:

- Incrementa el riesgo perinatal de las madres y los neonatos; e
- Incrementa la mortalidad infantil.

Además, La deficiencia de hierro ocasiona deterioro de la función gastrointestinal y altera el patrón de la producción de hormonas y el metabolismo. Lo último incluye los neurotransmisores y las hormonas tiroideas, los cuales son asociados con alteraciones neurológicas, musculares y de regulación de la temperatura, que limita la capacidad de las personas expuestas al frío de mantener sus temperaturas corporales. Además, la replicación del DNA y su reparación involucra a enzimas dependientes del hierro.

1.3.1 Desarrollo cognitivo.

En animales experimentales, el hierro ha demostrado que juega un papel clave en la función cerebral. Muchas áreas del cerebro contienen hierro, algunas en grandes cantidades. Los animales deficientes en hierro muestran alteraciones tanto en los neurotransmisores y en el comportamiento que usualmente no responden a la reposición de hierro.

Hay una fuerte evidencia que, los hallazgos a partir de estudios con animales tienen aplicación en humanos. Por ejemplo, se ha observado concluyentemente, que la anemia por deficiencia de hierro produce retardo del desarrollo psicomotor y deterioró del rendimiento cognitivo de los niños en edad escolar (2,3).

En Costa Rica, los niños que tuvieron anemia moderada en su infancia obtuvieron menores puntuaciones en las pruebas de inteligencia (IQ) y otros desempeños cognitivos al momento del ingreso a la escuela que aquellos niños que no tuvieron anemia en su infancia. Este hallazgo surgió aún cuando la prueba fue controlada para un comprensivo grupo de factores socioeconómicos (13). Por otro lado, en Tailandia el pobre rendimiento en el lenguaje Tailandés y las pruebas matemáticas de niños con bajo nivel de hemoglobina no fue revertido por suplementación con hierro.

De esta manera, la deficiencia de hierro puede deteriorar el rendimiento cognitivo en todos los estadios de la vida. Además, los efectos de la anemia por deficiencia de hierro en la infancia y en la primera infancia no son probablemente corregidos por la subsiguiente terapia con hierro.

1.3.2 Resistencia a las infecciones

La morbilidad por enfermedades infecciosas está incrementada en poblaciones deficientes en hierro, debido a los efectos adversos de la deficiencia de hierro en el

sistema inmune (4). En estas situaciones, los leucocitos tienen una reducida capacidad para matar microorganismos ingeridos (14) y los linfocitos una disminuida habilidad para replicarse cuando son estimulados por un mitógeno. También en tales casos, ocurre una disminución de la concentración de células responsables de la inmunidad mediada por células y una disminución de la respuesta a la prueba dérmica con antígenos comunes. La suplementación con hierro y leche o cereales fortificados entre los niños se ha reportado que reduce la morbilidad a partir de enfermedades infecciosas (15).

1.3.3 Capacidad de trabajo y productividad.

Ha sido reportada una relación lineal entre la deficiencia de hierro y la capacidad de trabajo (16). La capacidad de trabajo retorna rápidamente a la normalidad con la suplementación de hierro. La ganancia en la productividad y el pago por descanso varían entre 10 a 30% de los niveles previos.

Comparadas con mujeres no anémicas, las trabajadoras anémicas en China fueron 15% menos eficientes en el rendimiento de sus trabajos. Ellas gastan 6% menos energía en sus actividades fuera de trabajo, tienen 4 % menos capacidad máxima de trabajo y tienen 12 % menos productividad total, comparada con los niveles alcanzados después que la anemia fue corregida por tratamiento con hierro por 4 meses (17). De manera similar, las adolescentes sin anemia por deficiencia de hierro mejoran significativamente (comparadas con un grupo control de placebo) sus niveles de resistencia y rendimiento físico después de la suplementación con hierro (19).

1.3.4 Embarazo.

La deficiencia de hierro en mujeres embarazadas incrementa la mortalidad materna (19), la pérdida del niño en la etapa prenatal y perinatal y la prematuridad. Cuarenta por ciento de todas las muertes maternas perinatales están ligadas a la anemia. El embarazo de consecuencia favorable ocurre 30-45% menos frecuentemente en madres anémicas, y sus infantes tienen menos de la mitad de hierro de reserva normal (20).

Tales infantes requieren más hierro que el proporcionado por la leche materna, a una menor edad que los infantes de normal peso al nacer; además, si la deficiencia de hierro originada por el embarazo no es corregida, las mujeres y sus niños sufrirán todas las consecuencias funcionales de la deficiencia de hierro.

1.3.5 Crecimiento.

Se ha demostrado que la suplementación con hierro mejora el crecimiento en niños deficientes en hierro (21). Si el efecto de la suplementación con hierro, se observa o no, depende aparentemente de factores locales. Estos factores incluyen la frecuencia de diarrea y otras infecciones, edad a la cual se produce la depleción de hierro y otros factores dietarios.

1.3.6 Endocrino y neurotransmisores.

La deficiencia de hierro altera la producción de Triyodotironina (T3) y la función de la tiroides en general, y la producción y metabolismo de las catecolaminas y otros neurotransmisores. Esto da como resultado el deterioro de la respuesta a la temperatura del medio ambiente frío.

Tanto en animales experimentales como en humanos, aquellos con anemia por deficiencia de hierro se vuelven mas rápidamente hipotérmicos y tienen una disminuida función tiroidal (22). Esta condición puede ser la causa del malestar por el frío de individuos pobremente alimentados a temperaturas en las cuales las personas bien alimentadas están cómodas.

1.4 Prevalencia de la deficiencia de hierro

La deficiencia de hierro es probablemente la deficiencia nutricional de mayor prevalencia a nivel mundial. Las más altas cifras de prevalencia para deficiencia de hierro se hallan en niños, adolescentes y mujeres embarazadas. Una reciente estimación basada en el criterio de la Organización Mundial de la Salud (OMS) indica que alrededor de 600 – 700 millones de personas alrededor del mundo tienen una marcada anemia por deficiencia de hierro (23).

En los países en vía de desarrollo, donde la prevalencia de la deficiencia de hierro es muy alta y la severidad de la anemia es marcada, los estudios sobre la distribución de la hemoglobina en diferentes grupos poblacionales puede proveer importante información como una valiosa base para los programas de acción.

En el Perú, según la Encuesta Nacional de Demografía y Salud (ENDES 2000) (1), la anemia afecta: al 31,6% de las mujeres entre 15 a 49 años de edad, al 38,6% de mujeres

stantes y al 40% de mujeres en período de lactancia, siendo más frecuente entre las mujeres que residen en los departamentos de Cuzco, Piura y Ayacucho, donde el 40 % o más de mujeres presenta algún grado de anemia. En los niños menores de 5 años la prevalencia es de 50%, siendo mas frecuente entre los niños que residen en la Sierra (56 %) y en los departamentos de Tacna y Cuzco, donde afecta a más de 62 % de los niños.

1.5 Fuentes alimentarias de hierro

En la Tabla 1 se expone el contenido de hierro de algunos alimentos.

Tabla 1.

Contenido en hierro de algunos alimentos [a]

ALIMENTO	HIERRO (mg por 100 g de porción comestible)
Carnes	
Hígado	8 – 10
Ternera	2 – 3.5
Embutidos	2 – 2.25
Pollo	1.5 – 2
Harina de sangre[b]	380
Pescados	
Sardinas	2.9
Atún	1
Bacalao	0.4
Ostras	26
Mejillones	7.7
Huevos	
Entero	1.9
Yema	6.1
Legumbres secas	8.5 – 5.3
Cereales	
Pan blanco	1.7
Pan integral	2.5
Corn-flakes	6.7
All-bran	12.0
Hortalizas	
Espinacas	1.6
Patatas	0.4
Leche	
Leche de vaca, Yogur	0.1

[a] Tomado de Martínez, et al., en : "Biodisponibilidad de hierro de los alimentos"(24)
[b] Tomado de Divakaran, S. en: "Aprovechamiento de sangre animal" Boletín de Servicios Agrícolas No 32, FAO (5)

principales fuentes de origen animal son las carnes rojas y las vísceras, en especial el hígado, y los moluscos bivalvos, que acumulan el hierro en sus tejidos. En el otro extremo se encuentran la leche (incluyendo la leche materna) y los productos lácteos, que son muy pobres en este elemento. También se observa en esta tabla, que la harina de sangre tiene un contenido de hierro mucho mas elevado que cualquiera de los alimentos comúnmente utilizados.

Entre las fuentes de origen vegetal, las legumbres secas lo contienen en porcentajes elevados, incluso mayores que las carnes, aunque su biodisponibilidad en mucho menor. Ello no es óbice para considerarlas fuentes recomendables.

Los cereales integrales y los enriquecidos con hierro, que con frecuencia se consumen en el desayuno, son otra fuente importante de este mineral.

2. IMPORTANCIA DE LAS PROTEINAS EN LA NUTRICIÓN HUMANA

La función principal de las proteínas presentes en nuestros alimentos es aportar el nitrógeno y los aminoácidos necesarios para la síntesis de las proteínas corporales y las demás sustancias nitrogenadas.

2.1 Digestión y absorción de las proteínas

Las proteínas alimenticias son digeridas por enzimas proteolíticas en el tracto gastrointestinal. Primero actúa la pepsina presente en el jugo gástrico y después las proteasas segregadas por el páncreas (tripsina, quimiotripsina, carboxipeptidasas A y B, elastasa) y por las células de la mucosa intestinal (aminopeptidasas, dipeptidasas). La mayoría de estos enzimas catalizan la hidrólisis de enlaces peptídicos específicos.

Los aminoácidos libres y los péptidos pequeños, se absorben a través de las células de los pliegues que recubren la mucosa intestinal. Existen mecanismos específicos de absorción para los aminoácidos neutros, ácidos o básicos, así como para los péptidos. La mayoría de los péptidos absorbidos se hidrolizan en el interior de las células intestinales. Los aminoácidos absorbidos se transportan rápidamente hacia el hígado, por la vena porta. Por 100 g de proteínas ingeridas al día, solamente se eliminan por las heces unos 10 g, si bien más de 50 a 70 g de proteínas "endógenas" (enzimas digestivos y proteínas de las células epiteliales de los pliegues intestinales) se excretan diariamente en el tracto gastro-intestinal; también se digieren y absorben la mayoría de esas

permitir una buena complementación de aminoácidos esenciales y mejorar el valor biológico de la proteína dietaria

La desnutrición proteico-energética afecta todos los grupos de edad pero esta es mas frecuente entre infantes y niños, cuyo crecimiento incrementa los requerimientos nutricionales, quienes no pueden obtener alimentos por sus propios medios y quienes, cuando viven bajo pobres condiciones higiénicas, frecuentemente padecen de diarrea y otras infecciones. Los niños quienes han sido destetados prematuramente o quienes son alimentados a pecho por un prolongado tiempo sin adecuadas prácticas de alimentación complementaria se vuelven desnutridos por una falta de adecuada ingesta de proteína y energía.

2.4 Prevalencia de la desnutrición proteico-energética

La desnutrición proteico-energética es de lejos la más letal forma de la desnutrición. Los niños son sus víctimas más visibles. La desnutrición está presente en al menos la mitad de los 10,9 millones de niños que mueren cada año a nivel mundial (25).

La desnutrición proteico-energética afecta a uno de cada cuatro niños alrededor del mundo: 150 millones (26,7%) tiene bajo peso (desnutrición aguda), mientras 182 millones (32,5%) tienen retardo en el crecimiento (desnutrición crónica) (25).

En el Perú según la ENDES 2000 (1) la desnutrición crónica afecta al 25,4 %; siendo mayor la intensidad en los niños del área rural y en los residentes de Cajamarca, Huanuco, Apurimac, Cuzco y Huancavelica, donde mas del 40 % de los niños menores de 5 años padecen de desnutrición crónica.

3. UTILIZACIÓN DE LA SANGRE EN LA ALIMENTACIÓN HUMANA

El empleo de la sangre como alimento humano no es nuevo, si bien es sólo propio, en general, de las sociedades más pobres. Objeciones de tipo religioso han prohibido en gran medida el empleo de la sangre como alimento humano entre los musulmanes y los hebreos. Las morcillas, las sopas y carnes con sangre, la pasta de sangre, los budines de sangre y la torta de sangre cocidas son ejemplos de artículos alimenticios a base de sangre.

La sangre tiene un contenido proteico de 18% (5), este valor es comprable al de la carne magra, por esto a la sangre se le conoce también como "carne líquida". En los países

pobres las proteínas de origen animal como la carne es bastante escasa debido a su alto costo, la sangre sería una buena fuente alternativa de proteínas de alta calidad nutricional y de bajo costo. Además, la sangre posee un alto contenido de hierro (45 mg/100g) (6), principalmente el hierro hemo, que como sabemos se absorbe en mayor proporción que el hierro no hemo (26), por lo tanto seria muy útil para combatir la anemia.

3.1 Matanza y sangrado de los animales

Los mataderos son los locales en que se sacrifica a los animales para aprovechar su carne como alimento. El proceso que ello requiere, desde la muerte del animal hasta la distribución de la carne, está regulado por disposiciones de carácter legislativo o derivadas de las prácticas religiosas.

En muchos países se utilizan métodos humanitarios de matanza, para que los animales sufran lo menos posible. El aturdimiento o insensibilización de los animales es una práctica que se sigue en muchos mataderos de países desarrollados. Este procedimiento facilita la manipulación de los animales en los mataderos altamente mecanizados.

En los mataderos grandes, donde se practica el aturdimiento del ganado vacuno, se sangra al animal mediante una incisión transversa, seccionando todos los vasos sanguíneos del cuello.

3.2 Disponibilidad y recolección de sangre

El ganado vacuno rinde sangre a razón aproximadamente, del 7,7 por ciento de su peso corporal, y en el ovino y caprino la proporción es del 6,2 por ciento. En general, a efectos prácticos, la disponibilidad de sangre de ganado vacuno, ovino y caprino es del 5 por ciento de sus respectivos pesos corporales, y la de cerdos, del 3,5 por ciento.

La introducción de métodos eficientes de recogida y elaboración, con inversiones y tecnologías mínimas, favorecería indudablemente un mayor aprovechamiento de la sangre. Utilizada en su totalidad y en forma debida, puede contribuir en forma importante a cubrir el actual déficit de proteínas.

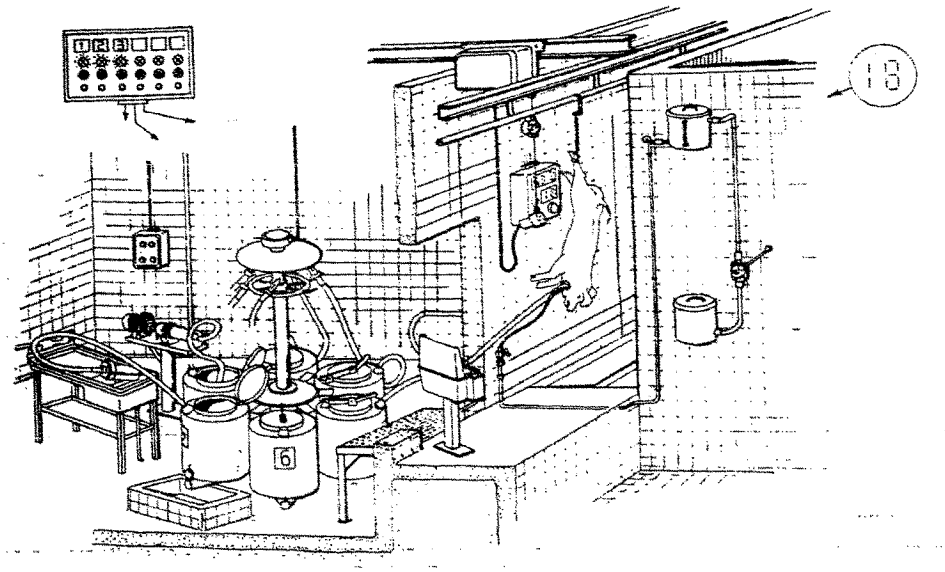


Figura 1. Esquema de un equipo para recolección de sangre. Fuente: Wismer-Pedersen (28).

La figura 1 muestra un esquema de un equipo automatizado (Comercialmente utilizado en Dinamarca y Polonia) para la recolección de la sangre de porcinos, que podría, sin embargo, ser igualmente utilizado para la matanza de vacunos u ovinos. En estos equipos la sangre es drenada de animales aturdidos por medio de un cuchillo hueco esterilizado el cual es insertado en la garganta para cortar las principales arterias. La sangre fluye a través de una manguera unida al cuchillo dentro de uno de los tanques de colección. Al mismo tiempo, una porción de anticoagulante, usualmente citrato de sodio, es descargado y mezclado con la sangre. El flujo de sangre termina después de aproximadamente 30 segundos para porcinos y 60 segundos para vacunos de carne. Después de la colección el cuchillo es removido y esterilizado. La sangre es circulada a través de una superficie de enfriamiento conectada a un tanque aislado de almacenamiento, por lo que este puede ser posteriormente procesado como sangre total o llevada a centrifugación para separar el plasma sanguíneo de los corpúsculos sanguíneos. La aprobación del contenido de un tanque es realizado por un veterinario a cargo de la línea de matanza, en caso de no ser aprobado, se detiene automáticamente el flujo de sangre y es usado para fines no alimentarios.

3.3 La sangre como alimento humano

La fracción celular desecada de la sangre ha sido añadido a los alimentos como una fuente de hierro biodisponible. El hierro hemínico es absorbido intacto y de esta manera está protegido de los inhibidores de la absorción de hierro. La absorción es siempre relativamente alta y se ha reportado que varía desde 15% hasta 35% dependiendo del estatus de hierro (26, 27). En un estudio realizado en Chile, se determinó que los alimentos fortificados con concentrado de hemoglobina mejoran el estatus de hierro de los niños (7). En el Perú, el uso de galletas fortificadas con concentrado de hemoglobina ha mostrado alta efectividad en la recuperación de la anemia (8).

En cuanto a la calidad proteica, en la tabla 2 se observa que la sangre a pesar de ser una buena fuente de aminoácidos, es deficiente en isoleucina y metionina, por lo tanto se recomienda que se utilice en combinación con otros alimentos ricos en estos aminoácidos como los cereales.

Tabla 2.

Datos comparativos de la aminoácidos contenidos en la carne, sangre y las necesidades de aminoácidos propuesta por FAO/OMS/UNU.

	Contenido de aminoácidos esenciales (g de aminoácido / 100 g de proteína)		
Aminoácidos esenciales	Carne de vacuno[a]	Sangre de vacuno[b]	FAO/OMS/UNU[a] Pre-escolares (2-5años)
Histidina	3,4	-	1,9
Isoleucina	4,8	0,4	2,8
Leucina	8,1	13,6	6,6
Lisina	8,9	9,4	5,8
Metionina + cistina	4,0	1,8	2,5
Fenilalanina + tirosina	8,0	8,0	6,3
Treonina	4,6	4,7	3,4
Tritófano	1,2	1,4	1,1
Valina	5,0	8,0	3,5

[a] Tomado de FAO/OMS (29)
[b] Tomado de Divakaran, S. en: "Aprovechamiento de sangre animal" Boletín de Servicios Agrícolas No 32, FAO (5)

La adición de proteínas de la sangre a los alimentos puede contrarrestar la carencia de lisina en las proteínas vegetales. Por otro lado, los aminoácidos disponibles (particularmente los de carácter termolábil, en los preparados alimenticios a base de carne o de sangre) se reducen considerablemente durante la cocción, porque se desnaturalizan, y ello ha de tenerse en cuenta al evaluar el valor nutritivo de los productos alimenticios.

No aprovechar la sangre de los mataderos, que constituye el 3-5 por ciento de peso de los animales, equivale a desperdiciar gran cantidad de proteínas valiosas en regiones del mundo deficitarias en proteínas.

Se ha estudiado el empleo de plasma sanguíneo de bovino desecado para la fortificación de galletas (30), los resultados indican que estas galletas tienen un alto valor nutricional y que pueden por lo tanto ser incluidas como complemento proteico y energético en los programas de merienda escolar.

Se debe anotar que la sangre no es un ingrediente extraño en los productos cárnicos. Todas las carnes contienen sangre como un residuo del sangrado de los animales. La sangre residual contenida en las carnes ha sido estimada en 0,3% del peso de carne fresca (30).

La sangre no utilizada constituye, por otro lado, una fuente importante de contaminación de la red de desagüe. La sangre cuajada se adhiere a la superficie de los desagües y sumideros, obturándolos, y ofrece un medio ideal para la putrefacción, produciendo malos olores en los locales y favoreciendo la proliferación de moscas. Si se pudiera utilizar en forma rentable la sangre, ello contribuiría a mantener los mataderos en mejores condiciones sanitarias.

Si se superan las barreras técnicas y se industrializa la sangre, este producto sería muy importante sobretodo en países pobres como el nuestro, con alta prevalencia de anemia por deficiencia de hierro y de desnutrición crónica y donde la mayoría de la población no tiene acceso a las proteínas animales debido a su alto costo.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Elaboración de la Sangre Bovina Secada por Atomización (SBSA)

Para la elaboración de la SBSA se recolectó la sangre de un bovino beneficiado en el camal "La Colonial", ubicado en la Provincia Constitucional del Callao. En este camal, los animales son sometidos a inspección veterinaria antes de ser beneficiados. Antes de la recolección de la sangre se limpió la superficie del animal en donde se realizó la incisión y se evitó el contacto de la vasija recolectora con la piel del animal. Para evitar la coagulación de la sangre se agregó citrato de sodio en la proporción de 3 gramos por litro de sangre.

Luego de la recolección, se trasladó la sangre a la Planta Piloto de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria de la Molina para su deshidratación en un secador por atomización (Niroatomizer A/S). Las condiciones de secado fueron: temperatura = 120 °C, presión = 40 bars y tiempo = 2 horas. Se obtuvo 950 gramos de SBSA a partir de 6,5 litros de sangre.

Figura 1. Secador por atomización Niroatomizer A/S (Planta Piloto de la Facultad de Industrias Alimentarias - Universidad Nacional Agraria la Molina- Lima)

2. Análisis proximal y contenido de hierro de la sangre bovina secada por atomización (SBSA), sangre bovina y caseína

Para el análisis proximal, la determinación del contenido de proteínas, humedad, extracto etéreo y cenizas se procedió según los métodos descritos por la Asociación Oficial de Químicos Analistas AOAC (31). El contenido de hierro se determinó empleando el método espectrofotométrico con batofenantrolina (32).

Elaboración de las galletas.

Se elaboraron galletas fortificadas con SBSA al 5% (G5) y 8% (G8), también se elaboró galletas no fortificadas (G0) como control del experimento.

La composición de las galletas G0 fue: harina de trigo: 55%, mantequilla: 18%, Azúcar: 21%, chocolate en polvo: 5%, esencia de vainilla: 0,5% y polvo de hornear: 0,5%. En las galletas fortificadas G5 y G8 se reemplazó 5% y 8% de harina de trigo por SBSA respectivamente.

La elaboración de las galletas se realizó de la siguiente manera: (a) se mezcló harina de trigo, chocolate en polvo, esencia de vainilla, polvo para hornear, azúcar y SBSA (en las galletas fortificadas) con mantequilla (b) se amazo la mezcla hasta obtener una consistencia homogénea; y (c) se moldeó y horneó las galletas a 200 °C por 20 minutos.

4. Análisis microbiológico de las galletas

Se realizó siguiendo los métodos recomendados por la Comisión Internacional sobre Especificaciones Microbiológicas para Alimentos (ICMSF) (33) y comprendió la numeración de aerobios mesófilos viables, numeración de coliformes e identificación de salmonella.

5. Evaluación nutricional de las galletas

5.1 Análisis proximal y contenido de hierro

La determinación del contenido de proteínas, humedad, extracto etéreo, cenizas y fibra bruta se realizó según los métodos descritos por la Asociación Oficial de Químicos Analistas AOAC (31). El porcentaje de carbohidratos disponibles se calculó por diferencia, restando de 100 los porcentajes de Proteínas, Humedad, Extracto Etéreo, Cenizas y Fibra Bruta.

Para la cuantificación de hierro se empleó el método espectrofotométrico con batofenatrolina (32), que se describe a continuación:

<u>Reactivos:</u>

- Batofenantrolina, 0,025% en acetato de sodio: Añadir en un beaker de 100 ml 21,8g de acetato de sodio trihidrato y 0,025 g de batofenantrolindisulfonico, sal

disodica. Disolver completamente utilizando calentamiento suave. Si es necesario, completar a volumen con agua desionizada.

- Solución de hierro estándar, 0,01 mg/ml: Disolver 0,7024 g de $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2.6H_2O$ en agua, añadir 1 gota de ácido clorhídrico 6M y diluir a 100 ml. En un frasco volumétrico de 100 ml, añadir 1 ml de esta solución y agregar 16 ml de HCl 6M y completar a volumen con agua desionizada.

Procedimiento:

- Preparar soluciones de hierro de concentraciones de 0, 0,3, 0,6, 1,2, 2,4 y 4,8 mg/L; añadir 0, 3, 6, 12, 24 y 48 ml de la solución de hierro estándar de 0,01mg/ml en frascos volumétricos de 100 ml; luego agregar 8 ml de HCl 6M a cada frasco y completar a volumen con agua desionizada.
- Pesar exactamente 2,0 g de galletas previamente molidas y homogenizadas. La molienda se realiza en un molino de cuchilla con malla de 1mm de diámetro de poro.
- Transferir la muestra a un crisol de porcelana e incinerar por 3 horas a 600 °C o hasta que prácticamente esté libre de carbono. Dejar enfriar.
- Añadir 5 ml de HCl 6M, dejar que el ácido enjuague la porción superior del crisol, y evaporar hasta sequedad en un baño de vapor.
- Disolver el residuo añadiendo 5 ml de HCl 6M exactamente medido, y calentar 5 minutos en baño de vapor con luna de reloj en el crisol.
- Filtrar en un frasco volumétrico de 50 ml. Enjuagar la luna de reloj y el crisol con varias porciones de agua, completar a volumen con agua desionizada.
- Etiquetar tubos de 10 ml para los estándares (0, 0,3, 0,6, 1,2, 2,4 y 4,8 mg/L) y muestras.
- A cada tubo añadir 5ml de estándar o muestra.
- Añadir 0,5 ml de solución de ácido ascórbico al 10%.
- Añadir 4 ml de la solución de Batofenantrolina al 0,025% en acetato de sodio. Dejar 20 minutos.
- Medir la absorbancia a 535 nm de longitud de onda. Ajustar a cero con un blanco de reactivos.
- Plotear la concentración de hierro de los estándares en mg/L (y) versus absorbancia (x).

- Calcular la concentración de hierro de las muestras en mg/L (C) usando la ecuación de regresión. Calcular el hierro en las galletas como mg/100 g, según la siguiente formula:

$$\text{Hierro (mg/100g)} = \frac{C \times 5}{\text{Peso muestra (g)}}$$

5.2 Energía metabolizable

Se determinó utilizando los factores de Atwater (34): 4.0 Kcal/g para proteínas, 9.0 Kcal/g para grasas y 4.0 Kcal/g para carbohidratos.

5.3 Pruebas biológicas

Las pruebas biológicas fueron realizadas en el Bioterio de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
Siguiendo la metodología descrita en la AOAC (31), se procedió de la siguiente manera:

A. Preparación de las dietas:

Las dietas tuvieron la siguiente composición: 10% de proteínas, 10% de grasa, 2% de Mezcla de Vitaminas, 3,5% de Mezcla de Minerales, 5% de celulosa y Almidón de maíz para completar a 100%. La dieta de referencia de caseína se preparó utilizando caseinato de sodio como fuente proteica.

B. Animales de ensayo:

Se utilizaron 24 ratas machos de la cepa Sprague Dawley de 28 días de edad, distribuidos aleatoriamente en 3 grupos de 8 ratas cada uno con pesos promedios similares. Los animales fueron comprados en el Bioterio de la Universidad Nacional Agraria de la Molina. Los animales se sometieron a un proceso de acondicionamiento de 5 días consumiendo una dieta comercial estándar. Posteriormente fueron alimentadas con las dietas experimentales.

C. Índice de Eficiencia Proteica (PER):

Interdiariamente se registró el peso y el consumo de alimento de cada animal durante 28 días de experimentación. El PER se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$PER = \frac{\text{Ganancia de peso (g)}}{\text{Consumo de proteína (g)}}$$

- Digestibilidad Aparente *in vivo* (DA):

Durante los últimos cinco días del experimento, se recolectaron y pesaron las heces, que fueron secadas y molidas para determinar su contenido de nitrógeno. De forma similar se halló el peso y el contenido de nitrógeno del alimento ingerido. Con estos datos, se calculó la DA usando la siguiente expresión:

$$DA = \frac{\text{(Nitrógeno ingerido} - \text{Nitrógeno excretado)}}{\text{Nitrógeno ingerido}}$$

5.4 Pruebas sensoriales y de aceptabilidad en consumidores

Participaron 50 personas (no entrenadas) de 18 a 25 años de edad de sexo femenino con la característica común de ser habituales consumidoras de galletas dulces. La prueba se realizo con personas que realizaban sus compras en un centro comercial de la ciudad de Lima. A cada participante se le presentó las tres galletas identificadas con números aleatorios y se les preguntó cual de las tres prefería. Además, se les pidió que calificaran los atributos de sabor, olor y apreciación general de cada galleta en una escala hedónica de cuatro valores donde el extremo 1 indica una muy baja calidad, 2 baja calidad, 3 buena calidad y el extremo 4 muy buena calidad.

Se calculó el porcentaje de aceptabilidad de cada galleta empleando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Aceptabilidad} = (N / No) \times 100$$

Donde:

N = número de personas que prefirió la galleta X

No = número total de personas entrevistadas.

IV. RESULTADOS

1. Composición proximal y contenido de hierro de la sangre bovina secada por atomización (SBSA), sangre bovina y caseína.

La composición proximal y el contenido de hierro de la sangre bovina secada por atomización (SBSA), sangre bovina y caseína se presentan en el cuadro 1.

Cuadro 1.

Composición proximal y contenido de hierro de la sangre bovina secada por atomización (SBSA), sangre bovina y caseína

	SBSA	Sangre Bovina	Caseína
Humedad (g/100g)	6,23	79,67	2,94
Proteínas (N x 6,25) (g/100g)	83,71	17,88	85,50 [1]
Grasas (g/100g)	0,09	0,13	0,11
Cenizas (g/100g)	4,07	0,73	3,34
Carbohidratos totales	5,90	1,59	8,11
Hierro (mg/100g)	385,20	77,10	0,08

[1] N x 6,38.

El rendimiento de la deshidratación fue de 150 g de producto por litro de sangre.
Ser observó que el contenido de hierro de la SBSA (385,20 mg/100g) es bastante elevado.

2. Análisis microbiológico de las galletas

Los resultados del análisis microbiológico de las galletas se presentan en el cuadro 2, estos indican que las galletas están aptas para el consumo humano, ya que cumplen con los requerimientos microbiológicos establecidos por el *Codex Alimentarius* (36)

Cuadro 2

Análisis Microbiológicos de las galletas G0, G5 y G8

Prueba	Galleta			Especificaciones [1]
	G0	G5	G8	
Numeración de Aerobios Mesófilos (UFC/g)	1.2×10^2	1 X 10	1 X10	$<10^3$
Numeración de coliformes (NMP/g)	< 3	< 3	< 3	<3
Identificación de Salmonella (en 25 g)	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

UFC: unidad formadora de colonia. NMP: número más probable.
G0: galletas no fortificadas. G5 y G8: galletas fortificadas al 5% y 8% con SBSA.
[1] *Codex Alimentarius* Commisión (35)

3. Evaluación nutricional de las galletas

3.1 Composición proximal, contenido de hierro y aporte energético

En el cuadro 3 se presenta la composición proximal, contenido de hierro y aporte energético de las galletas fortificadas y no fortificadas elaboradas en el presente estudio. En este cuadro se observa que el contenido proteico y de hierro de las galletas se incrementa conforme se incrementa el porcentaje de fortificación con SBSA, esto se debe al alto contenido proteico y de hierro de la SBSA (ver cuadro 1).

En la figura 2 se puede apreciar que la SBSA imparte una coloración oscura a las galletas, que se acentúa al incrementarse el nivel de fortificación.

Cuadro 3.

Composición química y aporte energético de las galletas G0, G5 y G8

	Galleta		
	G0	**G5**	**G8**
Humedad (g/100g)	6,72	9,21	7,76
Proteínas (N x 6,25) (g/100g)	8,72	10,99	13,05
Grasas (g/100g)	13,05	12,85	13,07
Fibra cruda (g/100g)	0,5	0,40	0,51
Cenizas (g/100g)	0,38	0,46	1,18
Carbohidratos disponibles (g/100g)	70,63	66,09	64,33
Hierro (mg/100g)	8,32	20,96	24,04
Energía metabolizable (Kcal/g)	436,85	425,57	429,19

G0: galletas no fortificadas. G5 y G8: galletas fortificadas al 5% y 8% con SBSA

Figura 2. Galletas fortificadas con SBSA al 5% (G5) y 8% (G8) y Galletas no fortificadas (G0).

G8 **G5** **G0**

3.2 Pruebas biológicas

La composición de las dietas usadas en las pruebas biológicas se muestra en el cuadro 4.

En el cuadro 5 se presentan los resultados de la determinación de la digestibilidad aparente *in vivo* (DA). Se halló que la DA de las galletas G5 es similar al de la galleta G8 ($p<0,05$) y que ambas galletas fortificadas (G5 y G8) tuvieron menor DA que la caseína ($p<0,05$).

En el cuadro 6 se muestran los resultados de la determinación del Índice de Eficiencia proteica (PER). Se halló que el PER de la galleta G8 fue mayor que el PER de la galleta G5 ($p<0,05$) y que ambas galletas fortificadas (G5 y G8) tuvieron menor PER que la caseína ($p<0,05$).

Cuadro 4.

Composición de las dietas utilizadas en las pruebas biológicas (g/100g)

Ingrediente	Dieta control de caseína	Dieta G5	Dieta G8
Caseína	11.9	-	-
G5	-	91,0	-
G8	-	-	76,6
Aceite de maíz	10,0	-	-
Mezcla de minerales	3,1	3,1	2,6
Mezcla de vitaminas	2,0	2,0	2,0
Celulosa	5,0	3,9	4,6
Almidón de maíz	68,0	-	14,2

G0: galletas no fortificadas. G5 y G8: galletas fortificadas al 5% y 8% con SBSA

Cuadro 5

Digestibilidad Aparente *in vivo* (DA) de las galletas G5 y G8 (Promedio ± Desviación Estándar).

	Alimento consumido (g/día)[1]	Nitrógeno consumido (g/día)[1]	Nitrógeno excretado (g/día)[1]	DA (%)[1]
G5[2]	10,3 ± 1,6[a]	16,5 ± 2,6[a]	1,9 ± 0,2[a]	88,0 ± 1,5[a]
G8[2]	10,5 ± 0,7[a]	16,8 ± 1,1[a]	1,7 ± 0,3[a]	88,7 ± 1,0[a]
Caseína (control)	15,8 ± 2,9[b]	25,2 ± 4,7[b]	1,5 ± 0,3[b]	94,2 ± 0,5[b]

[1] Letras diferentes en una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas (P<0,05).
[2] G5 y G8: galletas fortificadas al 5% y 8% con SBSA

Cuadro 6

Índice de Eficiencia Proteica (PER) de las galletas G5 y G8 (Promedio ± Desviación Estándar).

	Alimento consumido (g/día)[1]	Ganancia de peso (g/día)[1]	Proteína consumida (g/día)[1]	PER[1]
G5[2]	7,56 ± 0,60[a]	0,96 ± 0,10[a]	0,76± 0,06[a]	1,27 ± 0,09[a]
G8[2]	8,24 ± 0,34[b]	1,18 ± 0,07[b]	0,82± 0,03[b]	1,43 ± 0,03[b]
Caseína (control)	10,54 ± 0,14[c]	3,27 ± 0,20[c]	1,05 ± 0,01[c]	3,10 ± 0,17[c]

[1] Letras diferentes en una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05).
[2] G5 y G8: galletas fortificadas al 5% y 8% con SBSA

3.3 Pruebas sensoriales y de aceptabilidad en consumidores

Los resultados de las pruebas sensoriales se presentan en el cuadro 7. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre los promedios de las calificaciones de olor de las tres galletas (G0, G5 y G8). En cambio, los promedios de las calificaciones de sabor y apreciación general fueron estadísticamente diferentes (p<0,05), siendo la

galleta G0 la que mostró las calificaciones mas altas, le siguió la galleta G5 y en último lugar la galleta G8.

Los resultados de la prueba de aceptabilidad se presenta en el gráfico 1, la galleta G0 tuvo la mayor aceptabilidad, le siguió la galleta G5 y en último lugar la galleta G8.

Cuadro 7

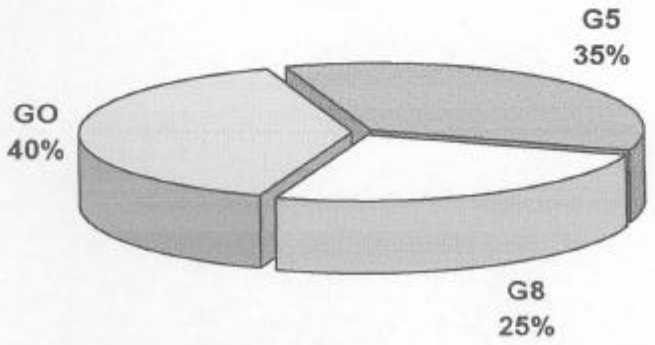
Calificaciones sensoriales de las galletas G0, G5 y G8 (Promedio ± Desviación Estándar).

Galleta	Olor[1]	Sabor[1]	Apreciación general[1]
G0[2]	3,34 ± 0,59[a]	3,62 ± 0,49[a]	3,60 ± 0,49[a]
G5[2]	3,18 ± 0,75[a]	2,94 ± 0,59[b]	3,02 ± 0,51[b]
G8[2]	3,08 ± 0,53[a]	2,36 ± 0,63[c]	2,56 ± 0,54[c]

[1] Letras diferentes en una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$).
[2] G0: galleta no fortificada. G5 y G8: galletas fortificadas al 5% y 8% con SBSA

Figura 3

Porcentaje de aceptabilidad de las galletas G0, G5 y G8.



G0: galleta no fortificada

G5: galleta fortificada al 5% con SBSA

G8: galleta fortificada al 8% con SBSA

V. DISCUSIÓN

1. Composición proximal y contenido de hierro de la sangre bovina secada por atomización (SBSA), sangre bovina y caseína.

El contenido proteico de la sangre entera bovina que hemos hallado (17,88 %) es cercano al 18 % publicado por la FAO (5). Esto confirma que la sangre tiene un contenido proteico comparable al de la carne magra.

El alto contenido proteico de la SBSA que hemos obtenido (83,71 g/100g) es similar al de la caseína; sin embargo, la caseína tiene mayor calidad proteica que la SBSA, ya que el contenido de aminoácidos esenciales de la caseína es similar al patrón de referencia de la FAO (29), a diferencia de la sangre que es deficiente en isoleucina y metionina (5).

El contenido de hierro de la SBSA que hemos hallado (385,20 mg/100g) es similar al valor de 380 mg/100g publicado por la FAO para harina de sangre (5). Este contenido de hierro de la SBSA es bastante elevado en comparación al de los alimentos tradicionalmente ricos en hierro como la carne (2,0 – 3,5 mg/100g) e hígado de bovino (8 a 10 mg/100g) (24).

Por otro lado, la baja humedad (6 %) de la Sangre Bovina Secada por Atomización (SBSA) permitiría su almacenamiento a temperatura ambiente, facilitando su transporte.

2. Análisis microbiológico de las galletas

Los resultados del análisis microbiológico de las galletas indican que el tratamiento térmico empleado en la deshidratación de la sangre y el horneado de las galletas en las condiciones efectuadas en el presente estudio son adecuados para obtener un producto inocuo.

3. Evaluación nutricional de las galletas

3.1 Composición proximal y contenido de hierro

La Academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos recomienda una ingesta dietaria (RDA) de 24 g de proteínas por día para niños de 4 a 6 años de edad (36). Una porción de 4 galletas (60g) fortificadas G5 y G8 cubren el 28% y 33% de la RDA respectivamente, comparado con la galleta no fortificada G0 que solo cubre el 22 %.
La RDA de hierro es de 10 mg por día para niños de 0,5 a 10 años de edad (36). Una porción de 4 galletas (60g) fortificadas G5 y G8 cubren el 120 % y 140% de la RDA de hierro, en comparación con la galleta no fortificada (G0) que solo cubre el 50%. Además, la mayor parte del hierro de las galletas fortificadas es hierro hemo, el cual se ha determinado que tiene mayor absorción que el hierro no hemo (26, 27); en cambio, el hierro de las galletas no fortificadas proviene de la harina de trigo que generalmente se fortifican con sulfato ferroso. En el Perú la legislación establece que toda harina comercializada en el país deberá estar fortificada con 30 mg de hierro por kilogramo de producto (37).
El contenido de hierro de la galleta G5 (20,96 mg/100g) es similar al obtenido por Asenjo (38), quien reporta un valor de 19,6 mg/100g para galletas fortificadas al 6% con concentrado de hierro hemínico bovino. Por otro lado, Márquez (30) reporta un contenido de hierro de 1,9 mg/100g para galletas fortificadas con plasma bovino, valor 10 veces menor que nuestras galletas G5 y G8. Este menor contenido de hierro se debe a que el hierro de la sangre se encuentra principalmente ligado a la hemoglobina de los eritrocitos, por lo tanto al separar la fracción celular de la sangre, el plasma queda con un contenido de hierro bastante menor que el de la sangre entera. De esto podemos concluir que para combatir la anemia es mejor utilizar sangre entera en lugar de plasma sanguíneo.

3.2 Pruebas biológicas

Los valores de digestibilidad proteica de las galletas fortificadas G5 (88.0%) y G8 (88,7%) son elevados y similares al hallados por Márquez (30), quien reporta un valor de 88,4% en galletas fortificadas con plasma sanguíneo.

Los valores de PER de las galletas fortificadas G5 (1,27) y G8 (1,43) son similares a los publicados por otros autores para diferentes tipos de galletas horneadas; así, en un estudio realizado con cuatro formulaciones de galletas se reportó los siguientes valores de PER: 1,8, 1,0, 1,6 y 1,5 (39).

El mayor valor de PER de la galleta G8 comparado con la galleta G5, se debería a su mayor contenido en aminoácidos esenciales, sobre todo de lisina, ya que este aminoácido se encuentra en alta concentración en la sangre, incluso en mayor cantidad que en la carne (5).

El PER y la digestibilidad proteica de las galletas G5 y G8 fueron estadísticamente menores que el del control de caseína.

El PER (3,1) y la digestibilidad proteica (94,2%) del control de caseína que hemos hallado en el presente estudio son similares a los reportados por otros autores; así, Rebolledo (39) reporta los valores de 3,5 y 98,7% y Michel (40) los valores de 3,48 y 98,6%.

3.3 Pruebas sensoriales y de aceptabilidad en consumidores

Los resultados de las pruebas sensoriales indican que la fortificación de galletas con SBSA afecta negativamente el sabor, apreciación general, y aceptabilidad, pero no afecta el olor de estas galletas. Sin embargo, este efecto negativo disminuye conforme disminuye el nivel de fortificación. De las dos galletas fortificadas, la galleta G5 es la que tiene mayor aceptabilidad y mayores calificaciones de sabor y apreciación general que la galleta G8.

Teniendo en cuenta que la sangre imparte una coloración oscura a los productos elaborados con ella, lo cual constituye una de las principales desventajas para su utilización (28); en el presente estudio se elaboró galletas de chocolate agregando cacao en polvo, con la finalidad de enmascarar esta coloración oscura; a pesar de esto, la galleta G8 mostró una coloración más oscura que la galleta G5 y esta a su vez, más oscura que la galleta G0. El efecto negativo del agregado de la sangre sobre el sabor y

VI. CONCLUSIONES

Los resultados de los experimentos del presente estudio, permiten llegar a las siguientes conclusiones:

1. La fortificación de galletas con Sangre Bovina Secada por Atomización (SBSA) incrementa notablemente el contenido proteico y de hierro.
2. Las galletas fortificadas al 5% (G5) y 8% (G8) con SBSA presentan elevada digestibilidad proteica y sus Índices de Eficiencia Proteica (PER) son similares al de otras galletas horneadas.
3. De los dos niveles de fortificación ensayados en el presente trabajo (5% y 8%), el nivel mas adecuado de fortificación sería el de 5% (G5), ya que estas galletas muestra mayor aceptabilidad y mayores calificaciones de sabor y apreciación general que las galletas fortificadas al 8% (G8).

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI). Encuesta Demográfica y de Salud Familiar 2000. Lima, 2001.
2. Pollit E, et al. Iron deficiency and educational achievement in Thailand. Am J Clin Nutr (Supp) 1989.
3. Pollit E, et al. Cognitive effects of iron deficiency anaemia. Lancet 1985; 1:158.
4. Dallman PR. Iron Deficiency and inmune response. Am J Clin Nutr. 1987; 46:329-34.
5. Divakaran S. Aprovechamiento de sangre animal. Boletín de Servicios Agrícolas No. 32, FAO. Roma, 1983.
6. Zavaleta N, Berlanga M. Proyecto: Industrialización y distribución de la sangre de vacuno para mejorar el consumo de las fuentes de hierro en las poblaciones de mayor riesgo de anemia. Informe final presentado al Fondo Nacional de Compensación Social. Lima, 1994.
7. Walter T, Hertrampf E, Pizarro F, Olivares M, Llanguno S, Letelier A. Effect of bovine-hemoglobin-fortified cookies on iron status of school children: A nationwide programme in Chile. Am J Clin Nutr. 1993; 57:190-194.

8. Grupo Técnico para el Control de la Anemia. Anemias Nutricionales: Boletín No. 3. Fortificación de alimentos con hierro. OPS. Lima, 1995.
9. Matos, A. Obtención de la fracción celular de sangre de bovino secado por atomización y estudio de sus propiedades funcionales (Tesis Ing. Ind. Alim). Universidad Nacional Agraria de la Molina. Lima, 1989.
10. Hallberg L. Dietary heme iron absorption. A discussion of possible mechanisms for the absorption-promoting effect of meat and for the regulation of iron absorption. Scand. J. Gastroenterol 1979; 14: 769-779.
11. Hallberg, L., Hulthén, L. & Gramatkovski, E. Iron absorption from the whole diet in men: how effective is the regulation of iron absorption? Am. J. Clin. Nutr. 1997; 66: 347-56.
12. Wollenberg, P. & Rummel, W. Dependence of intestinal iron absorption on the valency state of iron. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 1987;36: 578 - 582.
13. Lozoff B, Jimenez E, Wolf AW. Long term developmental outcome of infants with iron deficiency. New England Journal of Medicine 1991;325:687-695.
14. Srikantia SG et al. Anaemia and immune response. Lancet 1976; 1:1307-1309.
15. Enwonwu CO, ed. Annual Nutrition Workshop Series, Vol. III. Functional significance of iron deficiency.TN, Meharry Medical College, Nashville 1990.
16. Edgerton VR et al. Elevation of haemoglobin and work performance in iron-deficient subjects. Journal of Nutrition Science 1981; 27:77-86.
17. Li R. Functional consequences of iron deficiency in chinese female workers. Thesis, University of Wageningen, 1993.
18. Rowland TW et al. The effect of iron therapy on the exercise capacity of non anemic iron-deficient adolescent runners. American Journal of Diseases of Children 1988; 142:165-169.
19. WHO. The prevalence of anaemia in women: a tabulation of available information. World Health Organization. Geneva,1992 (WHO/MCH/MSM/92.2).
20. Bothwell TH, Charlton RW, eds. Iron deficiency in women. Nutrition Foundation. Washington DC, 1981.
21. Latham MC et al. Improvements in growth following iron supplementation in young Kenyan school children. Nutrition 1990; 6:159-165.

22. Dillman E et al. Hypothermia in iron deficiency due to altered triiodothyronine metabolism. American Journal of Physiology 1980; 239:R377-R381.
23. DeMaeyer, E ., Adiels-Tegman, M. & Raystone, E. The prevalence of anemia in the world. World Health Stat Q. 1985; 38: 302-316.
24. Martinez C, Ros G, Periago MJ, López G. Biodisponibilidad del hierro de los alimentos. Arch Latinoamer Nutr. 1998; 48(1): 25-8.
25. Word Health Organization.2004. http://www.who.int/nut/pem.htm.
26. Olivares M, et al. Hemoglobin-fortified biscuits: bioavailability an its effect on iron nutriture in school children. Arch Latinoamer Nutr. 1990; 40(2): 209-20
27. Monsen E, et al. Estimación on available dietary iron. Am J Clin Nutr. 1978; 31: 134-41.
28. Wismer-Pedersen J. Utilization of animal blood in meat products. Food Tech.1973; 3(8): 78-80.
29. FAO/OMS. Evaluación de la calidad de las proteínas. Estudio FAO Alimentación y Nutrición No. 51. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, 1992.
30. Marquez E, et al . Características nutricionales de una galleta formulada con plasma sanguíneo de bovino como principal fuente proteica. Arch Latinoamer Nutr. 1998; 48(3): 250-5.
31. Official Methods of Analysis. AOAC International. 16 th Ed, 3dr Revisión. Maryland 1997.
32. Nalubola R, Nestel P. Manual for Wheat Flour Fortification with Iron. Part 3 : Analytical methods for monitoring wheat flour fortification whit iron. Agency for International Development (USAID). Arlington, 2000.
33. International Commision on the Microbiológical Specification for Foods (ICMSF). Microorganismos in Foods 2. Sampling for Microbiologycal Analysis: Principles and Specific Applications. 2nd ed. University of Toronto Press. Toronto, 1986.
34. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Food energy – methods of analysis and conversion factors. FAO Food and Nutrition Paper 77. Roma, 2003.
35. Codex Alimentarius Commision. Recommended International Code of Hygienic Practice for Foods for Infants and Children CAC/RCP 21-1979.

36. National Research Council. Recommended Dietary Allowances. 10Th Edition. National Academy of Sciences. National Academy Press. Washinton DC, 1989
37. El Peruano. Normas Legales. Decreto Supremo 008-2004-SA. Pag 270857.
38. Asenjo J, et al. Use of a Bovine Heme Concentrate in the Fortification of Biscuits. Journal of Food Science 1985; 50:795-9.
39. Rebolledo M, Sangronis E, Barbosa G. Evaluación de galletas dulces enriquecidas con germen de maíz y fibra de soya. Arch Latinoamer Nutr. 1999; 49(3): 253-59..
40. Michel L, et al. Nutritional Value of Veal Bone Hydrolysate. Journal of Food Science 1997; 62(1):183-89.
41. Clydesdale FM. Color as a factor in food choice. Critical Reviews in Food Science an Nutrition 1993; 33: 83-101.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1

Ficha de evaluación de las características sensoriales y aceptabilidad

I. INSTRUCCIONES

Por favor pruebe la muestra y califique con un aspa (x) de acuerdo a la escala que se muestra (1 al 4) que a su criterio describa mejor este atributo. Tome el tiempo y la cantidad necesaria.

II CALIFICACIÓN

I. OLOR

1. Olor muy agradable ----------
2. Olor agradable ----------
3. Olor desagradable ----------
4. Olor muy desagradable. ----------

II. SABOR

1. Sabor muy agradable ----------
2. Sabor agradable ----------
3. Sabor desagradable ----------
4. Sabor muy desagradable ----------

III. APRECIACIÓN GENERAL

1. Muy bueno ----------
2. Bueno ----------
3. Deficiente ----------
4. Muy deficiente. ----------

ACEPTABILIDAD

¿Cuál de las tres galletas **PREFIERE** o le **GUSTA MÁS**?: ----------

(código de la galleta)

ANEXO 2

Resultados de la determinación de la Digestibilidad Aparente (DA) in vivo.

Galleta	Peso heces secas (g)	Alimento consumido (g)	Alimento Consum. (g/día)	% Nitrog Heces	Nitrog. Consum. (g/día)	Nitrog. Excret. (g/día)	DA %
G5	4.1198	47.1686	11.8	2.2	18.9	2.2	88.3
G5	3.1192	34.1844	8.5	2.4	13.7	1.9	86.3
G5	2.8367	41.9427	10.5	2.6	16.8	1.9	89.0
G5	3.6559	46.6005	11.7	2.1	18.6	2.0	89.5
G5	2.405	28.4266	7.1	2.7	11.4	1.6	85.9
G5	3.4188	44.687	11.2	2.0	17.9	1.7	90.3
G5	3.4002	43.89	11.0	2.6	17.6	2.2	87.6
G5	2.998	43.0807	10.8	2.9	17.2	2.1	87.6
prom	3.244	41.2476	10.3	0.6	16.5	1.9	88.0
DE	0.526	6.5534	1.6	0.1	2.6	0.2	1.5
G8	4.0642	44.0607	11.0	2.0	17.6	2.0	88.8
G8	3.6878	44.056	11.0	2.4	17.6	2.2	87.5
G8	3.3738	45.7329	11.4	2.8	18.3	2.4	86.9
G8	2.8537	39.5408	9.9	2.4	15.8	1.7	89.1
G8	2.4527	39.6793	9.9	2.6	15.9	1.6	89.9
G8	2.4635	42.3606	10.6	2.9	16.9	1.8	89.6
G8	2.7111	42.8299	10.7	2.9	17.1	1.9	88.7
G8	3.2561	37.8731	9.5	2.0	15.1	1.6	89.5
prom	3.1079	42.0167	10.5	0.6	16.8	1.9	88.7
DE	0.5868	2.7174	0.7	0.1	1.1	0.3	1.0
caseína	3.0908	43.0907	10.8	1.3	17.2	1.0	94.3
caseína	1.998	48.0675	12.0	2.1	19.2	1.0	94.6
caseína	4.964	68.7382	17.2	1.4	27.5	1.7	93.9
caseína	4.5723	73.4135	18.4	1.5	29.4	1.7	94.3
caseína	3.7444	70.4275	17.6	1.6	28.2	1.5	94.8
caseína	4.8211	69.6967	17.4	1.6	27.9	1.9	93.0
caseína	4.5718	71.7923	17.9	1.5	28.7	1.7	94.2
caseína	2.8425	59.0968	14.8	1.8	23.6	1.3	94.5
prom	3.8256	63.0404	15.8	0.4	25.2	1.5	94.2
DE	1.0859	11.6697	2.9	0.1	4.7	0.3	0.5

G5 y G8: galletas fortificadas al 5% y 8% con Sangre Bovina Secada por Atomización

ANEXO 3

Resultados de la determinación del Índice de Eficiencia Proteica (PER)

Galleta	Peso inic (g)	Peso final (g)	Alimento Consum. (g)	Alimento Consum. (g/día)	Ganan peso (g/día)	Proteína Consum. (g/día)	PER
G5	71.9	104.2	236.1134	8.43	1.15	0.84	1.37
G5	69.7	99.6	231.4622	8.27	1.07	0.83	1.29
G5	71	96.3	197.2211	7.04	0.90	0.70	1.28
G5	74.4	99	211.7381	7.56	0.88	0.76	1.16
G5	73.7	99.3	223.6029	7.99	0.91	0.80	1.14
G5	70.3	97.6	202.6789	7.24	0.98	0.72	1.35
G5	74.8	98.8	196.6789	7.02	0.86	0.70	1.22
G5	75.7	102.3	193.3340	6.90	0.95	0.69	1.38
Prom	72.7	99.6	211.6037	7.56	0.96	0.76	1.27
DE	2.3	2.5	16.8274	0.60	0.10	0.06	0.09
G8	74.4	106.8	226.0990	8.07	1.16	0.81	1.43
G8	70.4	104.9	237.4533	8.48	1.23	0.85	1.45
G8	86.9	118.8	219.1024	7.83	1.14	0.78	1.46
G8	66.1	99.4	228.4301	8.16	1.19	0.82	1.46
G8	68.2	103.1	238.2639	8.51	1.25	0.85	1.46
G8	73	106.3	232.9130	8.32	1.19	0.83	1.43
G8	72.7	102.3	218.1045	7.79	1.06	0.78	1.36
G8	73	108.1	245.6725	8.77	1.25	0.88	1.43
Prom	73.1	106.2	230.7548	8.24	1.18	0.82	1.43
DE	6.2	5.8	9.6462	0.34	0.07	0.03	0.03
caseína	78.2	159.6	287.6845	10.27	2.91	1.03	2.83
caseína	73.2	165.5	299.0806	10.68	3.30	1.07	3.09
caseína	70.2	162.7	295.4905	10.55	3.30	1.06	3.13
caseína	72.8	164.2	292.8412	10.46	3.26	1.05	3.12
caseína	72.1	170.8	296.4048	10.59	3.53	1.06	3.33
caseína	74.7	160.7	295.4850	10.55	3.07	1.06	2.91
caseína	67.2	160.6	299.7981	10.71	3.34	1.07	3.12
caseína	68.4	164.6	294.0405	10.50	3.44	1.05	3.27
Prom	72.10	163.59	295.1032	10.54	3.27	1.05	3.10
DE	3.53	3.61	3.8010	0.14	0.20	0.01	0.17

G5 y G8: galletas fortificadas al 5% y 8% con Sangre Bovina Secada por Atomización

ANEXO 4

Resultados de la evaluación sensorial de las galletas

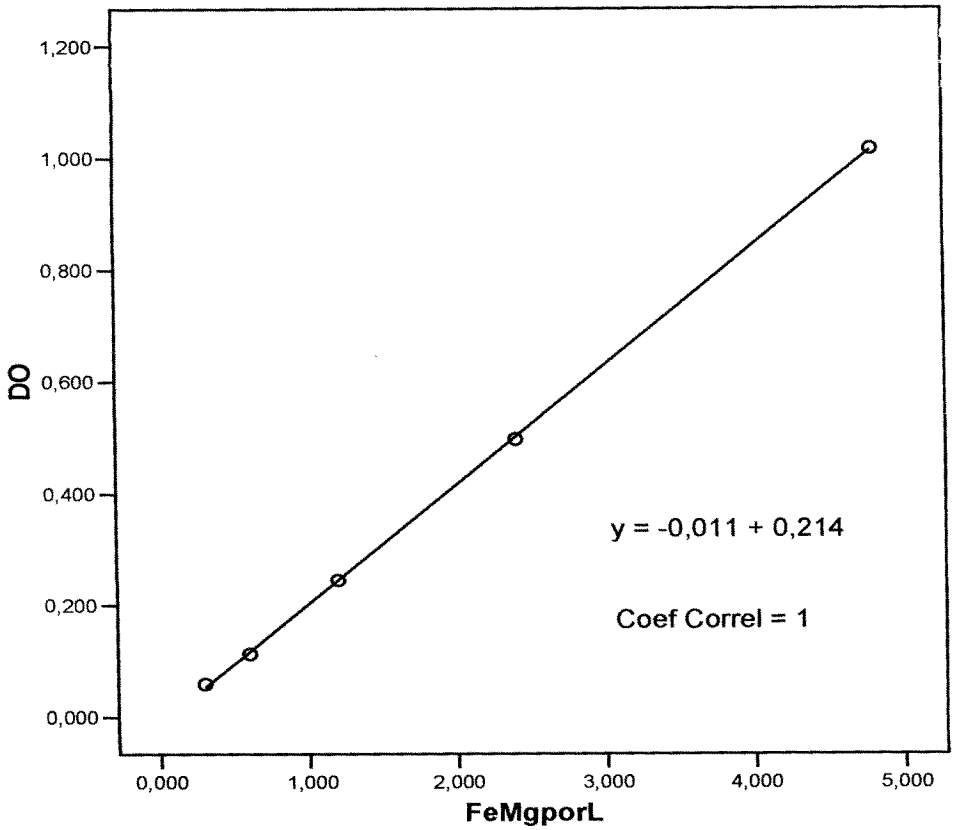
	Sabor			Olor			Aprec general		
Evaludor	G0	G5	G8	G0	G5	G8	G0	G5	G8
1	3	3	2	4	3	4	3	3	2
2	4	3	2	4	3	3	4	3	2
3	3	3	2	4	4	3	3	3	2
4	3	3	2	3	4	3	3	3	2
5	3	3	3	3	4	3	3	3	2
6	3	3	3	3	4	3	3	3	2
7	3	2	3	3	4	3	3	3	2
8	4	2	3	3	2	3	4	3	2
9	4	3	3	3	2	3	4	3	2
10	4	3	2	3	2	2	4	3	3
11	4	3	2	4	2	3	4	3	3
12	3	3	2	4	2	3	3	3	3
13	3	3	2	4	2	3	3	3	3
14	3	2	2	3	2	2	4	3	2
15	3	2	2	3	3	3	3	3	2
16	3	2	2	3	3	3	4	2	3
17	3	2	2	3	3	3	3	2	3
18	3	2	2	3	3	2	4	2	3
19	4	2	2	4	3	3	3	3	3
20	4	3	2	4	3	3	4	3	1
21	4	4	2	4	4	3	4	4	2
22	3	2	2	3	2	3	3	2	2
23	3	3	2	3	3	3	3	3	2
24	3	2	3	3	2	3	3	2	3
25	3	3	3	3	2	3	3	2	3
26	4	3	2	4	4	3	4	3	2
27	4	3	1	4	4	3	3	3	2
28	4	4	1	4	4	3	4	3	2
29	3	3	1	3	3	3	3	3	2
30	4	3	1	3	3	3	3	3	3
31	4	3	3	3	3	3	4	3	3
32	4	4	2	3	3	3	4	4	3
33	4	3	2	4	3	3	4	3	3
34	4	3	2	4	3	3	4	3	2
35	4	3	3	3	4	3	4	3	2
36	4	3	3	3	4	2	4	3	3
37	4	3	3	4	4	3	4	3	3
38	4	4	3	4	3	3	3	3	3
39	4	4	3	3	3	3	4	3	3
40	4	3	3	3	3	4	4	3	3
41	4	3	3	4	4	4	4	3	3
42	4	3	3	4	4	4	4	4	3
43	4	3	3	3	4	3	4	4	3
44	4	3	3	3	4	3	4	4	3
45	4	3	3	4	4	4	4	3	3
46	4	3	2	4	4	4	4	3	3
47	4	4	3	2	4	4	4	3	3
48	3	4	3	3	3	4	3	3	3
49	4	3	3	2	3	4	4	4	3
50	4	3	2	2	3	2	4	4	3
Promedio	3.62	2.94	2.36	3.34	3.18	3.08	3.6	3.02	2.56
Desv	0.49	0.59	0.63	0.59	0.75	0.53	0.49	0.51	0.54

G0: galleta no fortificada. G5 y G8: galletas fortificadas al 5% y 8% con Sangre Bovina Secada por Atomización

ANEXO 5

Curva de Calibración de la Cuantificación de Hierro

Método: Batofenantrolina
Longitud de onda: 535 nm



Concentración (mg/litro)	Densidad Óptica (DO)
0.3	0.059
0.6	0.113
1.2	0.245
2.4	0.497
4.8	1.016