

**VALOR NUTRICIONAL Y BIODISPONIBILIDAD DE HIERRO EN PAN TIPO
ROLLO ELABORADO CON BIENESTARINA MÁS[®]**



IRENE BOTIA RODRÍGUEZ
Nutricionista Dietista

MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS
FACULTAD DE INGENIERIAS Y ARQUITECTURA
VICERECTORÍA DE INVESTIGACIONES
UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
PAMPLONA
2016

**VALOR NUTRICIONAL Y BIODISPONIBILIDAD DE HIERRO EN PAN TIPO
ROLLO ELABORADO CON BIENESTARINA MÁS[®]**

IRENE BOTIA RODRIGUEZ

DIRECTOR

ND MSP. GABRIEL ANTONIO CARDONA ARGUELLO

Grupo de investigación: Salud Humana

Línea de investigación: Salud Pública

**Trabajo de investigación para optar al título de Magister en Ciencia y
Tecnología de Alimentos**

Grupo de Investigación en Recursos Naturales

Universidad de Pamplona

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: INNOVACIÓN Y DESARROLLO TECNOLÓGICO

VICERECTORIA DE INVESTIGACIONES

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA

PAMPLONA

2016

DEDICATORIA

A Dios por haberme dado la sabiduría necesaria para culminar con éxito este proyecto.

A mi padre de quien imite la gran capacidad de trabajo y en especial a la memoria de mi madre, su humanidad y bondad que fueron modelo a seguir en mi vida.

A mis dos grandes amores Liseth Adriana y Mario Andrés por su compañía, comprensión, apoyo y ser fuente de mi inspiración.

A mi esposo Mario Alberto, juntos descubrimos que la distancia no es impedimento para lograr nuestros sueños.

A mis queridos hermanos especialmente a Ruth y a Marinita por animarme a seguir adelante y no desfallecer.

A mis lindos sobrinos (as) y en especial a Alvarito por ser tan colaborador y estar ahí siempre dispuesto a tenderme la mano cuando más lo necesite.

AGRADECIMIENTOS

La autora expresa sus agradecimientos a:

GABRIEL ANTONIO CARDONA ARGUELLO MSP, por su valiosa orientación, aporte de su experiencia y quien hizo posible que este proyecto se iniciara y se culminara con éxito.

Director y docentes de la Maestría Ciencia y Tecnología de los alimentos de la Universidad de Pamplona quienes me aportaron sus conocimientos en el transcurso de mi formación profesional, en especial a las docentes Mariela Hernández y Yanine Trujillo del programa de Ingeniería de Alimentos de la Universidad de Pamplona.

ROSALBA MILENA PEÑA FERNANDEZ, ingeniera de Alimento de la Universidad de Pamplona por su apoyo y compromiso con este proyecto.

CARMEN EDILIA VILLAMIZAR. Docente de la Universidad de Pamplona

ARLEY R. VILLAMIZAR. Químico. Coordinador de calidad del laboratorio de Alimentos, CICTA Bucaramanga.

Docentes, niños y niñas del Hogar Infantil Niño Jesús de Praga, por sus sonrisas y participación en la evaluación sensorial.

Personal del laboratorio de Calidad de la Universidad de Pamplona.

Mi gran familia, sin ella no hubiese sido posible recobrar fuerzas cuando sentí que ya no podía lograr esta meta.

CONTENIDO

	Págs.
RESUMEN	16
ABSTRACT	16
1. INTRODUCCIÓN	19
1.1 DESNUTRICIÓN INFANTIL: SITUACIÓN ACTUAL, CONSECUENCIAS Y DETERMINANTES	19
1.2 LA DESNUTRICIÓN Y LA ANEMIA PROBLEMAS DE SALUD PÚBLICA ...	21
1.3 HIERRO	23
1.3.1 Fuentes dietarias de hierro	24
1.3.1.1 Hierro hemínico	24
1.3.1.2 Hierro no hemínico	25
1.3.2 Necesidades, recomendaciones y valores de referencia de consumo de hierro	25
1.3.3 Ciclo biológico del hierro	26
1.3.4 Distribución de hierro en el organismo	28
1.3.5 Absorción del hierro	28
1.3.5.1 Captación	28
1.3.5.2 Transporte y almacenamiento intra-enterocítico	30
1.3.5.3 Transferencia al plasma	30
1.4 BIODISPONIBILIDAD DE HIERRO	31
1.4.1 Biodisponibilidad del hierro no hemínico	35
1.4.1.1 Factores inhibidores del hierro no hemínico	35
1.4.1.2 Factores favorecedores del hierro no hemínico	39
1.4.2 Métodos para evaluar la biodisponibilidad.....	40
1.4.2.1 Métodos <i>in vitro</i>	41
1.5 ESTRATEGIAS DE INTERVENCIÓN PARA PREVENIR LA DEFICIENCIA DE HIERRO	44
1.5.1 Fortificación	44

1.5.1.1 Alimentos complementarios fortificados (ACF)	46
1.5.1.2 Alimentos complementarios en Colombia	48
1.5.1.3 Recomendaciones para la fortificación de AC	53
1.6 PAN	55
1.6.1 Clasificación del pan	55
1.6.2 Requisitos generales	57
1.6.3 Requisitos específicos	57
1.6.4 Requisitos microbiológicos	58
1.6.5 Materias primas en la elaboración del pan	58
1.6.5.1 Harina de trigo	59
1.6.5.2 Agua	64
1.6.5.3 Levadura	65
1.6.5.4 Sal	66
1.6.5.5 Azúcar	66
1.6.5.6 Materias Grasas	67
1.6.6 Sistemas de elaboración del pan.	67
1.6.6.1 Directo	67
1.6.6.2 Mixto	68
1.6.6.3 Esponja o «poolish	68
1.6.7 Proceso de elaboración	68
1.6.7.1 Amasado.	68
1.6.7.2 Pesaje, división y boleado	69
1.6.7.3 Reposo	69
1.6.7.4 Formado	70
1.6.7.5 Fermentación	70
1.6.7.6 Corte	71
1.6.7.7 Horneado	71
1.6.8 Características del pan.....	72
1.6.9 Valor nutricional del pan.....	73
1.6.9.1 Energía	73

1.6.9.2 Hidratos de carbono	74
1.6.9.3 Fibra	74
1.6.9.4 Proteínas.	74
1.6.9.5 Grasa	75
1.6.9.6 Vitaminas	75
1.6.9.7 Minerales	75
1.7 HARINAS COMPUESTAS UTILIZADAS EN LA FORMULACIÓN DE PAN ..	76
1.8 EVALUACIÓN SENSORIAL	82
1.8.2 Evaluación sensorial orientada al producto.	85
2. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO	87
2.1 OBJETIVO GENERAL	87
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	87
2.3 PLAN DE TRABAJO	88
2.3.1 Evaluar las características fisicoquímicas en las harinas de trigo fortificada y Bienestarina Mas®.	88
2.3.2 Desarrollar un pan de sal tipo rollo con sustitución parcial de harina de trigo fortificada por Bienestarina Mas®.	88
2.3.3 Determinar las características microbiológicas fisicoquímicas, nutricionales del pan tipo rollo elaborado con y sin sustitución de harina de trigo	89
2.3.4 Cuantificar la biodisponibilidad de hierro en el pan elaborado con o sin sustitución parcial de harina de trigo por Bienestarina Mas	90
2.3.5 Evaluar sensorial del pan de sal tipo rollo elaborado	90
3. MATERIALES Y MÉTODOS	91
3.1.1 Materias primas.....	91
3.1.2 Empaque	92
3.2 MÉTODOS	92
3.2.1 Evaluación de las características fisicoquímicas en harinas (harina de trigo fortificada y Bienestarina Mas®)	92
3.2.1.1 Análisis físicos	92
3.2.1.2 Análisis químicos	93

3.2.2 Desarrollo de un pan de sal tipo rollo con sustitución parcial de harina de trigo fortificada por Bienestarina Mas®.	97
3.2.2.1 Definición del producto a obtener.....	97
3.2.2.2 Selección de las materias primas	97
3.2.2.3 Codificación de las muestras	97
3.2.2.4 Formulación en la elaboración de pan con o sin sustitución de Bienestarina Mas	98
3.2.2.5 Proceso de elaboración del pan con o sin sustitución de Bienestarina Mas®:	99
3.2.3 Determinación de las características microbiológicas fisicoquímicas, nutricionales y del pan tipo rollo elaborado con y sin sustitución de harina de trigo.	104
3.2.3.1 Microbiológico	104
3.2.3.2 Físicas	105
3.2.3.3 Químicas	106
3.2.3.4 Valor nutricional	106
3.2.4 Determinación de la biodisponibilidad de hierro	107
3.2.4.1 Digestión <i>in vitro</i>	107
3.2.4.2 Determinación de hierro	109
3.2.4.3 Hierro dializable	110
Fuente: Miller <i>et al.</i> , 1981	111
3.2.5 Evaluación sensorial	111
3.2.5.1 Selección de jueces	111
3.2.5.2 Pruebas	112
3.2.5.3 Realización de la cata	112
3.2.6 Análisis estadístico.....	113
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	114
4.1 EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS DE LA HARINA DE TRIGO FORTIFICADA Y BIENESTARINA MAS®	114
4.1.1 Granulometría de harinas.	114

4.1.2 Capacidad de absorción de agua	117
4.1.3 Características químicas	119
4.2 DESARROLLO DE UN PAN DE SAL TIPO ROLLO CON SUSTITUCIÓN PARCIAL DE HARINA DE TRIGO FORTIFICADA POR BIENESTARINA MAS®	122
4.2.1 Elaboración de un pan de sal tipo rollo con o sin sustitución parcial de harina de trigo fortificada por Bienestarina Mas®.	122
4.2.2 Proceso de elaboración del pan con o sin sustitución de Bienestarina Mas®	124
4.3 CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS FISICOQUÍMICAS, NUTRICIONALES Y DEL PAN TIPO ROLLO ELABORADO CON Y SIN SUSTITUCIÓN DE HARINA DE TRIGO.	128
4.3.1 Microbiológicos	128
4.3.2 Características Físicas	129
4.3.2.1 Color.....	129
4.3.3 Características químicas.	135
4.3.4 Valor nutricional	141
4.3.4.1 Aporte nutricional de las porciones de 20 y 40 g.	144
4.4 BIODISPONIBILIDAD DE HIERRO (<i>in vitro</i>).	146
4.5. EVALUACIÓN SENSORIAL	152
CONCLUSIONES	159
RECOMENDACIONES	162
BIBLIOGRAFÍA	163

LISTA DE TABLAS

	Págs.
Tabla 1. Límites de hemoglobina utilizados para definir anemia	23
Tabla 2. Definiciones de biodisponibilidad según área de investigación	33
Tabla 3. Cantidades mínimas de micronutrientes por Kg de harina de trigo	45
Tabla 4. Alimentos complementarios fortificados en América y el Caribe	47
Tabla 5. Modalidades de atención a la primera Infancia Colombia, 2010	48
Tabla 6. Alimentos complementarios en Colombia	49
Tabla 7. Aporte nutricional de la Bienestarina Mas® y recomendaciones de contenido nutricional de alimentos complementarios fortificados	54
Tabla 8. Requisitos específicos del pan	58
Tabla 9. . Requisitos microbiológicos del pan	58
Tabla 10. Composición química de la harina de trigo.....	59
Tabla 11. Valor nutricional de panes (100 g).....	76
Tabla 12. Codificación de las muestras de pan según la formulación empleada .	98
Tabla 13. Formulación estándar para la elaboración de pan con o sin sustitución de Bienestarina Mas®.....	99
Tabla 14. Análisis microbiológicos aplicados a las diferentes formulaciones de pan	104
Tabla 15. Curva de calibración determinación de hierro	108
Tabla 16. Porcentaje de absorción de agua en harina de trigo fortificada y Bienestarina Mas®.....	118
Tabla 17. Tabla 17. Análisis químicos de las harinas (g/100 g base húmeda)..	119
Tabla 18. Formulaciones utilizadas en la elaboración de pan con y sin Bienestarina Mas®.....	122
Tabla 19. Tiempo de amasado y fermentación utilizados en la elaboración de pan de sal tipo rollo.	125
Tabla 20. Ilustración apariencia externa e interna de panes elaborados con y sin Bienestarina Mas®.....	127

Tabla 21. Resultados análisis microbiológicos realizados a las formulaciones de pan	128
Tabla 22. Resultados de color (CIE lab) en las formulaciones de pan	129
Tabla 23. Peso y volumen de panes elaborados con y sin sustitución de Bienestarina Mas®	132
Tabla 24. Resultados ANOVA de análisis químicos en base húmeda en las formulaciones de pan	135
Tabla 25. Resultados pruebas no paramétricas variables fibra proteínas y calorías	136
Tabla 26. Comparativo con los requisitos del pan común NTC 1363	140
Tabla 27. Aporte nutricional de las formulaciones de pan con y sin Bienestarina Mas® en la porción de 20 g	144
Tabla 28. Aporte nutricional de las formulaciones de pan con y sin Bienestarina Mas® en la porción de 40 g	145
Tabla 29.. Dializabilidad de hierro en panes elaborados con y sin Bienestarina Mas®	146
Tabla 30. Porcentaje de dializabilidad y aporte potencial de hierro en panes elaborados con y sin Bienestarina Mas®	147
Tabla 31. Evaluación sensorial de color en las formulaciones de pan con y sin Bienestarina Mas®	153

LISTA DE FIGURAS

	Págs.
Figura 1. Ciclo biológico del hierro. Distribución e intercambio entre los distintos compartimentos.....	26
Figura 2. Descripción de biodisponibilidad y sus vinculaciones a los conceptos de bioccesibilidad y bioactividad	35
Figura 3. Porcentajes con base en 100% de harina.....	100
Figura 4. Esquema para la determinación de la biodisponibilidad de hierro en las formulaciones de pan	111
Figura 5. Resultado granulométrico por tamizado harina de trigo fortificada	114
Figura 6. Porcentaje de rechazo y cernido harina de trigo	115
Figura 7. Resultado granulométrico por tamizado Bienestarina Mas®.....	116
Figura 8. Relación de rechazo y cernido Bienestarina Mas®.....	116
Figura 9. Color del pan en las diferentes formulaciones	130
Figura 10. Efecto de la sustitución de harina de trigo fortificada por Bienestarina Mas® en el volumen y estructura alveolar del pan.....	133

RESUMEN

La desnutrición y la anemia por deficiencia de hierro se presentan con altas prevalencias en la población infantil a nivel mundial; convirtiéndose ambas en *serios* problemas de salud pública con impactos negativos tanto en la salud humana como en el desarrollo social y económico.

En Colombia, a pesar de los grandes esfuerzos del gobierno, éstos problemas aún persisten, como lo demuestran los resultados de la Encuesta de la Situación Nutricional (ENSIN, 2010); en el país. El 3,4% de los niños menores de 5 años padecen desnutrición global; 13,2% tiene desnutrición crónica y el 0,9% sufren de desnutrición aguda; aunque ésta última cifra parezca insignificante, en términos absolutos representa cerca de 38.500 niños y niñas. En cuanto a la deficiencia de micronutrientes el 43,3% presentan deficiencia plasmática de zinc, el 24,3% de Vitamina A y el 10,6% de hierro.

Como estrategias de solución a estas problemáticas, el Instituto de Bienestar Familiar (ICBF) actualmente adelanta programas de asistencia alimentaria en los cuales se suministran Alimentos Complementarios Fortificados (ACF), de los cuales hace parte la Bienestarina Mas®; este complemento en su nueva formulación contiene una mezcla de cereales, leguminosas y leche en polvo, con vitaminas, minerales (Hierro, Zinc, Cobre) y Ácidos Grasos esenciales (Omega 3)

En consecuencia, se hizo necesario evaluar el aporte nutricional y la biodisponibilidad de hierro mediante el método *in vitro* en pan de sal tipo rollo elaborado con la sustitución parcial de harina de trigo fortificada por Bienestarina Mas® en proporciones de 70:30, 60:40, 50:50 respectivamente, manteniendo una muestra testigo 100% harina de trigo fortificada.

Metodológicamente, se partió de análisis físicos (granulometría y absorción de agua) y químicos (humedad, grasa, hierro, cenizas, proteínas, fibra y carbohidratos), a las harinas usadas como materias primas. Posteriormente, a las piezas panarias obtenidas se les determinaron las mismas características químicas, además de análisis físicos (color, volumen, peso), microbiológicos (mohos y levaduras, coliformes totales y fecales), pruebas sensoriales afectivas con los niños(as) beneficiarios del hogar infantil y pruebas discriminativas con el panel semientrenado. Para la determinación de la biodisponibilidad de hierro se utilizó la técnica de dializabilidad de D.D. (Miller *et al.*, 1981).

Los resultados obtenidos en los análisis físicos a las harinas permitieron identificar que la Bienestarina Mas® presentó un tamaño de partícula de 0,355 mm, lo que permite una absorción de agua (68,36% vs 43,2%) respecto a la harina de trigo fortificada. En cuanto a los análisis químicos la Bienestarina Mas® contiene un mayor porcentaje de hierro, de macronutrientes, Kilocalorías y fibra.

Se logró desarrollar un pan de sal tipo rollo con sustitución parcial de 30%, 40% y 50% de harina de trigo fortificada por Bienestarina Mas®, siendo necesario el incremento en el contenido de agua, tiempo de amasado y fermentación en las sustituciones 40% y 50%, obteniendo una masa con características visco-elásticas adecuadas.

El uso de Bienestarina Mas® en la formulación de pan incrementó el valor nutricional del producto en cuanto al contenido y la calidad de proteínas de mayor valor biológico, hierro, y fibra aunque con una ligera depreciación en la calidad por la disminución en el volumen en las sustituciones 40 y 50% que se relacionaron a su vez con una miga más compacta en relación a los panes elaborados con harina de trigo 100%. Desde el punto de vista microbiológico, los panes elaborados cumplieron microbiológicamente con la Norma técnica

colombiana NTC 1363 de (2005) garantizando un alimento apto para el consumo humano.

El incremento en la sustitución de harina de trigo por Bienestarina Mas®, aumentó significativamente la concentración de hierro respecto a la muestra testigo, contrario a lo que se esperaba con la biodisponibilidad de este mineral, sugiriendo un efecto negativo en la absorción de hierro debido a la presencia de inhibidores de este micronutriente presentes en la matriz alimentaria.

En cuanto a los resultados de la evaluación sensorial, los panes elaborados tuvieron gran aceptación en la población infantil, aun cuando en las pruebas discriminativas se observaron diferencias significativas en los atributos evaluados.

Finalmente, cabe resaltar que la inclusión de esta harina en productos de panadería incrementaría el valor nutricional del pan obtenido, al presentar diferencia significativa en el contenido de proteína, hierro y fibra respecto al pan elaborado con el 100% de harina de trigo fortificada

Palabras clave: Bienestarina Mas®, biodisponibilidad , Hierro no hemínico, pan, proteína.

ABSTRACT

Undernourishment and Anemia iron deficiency are presented with high prevalence levels in Children worldwide, becoming serious public health problems with negative impacts in human health and socio-economic development.

In spite of the great efforts by the Colombian government, these problems still persist, as the results gathered by the Survey of Nutritional Situation (ENSIN, 2010); in the country the 3.4% of Children under 5 suffer Undernourishment, the 3.2% have chronic Undernourishment and the 0.9% suffer acute Undernourishment, although the latter figure may seem insignificant, it represents about 38,500 Children. With regards to micronutrient deficiencies the 43.3% suffer plasma zinc deficiency, the 24.3% A Vitamin deficiency and the 10.6% iron deficiency.

As strategies for solving these problems, *el Instituto de Bienestar Familiar* (ICBF) advances food assistance programs in which Fortified Complementary nourishment are provided (ACF), as a component Bienestarina Mas®, this complement in its recent formulation contains a mixture of cereals, legumes and powder milk with vitamins, minerals such as iron, zinc, copper and essential fatty acids (Omega 3).

Consequently, it was necessary to assess the nutritional intake and bioavailability of iron by using the method *in vitro* in salt roll type bread made of partial replacement of wheat flour fortified by Bienestarina Mas® in proportions of 70:30, 60:40, 50:50 respectively, while maintaining 100% control sample fortified wheat flour.

Methodologically, we started from physical analysis (particle size and water absorption) and chemical (moisture, fat, iron, ashes, proteins, fiber and carbohydrates) flours used as raw materials. Subsequently, the panarias pieces obtained were determined the same chemical characteristics as well as physical analysis (color, volume, weight), microbiological (molds and yeasts, total coliforms and fecal ones), affective sensory tests with children beneficiaries of children's home and discriminative tests with a semi-trained panel. To determine the bioavailability of iron was used the dialyzability technique of D.D. (Miller *et al.*, 1981).

The results obtained in the physical analysis allowed to identify that Bienestarina Mas® presented a particle size of 0.355 mm, permitting water absorption (68.36% vs. 43.2%) compared to wheat flour fortified. As chemical analyzes la Bienestarina Mas® contains a higher percentage of iron, macronutrients, fiber and kilocalories. It was possible to develop a salt type roll bread with partial substitution of 30%, 40% and 50% of wheat flour fortified by Bienestarina Mas®, being necessary the increase of water content, kneading and fermentation time in the substitutions of 40 % and 50%, obtaining a suitable viscous elastic mass characteristics.

Bienestarina Mas® use in the formulation of bread increased the nutritional value of the product in terms of content and quality and higher biological value protein, iron, and fiber but with a slight depreciation in quality because of the decrease in volume substitutions the 40 and 50% that were associated in turn with a more compact crumb compared to breads made of 100% wheat flour. From the microbiological point of view, breads processed accomplished microbiologically the Colombian Technical Standard NTC 1363 (2005) ensuring a food suitable for human consumption.

The increase of the replacement of wheat flour by Bienestarina Mas®, significantly increased iron concentration compared to the control sample, opposite to what was

expected with the bioavailability of the mineral, suggesting a negative effect on iron absorption due to the presence of inhibitors of this micronutrient in the food matrix. With regard to the results of sensory evaluation, elaborated breads were very popular among children, even though when in the discriminative tests significant differences were observed in the attributes evaluated.

Finally, it should be noted that the inclusion of this flour in bakery products would increase the nutritional value of bread obtained, introducing significant differences in the content of protein, iron and fiber, in respect of bread made of the 100% of fortified wheat flour.

Keywords: Bienestarina Mas®, bioavailability, non-heme iron, bread, protein .

1. INTRODUCCIÓN

En países en vía de desarrollo la desnutrición y la anemia por deficiencia de hierro continúan siendo problemas de salud pública, los cuales generan repercusiones serias, en términos de salud, desarrollo social y económico; significando un carga de la enfermedad al sistema de salud, que en términos económicos significan altos costos de la malnutrición específica por estas deficiencias y años de vida saludable perdidos.

1.1 DESNUTRICIÓN INFANTIL: SITUACIÓN ACTUAL, CONSECUENCIAS Y DETERMINANTES

De acuerdo a recientes estimaciones de la FAO (2013), 842 millones de personas en el mundo padecen hambre, es decir reciben una alimentación insuficiente para cubrir sus necesidades energéticas mínimas, cifra que a pesar de su pavorosa magnitud, representa una disminución de 36 millones respecto a la medición del trienio 2008-2010, comparada con el período base (1990-92). Desde 2008, la crisis financiera y las repetidas crisis alimentarias han empeorado la situación; los precios de los alimentos fluctúan, con alzas que hacen que el acceso a una alimentación adecuada sea imposible para millones de familias. Según datos del Banco Mundial, en el último año el precio de los alimentos ha aumentado un 36%, debido en parte al incremento de los combustibles.

La pobreza, es una de las causas que hay que considerar y reconocer por su importante papel en la inseguridad alimentaria y nutricional. Son muchos los factores que lograría alcanzar la seguridad alimentaria y nutricional en las poblaciones, como lo son los entornos políticos, sociales y económicos estables y pacíficos, como también la protección y promoción de los derechos humanos (FAO, 1996, 2012). Además, los países en vía de desarrollo se han caracterizado

por presentar altos niveles de déficit nutricional. Gran parte del continente africano e India padecen de altos índices de desnutrición, en donde la prevalencia del retraso en el crecimiento en infantes puede ser superior al 40%. Mientras tanto, América Latina presenta cifras un poco más alentadoras, menos del 30% en casi toda la región, pero igual no dejan de ser preocupantes (De Onis y Blossner, 2003).

En Colombia, según la (ENSIN, 2010), en el país el 3,4% de los niños menores de 5 años padecen desnutrición global; el 13,2% tiene desnutrición crónica y el 0,9% sufre de desnutrición aguda; a pesar que ésta última cifra parezca insignificante, en términos absolutos representa cerca de 38.500 niños y niñas (DANE, 2013), cuyo bajo peso moderado o severo para la talla, los expone a un riesgo superior al 50% de muerte por desnutrición o sus enfermedades asociadas, principalmente de origen infeccioso como la enfermedad diarreica aguda y las infecciones respiratorias agudas (Pelletier *et al.*, 1995). De igual forma, existe otro tipo de desnutrición denominado el “hambre oculta”, la cual se refiere a las deficiencias corporales de micronutrientes, principalmente vitaminas y minerales, tales como la vitamina A y las vitaminas del complejo B (B1 Tiamina, B2 Riboflavina, B3 Niacina, B12 Cianocobalamina) y minerales como el zinc, hierro, calcio, entre otros. Al respecto la ENSIN 2010 muestra que el 43,3% de los niños menores de 5 años tienen deficiencia plasmática de zinc, el 24,3% de Vitamina A y el 10,6% de hierro.

Según un estudio realizado por la Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL) – Programa Mundial de Alimentos (PMA) en el 2008, la desnutrición infantil (medida por el bajo P/E) le cuesta a los países de América Latina entre el 1,7 y el 11,4% del PIB de estos países (Martínez y Fernández, 2007) donde el 90% de estos costos están representados en las pérdidas de productividad, por la mayor incidencia de muertes y el menor nivel educativo de la población. A nivel global, según la FAO en el 2012 habían 868 millones de personas subalimentadas, es decir que no alcanzan a consumir las

recomendaciones mínimas diarias de energía para llevar una vida saludable y activa, según este informe, en Colombia para el periodo 2010 - 2012 el 12,5% de la población estaba subalimentada. La desnutrición infantil está relacionada con alteraciones en el normal crecimiento y desarrollo en los niños y niñas y contribuye de manera significativa con la carga de la enfermedad y de la mortalidad a nivel mundial (Caulfield, *et al.*, 2004). De acuerdo con la OMS, el bajo peso infantil es el principal factor de riesgo de mortalidad en los países de bajos ingresos y el noveno entre todos los países del mundo y es el principal factor de riesgo para la pérdida de Años de Vida Ajustados por Discapacidad (AVAD) a nivel mundial y entre ellos los países de bajos ingresos en un análisis realizado al año 2004.

1.2 LA DESNUTRICIÓN Y LA ANEMIA PROBLEMAS DE SALUD PÚBLICA

La desnutrición y la anemia en menores de 5 años han sido reconocidas como importantes problemas de salud pública y tienen serias repercusiones en la morbimortalidad de muchos países del mundo (Black *et al.*, 2013). La desnutrición infantil genera, además de daños físicos, un detrimento irreversible de la capacidad cognitiva. Entendida como “síndrome de deterioro del desarrollo”, incluye trastornos del crecimiento, retrasos motores y cognitivos (así como del desarrollo del comportamiento), una menor inmunocompetencia y un aumento de la morbimortalidad (Martorell, 1999).

Para su medición, se han utilizado principalmente tres índices antropométricos: peso para la talla, talla para la edad y peso para la edad. El déficit de peso para la talla, desnutrición aguda (DA) implica una disminución en la masa corporal y generalmente es consecuencia de un episodio agudo de enfermedad infecciosa o de una gran disminución de la ingesta calórica. El déficit de talla para la edad, desnutrición crónica (DC) supone un menor crecimiento lineal en el tiempo. El déficit de peso para la edad, desnutrición global, es más impreciso para estudios poblacionales y puede o no incluir la DA y/o la DC. En todos los casos se utiliza el

límite “-2 Z-score” como punto de corte para déficit nutricional (Resolución 2121 de 2010).

El problema nutricional no sólo se limita a un déficit del peso y la talla, sino además de muchos micronutrientes, que también tienen un impacto negativo en la inmunidad, desarrollo intelectual y mortalidad. El problema más frecuente en la región es la anemia por carencia de hierro, que afecta uno de cada tres niños menores de cinco años y que supera el 50% en varios países de la región (CEPAL, 2013). La anemia por deficiencia de hierro es un problema de salud pública de alcance mundial; como ha señalado la OMS, 43% de los preescolares y 37% de los niños de edad escolar padecen ese tipo de anemia, que causa hipoxia tisular sistémica, los niños que han padecido esta variante de anemia durante los primeros 24 meses de vida tienen bajo rendimiento escolar y retraso del crecimiento y de las funciones encefálicas, especialmente de la percepción visual y del equilibrio corporal. En edades posteriores, la anemia ferropénica puede producir efectos perjudiciales pero probablemente menos graves que en los períodos críticos tempranos. Su principal causa es la deficiencia de hierro, pero a esta se añade la presencia común de insectos y parásitos hematófagos en algunas zonas geográficas.

La Organización Mundial de la Salud (OMS), define la anemia como el estado patológico en el que la concentración de hemoglobina se encuentra por debajo de los niveles normales establecidos en la que la sangre tiene menos glóbulos rojos de lo normal. La hemoglobina es una proteína rica en hierro que le da a la sangre el color rojo. Esta proteína les permite a los glóbulos rojos transportar el oxígeno de los pulmones al resto del cuerpo. En la tabla 1, se presentan los valores límites de hemoglobina establecidos para definir la anemia, además del sexo, edad, y embarazo existen otros factores como la altitud, raza y hábitos, que influyen en los valores límites para la concentración de la hemoglobina (WHO/UNICEF/UNU, 2001).

Tabla 1. Límites de hemoglobina utilizados para definir anemia

Grupo de edad o género	Hemoglobina (g/L)	Hematocrito (%)
Niños de 6 meses a 5 años	110	33
Niños de 5-11 años	115	34
Niños de 12 -13 años	120	36
Mujeres no embarazadas	120	36
Mujeres embarazadas	110	33
Hombres	130	39

Fuente: Recomendaciones de WHO/UNICEF/UNO, 2001

La anemia se manifiesta con color pálido de la piel, fatiga, irritabilidad, debilidad, dificultad respiratoria, lengua dolorida, uñas quebradizas, antojos alimentarios inusuales, disminución del apetito (especialmente en niños), dolor de cabeza frontal, coloración azul en la esclerótica (blanco de los ojos) (Aparna *et al.*, 2001).

Entre las causas de anemia nutricional por fallas alimentarias, la carencia de hierro es sin duda la más importante. Buenas fuentes dietéticas de hierro incluyen productos de origen animal como hígado, carne roja y los preparados a partir de la sangre, que contienen hierro hemínico, y fuentes vegetales como algunas semillas comestibles, verduras de hojas de color verde oscuro y mijo, que contienen hierro no hemínico. Sin embargo, la cantidad total de hierro en la dieta no es el único factor que influencia la probabilidad de desarrollar anemia. El tipo de hierro en la dieta, las necesidades de hierro de la persona, las pérdidas de hierro y otros factores con frecuencia son determinantes.

1.3 HIERRO

En un individuo normal, las necesidades diarias de hierro son muy bajas en comparación con el hierro circulante, por lo que sólo se absorbe una pequeña proporción del total ingerido. Esta proporción varía de acuerdo con la cantidad y el tipo de hierro presente en los alimentos, el estado de los depósitos corporales del

mineral, las necesidades, la actividad eritropoyética y una serie de factores lumbinales e intralumbinales que interfieren o facilitan la absorción (Reddy *et al.*, 2006).

1.3.1 Fuentes dietarias de hierro. Para comprender el metabolismo del hierro, es necesario conocer en primer término, como se encuentra en los alimentos, ya que los mismos son la fuente primaria y natural de este mineral y la forma en que se encuentre este elemento es un factor primario en el metabolismo de este vital mineral (Beard y Piñeros, 1997). El hierro se presenta en los alimentos en dos formas: como hierro hemínico y no hemínico (Hallberg *et al.*, 1987).

1.3.1.1 Hierro hemínico. Forma parte de la hemoglobina, mioglobina, citocromos y muchas otras hemoproteínas, que se encuentran principalmente en los alimentos de origen animal. El grupo hemo presente en estas proteínas está formado por un anillo orgánico complejo, llamado protoporfirina, a la que se une un átomo de hierro divalente, el que forma seis uniones coordinadas; cuatro de ellas se forman con la protoporfirina y de las dos restantes, una lo hace con el nitrógeno de la fracción proteica y la otra queda libre como sitio de unión para una molécula de oxígeno (Lehninger, *et al.*, 1995). Las fuentes de hierro hemínico son las carnes rojas y blancas, pescados y sub-productos.

El hierro hemínico es de buena biodisponibilidad, debido a que su absorción no es afectada por componentes de la dieta, excepto el calcio cuyo efecto inhibitorio no es en el lumen intestinal sino en el transporte intracelular. La absorción del hierro hemínico no está influenciada por las condiciones gastrointestinales debido a que la molécula hemo es absorbida como tal y el anillo de porfirina se rompe luego dentro de las células de la mucosa (Wienk *et al.*, 1999). El hierro hemínico presenta una absorción de 3-5 veces más elevada que el hierro no hemínico.

1.3.1.2 Hierro no hemínico. Se encuentra principalmente en los alimentos de origen vegetal, la leche y el huevo. La absorción del hierro no hemínico es sumamente variable y depende del tipo de comida. Con cualquier comida compuesta por varios alimentos, se forma un fondo común de hierro no hemínico en el lumen intestinal. La absorción a partir de este fondo está determinada por el efecto compuesto de varios elementos que mejoran o empeoran la biodisponibilidad del hierro. La absorción de hierro no hemínico también depende considerablemente del estado nutricional del individuo en lo que respecta al hierro. Al aumentar los depósitos de hierro en el organismo, se produce una disminución progresiva de la absorción intestinal del hierro no hemínico y en menor medida del hierro hemínico. Por el contrario, el agotamiento de las reservas de hierro está asociado con un aumento de la absorción. La mayor parte de los alimentos tienen hierro no hemínico (como flavoproteínas ferrosulfuradas) y hierro inorgánico, que puede presentarse en dos valencias: como ión ferroso (Fe^{2+}) o ión férrico (Fe^{3+}), siendo la primera, más fácil de absorber por el organismo (Andrews, 1999).

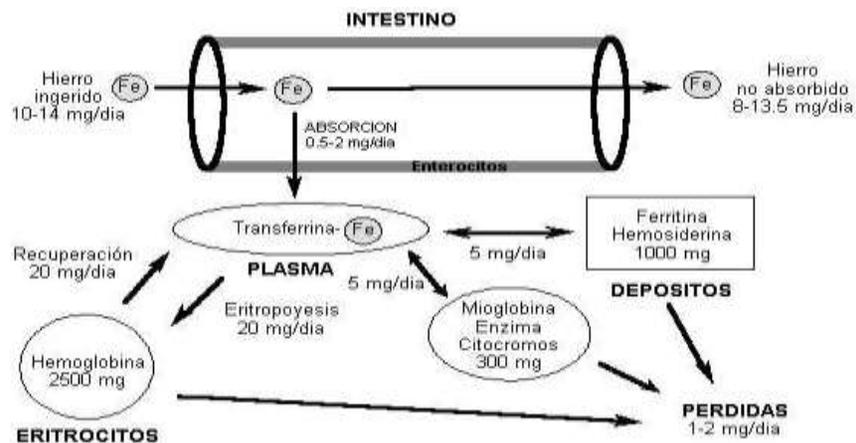
1.3.2 Necesidades, recomendaciones y valores de referencia de consumo de hierro. Para mantener un buen estado nutricional de hierro, cada individuo necesita cantidades adecuadas de este mineral en la dieta; este tiene que estar presente de una forma que permita que una cantidad suficiente sea absorbida en el intestino. Los seres humanos tienen capacidad de almacenar y conservar el hierro, que se debe transportar adecuadamente dentro del organismo. El hierro es esencial para la producción de hemoglobina, y si una cantidad suficiente no se encuentra disponible, los eritrocitos producidos tendrán menor tamaño y cada uno contendrá menor cantidad de hemoglobina que la normal. En general, los seres humanos absorben tan sólo un 10 por ciento del hierro en los alimentos que consumen.

A nivel nacional, según las recomendaciones de consumo dietario de consumo de calorías y nutrientes para la población colombiana, emitidas por el Instituto

Colombiano de Bienestar Familiar (ICBF) durante 1999, un niño entre 2 y 5 años, independientemente del sexo, debe consumir 9 mg de hierro al día.

1.3.3 Ciclo biológico del hierro. En condiciones normales, la cantidad de hierro ingerida es de aproximadamente unos 10- 14 mg por día. En el duodeno y en la porción superior del intestino delgado se absorben unos 0,5 a 2 mg, dependiendo de diferentes factores; así por ejemplo, la absorción es de aproximadamente 1 mg por día para un hombre adulto y de unos 2 mg por día para una mujer en edad reproductiva, ya que sus requerimientos son superiores como consecuencia de las mayores pérdidas ocasionadas por los sangrados menstruales (Castro del Pozo, 1995); (Goodman, 1996). Una vez que el hierro es absorbido por los enterocitos de la mucosa intestinal, éste pasa a plasma donde es transportado por la transferrina a los diferentes tejidos y órganos. Como se observa en la figura 1, la mayor recirculación interna del hierro ocurre entre el plasma, las células del sistema reticuloendotelial y la médula ósea eritroide, donde en esta última, son sintetizados los eritrocitos para posteriormente ser liberados a circulación (Finch *et al.*, 1970); (Rosenmund *et al.*,1980).

Figura 1. Ciclo biológico del hierro. Distribución e intercambio entre los distintos compartimentos.



Fuente: Finch *et al.*, 1970

En el ser humano, los glóbulos rojos han cumplido con su vida útil luego de unos 120 días de vida, razón por la cual son reconocidos por las células del sistema reticuloendotelial como eritrocitos viejos y son destruidos. En este proceso, la fracción proteica de la hemoglobina es degradada en sus aminoácidos constitutivos y el grupo hemo es degradado por acción de la hemoxigenasa, liberando al hierro. La mayor parte de este hierro es rápidamente liberado al plasma donde la transferrina lo transporta hasta la médula eritroidea para ser reutilizado en la biosíntesis de nuevas moléculas de hemoglobina, que posteriormente son incorporadas a los eritrocitos nuevos (Dallman,1990); (Finch y Huebers,1986). La transferrina también transporta al hierro a otros tejidos que necesitan este metal para la realización de los distintos procesos metabólicos, ya que muchas biomoléculas presentes en ellos, como la mioglobina, citocromos y algunas enzimas requieren hierro en su estructura para ser metabólicamente activas. En este caso la velocidad de recambio entre el hierro de estas estructuras y el plasma es muy variable y su esperanza de vida depende principalmente de la velocidad de recambio de la estructura subcelular a la que están asociadas (Dallman, 1990); (Huebers y Finch,1984). Con la finalidad de mantener las concentraciones plasmáticas de hierro dentro de un rango constante, existe un intercambio permanente de hierro entre la transferrina y los depósitos de hierro, formados por la ferritina y la hemosiderina; así, luego de una ingesta abundante de este metal la transferrina transportará una cantidad significativa de hierro a los órganos de depósitos, si por el contrario, existe una demanda de dicho metal por algún tejido, la transferrina tomará hierro de los depósitos para transferirlo a dicho tejido (Huebers y Finch, 1984); (Cazzola *et al.*,1985).

En el caso particular del hierro, y a diferencia de lo que ocurre con el resto de los minerales trazas, la homeostasis de este elemento en el organismo es regulada a través de su absorción y no de su eliminación o excreción (Castro del Pozo, 1995), (Margen y King, 1975), (Sayers *et al.*,1994).

1.3.4 Distribución de hierro en el organismo. La cantidad de hierro total en el organismo es de unos 30 a 40 mg por kilogramo de peso corporal. Este valor es variable y depende de diferentes factores como la edad del individuo, el sexo, el tipo de alimentación y el tejido u órgano estudiado, ya que el hierro no se distribuye homogéneamente en el cuerpo humano (Dallman, 1990); (Goodman, 1996); (Beard y Piñero,1997).

El hierro presente en el organismo puede dividirse en tres compartimentos, uno funcional formado por numerosas proteínas, entre las que se incluyen la hemoglobina, mioglobina y las enzimas que requieren hierro como cofactor o como grupo prostético, ya sea en forma iónica o como grupo hem, otro compartimento de transporte constituido por la transferrina y un compartimento de depósito (reservas corporales de este metal), constituido por la ferritina y la hemosiderina (Forrelat *et al.* , 2000) .

1.3.5 Absorción del hierro. La absorción del hierro ocurre en el duodeno y yeyuno superior del sistema gastrointestinal (Conrad, 1987); (Wood y Han, 1998). En el estómago, si bien no se produce la absorción de este elemento, el mismo contribuye a dicho proceso, a través de la secreción de ácido clorhídrico y enzimas, que ayudan no sólo a liberar al hierro de la matriz alimentaria sino también a solubilizarlo, ya que el ácido clorhídrico favorece la reducción de este catión a la forma ferrosa (Skikne, *et al.*,1981), (Carpenter y Mahoney,1992), (Hernández, 1993).

El proceso de absorción del hierro puede dividirse secuencialmente en las siguientes etapas:

1.3.5.1 Captación. En el lumen intestinal, el hierro ingerido puede encontrarse en forma no hemínica o hemínica y dependiendo de ello, el mismo va a ser

transferido desde el lumen intestinal hacia el interior del enterocito de diferente manera (Conrad *et al.*, 1999).

El hierro no hemínico, para absorberse debe en una primera etapa, encontrarse en forma soluble, ya que las formas insolubles no pueden ser absorbidas y son eliminadas juntamente con las heces. Las formas ferrosas del hierro son mucho más solubles que las férricas, ya que estas últimas precipitan rápidamente en el medio alcalino del intestino. Es por ello que, el hierro que ha sido liberado por acción de las proteasas gástricas y pancreáticas se une a ligandos intraluminales que tienen como función estabilizar la forma ferrosa, manteniendo al hierro soluble y en consecuencia biológicamente disponible para ser captado y transferido al interior del enterocito (Beard y Piñero, 1997).

Si bien existen algunas controversias con respecto a la identificación de este ligante específico, muchos autores coinciden que podría tratarse de una glucoproteína a la cual han denominado mucina. Sinérgicamente a la función de la mucina hay otros ligadores de hierro de bajo peso molecular como la histidina, el ascorbato y la fructosa que potencian la captación enterocítica del hierro (Conrad *et al.*, 1991); (Ohta *et al.*, 1994). Posteriormente, esta proteína fijadora unida al hierro es captada por y/o cede el hierro que contiene a un transportador específico en la superficie luminal del enterocito llamada integrina. De esta forma, el hierro es introducido al interior celular, donde es transferido a ligantes de bajo peso molecular o a una proteína similar a la transferrina llamada por algunos autores mobilferrina (Conrad, *et al.*, 1999).

El hierro hemínico, es soluble en medios alcalinos, razón por la cual no son necesarios los ligantes intraluminales. Con respecto a su mecanismo de captación existen algunas controversias respecto a la existencia de un transportador o receptor específico para este tipo de hierro. Sin embargo, una vez que este hierro es internalizado en el enterocito el hemo es degradado a hierro, monóxido de

carbono y bilirrubina por acción de la enzima hemo oxigenasa. El hierro liberado por este mecanismo se une a ligandos de bajo peso molecular o a una proteína similar a la transferrina, formando junto al hierro no hemínico parte del pool común de hierro intracelular del enterocito (Beard y Piñero, 1997); (Raffin *et al.*, 1974); (Uzel y Conrad, 1998).

1.3.5.2 Transporte y almacenamiento intra-enterocítico. Una vez que el hierro se encuentra en el interior del enterocito, éste no está libre sino unido a diferentes ligandos, uno de ellos y tal vez el más relevante, es una proteína capaz de ligar dos átomos de hierro con una alta constante de afinidad y con características similares a la transferrina. A esta proteína se la ha denominado mobilferrina y es homóloga a la calreticulina pudiendo unir además de hierro, otros cationes como calcio, cobre y zinc. El hierro unido a esta proteína es transportado al polo basal del enterocito para ser posteriormente cedido a la transferrina. A la mobilferrina también se le ha asignado un potencial efecto modulador en la regulación de la absorción del hierro, interviniendo de esta forma en uno de los primeros pasos de la homeostasis en el metabolismo de este metal (Conrad *et al.*, 1993).

El hierro que no ha sido transferido a la transferrina pasa a formar parte de los depósitos intraenterocíticos como ferritina; este hierro muy probablemente se pierda con las heces cuando el enterocito muere y es consecuentemente descamado. Se ha observado que individuos con deficiencia de hierro poseen menor concentración de mRNA para ferritina, siendo estos valores elevados para aquellos individuos en los cuales se provocó una sobrecarga de este metal. De esta forma, la ferritina intraenterocítica tendría una importante función en la regulación primaria de la absorción del hierro (Beard y Piñero, 1997); (Whittaker *et al.*, 1989); (Pietrangelo, *et al.*, 1992); (Pietrangelo, *et al.*, (1995).

1.3.5.3 Transferencia al plasma. El hierro que se encuentra en el interior del enterocito y que no se deposita como ferritina, es transferido a la transferrina, la

cual lo distribuirá a los diferentes tejidos del organismo. El proceso de transferencia ocurre en el polo basal del enterocito donde, previa a la unión a la transferrina, el hierro debe ser oxidado a su forma férrica. En este proceso de oxidación está involucrada una enzima cobre dependiente con actividad ferroxidasa I. Según algunos autores la ceruloplasmina estaría involucrada en este proceso; sin embargo, existen algunas contradicciones al respecto (Bakker, *et al.*, 1986), (Urbanowski y Piper, 1999), (Wessling, 1999), (Richardson, 1999).

1.4 BIODISPONIBILIDAD DE HIERRO

La biodisponibilidad es una medida de la proporción total de hierro de un alimento o dieta que es digerido, absorbido, y metabolizado por las rutas metabólicas normales (Fairweather- Tait, 1989).

No todo el nutriente que se ingiere en un alimento es utilizado por el organismo, mientras que aquella fracción de nutriente no utilizada, es eliminada. Debido a esto, adquiere una gran importancia conocer qué fracción de nutriente es realmente utilizada por el organismo, es decir, la fracción de nutriente que es biodisponible en condiciones fisiológicas. La biodisponibilidad mineral, se ve afectada tanto por factores dietéticos como por la condición fisiológica de la persona (OPS, 2002).

La biodisponibilidad puede ser medida como la proporción incorporada del compuesto de hierro a la hemoglobina, mediante isótopos marcadores. Sin embargo, debido a que no hay vías de excreción para el hierro, las medidas de absorción son utilizadas para la predicción o estimación de la biodisponibilidad. La cantidad de hierro alimentario necesario para satisfacer las necesidades fisiológicas de hierro depende de la disponibilidad del hierro de la alimentación, que puede variar del 5% aproximadamente al 18% (Zimmermann *et al.*, 2005). Si es menor la biodisponibilidad, tanto más hierro alimentario se necesita mayor será

el riesgo de carencia de este mineral. El desequilibrio entre las necesidades de hierro y la gestión del mismo vacía gradualmente los depósitos de hierro, y estos depósitos agotados dan lugar en última instancia a una anemia por carencia de hierro (ACH).

Bajo el término biodisponibilidad se intenta incluir el resultado de una secuencia compleja de eventos metabólicos difíciles de medir y dependientes de otros factores inherentes al individuo (Andrés y Liuzzi, 1998). De esto se infiere que, la biodisponibilidad de nutrientes se rige por factores externos e internos; entre los factores externos se incluye la matriz alimentaria y la forma química del nutriente en cuestión, mientras que por otro lado el sexo, la edad, el estado nutricional y la etapa de la vida son algunos de los factores internos. Dado que algunos aspectos, como el estado nutricional, también determinan la cantidad de un nutriente que el cuerpo utiliza, almacena o excreta, algunas definiciones de biodisponibilidad se limitan a la fracción del nutriente que es absorbida (EUFIC, 2010); (Martínez *et al.*, 1998).

En la Tabla 2 se proponen varias definiciones, las cuales, se ajustan al área de investigación que se aplica (Fernández *et al.*, 2009). Otro elemento a tener en cuenta es que la biodisponibilidad de nutrientes hoy día es un concepto importante, pero confuso, a menudo asociados con la eficiencia de la absorción y utilización metabólica de los nutrientes ingeridos (Parada y Aguilera, 2007). También los conceptos de bioaccesibilidad y bioactividad o bioeficacia, son necesarios estimarlos, en virtud, que aunque la biodisponibilidad y bioaccesibilidad se utilizan de forma indistinta, es importante tener en cuenta que la biodisponibilidad incluye necesariamente bioactividad (Fernández *et al.*, 2009), siendo la bioactividad una serie de eventos relacionados con la forma en que el compuesto activo se transporta, llega al tejido diana, interactúa, se biotransforma (bioconversión) y genera la respuesta fisiológica determinada (Fernández *et al.*, 2009); (Gibson, 2007); (Parada y Aguilera, 2007).

Tabla 2. Definiciones de biodisponibilidad según área de investigación

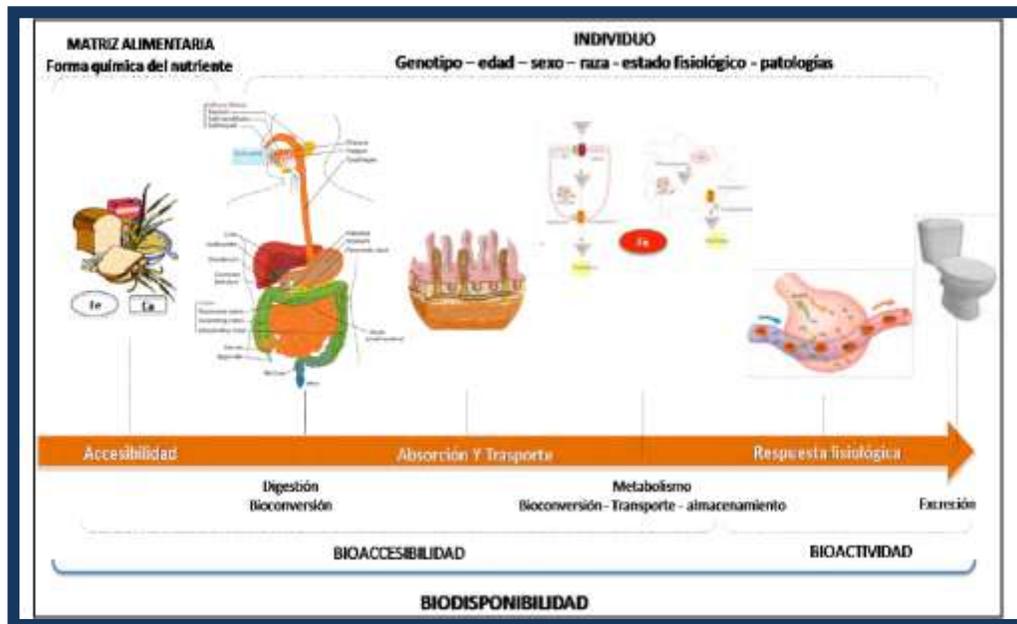
Definiciones de biodisponibilidad	Área de investigación	Etapas	Proceso
La fracción de ese mineral presente en el alimento o dieta que es absorbida, retenida y utilizada para la función fisiológica a la que está destinada (Amaro, 2004).	Biodisponibilidad mineral	Absorción Retención Utilización	Bioaccesibilidad Bioactividad
La proporción del mineral dietario que es absorbido y utilizado por el cuerpo (González, 2005)	Biodisponibilidad mineral	Absorción Utilización	Bioaccesibilidad Bioactividad
La cantidad de nutriente que se absorbe de los alimentos para ser utilizado en las funciones y los procesos metabólicos normales (Haro <i>et al.</i> , (2005).	Biodisponibilidad mineral	Absorción Utilización	Bioaccesibilidad Bioactividad
Es la integración de los diversos procesos mediante el cual un nutriente ingerido es disponible para la digestión, absorción, transporte, utilización y eliminación (Haro <i>et al.</i> , (2006).	Biodisponibilidad mineral	Digestión Absorción Transporte Utilización Excreción	Bioaccesibilidad Bioactividad
La eficiencia con la cual el nutriente obtenido de la dieta es utilizado biológicamente (Gaitán <i>et al.</i> , 2006).	Biodisponibilidad mineral	Eficiencia Utilización	Bioaccesibilidad Bioactividad
La medida de la capacidad del hombre y de los animales, o la efectividad por la cual los nutrientes, en una forma química determinada son liberados de los alimentos en presencia de ciertos componentes dietéticos. Incluye además la absorción intestinal y el transporte de nutrientes a los órganos y células, donde finalmente cumplen su función biológica (Frontela, 2007).	Biodisponibilidad mineral	Disponibilidad Digestión Absorción Transporte Utilización	Bioaccesibilidad Bioactividad
La fracción de nutriente ingeridos que está disponible para su almacenamiento y	Influencia de matriz	Almacenamiento o	Bioaccesibilidad Bioactividad

utilización en las funciones biológicas normales (Fernández <i>et al.</i> , 2009); (Parada y Aguilera, 2007).	alimentaria	Utilización	
La proporción de un determinado nutriente en un alimento o dieta que el organismo puede utilizar (Fernández <i>et al.</i> , 2009).	Modelos para medir eficacia nutricional	Utilización	Bioactividad
La proporción de nutriente ingerido que está disponible para su uso en procesos metabólicos o para su almacenamiento (Argyri <i>et al.</i> , 2009).	Biodisponibilidad mineral	Utilización Almacenamiento o	Bioaccesibilidad Bioactividad
Proporción de un nutriente que nuestro organismo absorbe de los alimentos y que utiliza para las funciones corporales normales (Hurrell y Egli, 2010).	Biodisponibilidad mineral	Absorción Utilización	Bioaccesibilidad Bioactividad
La eficacia con que se utiliza sistemáticamente un componente de la dieta a través de las vías metabólicas normales (Aggett, 2010).	Determinación de Ingesta Dietética de Referencia (IDR)	Utilización	Bioactividad

Fuente: Caldera, 2012

En el caso de la bioaccesibilidad, ésta es definida como la cantidad de nutriente ingerido que está disponible para la absorción en el intestino después de su digestión (Parada y Aguilera, 2007), o como la fracción de un compuesto que es liberado de la matriz alimentaria en el tracto gastrointestinal, y en consecuencia, se convierte en disponible para su absorción. Este concepto incluye toda la secuencia de eventos que se desarrollan durante la transformación digestiva de los alimentos hasta ser asimilados por el organismo en las células epiteliales del intestino y por último su metabolismo pre sistémico (intestinal y hepático) (Parada y Aguilera, 2007). Por lo tanto, no es equivalente hablar de biodisponibilidad y bioaccesibilidad (Figura 2), porque la bioaccesibilidad es parte del proceso complejo de la biodisponibilidad y el concepto de biodisponibilidad incluye la bioaccesibilidad (Fernández *et al.*, 2009); (Parada y Aguilera, 2007).

Figura 2. Descripción de biodisponibilidad y sus vinculaciones a los conceptos de bioaccesibilidad y bioactividad



Fuente: Caldera, 2012

Las siguientes etapas EUFIC, (2010) describen los distintos pasos de la vía metabólica donde pueden darse cambios en la biodisponibilidad de los nutrientes:

- La deposición sistémica.
- El uso metabólico y funcional.
- La excreción por vía urinaria o fecal.
-

1.4.1 Biodisponibilidad del hierro no hemínico. El porcentaje de absorción del hierro no hemínico depende del efecto concomitante de los alimentos ingeridos. Los factores dietéticos que intervienen en la biodisponibilidad del hierro no hemínico son: los factores inhibidores y los factores favorecedores del hierro.

1.4.1.1 Factores inhibidores del hierro no hemínico. Entre los inhibidores se encuentra los fitatos (Frontela *et al.*, 2008), oxalatos, polifenoles (Mitchikpe *et al.*,

2008), fosfatos y el calcio entre otros, que forman complejos insolubles con el hierro siendo este el mecanismo por el cual interfieren su absorción a nivel intestinal.

- **Fitatos:** Se encuentran distribuidos fundamentalmente en los cereales integrales, frijoles, vegetales, leguminosas y semillas oleaginosas, presentes en dietas recomendadas en los últimos tiempos y, sobre todo, habituales en países no desarrollados. El ácido fítico (fitato) contiene seis grupos de fosfato con una alta capacidad de unir los cationes como el hierro, causando interacciones entre ellos (Agte *et al.*, 2005). Estos compuestos pueden disminuir la absorción del hierro no hemínico entre el 51-82%. El efecto inhibitorio del fitato contenido en los alimentos se relaciona proporcionalmente, con la absorción de hierro no hemo, no obstante, este efecto puede ser minimizado en presencia de potenciadores de la absorción de hierro como la carne (Baech *et al.*, 2003) o la vitamina C (Jovaní *et al.*, 2000), (Davidsson *et al.*, 2001) o a través del proceso de degradación del ácido fítico, por medio de las fitasas o por temperaturas muy altas de cocción, reduciendo su capacidad para quelar o unir minerales como el hierro (Hurrell *et al.*, 2003). En este sentido, en los programas de fortificación de los alimentos con hierro, es importante reducir la biodisponibilidad de fitato, añadiendo fitasas y aumentando el contenido en vitamina C. De igual manera, los polifenoles reducen la biodisponibilidad del hierro debido a la formación de complejos insolubles que no pueden ser absorbidos.

- **Los polifenoles.** Se encuentran en el vino tinto, ciertos vegetales como la berenjena, espinaca, lentejas, té y café. Los polifenoles de la dieta pueden provenir de tres grupos principales: los ácidos fenólicos (presentes con frecuencia en el café), flavonoides (presentes en el té de hierbas, hojas de té verde y cacao en grano) y productos de polimerización complejo formado

solo de flavonoides o de la combinación de los flavonoides y ácidos fenólicos (presente en el té negro). Así, se dice que el té negro puede ser el más potente inhibidor del hierro, debido a su estructura polimérica, con un alto contenido de esteres de Galloyl (Hurrell *et al.*, 1999). Uno de los mecanismos postulados de la acción de los polifenoles es que actúa como prooxidante en la quelación del hierro. El grupo galloyl (componente importante en el té verde) de los compuestos fenólicos ha sido sugerido como la estructura responsable de la inhibición de este tipo (Brune *et al.*, 1991). Además, en experimentos realizados con cultivos celulares (Glahn *et al.*, 2002) se ha comprobado que el ácido tánico en una relación molar de 10:1 de hierro, puede inhibir la absorción de hierro hasta un 92%, indicando que puede tener un efecto inhibidor más potente que el fitato. A la vez, el jugo de ciruela y jugo de uva roja inhibían la absorción de hierro en un 31% y 67%, respectivamente (Glahn *et al.*, 2002). También se ha visto que el vino tinto disminuye la biodisponibilidad de hierro en dietas mixtas (Boato *et al.*, 2002), (Lucarini *et al.*, 2000), mientras que el café a su vez producía una disminución del 8-13% (Torre *et al.*, 1991).

- **Oxalatos.** Están presentes en frijoles, pero debido a su carácter termolábil, se logra reducir su concentración con el proceso de cocción y se disminuye las interferencias con la absorción del hierro.

- **Calcio.** Tiene especial importancia, ya que además de intervenir en la biodisponibilidad de hierro no hemo, interviene también en la biodisponibilidad de hierro hemo. El efecto es dosis dependiente, por debajo de 40 mg no interfiere, pero entre 40 y 300 mg de calcio sí que interfiere, pudiendo disminuir la biodisponibilidad hasta un 50% en la dosis de calcio de 300 mg (equivalente al calcio de dos yogures) (Hallberg, 1998) indica que en casos de déficit de hierro o anemia ferropénica sería conveniente la restricción del consumo de leche. Cuando se consume

calcio junto con las comidas disminuye la absorción del hierro hemínico y no hemínico. El efecto inhibitorio depende de su dosis. A menos que la ingestión de estos inhibidores sea excesiva en una comida, cuando está equilibrada con factores favorecedores sus efectos adversos se minimizan.

- **Zinc.** La relación de Zn y Fe, tiene que ser muy elevada para que se den interacciones altas, por ejemplo, existe una disminución de biodisponibilidad de Fe en un 50%, cuando la proporción de Zn/Fe en una solución acuosa es superior a 5:1. Este mismo efecto no se observa cuando los dos minerales están en relación equimolar en una mezcla de alimentos (Whittaker, 1998).
- **Cobre.** El papel del Cu es un poco paradójico, ya que hay enzimas dependientes de Cu que ayudan en la movilización de hierro en distintos tejidos, pero a la vez los estudios realizados *in vitro* postulan que el Cu disminuye la disponibilidad de hierro no hemo (Arredondo y Nuñez, 2005), debido a que ambos metales utilizan el mismo transportador de membrana (DMT1).
- **Proteínas.** Contrariamente a lo que ocurre con las proteínas de la carne, las proteínas de los huevos, la leche y las de otros productos lácteos perjudican la absorción de hierro (Conrad *et al.*, 1993), (Beard *et al.*, 1996). Por ejemplo, las caseínas de la leche inhiben la absorción del hierro en los humanos. Parece ser que la fosforilación de la serina y de la treonina permite la unión de residuos de hierro y de otros minerales, reduciendo la eficiencia de la absorción de estos minerales (West, 1986). Sin embargo, este efecto puede ser disminuido por hidrólisis enzimática de la caseína antes de su ingestión, lo que aumentaría la solubilidad del hierro en el intestino y así mejoraría su biodisponibilidad (Hurrell *et al.*, 1989), (Kim *et al.*, 1995). Se ha observado que estos caseinofosfopéptidos tienen una gran capacidad de atraer cationes divalentes y mantenerse solubles en el pH

intestinal (Galdi y Valencia, 1988), en particular, 1,25- β caseinofosfopéptidos. Sin embargo, la mejora en la biodisponibilidad de hierro por estos caseinofosfopéptidos no puede justificarse únicamente por un aumento de la solubilidad y absorción de hierro, lo que debe ir acompañado de un uso eficiente de hierro en la eritropoyesis o de un almacenamiento adecuado en el hígado en forma de ferritina.

- **Fibra.** Tradicionalmente se le ha atribuido que actúa negativamente en la absorción de minerales, no obstante, existe controversia entre las investigaciones realizadas *in vitro* e *in vivo*. Según (Torre *et al.*, 1991), describen que la fibra soluble (pectina y goma guar) no tiene tanto efecto en la biodisponibilidad de los minerales. A su vez, (Van Dyck *et al.*, 1996), observaron una disminución de la biodisponibilidad de hierro, por el aumento de fibra insoluble (salvado de trigo, abundante en cereales no refinados, guisantes y frutas maduras) en la dieta. Otros estudios realizados en ratas, dicen que la fibra no afecta a la absorción de hierro (Kim *et al.*, 1996), (Levrat-Verny *et al.*, 1999) pero hay que tener en cuenta a la hora de valorar estos datos que las ratas tienen gran capacidad para hidrolizar la pectina y el fitato, ya que tienen mucha fitasa intestinal (la raza humana prácticamente no tiene). Otros autores dicen que más que el efecto de la fibra, la disminución de la absorción de minerales se debe a las impurezas de los alimentos ricos en fibra, como pueden ser los fitatos unidos a la fibra insoluble (Brune *et al.*, 1992), (Larsson, 1996). Los polifenoles también ejercen como inhibidores, se hallan en la totalidad de los alimentos procedentes de las plantas, en verduras, legumbres, frutas, frutos secos y bebidas como el té, vino, cerveza, cacao, café, etc.

1.4.1.2 Factores favorecedores del hierro no hemínico. Se ha estudiado mucho acerca de los mecanismos de absorción del hierro y la interacción con otros nutrientes y componentes dietarios que pueden actuar como promotores, tal es el

caso del ácido ascórbico y de algunos ácidos orgánicos. La biodisponibilidad del hierro, además de los diversos constituyentes de la matriz alimentaria (Clydesdale, 1983) o dieta, depende también de las condiciones del medio determinadas por las secreciones fisiológicas (Benito y Miller, 1998).

En cuanto a la vitamina C (ácido ascórbico) aumenta la biodisponibilidad, aun en presencia de factores inhibidores, tales como los fitatos, los taninos y el calcio; además tiene la característica de incrementar la biodisponibilidad del hierro presente en alimentos fortificados, ya que su capacidad de reducción sobre este mineral se mantiene en el rango de 75% al 98%. La vitamina C puede formar complejos solubles con iones férricos, manteniendo esta solubilidad inclusive en medios con pH más básico como el duodeno. Es decir, la vitamina C favorece una condición ácida en el estómago que permite la reducción del hierro, además, forma quelatos solubles con este mineral en el estómago y mantiene esta condición aun en el medio alcalino del intestino delgado, lugar donde ejercen su efecto los factores inhibidores de absorción como fitatos y taninos. Debido a esto, la recomendación dietética de ingerir fuentes de vitamina C junto con las comidas, sobre todo cuando las dietas son de baja biodisponibilidad.

De otra parte, otros ácidos orgánicos como el cítrico, láctico y málico también favorecen la absorción del hierro. De igual manera, las carnes, pollo y pescado tienen un efecto positivo del “factor cárnico”; se relaciona específicamente con la proteína de origen muscular y no con la proteína de origen animal en general, por lo que el huevo y la leche quedan excluidos. El consumo de cantidades pequeñas a moderadas de carne, pescado o pollo en las comidas incrementa considerablemente la biodisponibilidad del hierro.

1.4.2 Métodos para evaluar la biodisponibilidad. Los modelos para evaluar la biodisponibilidad mineral incluyen ensayos *in vivo* e *in Vitro* (Binaghi *et al.*, 2008); (Martínez *et al.*, 1998). Sobre los ensayos *in vivo*, hay que considerar el uso de

modelos animales para evaluar la biodisponibilidad en seres humanos, lo que implica una limitación por las diferencias entre especies, tanto en la velocidad de crecimiento como en la actividad de enzimas intestinales, microbianas y en la fisiología y anatomía intestinal. Los ensayos en seres humanos requieren, generalmente, el uso de isótopos radioactivos, su aceptación no es universal por motivos éticos y económicos. El empleo de isótopos estables implica mayores costos aún, lo que restringe su utilización.

Por el contrario, los métodos *in vitro* son rápidos, menos costosos y permiten mayor control sobre las variables experimentales; los más usados son los que se basan en técnicas de digestión gastrointestinal simulada (Binaghi *et al.*, 2008); (Haro *et al.*, 2006); (Parada y Aguilera, 2007). Estos modelos *in vitro* son basados en estas técnicas, tienen como propósito estimar el porcentaje de nutriente que es transformado en el intestino a una forma absorbible, estimado tras la obtención de la fracción soluble o dializable, que en teoría podría ser absorbida en el borde de cepillo del intestino.

Existen diferencias entre los métodos de solubilidad y diálisis, dependiendo de la determinación de la fracción soluble o dializable de la muestra digerida (Viadel, 2002). Con el objetivo de profundizar en el tema de biodisponibilidad *in vitro* de hierro y calcio en cereales y derivados, se estudia esta modalidad de ensayo, por ser una medida de las tendencias y representa un índice aproximado de la cantidad disponible de nutriente para ser absorbido (Martínez *et al.*, 1998); (Haro *et al.*, 2006).

1.4.2.1 Métodos *in vitro*. Los métodos *in vitro* están siendo ampliamente utilizados en la actualidad para evaluar la biodisponibilidad mineral, ya que son rápidos, seguros y no tienen las restricciones éticas de los modelos *in vivo*, además de ser predictivos de los factores dietéticos inhibidores/potenciadores para la biodisponibilidad (Haro *et al.*, 2006), (Parada y Aguilera, 2007); (Wolfgor *et*

al., 2002). En líneas generales los métodos *in vitro*, proponen en una primera etapa que simula las condiciones fisiológicas y la secuencia de eventos durante la digestión o sólo el proceso de absorción y el resultado se mide en un extracto final. Para emular estos procesos biológicos, los métodos *in vitro*, intentan reflejar en un ambiente controlado las condiciones físico-químicas que tiene lugar durante la digestión humana, teniendo en cuenta tres áreas del sistema digestivo (boca, estómago e intestino). Las principales características de los métodos *in vitro*, son la temperatura, agitación, y la composición química y enzimática de la saliva, jugo gástrico, duodenal y biliar (Fernández *et al.*, 2009); (Parada y Aguilera, 2007).

Dentro de los métodos *in vitro*, está la solubilidad y la diálisis para establecer las tendencias sobre valores relativos de la biodisponibilidad para minerales. De hecho, estos métodos sólo estiman la fracción del elemento disponible para la absorción (bioaccesibilidad), que constituye el primer paso en el proceso *in vivo* de la absorción de minerales (Perales *et al.*, 2005). Como segundo paso, esta metodología ha sido mejorada al incorporar cultivos celulares, para estimar la cantidad del componente activo que se asimila por la mucosa intestinal. Esta línea celular de carcinoma de colon humano (cultivo Caco-2) se caracteriza por presentar muchas de las funciones y propiedades morfológicas de los enterocitos maduros humanos, para efectos experimentales, la cantidad del nutriente en el extracto (que es captado o trasladado en capa de células Caco-2) se asume como la porción biodisponible del nutriente (Parada y Aguilera, 2007).

- **Solubilidad.** Basados generalmente en la simulación de la digestión gastrointestinal, que incluye una digestión ácida con HCl o HCl-pepsina, con posterior neutralización con base (usualmente NaOH o NaHCO₃) e incubación con pancreatina y extracto biliar, seguida de la determinación de la cantidad de elemento soluble presente en el sobrenadante obtenido por centrifugación ó filtración del digerido gastrointestinal del alimento, es decir, del mineral que se ha solubilizado, que es equivalente a la cantidad de mineral que se encuentra

disponible para la absorción (bioaccesible) y que constituye la primera etapa en el estudio de la absorción mineral. La cantidad de elemento solubilizado, puede ser utilizado como una medida de la biodisponibilidad mineral. No obstante, aunque las estimaciones de biodisponibilidad mineral como el Fe han sido útiles, en general se reconoce que no todos los minerales solubles son absorbibles, por ende, solo el método *in vitro* de solubilidad no es un adecuado indicador para la biodisponibilidad. Este método se ve complementado con el empleo de la línea celular Caco-2, ya que permite conocer el mineral absorbido (captado y transportado) (Amaro, 2004); (Frontela, 2007).

- **Diálisis.** La medida de la dializabilidad de minerales es uno de los métodos *in vitro* más frecuentemente utilizados. Involucra una digestión con pepsina a pH ácido (digestión gástrica), seguida por una digestión a mayor pH con pancreatina y sales biliares (digestión intestinal). La proporción del elemento que difunde a través de una membrana semipermeable durante la etapa de digestión intestinal, después de un período que permitiría llegar al equilibrio, representa su dializabilidad y es usado como un estimador de la proporción del elemento disponible para la absorción. Dado que la biodisponibilidad de los minerales depende de las características del alimento, de la presencia de otros constituyentes alimentarios y de sus condiciones en el tracto gastrointestinal, esta técnica *in vitro* puede reproducir condiciones intraluminales capaces de afectar su absorción a nivel duodenal. Debido a que la solubilidad de los compuestos de fortificación es un factor importante para determinar la captación de los minerales por el enterocito, la medición de la dializabilidad permite evaluar la interacción mineral-alimento y la disponibilidad de estos para ser absorbidos. Estos datos son útiles para comparar fortificantes entre sí y permite la selección de las mejores mezclas para ser utilizadas en estudios con humanos y de esta manera ahorrar recursos (Binaghi *et al.*, 2008); (Cagnasso *et al.*, 2010); (Méndez *et al.*, 2005).

- **Cultivos celulares (células Caco-2).** El estudio de la captación de nutrientes puede llevarse a cabo mediante el empleo de enterocitos cultivados sobre soportes sólidos. A este fin se emplean las células Caco-2, originarias de células de adenocarcinoma humano ya que poseen características bioquímicas y morfológicas como los enterocitos humanos maduros. Actualmente, se emplean de un modo normalizado para el estudio de la biodisponibilidad mineral combinado con una digestión *in vitro* (solubilidad o diálisis) previa de los alimentos. Las células Caco-2 en cultivo, crecen adheridas a un sustrato formando una monocapa, cuando éstas alcanzan la confluencia, se diferencian espontáneamente adquiriendo las características morfofuncionales del enterocito maduro. En este sentido, hay referencias relacionadas con que las células Caco-2 se han establecido como un buen modelo para la evaluación de los factores que afectan la absorción del hierro no hemínico, y los resultados de este modelo *in vitro* se ha demostrado que se correlacionan bien con los estudios de absorción en seres humanos (Frontela, 2007).

1.5 ESTRATEGIAS DE INTERVENCIÓN PARA PREVENIR LA DEFICIENCIA DE HIERRO Y COMBATIR LA DESNUTRICIÓN

Existen estrategias de intervención para prevenir la deficiencia en hierro como la ligadura oportuna del cordón umbilical (LOCU), diversificación de la dieta, la biofortificación, la administración de suplementos (suplementación), la fortificación de alimentos, siendo la fortificación de alimentos con micronutrientes una práctica casi generalizada.

1.5.1 Fortificación. Históricamente la fortificación de alimentos se ha enfocado a mejorar o corregir el estado nutricional de las poblaciones. Se refiere a la adición de micronutrientes a determinados alimentos. Esta estrategia es considerada actualmente como uno de los principales enfoques para mejorar el consumo de vitaminas y minerales en las poblaciones (WHO, 2010). Debido a los costos

relativamente bajos y a los demostrados beneficios, la fortificación de alimentos aparece como una de las intervenciones de salud pública más rentables.

En Colombia, actualmente se fortifica la sal y la harina de trigo como medida de salud pública que busca la reducción de deficiencias de Hierro, fluor, ácido fólico, yodo, vitamina B y calcio. Estas medidas están soportadas con reglamentación como es el caso del Decreto 1944 de 1996 “Por el cual se reglamenta la fortificación de la harina de trigo y se establecen las condiciones de comercialización, rotulado, vigilancia y control para la harina de trigo, en la tabla 3 se presentan las cantidades mínimas de micronutrientes para fortificar harina de trigo.

Tabla 3. Cantidades mínimas de micronutrientes por Kg de harina de trigo

Micronutrientes	Cantidad min. mg/Kg
Vitamina B-1 (Tiamina)	6 mg.
Vitamina B2 (Riboflavina)	4 mg
Niacina	55 mg.
Ácido Fólico	1,54 mg.
Hierro	44 mg.
Calcio (Opcional)	1.280 mg.

Fuente: Decreto 1944 de 1996, Ministerio de Salud

La fortificación con Fe es ampliamente practicada en muchas partes del mundo. Los productos derivados de harinas de trigo y maíz (pan, galletas y cereales de desayuno) constituyen vehículos útiles y son los cereales comunes que puede llegar a grandes grupos de población, si bien la cantidad de Fe proporcionado por esta vía dependerá de la disponibilidad de alimentos.

No obstante, los cereales y derivados presentan un reto natural para la fortificación por su contenido de inhibidores naturales que intervienen en la absorción del Fe. Es el caso de los fitatos, cuya presencia es abundante en los cereales y algunas

leguminosas. Para contrarrestar este efecto, se recurre a la adición de potenciadores, como el ácido ascórbico que aumenta la absorción de Fe. A razón molar o mayor a 2:1, ácido ascórbico: Fe, el ácido ascórbico incrementa la absorción de Fe de dos a tres veces. Otro potenciador utilizado es el ácido eritórbico, que es un estereoisómero del ácido ascórbico y hay evidencia que potencia la absorción de Fe a partir de sulfato ferroso (OPS, 2002).

1.5.1.1 Alimentos complementarios fortificados (ACF) a escala nacional. Las características óptimas de los alimentos complementarios procesados incluyen una densidad energética adecuada y proporciones apropiadas de energía de micronutrientes. Es importante garantizar que la densidad energética de alimentos complementarios sea suficiente para que casi todos los niños en la población "objetivo" puedan consumir suficiente para satisfacer sus necesidades de energía.

Se ha publicado recientemente una composición de nutrientes que se recomienda para alimentos complementarios fortificados (Lutter y Dewey, 2003). Los niveles de fortificación propuestos se basan en el tamaño de la ración diaria de 40 g para lactantes de 6-12 meses y 60 g para niños de 12-23 meses (50 g como promedio). Una proporción proteína/energía deseada de 6-10% se usa para estimar la energía proveniente de la proteína. El porcentaje de energía deseado proveniente de las grasas se estima en 24% para lactantes de 6-11 meses y 28% para niños de 12-23 meses. Un ACF debe proporcionar una cantidad de hierro suficiente para satisfacer la asignación dietética recomendada en la forma de sulfato ferroso seco de partículas de pequeño tamaño. De 70 a 140 mg de ácido ascórbico para lactantes de edades 6-23 meses, mejorará la absorción del hierro. Para el zinc, se recomiendan 4-5 mg en forma de óxido de zinc. Los niveles de fortificación propuestos también se suministran para el cobre, el calcio, la vitamina D, el magnesio, el fósforo, la vitamina A, las vitaminas B y el yodo. Los ACF de la situación actual se han analizado por su capacidad de proporcionar las necesidades de casi todos los niños, dada la variación esperada en su consumo

total. Los alimentos complementarios fortificados (ACF) a escala de América y el Caribe se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Alimentos complementarios fortificados en América y el Caribe

PAIS	ACF
Argentina	BB'S cereal infantil BB'S postre infantil
Chile	Mi Sopita Purita cereal
Colombia	Bienestarina Galletas fortificadas
Ecuador	Mi Papilla Nutrinna
Cuba	Compota de Frutas
México	Papilla Nutrisano
Panamá	Nutricereal (Nutricrema)
Perú	Papilla PACFO
Venezuela	Lactovisoy

Fuente: UNICEF, 2006

Las experiencias con los ACF se han realizado como parte de programas públicos generales subsidiados por los gobiernos de los Sectores de Salud y Bienestar Social a través de los Programas Nacionales de Alimentos Complementarios o los Programas Nacionales de Seguridad de los Alimentos como estrategias para combatir la desnutrición. Algunos de ellos comenzaron hace más de 30 años y son parte de programas de pago por adelantado a gran escala social; la Bienestarina, distribuida en Colombia por el Instituto Colombiano del Bienestar Familiar (ICBF) a través de las diferentes modalidades de atención a la primera infancia surgidas a lo largo del tiempo en respuesta a un conjunto amplio de necesidades particulares emanadas del contexto. No obstante, con base en el diagnóstico que se realiza en el Plan Nacional de Desarrollo 2010-2014, es posible clasificar las distintas modalidades que ofrece el Estado a esta población en dos grandes grupos:

Atención Integral y Atención no Integral, según el cumplimiento conjunto o no de los componentes de educación inicial, nutrición y cuidado en la atención. En la tabla 5 se presentan los programas que se inscriben en esta política, los cuales están coordinados por el ICBF, el Ministerio de la Protección Social, el Ministerio de Educación Nacional.

Tabla 5. Modalidades de atención a la primera Infancia Colombia, 2010

Tipo de atención	Medio de atención	Modalidad
Integral	Institucional	Hogares ICBF integrales
		PAIPI Institucional
		Entidades territoriales Bogotá y Medellín
	Comunitario	PAIPI comunitario
	Familiar	PAIPI familiar
	Proyectos especiales MEN: Ludotecas, naves indígenas	
No integral	ICBF FAMI	
	Hogares ICBF no integrales	

Fuente: ICBF 2010, MEN, 2010, Plan Nacional de Desarrollo 2010-2014.

1.5.1.2 Alimentos complementarios en Colombia. La producción y comercialización de alimentos complementarios comenzó en Colombia en 1962 cuando el INCAP otorgó licencia a la compañía Productos Quaker de Cali para que procesaran la Incaparina amarilla, basada en harinas de maíz y harina de semilla de algodón. El Instituto Nacional de Nutrición ha apoyado el uso de la Incaparina en programas de alimentación complementarios desde el mismo momento en que esta fue introducida al mercado (Páez, 1970).

En 1970, en Colombia se iniciaron los primeros pasos para desarrollar una mezcla vegetal bautizada como Colombiharina. Ésta consistía en una mezcla de soya y arroz en una proporción de 30:70, para lograr una combinación correcta de aminoácidos esenciales; pues, la soya aportaba la lisina, y el arroz metionina y

cisteína. Mediante un ensayo biológico fue demostrado que el índice de eficiencia proteica de la Colombiatarina era de 3.3%, porcentaje elevado comparado con el 3.5% de la proteína de la clara del huevo y la leche materna. Ésta se enriqueció con vitaminas y minerales deficitarios en la población colombiana, tales como complejo B, hierro, calcio, fósforo, zinc, vitamina C y D. Por ser elaborada con arroz, resulta menos alergénica que otras mezclas de cereales, además que incrementa su digestibilidad. Dicha harina, aporta 384 calorías por 100 g del producto, y un 21.5% de proteínas.

La tabla 6 permite evidenciar los alimentos complementarios utilizados en Colombia, el último alimento complementario introducido al mercado colombiano fue la Solidarina, en 1993. Este producto lo distribuye la Fundación Solidaridad por Colombia; sólo la Bienestarina Mas®, Colombiatarina y Solidarina se producen actualmente.

Tabla 6. Alimentos complementarios en Colombia

PRODUCTO	AÑO	PRODUCTOR
Incaparina- Amarilla	1962	Productos Quaker
Pochito	1967	Alimentos- Bavaria
Incaparina Blanca	1969	Productos Quaker
Colombiatarina	1969	Molinos Santa Rita- Pampa
Duryea	1969	Maizena- CPC
Bienestarina	1976	ICBF
Solidarina	1993	Solidaridad por Colombia- CPC

Fuente: UNICEF, 2006

- **Bienestarina Mas®.** El ICBF la define como un complemento alimentario de alto valor nutricional, el cual consiste en una mezcla de harinas y/o féculas de cereales (trigo, maíz), harina de soya y leche entera en polvo, con vitaminas y minerales. No contiene aditivos, ni conservantes, ni colorantes.

Fue desarrollada por el ICBF para incrementar la disponibilidad de proteínas de alta calidad en un producto de bajo costo para los beneficiarios de sus programas nutricionales (Rueda, 1982).

La fórmula genérica de la Bienestarina Mas® incluye 30% de harina de soya desengrasada, 60% de fécula de maíz y harina de trigo, 8 % de leche en polvo entera y un 2% de premezcla de vitaminas y minerales.

- **Harina de soya desengrasada.** La soya es un alimento rico en proteína, sus derivados se consumen en sustitución de los productos cárnicos, ya que la proteína que posee es de buena calidad, igual a la que se encuentra en la carne (Álvarez, 1995).

El uso de los derivados de soya en panificación depende de que las formulaciones desarrolladas conserven sus características y calidad. Los componentes de soya, debido a sus características y funcionabilidad, afectan las propiedades sensoriales del producto final como la apariencia, el color, sabor, olor, aroma y textura (El-Dash *et al.*, 1994).

Las harinas de soya se emplean en panificación tanto para enriquecer las propiedades nutritivas de los productos (Mecham *et al.*, 1976), (Bean *et al.*, 1977, Guy 1984), como para aprovechar los efectos beneficiosos de sus enzimas y fosfolípidos (Pomeranz *et al.*, 1969; Chung *et al.*, 1981; Lai *et al.*, 1989). Los derivados de la soya representan una excelente fuente de proteínas vegetales con alto contenido de lisina y con bajo contenido de lípidos. Gran cantidad de los aminoácidos esenciales requeridos por los seres humanos se encuentran en la soya; al mismo tiempo se ha encontrado que la digestibilidad de las proteínas alcanza entre 95 y 100% en los aislados proteicos (Steinke, 1992). El contenido de proteínas de una receta básica suele tener porcentajes de proteínas entre 8-11%; este valor

se puede elevar hasta 15-16% añadiendo derivados de la soya (León y Rosell, 2007).

Las proteínas de soya no forman gluten y son incapaces de retener el dióxido de carbono producido durante la fermentación. La harina de soya desgrasada o integral con mínimo tratamiento térmico y con sus enzimas activas, es utilizada principalmente en la elaboración de pan blanco. La adición de pequeñas cantidades de harina de soya activa, hasta un 2%, incrementa la tolerancia al amasado, mejora las propiedades reológicas y la absorción de agua y, en ciertos casos, puede mejorar el volumen de pan (Berk 1992; Lusas y Riaz, 1995). Por otro lado, se adiciona para blanquear las harinas, mejorar la estructura de la miga y el color de la corteza debido a los azúcares presentes en los derivados de soya. La harina de soya posee naturalmente varias enzimas, entre ellas las lipoxigenasas que tienen gran importancia en el proceso de panificación. Estas enzimas a través de una serie compleja de reacciones químicas con los lípidos de la harina y el oxígeno, pueden producir la oxidación de los carotenoides y de las proteínas de la harina a través de la formación de radicales peróxidos (Frazier 1979; Brown 1993; Belitz y Grosch, 1999). La utilización de cantidades mayores de harina de soya activa puede generar sabores y olores extraños. La fortificación de harinas con derivados de soya incrementa no sólo la cantidad de las proteínas sino también la calidad nutricional. La harina de trigo fortificada con soya se ha utilizado en todo el mundo para la alimentación a gran escala y en los programas escolares. Por otro lado, su consumo se relaciona con beneficios sobre la salud: disminución del colesterol en plasma, prevención de cáncer, diabetes, obesidad y enfermedades irritantes del tracto digestivo, óseo y renal (Friedman y Brandon, 2001). Desafortunadamente, la suplementación de harina de trigo con derivados de soya ricos en proteínas, tales como harinas desgrasadas, concentrados y aislados proteicos, en altos porcentajes (10 a

20%) provoca problemas en el proceso de elaboración y la calidad de los productos de panificación. La sustitución de harina de trigo por harina de soya en altos porcentajes (20% o más) puede provocar efectos no deseados en el proceso de elaboración y la calidad del producto final, como la modificación de las propiedades reológicas de las masas, la capacidad de retención de gas, el volumen y la textura final del pan elaborado (Dhingra y Jood, 2004).

Los efectos negativos incrementan con el aumento en la cantidad de soya adicionada. Se observó que las proteínas de soya interfieren en forma directa e indirecta en la formación de la red de gluten. El efecto directo está relacionado con la interacción de las proteínas de trigo y soya, mientras que el indirecto se relaciona con la competencia entre las proteínas de soya y trigo por el agua necesaria para su hidratación (Ribotta *et al.*, 2005). Otros investigadores atribuyen los problemas asociados a la calidad a una dilución del gluten (Doxastackis *et al.*, 2002). La incorporación de gluten, emulsionantes y enzimas, como transglutaminasa, glucosa oxidasa, hemicelulasa, puede atenuar el efecto negativo de la incorporación de proteínas de soya en la calidad de los panes (Bean *et al.*, 1977), (Ryan *et al.*, 2002), (Basman y Köksel 2003).

- **Harina de maíz.** Su principal uso es en la elaboración de balanceados, debido a que el maíz no origina harinas panificables, ya que no contiene las proteínas que conforman el gluten al amasarse con agua, por lo que es aconsejable mezclarla con otras harinas (Consumer Eroski, 2009).

El maíz se compara favorablemente en valor nutritivo con respecto al arroz y al trigo; es más rico en grasa, hierro y contenido de fibra, pero su aspecto nutricional más pobre son las proteínas; cerca de la mitad de las proteínas del maíz están compuestas por zeinas, las cuales tienen un bajo contenido

de aminoácidos esenciales especialmente, lisina y triptófano. El maíz contiene de un 60-70% de almidón y azúcares, además de un 10% de sustancias nitrogenadas y de un 4-8% de materias grasas (Palivall, 2009).

Schober *et al.*, (2008), mediante la incorporación de distintas cantidades de prolaminas de maíz (zeínas) a una formulación basada en almidón de maíz e hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), obtuvieron panes con una miga aireada regular y blanda con un buen volumen de pan. La mezcla de zeína y HPMC produjo una consistencia de masa similar a la del trigo.

- **Leche en polvo.** Las proteínas lácteas tienen propiedades funcionales similares al gluten: se hinchan, retienen agua y tienen la capacidad de entrecruzarse formando una red (Arendt y Moore, 2006). Las formulaciones libres de gluten que contenían proteínas lácteas mejoraron el volumen, la forma, la textura y la aceptación sensorial de los panes (Gallagher *et al.*, 2003)

1.5.1.3 Recomendaciones para la fortificación de AC. Un alimento para ser considerado como complemento fortificado debe contener un mínimo de recomendaciones de nutrientes como se presentan en la tabla 7.

Tabla 7. Aporte nutricional de la Bienestarina Mas® y recomendaciones de contenido nutricional de alimentos complementarios fortificados

NUTRIENTE		En 100 g	Contenido recomendado (100 g)
Calorías	Kcal	360	440
Proteínas	g	21	6-11
Grasa	g	3	12,7
Carbohidratos	g	63	----
Fibra	g	1.3	----
Calcio	mg	800	200-400
Fosforo	mg	600	150-200
Hierro	mg	10,5	14
Vitamina A	UI	3.330	1.665
Vitamina C	mg	45	140-280
Tiamina (Vitamina B1)	mg	1,234	0,36
Niacina	mg	12,334	6,1
Riboflavina (vitamina B2)	mg	1	0,36
Vitamina B6	mg	1,333	0,44
Ácido fólico	mg	382,32	83
Vitamina B12	mcg.	2,33	0,52
Zinc	mg	10,5	8,3
Vitamina D	UI	333,33	----
Cobre	mg	0,98	----
Ácidos grasos omega 3	mg	100	---

Fuente: Nutrición en Colombia estrategias de país 2011-2014

En general, el contenido de la Bienestarina Mas® cumple con las recomendaciones actuales aunque hay algunas excepciones, (Lutter y Dewey, 2003). Si bien la densidad de energía está cerca del contenido recomendado por 100 g del producto, el contenido de proteínas rebasa de manera importante la cantidad recomendada y el de grasas está considerablemente por debajo de las recomendaciones; esto podría tener importantes implicaciones para el estado de

nutrición del niño, debido al rol crítico de las grasas esenciales para el desarrollo y crecimiento de los niños, particularmente durante los primeros años de vida (Uauy y Castillo, 2003). El contenido de vitamina C es mucho menor a lo recomendado a pesar de que esta vitamina es vital en los alimentos fortificados de origen vegetal debido a su función potenciadora en la absorción de hierro no hemínico. Con estas excepciones, el contenido por 100 g de producto queda dentro o cerca del rango recomendado.

1.6 PAN

El pan es esencialmente una mezcla de harina, agua, levadura y sal, en proporciones adecuadas, correctamente amasada, fermentada y cocida en un horno, y casi con toda seguridad, precisamente por su sencillez, y a la vez aunque parezca paradójico, por su riqueza en nutrientes ha sido considerado desde tiempos remotos y por muchas civilizaciones el alimento por excelencia (Hernández, 2010).

Según la Norma Técnica Colombiana NTC 1363 (2005), se define pan como un producto alimenticio resultante de la fermentación y horneado de una mezcla básica de harina trigo, agua, sal y levadura, que puede contener otros ingredientes, y/o aditivos permitidos por la legislación vigente.

1.6.1 Clasificación del pan

Según su sabor los panes se clasifican en:

- ❖ **Pan de sal.** Pan en el que tanto en su masa como en su relleno predomina el sabor de sal.

- ❖ **Pan de dulce:** pan en el que tanto en su masa como en su relleno predomina el sabor dulce.

Según su textura:

- **Panes blandos.** Panes que se caracterizan por su contenido alto de humedad y la suavidad en toda su estructura.
- **Panes de corteza crujiente.** Panes a nivel de fragilidad alto, caracterizados por poseer cortezas delgadas, duras al tacto.
- **Panes tostados.** Panes de nivel de fragilidad moderado, que se caracterizan por tener bajo contenido de humedad, con toda su estructura crocante.
- **Panes hojaldrados.** Panes que presentan una estructura de capas finas, sobrepuestas, y cuyo contenido de grasa es alto.
- **Panes con fibra.** Panes que contienen fibra proveniente de diferentes vegetales, por ejemplo: cereales como el trigo, leguminosas u oleaginosas.

Clasificación según su proceso de mezcla:

- **Panes de proceso directo:** panes cuya mezcla y fermentación de ingredientes se realiza en una sola etapa.
- **Pan de proceso por esponja.** Panes cuya mezcla de ingredientes se realiza en dos etapas con fermentaciones independientes.
- **Panes para regímenes especiales.** Se entienden los panes elaborados o preparados especialmente para satisfacer necesidades particulares de la

alimentación humana. La composición de tales panes debe ser fundamentalmente diferente de la composición de los panes comunes de naturaleza análoga. Ejemplo de estos panes, son panes multicereales, sin levadura, sin azúcar, integrales, bajos en grasa, etc. (NTC 1363).

1.6.2 Requisitos generales. En el pan la parte superior y las partes laterales de la corteza, no deben tener ampollas.

El color debe ser uniforme de dorado o ligeramente moreno. La corteza no debe estar quemada, ni tener hollín o materia extraña alguna.

La miga debe ser elástica, porosa, uniforme, no debe ser pegajosa ni desmenuzable.

El olor y sabor deben ser los característicos a su formulación y acordes con su clasificación.

El pan debe estar bien horneado y cocido, libre de olores y sabores desagradables.

Se permite la adición de harina de otros cereales, oleaginosas y tubérculos que hayan sido procesados de manera que sean aptos para alimentación humana.

No se permite la adición de colorantes y otros aditivos diferentes a los aprobados por la legislación nacional vigente o el Codex Alimentarius, ni ningún otro componente que afecte la salud (NTC 1363).

1.6.3 Requisitos específicos. Los diferentes tipos de pan deben cumplir con los requisitos que se presentan en la tabla 8, Los datos indicados tienen en cuenta que todos los ingredientes que constituyen las fórmulas, están calculados con base en 100 g de harina.

Tabla 8. Requisitos específicos del pan

Requisito	Pan Blanco		Pan de corteza		Pan tostados		Panes hojaldrados		Panes con fibra	
	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.
Grasa (g/100 g de harina)	6	18	-	4	-	12	20	40	-	-
Humedad, en % m/m	20	40	20	30	-	10	20	30	-	-
Fibra cruda, en %	-	-	-	-	-	-	-	-	15	30
Proteínas en %	9	-	9	-	9	-	9	-	9	-

Fuente: Norma técnica Colombiana 1363 (2005)

1.6.4 Requisitos microbiológicos. Los requisitos microbiológicos para el pan sin relleno se presentan en la Tabla 9.

Tabla 9. . Requisitos microbiológicos del pan

Requisitos microbiológicos en pan agentes microbianos	Límite por g			
	N	C	m	M
Mohos y levaduras (UFC/g)	3	1	10 ²	10 ³

Fuente: Norma técnica Colombiana 1363 (2005)

En donde:

n = Tamaño de la muestra.

m = Índice máximo permisible para identificar el nivel de buena calidad.

M = Índice máximo permisible para identificar el nivel aceptable de calidad.

c = Número máximo de muestras permisibles con resultados entre m y M.

1.6.5 Materias primas en la elaboración del pan. Las materias primas utilizadas en la elaboración del pan son harina, agua, sal, levadura y otros componentes

(Tejero, 1992-1995; Matz, 1996; Miralbés, 2000; Callejo, 2002). La utilización de las 4 primeras conduce a la elaboración de pan común, la ausencia de alguna de ellas o la inclusión de algún componente especial conlleva la elaboración de pan especial.

1.6.5.1 Harina de trigo. De acuerdo a la NTC 267: “principal producto obtenido de la molienda y cernido, del endospermo y capas internas del pericarpio de granos de trigo común *Triticum aestivum* L., o trigo ramificado, *Triticum compactum* Host., o mezcla de ellos, con el fin de obtener un tamaño de partícula determinado”

➤ **Composición físico química harina de trigo.** La composición promedio de la harina de trigo se presenta en la tabla 10.

Tabla 10. Composición química de la harina de trigo

Componente	Composición *
Humedad (g)	13,36
Proteínas (g)	11,98
Grasas(g)	1,66
Hidratos de carbono (g)	72,53
Fibra (g)	2,40
Cenizas (g)	0,47

Fuente: (Gómez *et al.*, 2007). *Composición de cada componente en 100 g de harina de trigo.

- **Agua.** La humedad de una harina, debe oscilar entre 13-16%, no puede sobrepasar el 16%, es decir que 100 kilos de harina pueden contener, como máximo, 16 litros de agua. Se debe tener en cuenta que la harina es higroscópica, o sea, que es influida por las variaciones de la humedad atmosférica. Naturalmente la harina puede estar más seca (Quaglia, 1991).

- **Proteínas.** La cantidad de proteínas varía mucho según el tipo de trigo, la época de recolección y la tasa de extracción. El gluten es un complejo de proteínas insolubles en agua, que le confiere a la harina de trigo la cualidad de ser panificable. Las proteínas de la harina de trigo se clasifican, al igual que para otros cereales, con base a su solubilidad según la secuencia de Osborne. En el caso del trigo, a las prolaminas se les denominan gliadinas y a las glutelinas, gluteninas.

- **Proteínas hidrosolubles.** Las proteínas hidrosolubles representan entre el 15 y el 20 % de las proteínas totales y corresponderían a las albúminas y globulinas de la secuencia de Osborne. En estas fracciones se encuentran proteínas estructurales, enzimas, inhibidores enzimáticos, etc., pero con excepción de la α – amilasa no presentan gran relevancia en el proceso de panificación. La α – amilasa corta los enlaces glucosídicos α (1 - 4) generando azúcares de bajo peso molecular que sirven de sustrato a las levaduras (Hajselová, 2003).

- **Proteínas del gluten.** Con el término de gluten se designa a la red que forman gluteninas y gliadinas hidratadas durante el amasado. Son las proteínas de reserva del grano de trigo y constituyen entre el 80 y el 85% de las proteínas totales. Un tercio de su composición aminoacídica se encuentra formado por residuos de glutamina, la cual puede establecer puentes de hidrógeno, un 14% por residuos de prolina la cual favorece la formación de hojas β plegadas y presentan muy pocos residuos básicos y ácidos por lo que la densidad de carga superficial es baja. Estas proteínas son capaces de absorber gran cantidad de agua y de constituir una red deformable, elástica y extensible que puede retener los gases durante la fermentación y posterior cocción. Durante el amasado se producen interacciones no sólo entre las proteínas y el agua para formar la red de gluten, sino también entre otros componentes de la harina como almidón,

polisacáridos no almidonosos (arabinosilanos, arabinogalactanos) y lípidos (fosfo y glicolípidos) (Carr *et al.*, 1992; Bettge y Morris, 2000; Lee *et al.*, 2001). Estas interacciones permiten obtener una matriz viscoelástica capaz de formar, tras la cocción, el producto con características únicas al pan.

La calidad del gluten presente en una harina es lo que determina que la harina sea "fuerte" o "floja". La harina fuerte es rica en gluten, tiene la capacidad de retener mucha agua, dando masas consistentes y elásticas, panes de buen aspecto, textura y volumen satisfactorios. La harina floja es pobre en gluten, absorbe poca agua, forma masas flojas y con tendencia a fluir durante la fermentación, dando panes bajos y de textura deficiente. No son aptas para fabricar pan pero si galletas u otros productos de repostería (Quaglia, 1991).

- **Grasas.** Las grasas de la harina proceden de los residuos de las envolturas y de partículas del germen. El contenido de grasas depende por tanto del grado de extracción de la harina. Mientras mayor sea su contenido en grasa más fácilmente se enranciará (Quaglia, 1991).

El 1% de los lípidos de la harina de trigo son apolares y están formados por triglicéridos, diacilglicéridos, ácidos grasos libres y ésteres de colesterol; el 1,5% restante son lípidos polares y están formados por glicéridos de galactosa (0,6%) y fosfolípidos (0,9%), los cuales forman complejos de inclusión con la amilosa.

- **Función de los lípidos en panificación.** Los lípidos que se encuentran complejos con la amilosa no están disponibles para afectar el procesamiento durante el amasado. Mientras que los que se encuentran libres pueden interaccionar uniéndose al gluten o a la superficie de los gránulos de almidón. Los lípidos polares influyen en el comportamiento del

pan en el horneado y en el volumen de pan obtenido ya que aumentan la retención de gas estabilizando los alvéolos de la miga. La mayor estabilidad se debe a la formación de una monocapa lipídica en la interface gas/líquido de la masa (Sroan *et al.*, 2009). Los ácidos grasos poliinsaturados pueden ser oxidados por la lipooxigenasa dando lugar a radicales libres e hidroperóxidos que pueden oxidar a carotenoides y proteínas afectando al color de la miga y a las propiedades reológicas (Chung *et al.*, 1978) (Correa, 2012).

- **Hidratos de carbono.** El almidón es el polisacárido de reserva del grano de trigo y se encuentra en las células del endosperma empaquetado en forma de gránulos. Está compuesto por dos polímeros de glucosa: amilosa en un 25% y amilopectina en un 75%, por lo que estos representan aproximadamente el 15 y el 50 % de la harina, respectivamente. La amilosa está formada por residuos de glucosa unidos a través de enlaces $\alpha(1 - 4)$, aunque en los últimos años se han encontrado moléculas de amilosa levemente ramificadas a través de enlaces $\alpha(1 - 6)$, éstas se encuentran en muy baja proporción (Shibanuma *et al.*, 1994).
- **Función del almidón en la panificación.** Durante el amasado el almidón absorbe cerca del 40% del agua (Stauffer, 1998) y actuaría como relleno en la matriz de la masa contribuyendo a aumentar su viscoelasticidad. Se ha propuesto que en la masa el almidón y las proteínas del gluten se encontrarían formando fases diferentes (Tolstoguzov, 1997). En la harina de trigo hay hasta un 15% de gránulos de almidón dañados, los cuales presentan grietas y fisuras producidas durante la molienda. Los gránulos dañados absorben hasta 4 veces más agua que los gránulos intactos y en la etapa de fermentación son más susceptibles a la acción de la enzima α -amilasa por lo que modifican las características de la masa en la fermentación (Howitt *et al.*, 2003; Hajsellová, 2003; Stauffer, 1998) ya que a

partir de su hidrólisis se forma glucosa que servirá de sustrato para las levaduras.

Durante el horneado ocurre la gelatinización del almidón determinando de este modo el volumen alcanzado por el pan y contribuyendo a fijar la estructura alveolar de la miga (Eliasson, 2003). En el almacenamiento, el almidón es el mayor responsable del endurecimiento del pan debido al fenómeno de retrogradación (Pateras, 1998).

- **Azúcares simples.** Pentosanos. A todos los polisacáridos no almidonosos presentes en la harina se los denomina en forma genérica como pentosanos ya que el 80% de los azúcares que los componen son pentosas: D-xilosa y D-arabinosa. También se les denomina hemicelulosas porque son los polisacáridos predominantes de las paredes celulares.
- **Función de los pentosanos en la panificación.** Existen resultados contradictorios en relación al efecto positivo o no de los arabinoxilanos en panificación. A pesar de que constituyen aproximadamente sólo el 2% de la harina retienen más de un cuarto del agua de la masa. Los pentosanos solubles en agua influyen en la viscoelasticidad de la masa y los insolubles aumentan la consistencia y dureza de la misma. Los arabinoxilanos insolubles disminuyen el tiempo de desarrollo y aumentan la resistencia a la extensión lo que apoyaría la hipótesis de que interfieren con la formación de la masa. En el amasado, los residuos de ácido ferúlico se unen a las proteínas del gluten, generando entrecruzamientos y aumentando la elasticidad de la masa. En la fermentación, los pentosanos colaborarían disminuyendo la velocidad de difusión de CO₂. Además, aumentarían la estabilidad de los alvéolos gaseosos debido a que incrementan la viscosidad de la fase acuosa estabilizando de este modo a los alvéolos de gas (Hoseney y Rogers, 1990). Durante el horneado, los arabinoxilanos

solubles en agua estabilizarían los alvéolos por lo que se obtendrían mayores volúmenes de pan mientras que los insolubles disminuirían la calidad del mismo. Algunos autores postulan que durante el envejecimiento del pan los pentosanos tendrían un efecto positivo ya que debido a un efecto estérico interferirían con la asociación intermolecular de la amilosa y la amilopectina (Kim y Appolonia, 1977).

- **Cenizas.** Es la materia mineral que queda después que las materias orgánicas en la harina han sido quemadas; estos minerales son fosfatos de potasio, magnesio, calcio y rastros de hierro y aluminio, procedentes de la parte externa del grano, que se incorporan a la harina según su tasa de extracción (Quaglia, 1991). Altos contenidos de cenizas pueden impartir un color oscuro al producto terminado por lo que se debe tener en cuenta al elegir la harina (Wheat Marketing Center, 2008).

1.6.5.2 Agua. Es el segundo componente mayoritario de la masa y es el que hace posible el amasado de la harina. El agua hidrata la harina facilitando la formación del gluten, con ello y con el trabajo mecánico del amasado se le confieren a la masa sus características plásticas: la cohesión, la elasticidad, la plasticidad y la tenacidad o nervio (Calvel, 1983). La presencia de agua en la masa también es necesaria para el desarrollo de las levaduras que han de llevar a cabo la fermentación del pan.

El tipo de agua a utilizar debe ser de dureza media, debido a que las sales minerales del agua darán fortaleza al gluten y servirán posteriormente como alimento para las levaduras. Cabe señalar que utilizar agua dura, genera masas más compactas retrasando la fermentación en la primera etapa (Scade, 1985) Cuando se amasa harina con la adecuada cantidad de agua, las proteínas

gliadinas y gluteninas al mezclarse forman el gluten unidos por un enlace covalente que finalmente será responsable del volumen de la masa.

La función principal del agua es ser el medio hidratante de las proteínas, el cual permite que la gliadina y glutenina se saturen hasta el punto en que se vuelvan elásticas y formen el gluten (Kent, 1987). Otra función del agua es hidratar los gránulos del almidón presentes, de tal forma que se gelatinicen durante el horneado (Pylar, 1988). Por otro lado, el agua es el medio en el cual se disuelven los ingredientes menores tales como sal, azúcar, etc.

1.6.5.3 Levadura. Se llama levadura al organismo vivo que produce enzimas, los cuales provocan cambios bioquímicos importantes en productos orgánicos naturales. Son vegetales microscópicos que pertenecen a la familia *Saccharomyces* siendo exclusivo para panificación *Saccharomyces cerevisiae*, haciendo posible la fermentación alcohólica cuando se le somete a ciertas condiciones especiales. La levadura para actuar necesita humedad, azúcares simples (levulosa y dextrosa), materiales nitrogenadas que lo toman de la proteína de la harina, minerales y temperatura adecuada, pero su actividad depende de su contenido de enzimas, coenzimas y activadores (Bennion, 1970).

El cambio físico más notorio durante la fermentación es el incremento del volumen de la masa, el cual se expande de cuatro a cinco veces el volumen inicial de la masa, existen otros cambios producidos durante la fermentación tales como, disminución de las sustancias fermentables, acumulación de productos de desperdicios como dióxido de carbono, alcoholes, ácidos y esterres, además existe una modificación del pH, ablandamiento del gluten, etc., los cuales dan lugar a las características finales del producto (Pylar, 1988).

La levadura se encarga de la producción de gas carbónico en cantidad suficiente y en el momento oportuno para la fermentación de la masa, dando como resultado

una estructura ligera y esponjosa, que después de horneado se convierte en un producto suave y digerible. Del mismo modo, produce fermentaciones no solo alcohólicas sino lácticas, otorgándole al producto final el sabor característico. Por último, facilita los cambios esenciales en la estructura del gluten, conocidos como la maduración de la masa (Cipriani, 2012).

1.6.5.4 Sal. Su objetivo principal es dar sabor al pan (Calvel, 1994). Además es importante porque hace la masa más tenaz, actúa como regulador de la fermentación, favorece la coloración de la corteza durante la cocción y aumenta la capacidad de retención de agua en el pan (Calvel, 1983).

El efecto sobre la reología se debe a la modificación de la red de gluten, retrasando su formación y por tanto, incrementando el tiempo necesario de amasado. Su efecto sobre el color de la miga, se debe a sus propiedades antioxidantes, ya que los pigmentos responsables del color cremoso de la harina pierden esta coloración al oxidarse (Casp, 2014).

La influencia de la sal en la fermentación de la masa, se atribuye a su acción reguladora de la fermentación alcohólica, el control sobre la actividad enzimática y la acción de la levadura, ya que un exceso de sal retarda la fermentación y poca la acelera. Por lo tanto, el porcentaje de sal a usar depende de las características de la harina, la fórmula a elaborar (sal o dulce), el tiempo de fermentación, el sabor deseado del producto terminado y el contenido de agua mineral; sin embargo, se recomienda usar entre el 1,5 a 2% para masas de sal y entre 0,5 a 1% para masas dulces (Cipriani, 2012).

1.6.5.5 Azúcar. El azúcar tiene tres funciones básicas impartir sabor y color y ser el principal sustrato regulador de la levadura. Los azúcares más utilizados son: La sacarosa, los edulcorantes invertidos y el jarabe o soripa de maíz (glucosa, fructosa), estos carbohidratos imparten sabor al pan directa e indirectamente.

Los azúcares son también responsables por el desarrollo del color típico vía reacciones de Maillard o de encafecimiento no enzimático, las formulaciones de pan de masa generalmente contienen del 4-5% de azúcar (Serna, 1996).

La influencia del azúcar sobre el volumen del producto final es decisiva, puesto que juega un papel triple, facilita la incorporación de aire e incrementa la viscosidad durante el mezclado y retrasa la temperatura de gelatinización de los almidones, facilitando su expansión. Sin embargo, se debe tener en cuenta, que la adición de azúcar retrasa la formación de la red de gluten, al competir con las proteínas por el agua libre, obligando al incremento de los tiempos de amasado (Casp, 2014). Para el pan de sal el valor mínimo es de 0 y máximo 14% de azúcar contenido en g/100 g de harina (NTC 1363).

1.6.5.6 Materias Grasas. Se añade grasa a razón de 1%, aproximadamente, del peso de la harina. La grasa mejora el volumen de la pieza, reduce la dureza de la corteza y provoca una textura mucho más tierna y con características mejoradas (Scade, 1985). La adición de grasa genera un efecto de lubricación el cual ayuda al gluten a tener mayor extensibilidad en menor tiempo, además incrementa la habilidad de retención de gases durante la fermentación.

1.6.6 Sistemas de elaboración del pan. Existen tres sistemas generales de elaboración de pan que vienen determinados principalmente por el tipo de levadura utilizado (Tejero, 1992-1995); (Callejo, 2002), son los siguientes:

1.6.6.1 Directo. Es el menos frecuente y se caracteriza por utilizar exclusivamente levadura comercial. Requiere un periodo de reposo de la masa de unos 45 minutos antes de la división de la misma. No es útil en procesos mecanizados con división automática volumétrica.

1.6.6.2 Mixto. Es el sistema más frecuente en la elaboración de pan común. Utiliza simultáneamente masa madre (levadura natural) y levadura comercial. Requiere un reposo previo a la división de la masa de sólo 10–20 minutos. Es el más recomendable cuando la división de la masa se hace por medio de divisora volumétrica.

1.6.6.3 Esponja o «poolish». Es el sistema universalmente empleado en la elaboración de pan francés y sobre todo en la de pan de molde. Consiste en elaborar una masa líquida (esponja) con el 30 – 40% del total de la harina, la totalidad de la levadura (comercial) y tantos litros de agua como kilos de harina. Se deja reposar unas horas, se incorpora el resto de la harina y del agua y a partir de ahí se procede como en el método directo.

1.6.7 Proceso de elaboración. Con las particularidades propias de cada sistema de elaboración y de cada tipo de pan, se siguen las siguientes etapas:

1.6.7.1 Amasado. El amasado es la primera fase del proceso y tiene tres funciones principales, mezclar e hidratar los ingredientes de la masa, desarrollar la masa e incorporar aire a la misma (Brennan, 2006). Aunque el objetivo principal es el desarrollo de la red de gluten, puede llegar a ser negativo tanto como un escaso amasado como con el exceso, ya que puede producir relajamiento de la masa (Casp, 2014).

En la primera fase del amasado, la cual conviene realizar a baja velocidad, las partículas de harina se hidratan al absorber agua, los ingredientes solubles, como el azúcar y la sal, se disuelven en la fase acuosa y los insolubles, como la grasa y las proteínas insolubles, quedan dispersos en la masa. Durante el amasado también se produce una incorporación del aire en la masa, que queda atrapado en forma de pequeñas burbujas, las cuales actúan como nucleantes, de forma que los gases formados durante la fermentación y el horneado se distribuirán entre las

burbujas formadas en el amasado. Cabe destacar que en la fermentación no se crean nuevas burbujas; por tanto, si en el amasado el aire se dispersa de forma uniforme y fina, el alveolado final será más fino y regular. En general, la incorporación del aire se produce en las primeras fases del amasado, pero a medida que avanza éste, se modifica la distribución y el tamaño de las burbujas (Casp, 2014).

1.6.7.2 Pesaje, división y boleado. Una vez amasada, la masa suele dividirse en piezas del peso adecuado y bolearse (Casp, 2014). El pesaje y la división se realizan con el fin de asegurar un rendimiento uniforme y porciones del mismo peso (Cipriani, 2012).

1.6.7.3 Reposo. Las piezas boleadas suelen sufrir un pequeño período de reposo antes del moldeado definitivo (Casp, 2014). Este tiempo de reposo es necesario ya que las operaciones de división y boleado conllevan al abuso físico de la masa desgasificándola y haciéndola no manejable (A.A.P.P.A., 2004). La masa se fermenta entre el amasado y el boleado, o entre el boleado y el formado final, y por tanto, se modifica el alveolado, lo cual influye directamente en la miga final del producto. Esta fermentación dependerá de la temperatura a la que se encuentre la masa y su objetivo principal es facilitar el manejo de la misma, al modificarse su reología y reducirse su pegajosidad, puesto que la masa se relaja tras las tensiones que ha sufrido en las operaciones anteriores, facilitando el formado posterior. La duración del reposo depende de la formulación empleada y de las operaciones anteriores, así como de las condiciones del mismo. La temperatura ideal para estos reposos se encuentra entre 27-29°C y la humedad debe estar en torno al 75%; por lo general, altas temperaturas y altas humedades, favorecen la pegajosidad de las masas, mientras que humedades demasiado bajas ayudan a que se forme una superficie más seca en las masas, lo que puede dificultar operaciones posteriores (Casp, 2014).

1.6.7.4 Formado. Tiene como objeto darle forma a la masa según el tipo de presentación del pan, esta operación depende de la experiencia y práctica del panadero (Cipriani, 2012). Tras el reposo, la masa pasa al proceso de formación para obtener su forma final, en éste las bolas se laminan, no demasiado fino, y luego se realiza el enrollado de la lámina, una vez generado el cilindro, se dispondrá en moldes o latas según el producto desarrollado. En el proceso de formado, se produce una desgasificación de la masa y redistribuyen de los alveolos, cuya intensidad dependerá de la presión con la que se realice el laminado e influirá en el alveolado final. Para evitar problemas de pegajosidad durante el formado de las masas, algunas empresas recurren al enharinado o a la aplicación de corrientes de aire sobre la superficie del producto, pero estas técnicas deben ser controladas, porque pueden afectar la calidad del producto final (Casp, 2014).

1.6.7.5 Fermentación. Consiste básicamente en una fermentación alcohólica llevada a cabo por levaduras que transforman los azúcares fermentables en etanol, CO₂ y algunos productos secundarios. En el caso de utilizar levadura de masa se producen en menor medida otras fermentaciones llevadas a cabo por bacterias. Los de la fermentación son la formación de CO₂, para que al ser retenido por la masa esta se esponje, y mejorar el sabor del pan como consecuencia de las transformaciones que sufren los componentes de la harina.

En un sentido amplio la fermentación se produce durante todo el tiempo que transcurre desde que se han mezclado todos los ingredientes (amasado) hasta que la masa ya dentro del horno alcanza unos 50°C en su interior.

Uno de los parámetros más importantes a controlar en el proceso de fermentación, es la temperatura. En general, a mayor temperatura de fermentación mayor acción de las levaduras y por tanto, mayor generación de gas y subida de las piezas. La temperatura de fermentación del pan suele estar alrededor de los 30°C en un

tiempo entre 90-120 min. La producción de gas igualmente dependerá del tipo y cantidad de levadura, de la cantidad de azúcares fermentables y de la temperatura fundamentalmente; a su vez, la retención del gas dependerá de la calidad de la red proteica. Por ello, no sólo es importante que esta red sea capaz de soportar el empuje de la masa reteniendo el gas generado, sino que ante un exceso de fermentación la masa no colapse y aunque se escape cierta cantidad de gas, la masa no pierda su volumen (Casp, 2014).

1.6.7.6 Corte. Operación intermedia que se hace después de la fermentación, justo en el momento en que el pan va a ser introducido en el horno. Consiste en practicar pequeñas incisiones en la superficie de las piezas. Su objetivo es permitir el desarrollo del pan durante la cocción.

1.6.7.7 Horneado. Durante el horneado se produce una serie de fenómenos que contribuyen al incremento del volumen del pan, a su sabor y aroma finales, a su color y a la creación de una textura diferenciada entre las zonas externas e internas de las piezas, generada por la desnaturalización proteica y la gelatinización parcial del almidón. En el horneado también se inactivan las levaduras y enzimas presentes en la masa. En una primera fase la temperatura asciende gradualmente desde la temperatura de fermentación hasta la de ebullición del agua, en esta fase las levaduras todavía se encuentran activas y por tanto, continúa la fermentación e incluso se acelera al comienzo del horneado, siempre que no se hayan agotado los azúcares fermentables. Además, se produciría la expansión de los gases presentes en la masa por efecto de la temperatura, lo que también favorece el crecimiento del volumen. Por ello, inicialmente se observa un incremento del volumen de las piezas en el horneado. Del mismo modo, el alcohol generado por las levaduras, se evaporará durante el proceso de cocción (Casp, 2014).

Uno de los parámetros más importantes a controlar durante el horneado es la temperatura en el interior del horno; en general, las temperaturas de horneado suelen estar entre 190 y 235°C y la duración de la cocción entre 20 y 40 minutos (Casp, 2014).

Tras el horneado, es importante enfriar a temperatura ambiente las piezas antes del envasado, para que se produzcan los fenómenos de retrogradación del almidón y se termine de formar la miga, y para evitar condensaciones. El enfriamiento también mejora la capacidad de los panes para ser cortados, en el caso de que sea necesario (Casp, 2014).

1.6.8 Características del pan. Las características del pan dependen de la formación de la red de gluten en la masa, no sólo para atrapar el gas procedente de la fermentación sino también porque contribuye directamente a la formación de una estructura alveolar en la miga, que tras el horneado, confiere una textura y palatabilidad diferente a la de otros productos horneados (Cauvin y Young, 1998).

Entre las características externas que frecuentemente se evalúan están las dimensiones, volumen, la apariencia, el color y la formación de la corteza. Las dimensiones críticas para la mayoría de los panes son la longitud y la altura, estas se pueden medir a través de reglas o cintas graduadas. La apariencia externa del producto, el color y la formación de la corteza se estiman por el contraste entre las áreas oscuras y las más claras que se forman después del horneado y comúnmente se valoran mediante técnicas descriptivas (Cauvin y Young, 1998).

El volumen del pan no depende solamente de la calidad de la harina sino de la manipulación del panadero. Todas las harinas fuertes necesitan un periodo de fermentación mucho más largo que las harinas flojas, para producir pan bueno y voluminoso y es el grado de fermentación que resiste una harina lo que decide la calidad de ésta. Es estabilidad más que fuerza lo que una harina necesita puesto

que debe formarse una masa suficientemente estable para conservar su forma después de moldeada (Bennion, 1970).

Por otra parte, el interés principal de las características internas del pan se limita normalmente al tamaño, número y distribución de los alveolos en la miga. La estructura de la miga en la mayoría de los panes horneados deducirá que el factor común de todas las variedades es la formación de alveolos de diferente forma, tamaño y distribución; cada alveolo está rodeado por una red de hebras conectadas entre sí, gluten coagulado en la que los gránulos de almidón y las partículas de salvado están firmemente incrustados (Cauvin y Young, 1998).

Otros factores que intervienen en la calidad sensorial del pan son el sabor y aroma. El desarrollo de estos atributos en los productos fermentados proviene de diferentes fuentes, entre ellas se puede citar la contribución de los ingredientes y la de los métodos de panificación que se utilicen. Muchos de los ingredientes que se usan en la fabricación de productos fermentados, contribuyen significativamente al sabor y aroma de los mismos, además de los compuestos volátiles formados durante la fermentación (Cauvin y Young, 1998).

1.6.9 Valor nutricional del pan. Conocer el aporte nutricional del pan, no sólo en valor absoluto o por ración, sino como porcentaje de la ingesta recomendada puede darnos una idea de lo que aporta el pan a la dieta de un individuo o colectivo y cómo su consumo puede colaborar a cumplir los objetivos nutricionales (Ortega, 2010).

1.6.9.1 Energía. El pan proporciona entre 244 y 285 kcal/100 g. Los panes de miga dura son más energéticos que los de miga blanda debido al diferente contenido en agua, en torno al 29 y 30% (García y Guerra, 2010). El pan es un alimento con alta densidad en nutrientes (aporte por 1000 kcal).

Escobar, (1994), comparó el aporte energético de 80 g de pan preparados por fórmula convencional donde observó que dos panes de 40 g que es el tamaño aceptable, proporcionan 253 Kcal, frente al aporte de una arepa de 80 g con una pequeña cantidad de mantequilla de 15 g que proporciona 250 Kcal o con una porción de arroz de tamaño equivalente que proporciona 360 Kcal.

1.6.9.2 Hidratos de carbono. El componente principal del pan es un hidrato de carbono complejo, el almidón, y debido a la proporción de éste, el pan se considera una fuente importante de energía (Mataix y Mariné, 2002).

1.6.9.3 Fibra. La importancia del pan como fuente de fibra se debe a la cantidad de su consumo (ya que otros alimentos con un contenido similar o superior de fibra se suelen consumir en cantidades muy bajas) y al elevado contenido en carbohidratos no digeribles de algunos tipos de pan (integral, de salvado, de centeno, de diversos cereales, etc.). El pan de mayor consumo, que es el pan blanco elaborado con harina de bajo grado de extracción, tiene un contenido en fibra dietética no muy elevado (pero importante en el contexto de la ingesta diaria), en torno a unos 3,5 g de fibra/100 g. Sin embargo, el pan integral contiene de 2 a 5 veces más fibra que el pan normal. Por tanto, su incorporación a la dieta representa aportes de fibra muy importantes, capaces de satisfacer gran parte de los objetivos nutricionales (Benedito, 1999).

1.6.9.4 Proteínas. El contenido en proteínas es del 7-10%. El mayor o menor contenido dependerá del tipo de harina empleada. En procesos automáticos (barras) será menor que en panes grandes (hogazas), panes elaborados a partir de masas congeladas y panes precocidos, que deberán elaborarse con harinas de mayor fuerza (García *et al.*, 2010). La proteína del pan se considera de baja calidad (bajo valor biológico) debido a los bajos niveles presentes del aminoácido esencial, lisina. Sin embargo, su consumo junto con otros alimentos, especialmente carnes, pescados, huevos, mejora la calidad de la proteína total

(Mataix *et al.*, 2002). El consumo con otros alimentos de origen vegetal, como las legumbres, también permite conseguir una buena complementación de los aminoácidos (Ortega, 2010).

1.6.9.5 Grasa. El pan es un alimento pobre en grasa (en torno al 1%), excepto los panes de molde que presentan valores superiores (5%). La grasa deriva de la harina de trigo y por tanto es rica en ácidos grasos insaturados (5%, mayoritariamente ácidos oleico y linoleico), aunque en los panes de molde la proporción puede ser diferente al ser una grasa adicionada (García y Guerra, 2010).

1.6.9.6 Vitaminas. Todos los cereales, a excepción del maíz, carecen de vitamina A. También carecen de ácido ascórbico y contienen sólo pequeñas cantidades de vitamina E, B6 y ácido fólico (Grande, 1988). El modelo de distribución de las distintas vitaminas en el grano de trigo varía considerablemente, por tanto, se observa un llamativo contraste en el contenido en distintas vitaminas en función del grado de molienda (Hegedüsl *et al.*, 1985). Además, es necesario tener también en cuenta la biodisponibilidad de estos nutrientes (Burk y Solomons, 1985).

En el pan se destaca la presencia de algunas vitaminas del complejo B, especialmente B1, B6 y niacina, así como folatos (Mataix *et al.*, 2002). Con el consumo de 100 g de pan blanco se cubre más del 5% de las ingestas diarias recomendadas para la vitamina B1, niacina, folatos, pantoténico y con 100 g de pan integral se cubre, además del 5% de las ingestas recomendadas para las vitaminas mencionadas, también para las vitaminas B2 y B6 (Ortega *et al.*, 2009); (Ortega, 2010).

1.6.9.7 Minerales. Al igual que en el caso de las vitaminas, la molienda también reduce de forma significativa el contenido de minerales. Además, la presencia de

ácido fólico en el endospermo puede interferir parcialmente la absorción intestinal de los mismos (Mataix *et al.*, 2002). A pesar de ello, el pan es una fuente importante de minerales, destacando especialmente su contenido en selenio, cuyo papel en la protección antioxidante del organismo puede ser de gran relevancia. También es reseñable su aporte de otros minerales, puesto que 100 g de pan blanco/integral/ permiten cubrir más del 5% de las ingestas diarias recomendadas para el calcio, fósforo, hierro, magnesio, selenio y zinc (este último sólo cuando se consume pan integral) (Ortega *et al.*, 2009); (Ortega, 2010).

En general, el valor nutricional es común para cualquier tipo de pan, variando el contenido en fibra en panes con fibra, su contenido es mucho mayor, igual que el contenido en vitaminas, minerales y grasas.

En la tabla 11 se presenta la composición nutricional de pan según la tabla de composición de alimentos colombianos, ICBF 2005.

Tabla 11. Valor nutricional de panes (100 g)

Nutriente	PAN BLANDITO	PAN BLANCO	PAN DE SAL	PAN INTEGRAL
Proteínas (g/100)	8,24	6,84	11,1	7,4
Grasa (g/100)	6,11	3,40	6,4	2,0
Fibra Cruda (g/100)	----	----	----	-----
Carbohidratos (g/100)	52,70	68,86	57,5	53,4
Calorías (Kcal/100)	----	333	332	261
Hierro(mg/100)	2,00	3,00	4,00	-----

Fuente: Tabla de composición de alimentos Colombianos, ICBF 2005

1.7 HARINAS COMPUESTAS UTILIZADAS EN LA FORMULACIÓN DE PAN

El término de harinas compuestas fue creado en 1964 por la (FAO) cuando se reconoció la necesidad de buscar una solución al problema alimentario, enfrentado por los países que no producen trigo. Las harinas compuestas se pueden considerar como mezclas de harina de trigo y de harina procedentes de otros

cereales para la elaboración de productos horneados, tanto fermentados como no fermentados y de pastas (Dendy, *et al.*, 2004). Las harinas compuestas básicamente tienen dos funciones diferentes: Por razones económicas y / o políticas se puede reducir el uso del trigo por sustitutos de forma parcial o total, y también se pueden utilizar harinas compuestas para cambiar las características nutritivas del producto, a través del enriquecimiento con proteínas, vitaminas o minerales (Dendy, *et al.*, 2004).

El problema que los cereales presentan como fuentes proteicas, es que son deficientes en aminoácidos esenciales como la lisina y el triptófano (Oropeza y Ortiz, 1989); (AID-USA, 2000); (Messina, 1999). Para mejorar este perfil (principalmente en lisina) se han desarrollado nuevos alimentos con base a las mezclas de cereales y legumbres, ya que las leguminosas (soja, porotos, alubias, arvejas, etc.), pueden satisfacer los requerimientos de complementación aminoacídica (Cheftel *et al.*, 1989), y además aportar minerales como P, Ca, K, Na, Mg, Fe y Cu. En este sentido, el concepto de complementación aminoacídica utilizando fuentes proteicas diversas, ha sido ampliamente difundido y así, fueron propuestas numerosas formulaciones con base a mezclas de cereales y/o tubérculos con oleaginosas y/o legumbres (Gómez, 1985); (Young, 1991). De igual manera, son numerosos los estudios a nivel mundial, en los que se han sustituido parcialmente harina de trigo por otra materia prima.

La inclusión de harinas compuestas con el objetivo de sustituir parcialmente la harina de trigo para reducir las importaciones de trigo en los países no productores comenzó en la década de los 60. Muchas investigaciones han sido desarrolladas con el propósito de sustituir la harina de trigo por otras harinas.

Reyes *et al.*, (2004), desarrollaron un producto de panificación apto para el adulto mayor a base de harina de trigo y harina de arroz, evaluando la calidad química, nutritiva y sensorial de pan con sustituciones parciales de 15%, 20%, 30%, 40%,

50% y 60% de harina de trigo por harina de arroz, encontrando diferencias en el proceso de elaboración, textura, volumen, altura, peso y volumen específico con respecto al pan control (100% harina de trigo), se presentaron efectos importantes en el manejo de las masas en particular con los de 40%, 50% y 60% de harina de arroz. Asimismo, a mayor nivel de arroz se encontró una textura harinosa. La calidad de la proteína del pan aumentó con el nivel de sustitución, sin embargo, la diferencia en calidad proteínica entre el pan de trigo y el de 60% de arroz no alcanzó significancia estadística. A través de una prueba de preferencia se seleccionó el pan con 30% de harina de arroz como el más adecuado.

Agurto *et al*; (2010), sustituyeron en un 20%, 25% y 30% harina de arroz por harina de trigo en pan, evaluando la calidad química, nutritiva y sensorial, seleccionando a través de una prueba de preferencia el pan con 30% de harina de arroz como el más adecuado mediante análisis estadístico. Se encontraron diferencias con el pan tradicional (100% harina de trigo) en el proceso de elaboración y en la textura. Asimismo, a mayor nivel de arroz se encontró una textura harinosa. Cada porción pesó 70 g que aportó cantidades adecuadas de calorías, proteínas y sodio, aunque un poco menos en fibra que el pan de 100% fibra.

Otros autores han sustituido la harina de trigo por harina obtenida de raíces y tubérculos (yuca, papa y apio), como:

Torres y Pacheco, (2007), formularon y elaboraron panes tipo molde con harinas de trigo, almidón de yuca y queso blanco llanero en proporciones variables 50%; 22% y 25% respectivamente; a una de las formulaciones se añadió albúmina de huevo. Los panes obtenidos presentaron altos valores de proteína 14,5%, grasa 10% y calcio. Se evaluaron las características texturales, observándose que el almidón de yuca aumentó la gomosidad, pero la albúmina de huevo la redujo, dando una textura más suave.

Cerón *et al.*, (2011), realizaron sustituciones de harina de trigo por harina de papa variedad parda pastusa *Solanum tuberosum* en concentraciones de 10, 20 y 30%, evaluando variables de: color, sabor y textura, no hallándose diferencias significativas con el pan control, siendo el de mayor aceptación el de 20% de sustitución.

Montoya, (2010), sustituyó harina de trigo por masa de papa en concentraciones de 20% ,30% y 40% determinando que con el 40% se obtuvo mejores resultados conforme a la evaluación organoléptica, ya que los tratamientos que contenían este porcentaje de masa de papa presentaron buenas características en volumen y aceptabilidad del pan por el consumidor.

León y Villacorta, (2010), sustituyeron parcialmente harina de trigo en un 40 % por una masa de consistencia pastosa de raíces de Arracacha (*Arracacia xanthorrhiza Bancroft*) en la elaboración de pan fortificado el cual aportó importantes contenidos de proteína, grasa, carbohidratos, minerales (especialmente K, Fe por la fortificación P, Ca y Mg) y vitaminas (especialmente vitaminas A y C), favoreciendo el balance de nutrientes mediante su ingesta.

Las harinas obtenidas de verduras como: zanahoria, espinaca y albahaca, también han sido utilizadas en la sustitución de harina de trigo:

Cobo *et al.*, (2013), sustituyeron parcialmente harina de trigo (*Triticum aestivum*) por zanahoria blanca (*Arracacia xanthorrhiza B.*) en la elaboración de pan, empleando porcentajes de sustitución entre el 10% y el 40 % de harina de trigo por harina de zanahoria blanca, el pan preparado con 10 % de harina de *A. xanthorrhiza* y 90 % de harina de trigo tuvo las propiedades físicas como volumen, peso, altura y volumen específico más similares a las de un pan preparado con 100 % de harina de trigo.

Estrada, (2013), sustituyó harina de trigo por espinaca y albahaca en proporciones de: espinaca-albahaca 15-15, espinaca-albahaca 25-15, espinaca-albahaca 35-15. En cuanto al contenido de fibra cruda y proteína no existió diferencia significativa en ninguna de las formulaciones. Con respecto al contenido de hierro se presentó un incremento en las muestras control, 15-15 espinaca-albahaca, 25-15 espinaca-albahaca, mientras que en la formulación 35-15 se presenta un descenso en el contenido de hierro.

De igual manera, se han utilizado la soya, amaranto, quinua, okara y yuya en la elaboración de pan sustituyendo la harina de trigo por alguno de estos ingredientes. Algunos de los autores que han realizado estas investigaciones se encuentran:

Matos y Muñoz, (2010) elaboraron pan con sustitución parcial 10, 20 y 30% de harina de trigo por harina pre cocida de ñuña (*Phaseoleus vulgaris L.*) y Tarwi (*Lupinus mutabilis*), los análisis realizados para el producto final fue contenido de proteína, ceniza, análisis microbiológico y sensorial. El pan con sustitución parcial de 30% tuvo el contenido de proteína más alto (27.10%). Los análisis microbiológicos de levaduras y coliformes mostraron un valor mínimo con respecto al máximo permitido.

Sanz *et al.*, (2011), desarrollaron panes especiales con harina integral de amaranto sustituyendo harina de trigo por harina integral de amaranto en proporciones de 0, 25 y 50%, la inclusión de amaranto en la formulación panaria permitió cambios positivos en las propiedades térmicas del almidón retrasando y decreciendo la retrogradación de la amilopectina. La harina integral de amaranto mejoró el valor nutritivo del producto, con una leve depreciación de la calidad cuando se sustituyó la harina en un 25%.

Hernández *et al.*, (2013), sustituyeron harina de trigo por harina de okara en proporciones de 10, 20, 25 y 50% en un pan típico regional , en la sustitución del 10% de harina de trigo por harina de okara se conservaron mejor las características sensoriales tanto en la corteza como en la miga. Realizándose análisis fisicoquímicos a la harina de okara de grasa, humedad, ceniza, fibra y proteína.

Mendoza y Palacios, (2013), sustituyeron harina de trigo por harina de quinua y soya en concentraciones de 70% harina de trigo, 10% harina de quinua, 20% harina de soya y 70% harina de trigo, 15% harina de quinua, 15% harina de soya, encontrando que el pan enriquecido con harina de quinua y soya contiene cantidades superiores de hierro, proteínas y aminoácidos, haciéndolo de alto valor nutritivo frente al pan francés.

Da Silva *et al.*, (2011) estudiaron el efecto de la utilización de harina mixta de trigo y linaza integral en proporciones de 100:0, 90:10 y 85:15, en las características fisicoquímicas y sensoriales del pan de sal. Establecieron que la utilización de 10 y 15% de harina de linaza alteró la composición química de los panes, destacando el aumento en el contenido de fibra alimenticia y de lípidos. Los panes obtenidos presentaron una coloración más oscura, reducción del volumen general y específico y mayor firmeza, indicando el debilitamiento de la estructura proteica de la masa, con pérdida de la capacidad de retención de los gases provenientes de la fermentación. Sensorialmente los panes obtuvieron buena aceptación para ambas formulaciones. El estudio permitió concluir que aunque la incorporación de hasta 15% de harina de linaza promueve la disminución de las cualidades tecnológicas de los panes de sal, es una opción prometedora para su comercialización, debido a la aceptación del producto y el contenido nutricional.

Burešová *et al.*, (2014) estudiaron las características reológicas de masas sin gluten de harina de amaranto, garbanzo, maíz, mijo, quinua y arroz, y su efecto

sobre la calidad del pan con levadura. Los resultados les permitieron establecer que la resistencia de la masa libre de gluten a la extensión, extensibilidad y otras características obtenidas por deformación uniaxial de la masa, podían dar la información necesaria acerca de la calidad de panificación de la masa. Por lo tanto, una masa que exhibe una resistencia más fuerte a la extensión, mayor extensibilidad y mayor estrés en el momento de la ruptura de la muestra, permitiría en general, la obtención de pan con mejor calidad.

1.8 EVALUACIÓN SENSORIAL

El Instituto de Alimentos de EEUU (IFT), define la evaluación sensorial como “la disciplina científica utilizada para evocar, medir, analizar e interpretar las reacciones a aquellas características de alimentos y otras sustancias, que son percibidas por los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y oído”. Las reacciones que ocurren en el consumo de alimentos están provocadas por el grado de satisfacción del consumidor con respecto a estímulos de los sentidos: olfato, sabor, tacto, vista y hasta la audición. La interpretación de los resultados en la evaluación sensorial es el puente entre el consumidor, sus necesidades o preferencias y el diseño de alimentos y/o control de calidad o vida útil (Carter *et al.*, 1990).

1.8.1 Evaluación sensorial orientada al consumidor. En cuanto a la evaluación sensorial en la población infantil, la preferencia por uno u otro alimento está determinada por un conjunto complejo de estímulos sensoriales y culturales y no sólo por la predilección por sabores simples, como dulce o salado; este hecho revela que la estructura de las opciones alimentarias depende de bases biológicas; pero también educacionales (Wardle *et al.*, 2001). En este sentido, el papel de los educadores de la familia es decisivo para ampliar la gama de alimentos bien aceptados por los niños, que formulan sus preferencias sensoriales a partir de los 2 a 3 años de edad (Nicklas *et al.*, 2001). La medición de la

aceptación del alimento por pre-escolares es complicada debido a la falta de instrumentos de análisis sensorial adaptado a este grupo de población, que presenta una estructura de percepción sensorial diferente de los adultos (Semiramis *et al.*, 2007). Una de las más empleadas en la actualidad para niños son las escalas hedónicas de caritas, con distintas expresiones faciales que van desde el enfado (desagrado total) hasta la felicidad (agrado completo) (Kroll, 1990).

La prueba de escala hedónica es una de las utilizadas con adultos (Liem y Mennella, 2003). A partir de ella se ha desarrollado una prueba de escala hedónica facial para uso con niños y adultos no alfabetizados. Sin embargo, la fiabilidad de la información obtenida es cuestionable, toda vez que la simpatía por la figura, y no la expresión de satisfacción por el consumo de alimento, sería el agente determinante de la elección del niño. De hecho, el uso de la escala hedónica facial de siete puntos, para evaluar la aceptación de alimentos agradables al paladar, en un estudio realizado con pre-escolares, demostró que las figuras "alegres" eran las preferidas, independientemente del grado de satisfacción experimentado por el degustador.

La escala gráfica, se utiliza cuando el panel está conformado por niños o por personas adultas con dificultades para leer o para concentrarse. Las escalas gráficas más empleadas son las hedónicas de caritas con varias expresiones faciales. Los resultados obtenidos a través de esta prueba cuando se aplica a una población adulta no es muy confiable ya que les resulta ser un tanto infantiles.

Entre las ventajas de esta prueba se encuentran:

- La escala es clara para los consumidores.
- Requiere de una mínima instrucción.
- Resultado de respuestas con más información.

- Las escalas hedónicas pueden ser por atributos.

Los casos en los que se aplica:

- Desarrollo de nuevos productos
- Medir el tiempo de vida útil de los productos
- Mejorar o igualar productos de la competencia
- Preferencia del consumidor

Por otra parte, la evaluación sensorial en niños requiere de un diseño introductorio específico a la metodología del test a utilizar y un entrenamiento más extenso. Los niños pequeños están sujetos a limitaciones en el área cognitiva. Conceptos como cantidad, tiempo, frecuencia, relación causa-efecto, etc., suelen no ser bien comprendidos. En el caso de los preescolares se han desarrollado muy pocas metodologías para la evaluación sensorial. Sin embargo, algunos investigadores han concluido que niños de 2 años de edad pueden discriminar entre diferentes estímulos de sabor.

A la edad de 4 a 10 años los niños comprenden perfectamente el concepto de me gusta o no me gusta, reflejando que los niños de 4 años o mayores pueden entender una escala hedónica de 7 puntos con expresiones faciales (prueba hedónica de caritas) y palabras que expresen gusto o disgusto (Kimmel *et. al.*, 1994).

Es recomendable que al realizar la evaluación sensorial los padres del niño no se encuentren tan cerca, ya que ellos podrían condicionar la respuesta del niño frente al alimento evaluado. Sin embargo, podría ocasionar que el niño e incluso los padres, se sientan incómodos. Se aconseja que antes de iniciar la evaluación sensorial se hagan diversos juegos con el niño utilizando figuras de alimentos, para que se sienta más cómodo y receptivo en el momento de realizar la evaluación. Para aumentar el interés y la atención de los niños, se recomienda

distribuir dulces, golosinas o galletas como premio por su participación (Menegazo, 2002).

1.8.2 Evaluación sensorial orientada al producto. Para poder utilizar esta herramienta se debe haber definido claramente el/los objetivos que se persiguen, el método a utilizar y el diseño del experimento que permita analizar las hipótesis propuestas (Stone y Sidel, 1985). Existen diferentes test desarrollados para poder abordar estos aspectos: pruebas de discriminación, de medición de umbrales, ensayos descriptivos y para control de calidad, test de aceptabilidad, entre otros. Estos últimos son ampliamente utilizados para percibir cambios en la formulación, ya sea por mantenimiento de un producto o mejoras, para captar la respuesta del consumidor ante nuevos productos y/o medición de mercados potenciales (Dewettinck *et al.*, 2008). Para identificar el grado de aceptación o rechazo de algún producto en particular, se puede realizar una Evaluación de Aceptabilidad de Atributos, para lo que es necesario definir una escala hedónica (Meilgaard *et al.*, 2007). En el caso de los productos de panificación se conjugan las 3 dimensiones de la estructura de un producto, molecular, microscópica y macroscópica y sus posibilidades de interacción. Componentes del tipo del almidón y las proteínas y sus interacciones juegan un rol muy importante en el nivel microscópico, junto con la forma y el tamaño (Crowley *et al.*, 2000). A su vez, además de la apariencia, la textura en la boca (mouthfeel), derivada de propiedades texturales de la miga y la corteza (dureza, consistencia, cohesividad, gomosidad) y la percepción sensorial de las mismas, determinan la aceptabilidad de producto en cuestión (Wandel y Bugge, 1997); (Chryssohoidis y Krystallis, 2005); poniendo en evidencia una amplísima gama de interrelaciones.

Crowley *et al.*, (2002); (Xiujin *et al.*, 2007) establecieron que este tipo de pruebas es altamente recomendado para panificados, ya sea para comparar panificados de distintas marcas, para discriminar la aceptabilidad por atributos en panificados con distintos aditivos (Crowley *et al.*, 2002) o para analizar tendencias demográficas respecto de las preferencias sobre determinadas características de los panes (Annet, *et al.*, 2008).

2. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO

2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el valor nutricional y la biodisponibilidad de hierro en pan elaborado con sustitución parcial de harina de trigo fortificada por Bienestarina Mas[®] con el fin de obtener un alimento mejorado nutricionalmente.

Para lograr el objetivo general, se formularon los siguientes objetivos específicos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar las características fisicoquímicas de las harinas de trigo fortificada y Bienestarina Mas[®].
- Desarrollar un pan de sal tipo rollo apto para el consumo infantil con sustitución parcial de harina de trigo fortificada por Bienestarina Mas[®].
- Determinar las características microbiológicas fisicoquímicas, y nutricionales del producto elaborado.
- Cuantificar la biodisponibilidad de hierro en el pan elaborado con o sin sustitución parcial de harina de trigo por Bienestarina Mas[®].
- Evaluar sensorialmente los diferentes panes de sal tipo rollo elaborados con y sin sustitución de Bienestarina Mas[®].

2.3 PLAN DE TRABAJO

Para cumplir con los objetivos formulados se propone un plan de trabajo que consta de las siguientes actividades:

2.3.1 Evaluar las características fisicoquímicas en las harinas de trigo fortificada y Bienestarina Mas®. Estos análisis se realizan principalmente para obtener conocimiento de las condiciones iniciales de las harinas y predecir el comportamiento de las variables analizadas en la elaboración de pan y su repercusión en el producto final. Las acciones realizadas fueron las siguientes:

- ❖ Preparación de las muestras
- ❖ Análisis de Granulometría
- ❖ Determinación de la capacidad de absorción de agua
- ❖ Evaluación de las características químicas (humedad, cenizas, grasas, proteínas, hierro, fibra y valor calórico)

2.3.2 Desarrollar un pan de sal tipo rollo con sustitución parcial de harina de trigo fortificada por Bienestarina Mas®. Con el fin de establecer las formulaciones apropiadas en la elaboración de pan sustituyendo harina de trigo fortificada por Bienestarina Más® se siguieron las siguientes acciones:

- Definición del producto a obtener
- Selección de las materias primas
- Codificación de las muestras
- Formulación en la elaboración de pan con o sin sustitución de Bienestarina Mas®.
- Proceso de elaboración del pan con o sin sustitución de Bienestarina Mas®

2.3.3 Determinar las características microbiológicas fisicoquímicas, nutricionales del pan tipo rollo elaborado con y sin sustitución de harina de trigo. Estos análisis se relacionan principalmente con el aseguramiento de la calidad, la determinación de su valor nutricional, cumplimiento de la normativa vigente con el fin de garantizar un producto terminado inocuo, seguro y mejorado nutricionalmente.

Para tal fin se realizaron las siguientes actividades:

- ❖ Análisis microbiológicos de mohos y levaduras, coliformes totales y fecales.
- ❖ Evaluación de las características físicas: Color en la corteza y miga, medición de peso, altura, volumen y estructura alveolar.
- ❖ Evaluación de las características químicas (humedad, cenizas, fibra, proteínas, carbohidratos, grasas, hierro) de las formulaciones establecidas.
- ❖ Determinación del valor nutricional (kilocalorías, proteínas, grasas, carbohidratos, fibra, hierro) en piezas panarias de 20 y 40 g, y su aporte nutricional según las recomendaciones diarias de ingesta para la población de 1-3 años 11 meses y de 4- 5 años. Asimismo se estableció el comparativo del valor nutricional de los panes obtenidos con la información para este tipo de alimentos según tabla de composición de alimentos colombianos, (ICBF 2005).
- ❖ Análisis estadísticos de los resultados fisicoquímicos

2.3.4 Cuantificar la biodisponibilidad de hierro en el pan elaborado con o sin sustitución parcial de harina de trigo por Bienestarina Mas®. Con el fin de determinar la cantidad de hierro dializable en el lumen intestinal. Para dar cumplimiento a este objetivo se realizaron las siguientes actividades:

- Preparación de las muestras.
- Determinación de la biodisponibilidad.
- Determinación del porcentaje de absorción y aporte potencial de hierro

2.3.5 Evaluar sensorial del pan de sal tipo rollo elaborado. Para evaluar los atributos de producto elaborado e identificar su grado de aceptación se realizaron pruebas sensoriales con el desarrollo de las siguientes actividades:

- Selección de jueces
- Selección de las pruebas a aplicar.
- Realización de la cata.
- Análisis estadístico.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES

3.1.1 Materias primas. Las materias primas empleadas en la elaboración de pan de sal tipo rollo fueron las siguientes:

- ❖ **Harina de trigo fortificada.** El tipo de harina de trigo fortificada utilizada presentó las siguientes especificaciones fisicoquímicas: humedad 13%, proteína 11,4%, grasa 2%, fibra 2%, cenizas 2%, pH de 6.9 a 7.0.
- ❖ **Bienestarina Mas®.** Alimento compuesto por mezcla vegetal cuyas materias primas son harinas y/o féculas extruidas de cereales (trigo, maíz), harina de soya desengrasada, leche entera en polvo y micro nutrientes de Vitaminas y Minerales (Anexo A).
- ❖ **Levadura.** El tipo de levadura usada fue de la especie *Saccharomyces cerevisiae*, bajo la denominación levadura fresca marca “Levapan”; la cual tiene las siguientes características: Humedad 66% - 68% y sólidos 32% - 34%
- ❖ **Grasa.** Margarina marca “Astra”, cuyos ingredientes son: Mezcla de aceites vegetales refinados y parcialmente hidrogenados, agua, sal, emulsificantes (Mono/diglicéridos), derivado lácteo, lecitina de soya, conservante (benzoato de sodio), aroma lácteo artificial, regulador de acidez (ácido cítrico), colorante natural (betacaroteno), antioxidante (TBHQ).
- ❖ **Sal.** Marca “Refisal”, constituida por cloruro de sodio, fluoruro de potasio (180-200 ppm como flúor), yoduro/yodato de potasio (50-100 ppm) como yodo y anticompactante ferrocianuro de sodio (E-535).

- ❖ **Azúcar.** Se empleó azúcar refinado granulado marca Manuelita con 99,8% de sacarosa.
- ❖ **Agua.** El tipo de agua empleada fue potable, suministrada por el acueducto municipal de Pamplona.
- ❖ **Huevo.** La categoría usada en este proyecto es A, la cual tiene un peso aproximado de 53 a 59,9 g.

3.1.2 Empaque. Se utilizaron bolsas de polietileno de baja densidad, transparentes con una banda hermética que abre y cierra con la capacidad de conservar los panes en excelente condiciones de aislamiento e higiene cuyas dimensiones fueron de 30,5 cm de largo por 19,8 cm de ancho.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Evaluación de las características fisicoquímicas en harinas (harina de trigo fortificada y Bienestarina Mas®)

3.2.1.1 Análisis físicos

- ❖ **Granulometría en harinas.** Para determinar la distribución granulométrica de las harinas de trigo fortificada y Bienestarina Mas® se usó el equipo Ro-Tap, disponible en el laboratorio de cereales del programa de Ingeniería de alimentos de la Universidad de Pamplona; se pesó 50 g de cada una de las harinas (balanza Nahita modelo 5041/2000), se colocó en el tamiz superior del Ro-tat (Juego de tamices marca Tyler de diferentes aperturas en orden descendente: 2 mm, 1 mm, 0,5 mm, 0,355 mm, 0,212 mm, 0,150 mm, 0,106 mm, 0,00063 mm y finalmente plato recolector). La operación de tamizado se

realizó en un ciclo y potencia 9, ciclo 9 durante 15 minutos; al final se pesó cada tamiz (balanza Nahita modelo 5041/2000) determinando en cada tamiz el % de rechazos y % de cernidos.

Los resultados obtenidos se analizaron por medio de dos gráficas para la harina de trigo fortificada y la Bienestarina Mas®, en la primera se representaron la relación de las masas de rechazo y cernido para cada tamiz y en la segunda los porcentajes acumulados de rechazo y cernido para cada tamiz.

- ❖ **Determinación de la capacidad de retención de agua.** Para determinar la capacidad de retención de agua se pesaron 25 g de cada una de las harinas (balanza Nahita modelo 5041/2000) y se llevaron a una cápsula de porcelana, donde poco a poco se le fue adicionando agua, cuantificando el volumen con una probeta de 25 mL, amasado manualmente hasta formar una masa homogénea. La cantidad de agua adicionada se registró como la capacidad de absorción de agua de las harinas (Anderson *et al.*, 1969).

3.2.1.2 Análisis químicos. Los análisis químicos se realizaron por triplicado en el laboratorio del Centro de Investigación en Tecnología de lo Alimentos : CICTA de la Universidad Industrial de Santander, utilizando los métodos oficiales. Se analizaron las concentraciones de humedad, fibra, hierro, cenizas, proteínas, grasa. El contenido de hidratos de carbono se estimó por diferencia y el valor calórico se obtuvo de la sumatoria de multiplicar el contenido de carbohidratos y proteínas por 4 y el contenido de grasa por 9. Utilizando la siguiente fórmula:

Calorías: (g de proteínas + g de carbohidratos) × 4 + (g de grasa × 9).

- ❖ **Humedad.** Se pesaron 2 g de cada una de las harinas en cápsulas de porcelana previamente pesadas y taradas, llevando a calentamiento a una

temperatura de 130°C por una hora en una mufla A.O.A.C 925.10 18th Edición.

- ❖ **Cenizas.** Se pesaron 5 g de harina en cápsula de porcelana previamente taradas, sometiéndolas a combustión a una temperatura de 550°C por dos horas en una mufla hasta que las cenizas quedaron grises claras, siguiendo la norma Internacional. A.O.A.C 923.03 18th Edición).

- ❖ **Grasas.** Se pesaron 5 g de cada una de las harinas, introduciéndolas en un cartucho, tarando el matraz, desecado en la estufa y enfriado en el desecador, posteriormente se introdujo el cartucho en el extractor, añadiendo éter etílico una vez conectado el matraz, procediendo a la extracción hasta que el éter quedó incoloro durante 4 horas a una velocidad de destilación de 4-5 gotas/s. Luego se secó el cartucho del extractor recuperando el éter. Se llevó el matraz con el extracto y el resto del disolvente a la estufa de desecación a 100°C durante media hora. Enfriando el matraz en el desecador, hasta que alcanzó la temperatura ambiente y finalmente se pesó (A.O.A.C 920.85 Ed 18th Edición).

- ❖ **Proteínas.** Se empleó el equipo Kjeldahl, Digestión K:-425, y Destilación K-355. A 0,5 g de muestra de cada harina junto con 10 g de sulfato potásico, 0,5 g de sulfato cúprico y 20ml de ácido sulfúrico concentrado (98%) en tubos de digestión previamente identificados. Una vez terminada la etapa, se retiraron los tubos del digestor, se esperó hasta que disminuyera la temperatura y luego se adicionó 20ml de agua destilada. Para la etapa de destilación, el equipo contuvo depósitos con: agua destilada, ácido bórico al 2% p/v e hidróxido de sodio al 30%; el tubo con la muestra se colocó en el lugar de destilación con 3 gotas de indicador rojo de metilo. Este NH_3 se retuvo en una solución de HCl 0,1 N y la cantidad de nitrógeno amónico fue valorada. El contenido de proteína se calculó multiplicando por factor 5,71,

estimando una proporción entre la proteína y el nitrógeno (A.O.A.C 920.87 18th edición).

- ❖ **Fibra.** En el equipo de fibra con sistema de calentamiento E&Q, se sometió la muestra seca y desengrasada a una primera digestión ácida y posteriormente a una segunda alcalina, tratamiento secuencial con ácido y base. Con la materia orgánica del residuo se obtuvo la fibra cruda. (A.O.A.C. 930.20 18th Edición).
- ❖ **Determinación de hierro.** Se utilizó el método oficial de la A.O.A.C 985.35 18th Edición para la determinación de hierro por medio de análisis espectrofotométrico.
- ❖ **Preparación de la muestra.** Las muestras de 3 g de cada una de las harinas fueron homogenizadas por trituración en cápsula de porcelana, posteriormente se pre calcinaron en la placa calefactora a una temperatura inicial de 100°C, luego se incrementó la T° a 250°C, hasta que las muestras quedaron carbonizadas, luego la cápsula con las muestras precalcinaadas se llevaron a la mufla y se sometieron por 8 horas a T° 500°C hasta obtener cenizas blancas, las cuales se dejaron enfriar. Las cenizas se disolvieron con 2 mL HNO₃ y agua destilada y luego se aforó a 50 mL.
- ❖ **Curva de calibración de estándares.** Se utilizó el Estándares de hierro solución concentrada de 1000 mg/L.
 - a) Estándar de 5 mg/L: Se tomaron 0,5 mL del estándar concentrado de 1000 mg/L + 5 mL de HCl concentrado y se aforó a 100 mL con agua desionizada.
 - b) Estándar de 2 mg/L: Se tomaron 0,2 mL del estándar concentrado de 1000 mg/L + 5 mL de HCl concentrado y se aforó a 100 mL con agua desionizada.

- c) Estándar de 1 mg/L: se tomó 0,1 mL del estándar concentrado de 1000 mg/L + 5 mL de HCl concentrado y aforar a 100 mL con agua desionizada.

Posterior a tener preparadas estas soluciones se construyó la curva estándar de 5 puntos más cero midiendo con una bureta 5, 15, 25, 35, y 45 ml de la solución estándar de hierro antes preparada, con el fin de obtener la curva estándar de lectura, la cual arrojó un coeficiente de correlación de $r^2 = 0.9953$.

- ❖ **Condiciones espectrofotométricas.** Tipo de llama aire/acetileno, Longitud de onda 248,3 nm, Ancho de slite: 0.2 nm, T° de ignición 800°C , T° de atomización 2300 °C .
- ❖ **Cuantificación del hierro en las muestras:** Se ingresó al Espectrofotómetro de absorción Atómica sistema 248 modelo FSAA Agilent que contenía la curva de calibración obtenida de concentración (C) en ug/mL, y se calculó el coeficiente de correlación lineal e intercepto e interpolar la muestra para cuantificar el resultado de la absorbancia vs concentración. Valor C (ug/mL). Se leyeron por triplicado los resultados obtenidos con cada una de las harinas y cada punto de los estándares y se promediaron las lecturas.
- ❖ **Carbohidratos:** Los carbohidratos totales se calcularon por substracción de la proteína, la grasa total, la humedad y la ceniza, de la masa total del alimento (Resolución 333 de 2011 del ministerio de la protección social).
- ❖ **Valor energético.** El valor energético se obtuvo mediante la sumatoria del valor energético de la proteína, hidratos de carbono y grasa de cada una de las muestras. Para ello, se utilizaron los siguientes factores de conversión de acuerdo los números de Atwater: Proteínas: 4 Kcal/g. • Hidratos de carbono: 4 Kcal/g. • Grasas: 9 Kcal/g.

3.2.2 Desarrollo de un pan de sal tipo rollo con sustitución parcial de harina de trigo fortificada por Bienestarina Mas®.

3.2.2.1 Definición del producto a obtener. El producto seleccionado fue pan de sal tipo rollo el cual es suministrado a los niños y niñas beneficiarios del programa hogares infantiles del ICBF, con una frecuencia de consumo de dos veces a la semana en el tiempo de comida desayuno. La selección de este producto surge de la necesidad de ofrecer una alternativa diferente para el suministro de la Bienestarina Mas® a este grupo poblacional.

3.2.2.2 Selección de las materias primas. La elección adecuada de las materias primas, es clave para el buen desarrollo del proceso y la calidad de los productos obtenidos. Los aspectos tomados en consideración fueron los siguientes:

- ❖ **Resultados de proyectos de investigación previos sobre materias primas e insumos utilizados en las panaderías del municipio de Pamplona.** Según (Hernández, 2008) la harina de trigo fortificada marca “La Nieve” es la más empleada en las panaderías de Pamplona para la elaboración de pan.
- ❖ **Reconocimiento y posicionamiento de la marca.** A partir de la identificación de las materias primas e insumos usados en las panaderías de Pamplona, se tuvo en cuenta el reconocimiento y posicionamiento de las mismas por encontrarse certificadas y manejar dentro de sus procesos de producción controles de calidad.

3.2.2.3 Codificación de las muestras. Con el fin de identificar las muestras según sustituciones empleadas, se utilizó la codificación que se presenta en la tabla 12.

Tabla 12. Codificación de las muestras de pan según la formulación empleada

CODIGO	DENOMINACIÓN
P000	Pan de sal tipo rollo
PB01	Pan de sal tipo rollo con sustitución parcial de harina de trigo por Bienestarina Mas® en una concentración 70:30
PB02	Pan de sal tipo rollo con sustitución parcial de harina de trigo por Bienestarina Mas® en una concentración 60:40
PB03	Pan de sal tipo rollo con sustitución parcial de harina de trigo por Bienestarina Mas® en una concentración 50:50

Fuente: Autora, 2013

3.2.2.4 Formulación en la elaboración de pan con o sin sustitución de Bienestarina Mas®. Con el fin de establecer la formulación inicial se partió de la realizada en una de las panaderías artesanales de la ciudad de Pamplona la cual se mencionó anteriormente, en donde tradicionalmente se elabora pan de sal tipo rollo. Estos datos obtenidos se llevaron a porcentaje para la estandarización de las materias primas e insumos necesarios en la elaboración de pan (Tabla 13). En esta investigación se tomó como base de cálculo 500 g de harina, siendo esta la única materia prima que se sustituyó en el proceso. Posteriormente, se establecieron las cantidades requeridas para la elaboración de pan con o sin sustitución de Bienestarina Mas® en proporciones de 30%, 40% y 50 %, partiendo de la hipótesis inicial que a mayor grado de sustitución se obtendría un alimento con mayor valor nutricional y mejor biodisponibilidad de hierro. De igual manera, otros autores descritos anteriormente sustituyeron en iguales proporciones la harina de trigo obteniendo un producto mejorado nutricionalmente y con buenas características organolépticas.

Tabla 13. Formulación estándar para la elaboración de pan con o sin sustitución de Bienestarina Mas®

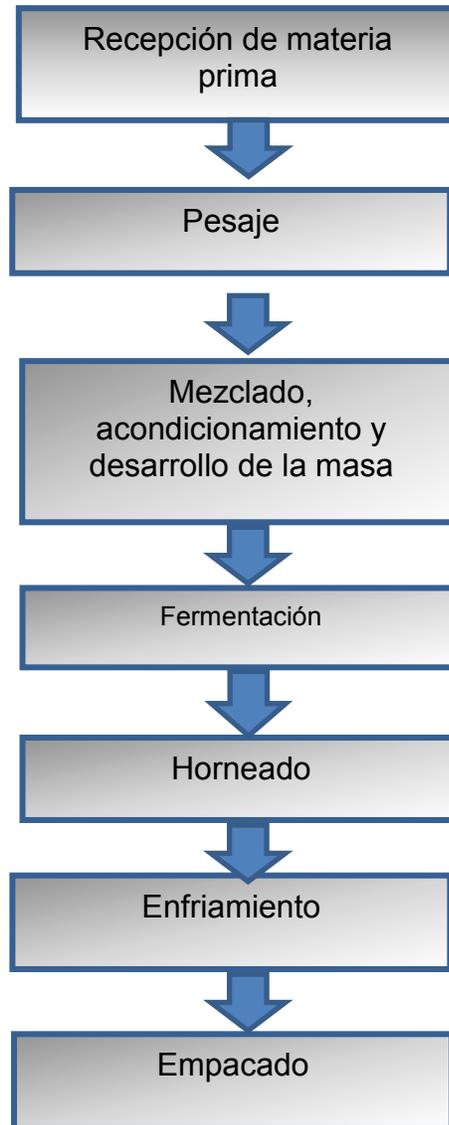
Materia prima/ Formulación	P000	PB01	PB02	PB03
	Testigo	Sustitución 30%	Sustitución 40%	Sustitución 50%
Harina de trigo fortificada (%)	100	70	60	50
Bienestarina Mas® (%)	0	30	40	50
Mantequilla (%)	12	12	12	12
Azúcar (%)	8	8	8	8
Huevos (%)	12	12	12	12
Agua(%)	60	60	60	60
Levadura (%)	4	4	4	4
Sal (%)	1,5	1,5	1,5	1,5

Fuente: Autora, 2013. Porcentajes con base en 100% de harina

3.2.2.5 Proceso de elaboración del pan con o sin sustitución de Bienestarina

Mas®: Para la elaboración del pan de sal tipo rollo con la sustitución de harina de trigo fortificada por Bienestarina Mas® se empleó el proceso realizado en la “Panadería Caritas”, ubicada en el municipio de Pamplona, calle 6 número 8-34, la cual utiliza el método directo, en el cual algunos de los ingredientes son mezclados en seco al inicio del proceso siguiendo posteriormente una serie de etapas (Figura 3).

Figura 3. Porcentajes con base en 100% de harina



Fuente: Autora, 2013.

A continuación se describen cada una de las etapas que se siguieron en el proceso de elaboración del pan

- ❖ **Recepción de la materia prima.** La recepción de cada una de las materias primas se llevó a cabo en la panadería, con el objetivo de disponer de las materias primas e insumos los cuales fueron: harina de trigo fortificada,

margarina, sal, azúcar, huevo, levadura, agua y Bienestarina Mas® necesarios para la elaboración del pan. Se realizó inspección visual del rotulado y etiquetado, verificando las fechas de fabricación, vencimiento y las condiciones del empaque. En el caso del huevo se tuvieron en cuenta los siguientes aspectos: Olor característico, sin manchas rojas o negras observadas al trasluz de una bombilla, garantizando que no estuviera descompuesto y para determinar su frescura se observó su flotabilidad sumergiéndolos en una solución de agua con sal común al 10%.

En el caso de la levadura se tuvo en cuenta los parámetros sugeridos por la empresa Levapan los cuales evidencian si la levadura está en sus condiciones óptimas o si presenta deterioro. Un color café oscuro significó que la levadura fue expuesta a corrientes de aire ocasionando quemaduras, la presencia de manchas azules, blancas, verdes o rojas (mohos) indicó que esta se encontraba vencida o que durante el almacenamiento no se contó con la humedad requerida. Al presentar una textura chicluda la levadura se desactiva y debilita parcialmente. Por otra parte, si presentaba un aroma fuerte y desagradable se descartaba.

Las materias primas e insumos se pesaron en una balanza electrónica (marca SILVER MAX referencia SF-400 con capacidad de 3000 g y con sensibilidad de 1 g), con el objetivo de obtener pesos exactos según formulación establecida (tabla 15).

- ❖ **Mezclado, acondicionamiento y desarrollo de la masa.** La mezcla de las materias primas e insumos se realizó de forma manual, sobre una mesa de acero inoxidable, inicialmente harinas y sal, posteriormente se hizo un círculo en el centro de estas adicionando azúcar, levadura, margarina y huevo, luego se procedió a mezclar todas las materias primas, agregando poco a poco agua hasta formar una masa homogénea. Se dejó en reposo

por un tiempo por haberse sometido a estrés, como consecuencia del trabajo mecánico ejercida sobre ésta.

Es de anotar que la levadura se disolvió en agua a temperatura de 35°C durante 10 minutos con el fin de activarla y hacer que esta actuara mucho mejor en el proceso de panificación (Reyes *et al.*, 2004). Posteriormente, la masa se llevó a la cilindadora en donde se fue laminando, con el objetivo de lograr el desarrollo del gluten; por acción de las gluteninas esta se estiraba y recuperaba su forma, obteniendo una elasticidad óptima. De igual manera, las gliadinas hicieron que la masa obtuviera una buena extensibilidad permitiendo que esta no se rompiera, formando una capa delgada, translúcida, lisa, elástica y fácil de manejar. Por otra parte, durante el amasado se fue incorporando el aire en el interior de esta estructura, desarrollándose los alveolos, que retienen el gas procedente de la fermentación. Luego, la masa obtenida se dividió en 32 piezas de aproximadamente 27 g, a las cuales se les dio forma de rollo manualmente. Estas piezas fueron colocadas sobre bandejas de acero inoxidable. El pesaje y la división se realizaron con el fin de asegurar un rendimiento uniforme y porciones del mismo peso (Cipriani, 2012).

Tejero, (1992-1995); (Callejo, 2002), establecen que en el método directo antes de la división de la masa se requiere un periodo de reposo de 45 minutos. La temperatura utilizada en esta etapa fue de 23°C.

- ❖ **Fermentación.** La fermentación inicia desde el mismo momento que es agregada la levadura a la masa. Las bandejas con pan fueron colocadas sobre el techo del horno de ladrillo con una temperatura de 28,6°C aproximadamente, la cual fue medida con un termómetro infrarrojo y con una humedad relativa de 39% tomada con un higrómetro. La masa se dejó en reposo para que la levadura actuara, produciendo la fermentación

alcohólica en la cual ésta actúa sobre los azúcares presentes para producir anhídrido carbónico (CO_2), alcohol, vapor de agua, además de productos aromáticos, como aldehídos y cetonas, responsables del sabor del pan, los cuales son encapsulados por la película de gluten desarrollado durante el amasado (Henaó y Aristizabal, 2009). De manera complementarias se dieron las fermentaciones (láctica, butírica y acética), provocando crecimiento o levante del pan. El objetivo de esta etapa fue la formación de gas carbónico, el cual al ser retenido da a la masa esponjosidad y mejora el sabor conforme pasa el tiempo de fermentación.

- ❖ **Horneado.** Previamente al horneado se barnizó la superficie del pan con una mezcla de agua y huevo en proporción 1:1, para dar brillo y color. Las piezas panarias fermentadas se introdujeron durante 20 minutos en un horno de piedra o ladrillo, a temperatura aproximada de 200°C . En esta etapa se dio la transformación de masa a pan debido a la evaporación del etanol y parte del agua contenida. De igual manera, se dieron las siguientes reacciones: coagulación de las proteínas (glutén), transformación del almidón en dextrinas y azúcares menores y por último el pardeamiento de la corteza.

- ❖ **Enfriamiento.** Luego de sacar el pan del horno se procedió a enfriarlo durante 40 minutos a temperatura ambiente (aproximadamente 20°C). El enfriamiento es esencial, porque al empacar el pan caliente se formará una película de agua sobre la superficie a causa de la evaporación del agua contenida en el alimento favoreciendo el crecimiento microbiano. Durante esta etapa los componentes del almidón pasan gradualmente de un estado amorfo a un estado cristalino, dándose la retrogradación del almidón, fenómeno considerado como el principal responsable del endurecimiento del pan (Gray y Bermiller, 2003).

- ❖ **Empaque.** Los panes se colocaron en bolsas plásticas marca ziploc, para dar visibilidad del producto, disminución de la pérdida de humedad y facilitar el traslado de muestras a los respectivos laboratorios, garantizando un almacenamiento en buenas condiciones higiénico sanitarias.

3.2.3 Determinación de las características microbiológicas fisicoquímicas, nutricionales y del pan tipo rollo elaborado con y sin sustitución de harina de trigo.

3.2.3.1 Microbiológico. Los análisis microbiológicos de coliformes totales, coliformes fecales, mohos y levaduras se realizaron a cada una de las formulaciones, siguiendo los métodos especificados en la tabla 14.

Tabla 14. Análisis microbiológicos aplicados a las diferentes formulaciones de pan

Análisis	Método	Unidades de medida
Coliformes totales	NTC 4458	NMP/g
Coliformes fecales	NTC 4458	NMP/g
Mohos y levaduras	NTC 4132	UFC/g

Fuente: Autora, 2014

- ❖ **Recuento de coliformes.** A partir de las diluciones preparadas se tomó 1 ml y se sembró, por triplicado en caldo fluorocult y se llevó a incubar a 37°C por espacio de 24 horas. Pasado este tiempo se procedió a hacer el recuento (NTC 4458, 1998).
- ❖ **Recuento de Mohos y Levaduras.** De las diluciones preparadas se tomó 1 ml de cada una y se sembró por duplicado en cajas de Petri estériles y se adicionaron 20 ml de agar PDA (Potato Dextroza Agar). Se mezcló el inóculo y agar con movimientos en forma de ocho hasta solidificar, se

procedió a incubar a temperatura de 25°C por 72 h, pasado este tiempo se realizó el conteo (NTC 4132, 1997).

3.2.3.2 Físicas

- ❖ **Determinación de Color.** El color de la corteza y miga de los panes, se determinó con el espectrofotocolorímetro, utilizando el espacio de color CIELab. Los valores de L^* corresponde a luminosidad del producto de rango de 0 para negro y 100 para blanco, los valores de a^* describen la rojez (+) / verde (-) y los valores b^* describen amarillez (+)/ coloración azulada (-). El color de la corteza y miga se realizó por triplicado en tres puntos aleatorios de cada una de las formulaciones elegidas al azar. Estos análisis se realizaron en el laboratorio de fisicoquímicos del grupo de investigación GINTAL de la Universidad de Pamplona.
- ❖ **Medición de peso y volumen.** Una vez enfriados los panes, se escogieron al azar 4 unidades de cada formulación, se midió la altura en el punto más alto del pan, la medida de largo y espesor se tomó con un calibrador o pie de rey (Mitutuyo).

Para calcular el volumen se asemejó la apariencia externa del pan a la forma de un cilindro, utilizando la siguiente ecuación:

$$V = \pi r^2 \cdot h$$

En donde:

V: volumen

r: radio

h: alto

- ❖ Para la determinación del peso de las piezas panarias, se tomaron 4 panes aleatoriamente de cada una de las formulaciones y fueron pesados en una balanza digital (SILVER MAX referencia SF-400). Los resultados obtenidos se promediaron.

- ❖ **Estructura alveolar.** Para la evaluación cualitativa de la estructura de la miga de los panes, se tomaron fotografías de las piezas de pan cortadas transversalmente, con una cámara fotográfica digital. Los parámetros evaluados fueron: esponjosidad, distribución de alveolos fragilidad de la miga, capacidad de recuperación instantánea de la miga y pérdida de volumen.

3.2.3.3 Químicas. Los análisis químicos de humedad, fibra, hierro, cenizas, proteínas y grasa se llevaron a cabo en el laboratorio de control de calidad de la Universidad de Pamplona, realizándolos por triplicado a los panes elaborados con y sin sustitución de Bienestarina Mas®. El contenido de hidratos de carbono se estimó por diferencia y el valor calórico se obtuvo de la sumatoria de multiplicar el contenido de carbohidratos y proteínas por 4 y el contenido de grasa por 9.

Para los análisis químicos de panes (proteínas, humedad, cenizas, hierro, grasas y fibra), se siguieron los mismos procedimientos establecidos en harinas.

3.2.3.4 Valor nutricional. Para la determinación del valor nutricional se partió de los resultados de los análisis químicos de las diferentes formulaciones de pan y se calculó el contenido energético mediante la utilización de la fórmula descrita anteriormente. Se realizaron los cálculos del aporte de nutrientes en las porciones de pan de 20 y 40 g partiendo del contenido de Kcal, proteínas, grasas y carbohidratos, hierro y fibra en 100 gramos de alimento utilizando la siguiente fórmula:

$$C \text{ nutriente (mg/100 g de alimento)} * \text{Tamaño de porción (20 y 40 g)}$$

$$C \text{ nutriente (mg/porción)} = \frac{\text{-----}}{100}$$

Posteriormente, se determinó el porcentaje de adecuación de acuerdo a los requerimientos de los grupos poblacionales de: 1 a 3 años 11 meses y de 3-4 años 11 meses. Los resultados obtenidos en los panes elaborados con y sin Bienestarina Mas® se compararon con el contenido nutricional del pan blando, pan de sal según información de la tabla de composición de alimentos colombianos 2005.

3.2.4 Determinación de la biodisponibilidad de hierro. En esta investigación se utiliza la dializabilidad como criterio de evaluadores de la biodisponibilidad mineral. Para evaluar el hierro disponible se utilizó la técnica *in vitro* mediante dializabilidad y se cuantificó por espectrofotometría de absorción atómica; en el CIAT (Centro Internacional de Agricultura tropical), ubicado en la ciudad de Cali. El procedimiento usado se manejó en dos etapas, utilizando el método descrito por (Miller, *et al.*, 1981).

3.2.4.1 Digestión *in vitro*. Se pesaron 5 g de las muestras en un vaso de 100 ml y se agregó 10 ml de agua 18 MΩ, ajustando el pH a 2,8 con HCl 6 N, tomando 2 ml de la muestra diluida y colocándolos en los orificios de los multiplatos, seguidamente se adicionó 10 ml de la solución de pepsina- HCl (4 g/100 ml en HCl, 0,1 N) colocándolas a incubar en baño maría con agitación, por un periodo de 2 horas a una temperatura de 37°C. Posteriormente, se retiraron los multiplatos del baño agitador, introduciendo un anillo en cada orificio del plato, el cual contenía la membrana de diálisis sujeta con una banda elástica. Posteriormente, se adicionaron 2 ml de buffer PIPES 0,15 M (pH: 6.3) sobre cada membrana, la adición del buffer PIPES hace que el pH de la muestra se incremente gradualmente de 2,8 a 6.0, nuevamente las muestras se llevaron a baño maría a temperatura de 37°C por un periodo de 30 minutos. Pasado este

tiempo, se retiraron los multiplatos del baño agitador y se destaparon cuidadosamente para evitar derramar el contenido. Los anillos con la membrana de diálisis se levantaron con precaución adicionándoles 0.5 ml de la solución de pancreatina + extracto de bilis (0,05 g de pancreatina y 0,3 g de extracto de bilis en 25 mL en NaHCO₃, 0,1 M) en la parte inferior. Nuevamente los multiplatos fueron tapados, sellados y llevados a incubación en el baño agitador por un periodo de 2 horas, a una temperatura de 37°C. Al finalizar el periodo de incubación, los anillos con las membranas fueron removidas de los multiplatos. Tanto el líquido sobre la membrana (dializado) como el líquido del multiplato (retenido) fueron colocados en tubos Falcón de 15 ml separados y debidamente marcados para posteriormente realizar la cuantificación de hierro.

- **Curva de calibración.** Se preparó un estándar de 10 mg/L a partir de una solución stock de 100 mg/L y la curva de calibración se estableció de la siguiente manera:

Tabla 15. Curva de calibración determinación de hierro

Curva de calibración (1ml)		
(Fe) (mg/L)	Fe (10 mg/L alícuota (uL)	HCl 0.01 M Alícuota (uL)
0	0	1000
0.5	50	950
1.5	150	850
2.5	250	750
3.5	350	650
4.5	450	550
5,5	550	450

Fuente: Autora, 2014

Una vez realizados los puntos de la curva, se adicionaron 500 uL del reactivo Reducing (ácido tricloroacético 20 g, hidroxilamina monohidratada 10 g, HCl

concentrado 32%, 20 ml y agua 18 M Ω 200 ml), en cada uno de los puntos de la curva, llevando a un volumen final de 1,5 ml.

El mismo procedimiento se siguió para las muestras de pan.

- **Cuantificación del hierro biodisponible.** Terminada la digestión *in vitro* se obtienen dos líquidos (dializado y retenido); el líquido dializado fue transferido cuidadosamente a tubos Eppendorf de 1.5 ml, debidamente marcados. Luego se tomó 1 ml de cada una de las muestras en tubos Eppendorf y se adicionó 0.5 ml del reactivo reduciendo a cada tubo, dejando las muestras por 12 horas en la oscuridad y a temperatura ambiente. Pasado este tiempo las muestras se centrifugaron a 6800 rpm por un periodo de 15 minutos.

El sobrenadante que se obtuvo se transfirió cuidadosamente a tubos Eppendorf de 1.5 ml, debidamente marcados.

3.2.4.2 Determinación de hierro. Para la lectura de hierro en las muestras, se tomaron 0.1 ml de cada muestra, patrones internos y estándares de la curva, y se colocaron en los platos de 96 pozos, adicionándoles a cada uno de los pozos 0.225 ml del reactivo color (11,11 ml de solución de Hepes + 88,88 ml de solución de ferrozina en 100 ml de H₂O 18 M Ω), posteriormente las muestras se colocaron en el agitador de microplacas durante 1 hora para su posterior lectura de absorbancia a una longitud de onda 562 nm en el equipo espectrofotómetro Biotek μ Quant.

Para el cálculo de la concentración de hierro se utilizó la siguiente fórmula:

$$[Fe]_{ppp} = \frac{\text{Abs muestra} - \text{intercepto}}{\text{Pendiente de la curva}}$$

3.2.4.3 Hierro dializable. La fracción mineral dializable permitió determinar la biodisponibilidad del hierro mediante la aplicación de la siguiente fórmula:

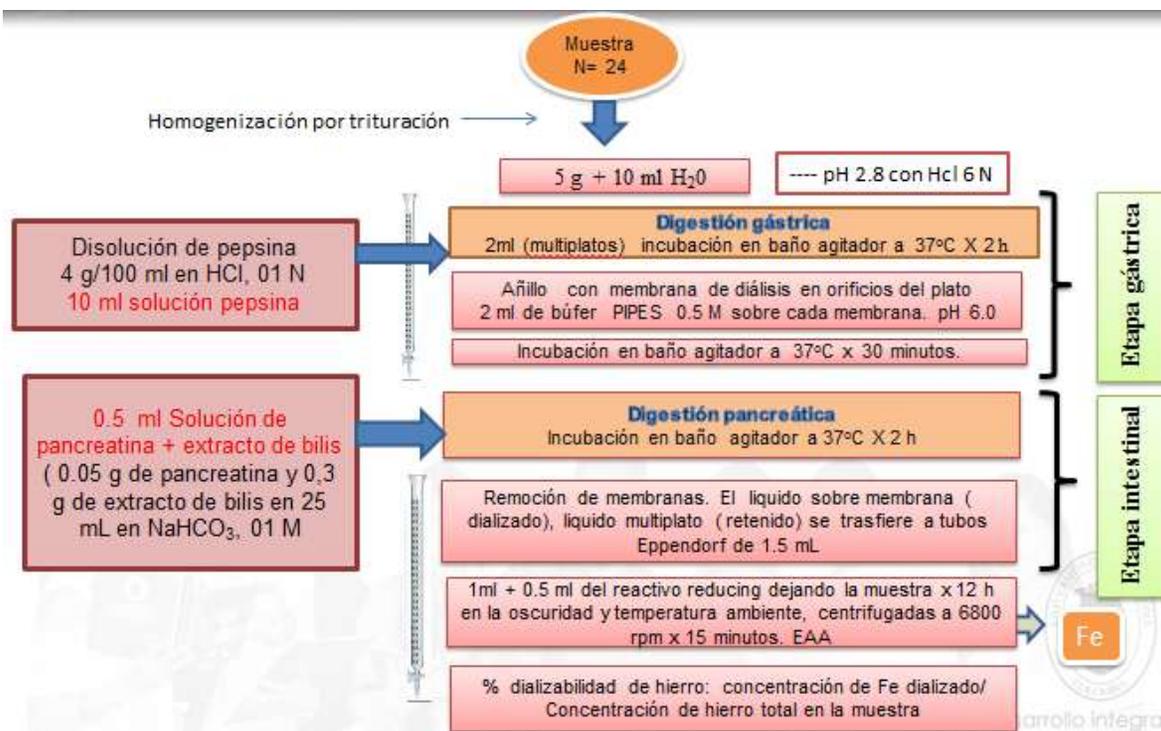
$$\% \text{ de dializabilidad de hierro} = \frac{\text{Concentración de hierro dializado}}{\text{Concentración de hierro total en la muestra}} * 100$$

Se estableció el aporte potencial de hierro AP(Fe) en los diferentes panes elaborados teniendo en cuenta su concentración y dializabilidad, utilizando la siguiente fórmula:

$$AP \text{ Fe} = [Fe] * \% DFe) / 100$$

En la figura 4 se muestra la representación gráfica de la técnica de biodisponibilidad de hierro *in vitro* en las sustituciones realizadas al pan de sal tipo rollo.

Figura 4. Esquema para la determinación de la biodisponibilidad de hierro en las formulaciones de pan



Fuente: Miller *et al.*, 1981

3.2.5 Evaluación sensorial. Para la evaluación sensorial se realizaron las siguientes actividades:

3.2.5.1 Selección de jueces. Se seleccionaron 40 panelistas entre los 4-5 años de edad, de ambos géneros, beneficiarios del programa Hogar Infantil “Niño Jesús de Praga” del municipio de Pamplona (Norte de Santander) a quienes se les suministra habitualmente Bienestarina Mas® como complemento alimentario en dos tiempos de comida, y diferentes variedades de pan que son suministrados en algunos desayunos y refrigerios de la tarde.

Por otra parte, para evaluar atributos de color, olor, sabor, textura y apariencia general (brillo, volumen y firmeza) de las diferentes formulaciones de pan fue

necesario un panel semientrenado de 18 jueces de ambos géneros del semillero de investigación del programa de Ingeniería de Alimentos de la Universidad de Pamplona.

3.2.5.2 Pruebas. Para el caso del panel de niños y niñas la prueba utilizada fue afectiva con una escala hedónica facial de tres puntos (me gusta, ni me gusta/ ni me disgusta, me disgusta), por ser menos complejas debido a que en esta edad se comprende perfectamente el concepto de me gusta o no me gusta (Kimmel *et.al.*, 1994).

Con el panel semientrenado se utilizó una prueba discriminativa de comparaciones múltiples, la que consistió en analizar varias muestras con el fin de comparar simultáneamente varios tratamientos con respecto a un patrón y evaluar el efecto si era posible distinguir diferencias entre dos muestras con un referente. De igual manera, permitió identificar si existieron o no cambios perceptibles en cuanto a la apariencia, sabor, olor, color, textura del pan, como resultado de las diferentes sustituciones utilizadas en esta investigación.

3.2.5.3 Realización de la cata. Previo a la realización de la cata con la población infantil, se diligenció el consentimiento informado, en el cual los padres de familia aprobaron la participación de los niños y niñas en la prueba (Anexo B). Fueron realizadas tres catas, una con el panel semientrenado y dos con los niños y niñas del hogar infantil niño Jesús de Praga. Al panel de niños y niñas participantes inicialmente se les explicó el formato a aplicar de manera grupal y los significados de cada imagen facial, durante la cata fueron asistidos por las docentes de la institución y ejecutora del proyecto. El procedimiento usado fue el siguiente:

Se realizó la entrega de una rebanada de 2 cm de grosor de cada una de las formulaciones de pan a cada uno de los niños y niñas. Al momento de suministrar

las muestras, se les permitía que las degustaran y posteriormente se les mostraban las imágenes faciales para que señalaran la imagen según el agrado o desagrado y se procedía a diligenciar el formato de respuestas (Anexo C). Entre muestra y muestra se utilizó agua como vehículo de arrastre.

En cuanto a la cata con el panel semientrenado, cada participante recibió el formato establecido (Anexo D) tres rebanadas de pan codificadas de manera aleatoria, una como R (referente), y dos muestras en tres diferentes órdenes (AB, AC o BC), cada combinación fue catada por 6 jueces, y cada una de las formulaciones fueron evaluadas sensorialmente por 12 jueces.

3.2.6 Análisis estadístico. Los resultados obtenidos de las propiedades fisicoquímicas, de biodisponibilidad de hierro y sensoriales de las diferentes formulaciones de pan se llevó a cabo mediante el software SPSS versión 22.0, utilizando como herramientas estadísticas pruebas paramétricas ANOVA con un nivel de significancia del 5% previa verificación del cumplimiento de los supuestos de normalidad, homocedasticidad e independencia.

En cuanto a las variables fibra, proteínas y kilocalorías en las formulaciones de pan se les aplicó las pruebas de estadística no paramétricas de Kruskal Wallis con $p < 0,05$.

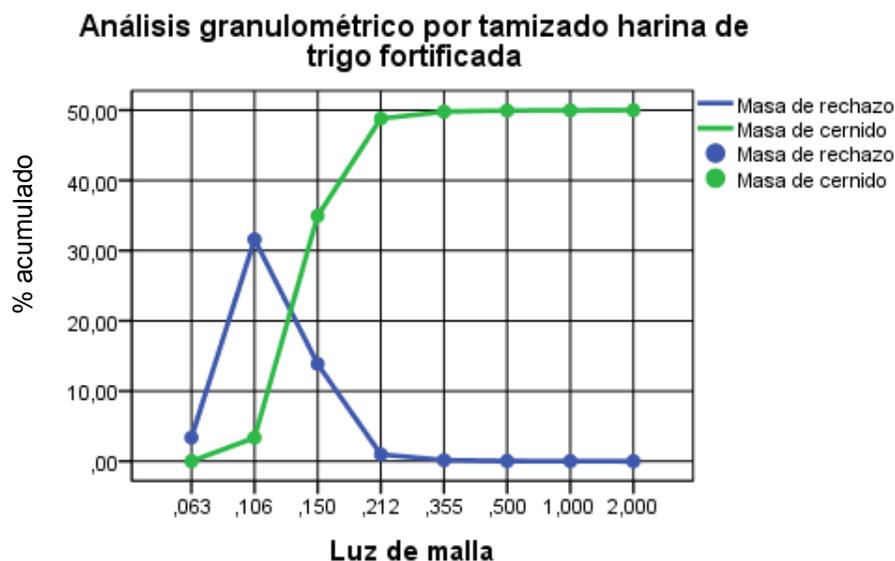
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS DE LA HARINA DE TRIGO FORTIFICADA Y BIENESTARINA MAS®

4.1.1 Granulometría de harinas. La granulometría o tamaño de partícula, es considerado un componente de calidad de la harina, sólo si se reconoce como un grado de fineza en particular. El método utilizado para determinar la granulometría fue el tamizado, el cual se realizó a cada una de las harinas empleadas.

Los resultados obtenidos mostraron que para la harina de trigo fortificada el porcentaje acumulado de la relación masas de rechazo y masa de cernido fue aproximadamente del 21%, con un tamaño de partícula de 0,128 mm (Figura 5).

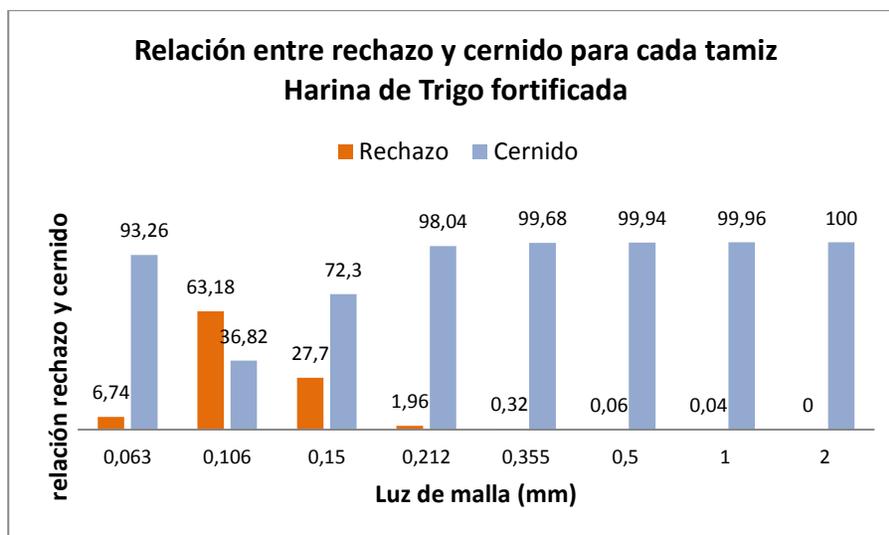
Figura 5. Resultado granulométrico por tamizado harina de trigo fortificada



Fuente. Autora, 2015

En cuanto al porcentaje de rechazo y cernido el 63,18 % de la harina de trigo fortificada se retiene en el tamiz con una luz de malla de 0,106 mm (Figura 6).

Figura 6. Porcentaje de rechazo y cernido harina de trigo



Fuente. Autora, 2015

La harina de trigo fortificada, tuvo una buena distribución a través de los tamices del equipo, concentrándose en los tres primeros tamices (0,063 mm, 0,106 mm y 0,15 mm) por lo que podemos considerar que la partícula de la harina de trigo es más fina y pequeña. Cuando la harina de trigo es sometida a un proceso de tamizado, mínimo el 95% debe pasar por un tamiz 0,212 mm (No 70), (Hernández, 2007). En este proyecto de investigación el 98,04% de la harina atravesó el tamiz (70) con luz de malla 0,212 mm, considerándose por el tamaño de partícula una harina panificable, cumpliendo igualmente con la norma AOAC 965.22 la cual exige que el 98% de las partículas de la harina de trigo pasen a través de una malla o tamiz de 212 μm ., es decir 2,12 mm.

En cuanto al análisis granulométrico de la Bienestarina Mas®, ésta retiene aproximadamente un 20% de masa de cernido y de rechazo con un tamaño de partícula de 0,355 mm (Figura 7).

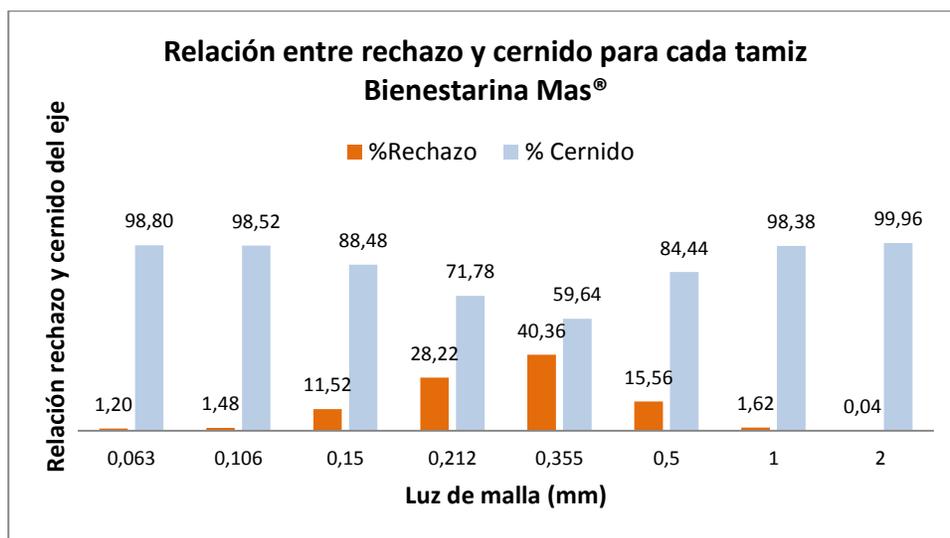
Figura 7. Resultado granulométrico por tamizado Bienestarina Mas®



Fuente: Autora, 2015

En cuanto al porcentaje de rechazo y cernido el 40,36 % de la Bienestarina Mas® se retiene en el tamiz con luz de malla de 0,355 mm (Figura 8).

Figura 8. Relación de rechazo y cernido Bienestarina Mas®



Fuente: Autora, 2015

La Bienestarina Mas®, se concentró en los tamices con luz de malla de 0,212 mm y 0,355 mm, en proporciones de 28,22 y 40,36%; por lo que podemos considerar que el tamaño de la partícula de la Bienestarina Mas® es más gruesa y grande comparada con la harina de trigo fortificada. El análisis granulométrico realizado permitió establecer que el 13% se retuvo en los tamices con luz de malla de 0,106 mm y 0,15 mm. Esta harina no cumple con la normativa de la AOAC 965.22 ya que sólo pasa el 71,78 de las partículas de la harina a través de una malla o tamiz de 2,12 mm.

La importancia del análisis granulométrico está relacionada con la capacidad de la harina para absorber agua, dependiendo del tamaño pueden absorber mayor o menor cantidad de agua durante el acondicionamiento de la materia prima (Carvalho *et al.*, 2010). Las partículas con tamaños más pequeños absorben proporcionalmente más agua y más rápidamente, que las partículas con mayor tamaño, lo que se debe a que hay una mayor área superficial para interactuar con las moléculas de agua. Sin embargo, la uniformidad de la granulometría es más importante que el tamaño de las partículas, debido a que favorece la distribución uniforme del agua en la masa (Schmiele *et al.*, 2011).

Las harinas clasificadas como finas, son ideales para la elaboración de los productos de panificación, ya que posibilitan una mejor incorporación de los ingredientes en la masa, lográndose productos finales con una mayor homogeneidad (Rodríguez *et al.*, 2011). De ahí que, gracias a estas características la harina de trigo sea la materia prima más usada en la elaboración de este tipo de productos.

4.1.2 Capacidad de absorción de agua. El potencial de hidratación de las harinas se ve reflejado en su capacidad de absorber agua hasta formar una masa visco elástica. En la tabla 16 se evidencia el porcentaje de absorción de agua de cada una de las harinas utilizadas.

Tabla 16. Porcentaje de absorción de agua en harina de trigo fortificada y Bienestarina Mas®

Harina	% absorción de agua
Harina de Trigo fortificada	43,2
Bienestarina Mas®	68,36

Fuente: Autora, 2015

Se observó que el poder de hidratación es mayor en la Bienestarina Mas® en comparación con la harina de trigo fortificada; (Lallemand, 2009), define los niveles típicos de absorción para harinas panaderas, los cuales deben ser entre 58% a 66%.

Si bien la absorción de agua, se ve influenciada por las características granulométricas de la harina (Schmiele *et al.*, 2011), no es este el único factor con el que se encuentra relacionado; el porcentaje de absorción de agua depende igualmente de la conformación molecular y del número de enlaces de las moléculas, lo que implica una fuerte influencia de la composición química de la harina (Rodríguez *et al.*, 2011). A partir de los resultados presentados en la tabla 15 la Bienestarina Mas® presentó mayor absorción de agua, efecto que se atribuye a su alto contenido de proteínas y a la calidad de las mismas; Da Silva *et al.*, (2013); Da Silva *et al.*, (2011) han establecido que las harinas ricas en fibra y en proteína no formadora de gluten, pueden favorecer el aumento de la absorción de agua, ya que estos componentes compiten bien por las moléculas de agua.

La absorción de agua es una función primaria de las proteínas y almidón dañado, un incremento de uno u otro podría incrementar el valor de este parámetro (Pasmíño, 1982). (Farvili *et al.*, 1995) establecieron que un contenido alto de proteínas en la harina (14%) da una masa con alta absorción de agua y volumen de pan con corteza de pan oscura. Por otro lado, contenidos bajos de proteína en harina (10%) tienen baja absorción de agua.

Igualmente, las variaciones en los porcentajes de absorción de agua, podrían atribuirse a los almidones dañados, puesto que afectan las propiedades de la harina, ya que absorben un 100% de su peso en agua, 3 veces más que la que absorbe el almidón que se encuentra en los granos sanos (Moiraghi *et al.*,2005).

4.1.3 Características químicas. En la tabla 17 se presentan los resultados de los análisis químicos de las harinas utilizadas en la formulación de pan, valores expresados en base húmeda.

Tabla 17. Tabla 17. Análisis químicos de las harinas (g/100 g base húmeda).

Análisis	Unidad de medida	Harina de Trigo fortificada	Bienestarina Mas®
Humedad	%	10,60	7,14
Cenizas	%	0,72	4,24
Grasa	%	1,53	2,44
Proteínas	%	10,84	18,40
Hierro	mg/100	6,8	19,2
Fibra	%	n.d	n.d
Carbohidratos	%	76.49	67.78

Fuente: Autora, 2015

n.d = No detectado

- ❖ **Humedad.** La importancia de conocer la humedad de las harinas, permite predecir la vida de anaquel, valores altos de humedad, la hacen más susceptible al deterioro y más propensa al ataque de hongos y plagas.

Tomando en consideración los métodos oficiales de análisis A.O.A.C 925.09, los niveles de humedad de la harina de trigo fortificada (10,60%) cumple con los parámetros establecidos en donde se tiene como límite máximo una humedad de 15,5%; de igual manera múltiples investigadores han reportado resultados que se encuentran dentro de este rango: (Mesas *et al.*, 2002), (13-15%), (Miralbes, 2003), (9,32- 17,58%), (Angiolini y Dalla, 2005) , (10,84%) en harinas comerciales, (Veraverbeke *et al.*, 1998) (13,98%), (Garrido *et al.*, 2002) (14,2%- 14,4%).

Con respecto a la Bienestarina Mas® ésta presentó una humedad de 7.14% lo cual favorecería la conservación del producto por un periodo de tiempo mas prolongado. Los datos obtenidos son similares a los obtenidos por (Reynoso y Lastarria, 1994), quienes recopilaron valores de humedad en harinas sucedáneas de trigo, registrando 9,3% en harina de cebada, 7,5% en harina de soya, 6,7% en harina de Tarwi, 6,0% en harina de quinua, 6,4% harina de oca.

- ❖ **Cenizas.** Serna, (1996) establece que cuanto más bajo sea el contenido de cenizas más alta será la calidad de la harina. Al respecto el contenido de cenizas obtenido, se encuentra en un rango de 0,72% para la harina de trigo y 4,24% para la Bienestarina Mas®, los cuales se relacionan con el contenido de minerales. Los valores identificados en este proyecto fueron superiores a los reportados por (Angiolini y Dalla, 2005), quienes identificaron un contenido de cenizas en harinas (0,54%-0,57), (Khatkar *et al.*, 1995) (0,46-0,51%), esto podrá ser explicado al considerar la composición de la harina, suelos donde fueron cultivados, o el proceso de molienda lo cual es también informado por (Berton *et al.*, 2002) quien investigó el efecto de diferentes grados de molienda variando entre partículas gruesas que contenían salvado y a otras más refinadas de endospermo puro.

Por consiguiente se puede establecer que la Bienestarina Mas® es de calidad inferior para la elaboración de pan, porque su contenido de cenizas es cuatro veces mayor con respecto a la harina de trigo fortificada, debido a que en su composición presenta un 2% de premezcla de vitaminas, minerales aminoquelados, fosfato tricálcico y leche en polvo entera. De acuerdo a la investigación de (Gómez *et al.*, 2007), la presencia de cenizas en un porcentaje mayor al 2% reduce la calidad de la harina de trigo y el rendimiento panadero.

- ❖ **Grasa.** En la determinación de grasa se obtuvieron valores de (1,53 - 2,43%) siendo mayor la proporción en la Bienestarina Mas®, debido a que el 68% está compuesta por harina de maíz, harina de soya y leche en polvo, las cuales presentan un mayor contenido de grasa con respecto a la harina de trigo. (Mesas *et al.*, 2002), (Reynoso y Lastarria, 1994), (Chirinos *et al.*, 2001), refieren que el contenido de grasa en harinas panificables debe oscilar del 1-2% valores similares a los obtenidos en las harinas analizadas. Sin embargo, el contenido de grasa en la Bienestarina Mas® es muy bajo según la recomendación para ACF.

- ❖ **Proteínas.** Las mejores harinas panaderas tienen un alto contenido proteico que se traduce en un gluten fuerte, con alta absorción de agua, mayor volumen y mejor textura del pan (Serna, 1996). Los valores de proteína obtenidos se encuentran en 10,84% para la harina de trigo fortificada y 18,40% para la Bienestarina Mas®, similares a los valores reportados por (Miralbes, 2003), (10,38- 18,03%).

El contenido de proteínas se ve influenciado por los niveles de fertilizantes (nitrógeno y sulfuro), a su vez la alta disponibilidad de nitrógeno es traducido en un alto contenido de proteínas en el grano y harina, incrementando la extensibilidad de la masa para la elaboración de pan.

- ❖ **Hierro.** El contenido de hierro en las harinas analizadas obedece a la estrategia de fortificación en Colombia tanto en la harina de trigo como en la Bienestarina Mas®. La cantidad de hierro en la harina de trigo fortificada fue superior a los valores reportados por (Pérez y García, 2013), quienes analizaron dos tipos de harinas de trigo utilizadas en Colombia e identificaron en promedio 4,4 mg /100 g y a los valores identificados por (Buitrago *et al.*, 2012) quienes analizaron el contenido de hierro en dos harinas de trigo fortificadas de uso doméstico hallando valores de 0,166 -

0,37 mg/ 100 g de harina. La Bienestarina Mas® presenta un mayor contenido de hierro 19 mg/ 100 g, valor superior al reportado en la ficha técnica (14.1 mg/100 g).

- ❖ **Fibra.** En las harinas analizadas no se detectó este componente.
- ❖ **Carbohidratos.** Comparativamente la Bienestarina Mas® presenta menor cantidad de carbohidratos 67.78% en relación con la harina de trigo (76.49%).

4.2 DESARROLLO DE UN PAN DE SAL TIPO ROLLO CON SUSTITUCIÓN PARCIAL DE HARINA DE TRIGO FORTIFICADA POR BIENESTARINA MAS®

4.2.1 Elaboración de un pan de sal tipo rollo con o sin sustitución parcial de harina de trigo fortificada por Bienestarina Mas®.

Formulación. Al realizar el trabajo experimental, la formulación inicial (Tabla 13) fue replanteada, ya que algunas de las materias primas requirieron ajustes en sus cantidades; estableciéndose finalmente la formulación que se presenta en la Tabla 18.

Tabla 18. Formulaciones utilizadas en la elaboración de pan con y sin Bienestarina Mas®.

Materia prima/ Formulación	P000	PB01	PB02	PB03
	Testigo	Sustitución 30%	Sustitución 40%	Sustitución 50%
Harina de trigo fortificada (%)	100	70	60	50
Bienestarina Mas® (%)	0	30	40	50

Margarina (%)	12	12	12	12
Azúcar (%)	8	8	8	8
Huevos (%)	12	12	12	12
Agua(%)	60	60	70	80
Levadura (%)	4	4	4	4
Sal (%)	1,5	1,5	1,5	1,5

Fuente: Autora, 2014. Porcentajes con base en 100% de harina

La materia prima que sufrió modificación fue el agua en las sustituciones de 60:40 y 50:50 la cual se incrementó con respecto a la muestra testigo en 10 y 20% respectivamente. (Ribota y Tandini, 2009), establecen que para la elaboración de panes sin gluten, a la mezcla de harinas–almidones–proteínas más el *shortening* y otros ingredientes sólidos, la cantidad de agua puede variar entre 65 y 150%.

La muestra testigo en comparación con la sustitución del 70:30 no presentó variación (60%). (Jenkins 1975), estableció que en general el porcentaje de agua utilizada en panificación es alrededor del 55- 65% con base en el peso de la harina, con la finalidad de obtener un buen producto cantidad que fue utilizada en las sustituciones P000 y PB01. Los porcentajes de las demás materias primas se encuentran dentro de los rangos recomendados en la panificación. Con los porcentajes de agua adicionada se logró que de las proteínas gliadina y glutenina se saturaran hasta el punto en que se volvieran elásticas y permitieran la formación de gluten. Asimismo, el agua favoreció la hidratación de los gránulos del almidón presentes, para su posterior gelatinización durante el horneado y la gelificación en el enfriamiento otorgándole las características a la estructura del pan.

En cuanto al porcentaje de grasa utilizado en las formulaciones se mantuvo constante en un 12%, permitiendo obtener masas extensibles, estables en la fermentación y con mayor subida en el horneado.

4.2.2 Proceso de elaboración del pan con o sin sustitución de Bienestarina Mas® . El proceso que se siguió en la elaboración de pan fue el establecido en la metodología, ajustando la variable de tiempo en las etapas de amasado y fermentación.

Durante el mezclado fue necesario incrementar el porcentaje de agua a adicionar en las formulaciones PB02 y PB03 debido a que a medida que se aumentaba el porcentaje de sustitución de harina fortificada por Bienestarina Mas® la masa fue más difícil de manejar obteniéndose masas secas y compactas haciéndose necesario el incremento del contenido de agua para lograr características visco-elásticas adecuadas, esto debido a que la Bienestarina Mas® contiene mayor proporción de proteínas (18,4%) en relación con la harina de trigo fortificada (10,84%). Algunas de las proteínas de la Bienestarina Mas® provienen de la harina de soya y maíz las cuales interfieren de forma directa en la interacción con las proteínas del trigo y de manera indirecta por la competencia del agua necesaria para su hidratación.

Durante el proceso de elaboración del pan los tiempos de amasado y fermentación fueron modificados a medida que la sustitución fue más alta, como se puede observar en la tabla 19.

Tabla 19. Tiempo de amasado y fermentación utilizados en la elaboración de pan de sal tipo rollo.

Proceso	Variable	P000 testigo	PB01 Sustitución 30%	PB02 Sustitución 40%	PB03 Sustitución 50%
Amasado	Tiempo (min.)	4	7	7	9
Fermentación	Tiempo (min.)	30	36	47	53

Fuente: Autora, 2013

Los tiempos de amasado y de fermentación se establecieron según la experiencia del panadero en la elaboración artesanal de este producto. En las formulaciones del 30% y 40% se determinó que el tiempo óptimo para el desarrollo del gluten fue a los 7 minutos y con la sustitución del 50% a los 9 minutos, lográndose mejorar la capacidad de expansión y consistencia, permitiendo obtener una masa estable y flexible.

Uno de los factores relacionado con el aumento en el tiempo de amasado, hace referencia a la disminución de las proteínas formadoras de gluten, disminuyó en las muestras PB01, PB02 y PB03 por la misma composición química de las harinas presentes en la Bienestarina Mas® (Soya 30%, maíz y trigo 60%), las cuales hacen que la red de gluten formada sea más débil en su estructura.

Otro factor asociado al incremento del tiempo de amasado fue el uso de sal y azúcar en las formulaciones las cuales retrasan la formación de gluten al competir con las proteínas por el agua libre (Casp, 2014).

En cuanto al tiempo de fermentación se fue incrementando en la medida que se sustituyó harina de trigo fortificada por Bienestarina Mas® para lograr una

adecuada producción de gas, como consecuencia natural de la fermentación por las levaduras para lograr una textura fina y el desarrollo de aromas.

Durante el proceso de fermentación se pesaron aleatoriamente 4 piezas panarías de cada una de las formulaciones cuyos pesos oscilaron en un rango de 22 a 26 g.

Durante la etapa de horneado en las sustituciones 30,40 y 50% parte de este gas se evaporó al no ser retenido debido a la presencia de proteínas no formadoras de gluten contenidas en la Bienestarina Mas®, ocasionando una pérdida de volumen en el producto final (118258,50- 97993,759 - 94409,25- 75,527,50 mm, respectivamente) presentándose diferencia significativa con la sustitución 50:50 en relación al pan 100% harina de trigo. La cantidad de gas retenido depende principalmente de las condiciones del proceso y de los ingredientes (He y Hosney, 1992), (Hayman *et al.*, 1998).

De igual manera, concentraciones de azúcares mayores al 5% disminuyen la producción de gas debido a la presión osmótica; para nuestro caso la concentración usada fue del 8% en todas las formulaciones. Con respecto a la muestra P000 se presentó una óptima retención de gas, por ser la estructura de gluten más fuerte reteniendo las burbujas de gas, y logrando una masa más extensible, debido al contenido de pentosanos, los cuales disminuyen la velocidad de difusión de CO₂ y aumentan la estabilidad de los alvéolos gaseosos debido a que incrementan la viscosidad de la fase acuosa estabilizando de este modo a los alvéolos de gas (Hosney y Rogers, 1990).

Luego de realizar el proceso de elaboración se obtuvieron 32 piezas panarías, cuya apariencia externa e interna se pueden observar en la tabla 20.

Tabla 20. Ilustración apariencia externa e interna de panes elaborados con y sin Bienestarina Mas®

PRODUCTO	Ilustración apariencia externa	Ilustración apariencia interna
P000: Pan control: 100% harina de trigo fortificada		
PB01: 70% harina de trigo, 30% de Bienestarina Mas®		
PB02: 60% harina de trigo 40% Bienestarina Mas®		
PB03: Harina de trigo: 50%, Bienestarina Mas® 50%		

Fuente: Autora, 2015

La forma de los panes con sustitución del 30 40 y 50% son similares a la muestra testigo (P000) y a los panes tipo rollo elaborados en las diferentes panaderías del municipio de Pamplona. En cuanto a la apariencia interna, la miga en los panes con sustituciones 30 40 y 50% se observan más compacta y la corteza es más gruesa.

4.3 CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS FÍSICOQUÍMICAS, NUTRICIONALES Y DEL PAN TIPO ROLLO ELABORADO CON Y SIN SUSTITUCIÓN DE HARINA DE TRIGO

4.3.1 Microbiológicos. En la tabla 21 se presentan los resultados de coliformes totales, fecales, mohos y levaduras para las diferentes sustituciones de harina de trigo fortificada por Bienestarina Mas®; los resultados de los análisis microbiológicos permiten demostrar que las diferentes muestras de pan elaboradas con sustitución parcial de harina de trigo fortificada por Bienestarina Mas®, no presentaron crecimiento microbiano, todos los valores señalados se encuentran dentro de los rangos establecidos por la Norma técnica colombiana NTC 1363 para pan (2005), calificando de esta forma a los productos elaborados como inocuos y seguros, corroborando así que las muestras fueron elaboradas en un ambiente aséptico, ejerciendo buenas prácticas de manufactura para obtener un producto exento de cualquier elemento extraño que pueda causar daño alguno al consumidor.

Tabla 21. Resultados análisis microbiológicos realizados a las formulaciones de pan

Análisis	Unidades	Testigo	Sustituciones			NTC 1363
			30%	40%	50%	
Coliformes totales	NMP/g	<3	<3	<3	<3	<3 NMP/g
Coliformes fecales	NMP/g	<3	<3	<3	<3	<3 NMP/g
Mohos y levaduras	UFC/g	$2 \cdot 10^2$	$2 \cdot 10^2$	$2 \cdot 10^2$	$2 \cdot 10^2$	$1 \cdot 10^3$ UFC/g

Fuente: Autora, 2015

Las muestras de pan (aprox. 20 g) fueron analizadas en el laboratorio de calidad de la Universidad de Pamplona, alrededor de dos horas después de su salida del horno.

4.3.2 Características Físicas

4.3.2.1 Color. El color del pan es uno de los atributos más importantes que puede permitir la aceptabilidad del mismo en los consumidores. En la tabla 22 se presentan los resultados estadísticos de los parámetros CIE/lab en la miga y en la corteza de las formulaciones.

Tabla 22. Resultados de color (CIE lab) en las formulaciones de pan

VARIABLE	COLOR	SUSTITUCION			
		TESTIGO	30%	40%	50%
Miga	*L	69,91 a	59,01 a	64,06 a	54,15 a
	*a	0,51 a	1,65 a	2,13 a	4,38 a
	*b	16,86 a	20,77 a	22,78 a	21,45 a
Corteza	*L	53,87 a	44,12 a	46,83 a	55,68 a
	*a	15,39 a	18,71 a	17,74 a	10,27 a
	*b	32,41 a	28,50 a	29,92 a	28,52 a

Fuente: Autora, 2015. Valores seguidos de la misma letra en la misma fila no son significativamente diferentes a un nivel de significancia del 5%

En general se observó una variación más importante entre las formulaciones a nivel de miga que a nivel de corteza. La luminosidad de la miga osciló entre 69,91 y 54,15. En la corteza el pan con mayor contenido de Bienestarina Mas® presentó una luminosidad mas pálida.

En cuanto al parámetro a* su variación en la miga y corteza fue importante (entre 0,51 y 4,38 para la miga) y (15,39 y 10,27) al igual que el comportamiento del

parámetro b^* (entre 16,86 y 21,45 para la miga) y (entre 32,41 y 28,52 para la corteza).

Al efectuar el análisis estadístico de los datos obtenidos de color de la corteza y de la miga (Anexo E) no se presentaron diferencias significativas en ninguno de los parámetros de L^* , a^* , b^* , entre las diferentes formulaciones establecidas (figura 9).

Figura 9. Color del pan en las diferentes formulaciones



Fuente: Autora, 2015

4.3.2.2 Peso, volumen y estructura alveolar. El volumen es una de las características que se evalúan con más frecuencia para estimar la calidad externa del pan, al igual que las dimensiones, la apariencia, el color y la forma de la corteza (Cauvain y Young, 2002). Por tanto, el volumen es considerado un aspecto importante en la determinación de la calidad de los panes, siendo afectado por los ingredientes usados en la formulación de la masa, principalmente la harina y por los procesos utilizados en su fabricación (Moreira *et al.*, 2007).

Por otro lado, la estructura alveolar de la miga es uno de los atributos más importantes de las características internas del pan, es un parámetro muy difícil de cuantificar desde el punto de vista de su correlación con la percepción humana de la calidad. Por ello, el método más común que se utiliza es la estimación subjetiva de la estructura del producto, comparándola con algún material de referencia. Cada tipo de pan tiene sus propios requisitos sobre la estructura alveolar de la miga y por tanto, no hay un solo estándar que pueda aplicarse a todos los productos (Cauvain y Young, 2002).

El volumen y estructura alveolar se encuentran íntimamente ligados al ser características importantes al determinar la calidad del pan. La primera hace referencia a la calidad externa y la segunda a la calidad interna.

Al aplicar la prueba ANOVA, con un nivel de significación del 5% (0,05) los datos evidenciaron que existen diferencias significativas entre los tratamientos en las variables peso ($p=0,000$, $p<0,05$), ancho ($p=0,007$, $p<0,05$), espesor ($p=0,000$, $p<0,05$) y volumen ($p=0,030$, $p<0,05$). Posteriormente, se aplicó la prueba de Scheffe para establecer entre qué tratamientos específicamente se presentan estas diferencias (Tabla 23).

Tabla 23. Peso y volumen de panes elaborados con y sin sustitución de Bienestarina Mas®

Variable	Unidad de medida	Sustitución			
		P000	PB01	PB02	PB03
		Testigo	Sustitución 30%	Sustitución 40%	Sustitución 50%
Peso	g	20,50 a	21,00 a	25,50 b	22,00 a, c
Ancho	mm	116,25 a, c	113,38 a, c	106,88 c	101,38 b
Altura	mm	28,13 a	22,63 b,	22,75 b	20,63 d
Volumen	mm ³	118258,50 a, b	97993,75 a	94409,25 a	75527,50 b

Fuente: Autora, 2015. Valores seguidos de la misma letra en la misma fila no son significativamente diferentes a un nivel de significancia del 5%

El rango de peso de los panes elaborados con sustitución de harina de trigo por Bienestarina Mas® se encuentra entre 20,50 – 22,00 g el incremento de peso en las piezas panarias que contienen Bienestarina Mas® se debe a la alta absorción de agua, lo que produce un pan más pesado.

Con respecto al peso, las diferencias significativas se encuentran entre las muestras P000 y PB02, PB01 y PB02 y PB02 y PB03. En cuanto al ancho, las diferencias significativas se presentaron entre P000 y PB03, PB01 con PB03, PB02 con PB03 En cuanto a la altura, esta fue mayor en el pan 100% harina de trigo con diferencias significativas con las formulaciones; la altura está relacionada con la elasticidad, que es la que le permite a la masa soportar la producción de CO₂ por ende a mayor cantidad producida de dióxido de carbono, mayor será la elasticidad de la masa. (Cauvain, 1998)

Se evidenció que al incrementar el porcentaje de sustitución de harina de trigo fortificada por Bienestarina Mas® el peso aumentó y el volumen disminuyó

debido a la estructura alveolar de las diferentes formulaciones en donde a mayor sustitución de harina de trigo fortificada por Bienestarina Mas® la miga observada fue más compacta (Figura 10). La pérdida de volumen de la muestra testigo con respecto a las diferentes formulaciones fue de 18,051%, 20,38% y 36,37% respectivamente, ocasionando un menor rendimiento y pérdida de humedad en los panes que contienen Bienestarina Mas®.

Por otra parte, la introducción de proteínas de leguminosas entre las proteínas del trigo durante la formación de la masa produce la ruptura de los complejos almidón-proteína y la interrupción de los enlaces disulfuro (S-S) entre las proteínas del gluten (Lorimer *et al.*, 1991). En la masa de trigo los puentes S-S establecidos entre las cadenas de gluteninas proveen estabilidad y fuerza a la masa, esto permite la retención de gas durante la fermentación y mejoran la calidad del pan. La incorporación de proteínas de soya en la harina de trigo disminuye la capacidad de retención de gas en la masa (Ribotta *et al.*, 2005); indicando que fue mayor la retención de gas en la red de gluten de la muestra PB00, al igual que una buena penetración de calor durante la cocción, lo cual hace que los gases se expandan, incrementando así su volumen.

Figura 10. Efecto de la sustitución de harina de trigo fortificada por Bienestarina Mas® en el volumen y estructura alveolar del pan.



Fuente: Autora, 2015

La evaluación visual permitió detectar que en la muestra P000 la estructura alveolar fue más esponjosa, suave, sus alveolos presentaron forma alargada característica conferida por la harina de trigo la cual mezclada con agua bajo condiciones apropiadas, retiene gas dando lugar a un producto de baja densidad (Matz, 1972). La capacidad de recuperación instantánea de la miga fue mayor en comparación con las otras formulaciones en las que se incrementó el grado de sustitución de harina de trigo fortificada por Bienestarina Mas® la miga se mantiene más blanda y esponjosa ya que el gel del almidón tiene menos amilosa.

La evaluación cualitativa de la miga en las muestras PB01, PB02, PB03 permitió identificar una miga con estructura más compacta y con alvéolos más pequeños e irregulares; esta disminución, es atribuida al debilitamiento y la inadecuada formación de la red de gluten en la masa, por el incremento de proteínas no formadoras de gluten, provenientes de la harina de soya y de la harina de maíz presentes en la Bienestarina Mas® las cuales ocasionan la pérdida de la capacidad de expansión y de retención de los gases resultantes de la fermentación, ocasionando un pan de menor volumen, después del horneado. Hallazgos similares fueron reportados por (Roseell *et al.*, 2009) al utilizar harinas de pseudocereales, (Moreira *et al.*, 2007), con la inclusión de harina de linaza, (Surco y Alvarado, 2010), con harina de sorgo, (Da Silva *et al.*, 2011) con harina integral de linaza, (Da Silva *et al.*, 2013) con harina de quinua, (Burešová *et al.*, 2014) con harina de garbanzo, maíz, mijo, quinua y arroz.

Da silva *et al.*, (2013); Moreira *et al.*, (2007), definen que las masas elaboradas con harinas compuestas tienen menor capacidad para retener gases, por lo que, los productos obtenidos pueden presentar un menor crecimiento en volumen comparado con un pan elaborado solo con harina de trigo.

Sánchez, *et al.*, (2002), añadieron una pequeña cantidad de harina de soya (0,5%) a las mezclas de harina de arroz, almidón de maíz y almidón de mandioca,

probaron que la harina de soya conseguía aumentar la calidad de la estructura de la miga, haciendo que esta fuese más compacta y disminuyendo los alvéolos del pan, esto se explicaba debido a las proteínas presentes en la soya, este hallazgo también fue probado por (Milde, *et al.*, 2012) que añadieron harina de soya a mezclas de harina de maíz y almidón de mandioca, y comprobaron que con la adición de harina de soya se reforzaba la estructura de la miga y se aumentaba la capacidad de retención de agua de los panes. Las proteínas de soya favorecen la incorporación de aire y la estabilización de las burbujas en el batido, la fluidez del batido durante la expansión de los gases y la transformación de espuma a estructura de esponja durante el horneado, a la vez que producen un pan de buen volumen y miga esponjosa y homogénea (Ribotta *et al.*, 2004; Sciarini *et al.*, 2008).

4.3.3 Características químicas. Las características químicas (humedad, cenizas, grasa, fibra cruda, carbohidratos, proteína, hierro y kcal se analizaron utilizando el paquete estadístico SPSS versión 22, con análisis de varianza (ANOVA) y prueba de medias de Tukey ($\alpha=0.05$). Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 24.

Tabla 24. Resultados ANOVA de análisis químicos en base húmeda en las formulaciones de pan

VARIABLE	Unidad de medida	SUSTITUCION			
		TESTIGO (%)	30%	40%	50%
Humedad	%	29,31 a	28,68 a, b	27,94 b	26,84 c
Cenizas	%	1,22 a	2,06 b, c	2,11 c	2,77 d
Grasa	%	4,57 a	4,28 b	4,00 a, c	3,54 c
Carbohidratos	%	55,15 a	53,25 b	53,92 b, c	54,22 c, d
Hierro	mg/100	4,4 a	6,4 b	6,5 b, c	7,6 d

Fuente: Autora, 2015. Valores seguidos de la misma letra en la misma fila no son significativamente diferentes a un nivel de significación del 5%

En cuanto a las variables fibra, proteínas y kilocalorías no cumplen los supuestos de la prueba ANOVA, aplicandose entonces las pruebas de estadística no paramétricas.

Estadísticos de prueba ^{a,b}			
	Fibra	Proteína	Kilocalorías
Chi-cuadrado	9,173	10,385	2,795
Gl	3	3	3
Sig. Asintótica	,027	,016	,424

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: Sustitución

La prueba Kruskal Wallis indica que se presentan diferencias significativas únicamente entre los tratamientos de las variables fibra y proteínas ya que en este caso el p-valor es inferior al valor de significancia de la prueba (p=0,027 y p=0,016 por lo que $p < 0,05$).

Para establecer entre qué tratamientos se presentan las diferencias significativas, se aplica la prueba de Mann Whitney obteniéndose los resultados que se presentan en la tabla 25

Tabla 25. Resultados pruebas no paramétricas variables fibra proteínas y calorías

VARIABLE	SUSTITUCION			
	TESTIGO (%)	30% (%)	40% (%)	50% (%)
Fibra	0,38 a	0,39 a	0,64 b	0,67 c
Proteínas	9,74 a	11,72 b	12,03 b, c	12,63 b, d
Valor calórico (Kca)l	301 a	298 a	300 a	299 a

Fuente: Autora, 2015. Valores seguidos de la misma letra en la misma fila no son significativamente diferentes a un nivel de significación del 5%

Humedad. Se presentaron diferencias significativas en cuanto al contenido de humedad entre la muestra testigo y las sustituciones del 40 y 50%. Se observó que a medida que aumentaron los porcentajes de sustitución la humedad disminuyó con valores de 29,31% para la muestra testigo hasta 26,84% para la sustitución del 50%.

Los productos elaborados con sustitución parcial de harina de trigo fortificada por Bienestarina Mas® requirieron mayores proporciones de agua en las diferentes formulaciones para alcanzar la misma consistencia panaria que la muestra testigo, sin embargo a pesar de ello y por contener mayor proporción de fibra los valores de humedad en las sustituciones del 40% y 50% mostraron una reducción significativa respecto al testigo siendo estos valores adecuados para este tipo de alimento, permitiendo conseguir un producto pastoso y flexible (Montoya, 2010). Asimismo, el proceso de fermentación generado por la actividad de la levadura en los diferentes panes, transforma los azúcares presentes en CO₂ y H₂O, los cuales evitan el incremento de calor dentro de la miga y por lo tanto gran pérdida de humedad (Mondal y Datta, 2007).

Cenizas. Los panes con sustitución de harina de trigo fortificada por Bienestarina Mas®, presentaron un incremento significativo en cenizas proporcional al porcentaje de sustitución, hasta superar dos veces la muestra testigo como consecuencia del alto contenido de minerales de la Bienestarina Mas® aportados por la leche en polvo, y el fosfato tricálcico; estos resultados se asemejan a los obtenidos por (Sanz *et al.*, 2011) al sustituir harina de trigo por harina integral de amaranto, al igual que (Acevedo, 1989), cuando sustituyó 10% con harina de frijol, reportando un aumento considerable de cenizas (2,1 mg/g) en comparación con un pan sólo de harina de trigo, y (Osuna, *et al.*, 2006), quienes identificaron que el contenido de ceniza se incrementó en un 1,862%, debido a la contribución en el contenido de ceniza por parte de las harinas de soya y lino.

Grasa. En cuanto al contenido de grasa se identificó una disminución significativa, a medida que se incrementó la sustitución de harina de trigo fortificada por Bienestarina Mas® (4,28%, 4%, 3,54%, respectivamente) con respecto a la muestra testigo (4,57%), aun cuando en la nueva formulación de la Bienestarina Mas® contiene grasa proveniente de la leche y la adición de ácidos grasos omega 3 (100 mg/100 g) y además en la formulación se utilizó margarina mejorando el

volumen de la pieza, reduciendo la dureza de la corteza y dando una textura mucho más tierna y con características mejoradas (Scade, 1985). Esta misma situación fue evidenciada por Montoya *et al.*, (2012), quienes identificaron en el modelo correlacional que a medida que aumenta la fibra disminuía la composición de grasa.

Carbohidratos. En cuanto al contenido de carbohidratos se presentaron diferencias significativas de la muestra testigo con las sustituciones 30, 40 y 50%, observándose una disminución del 0,93% en la sustitución del 50% con respecto a la muestra testigo. Esta disminución puede atribuirse a que los almidones de legumbres contienen una mayor cantidad de amilosa que la mayoría de los cereales o almidones de tubérculos, conllevando a una baja disponibilidad de carbohidratos (Guillon *et al.*, 2002). Los valores obtenidos en esta investigación fueron superiores a los reportado por (Reyes *et al.*, 2004) (51,55 %) y (León *et al.*, 2010) (55,13 %).

Hierro. Los panes elaborados con Bienestarina Mas® presentaron diferencias significativas en el contenido de hierro con respecto a la formulación 100% harina de trigo, presentándose un aumento progresivo (4,4, 6,4, 6,5, 7,6 mg/ 100 g respectivamente) a medida que se incrementaba el grado de sustitución. El análisis químico inicial realizado a las harinas usadas, permitieron predecir que a mayor grado de sustitución el contenido de hierro se incrementaría en las diferentes formulaciones (6,8 vs 19,2 mg/100 g), corroborándose con los resultados obtenidos. Es importante resaltar que el tipo de hierro utilizado en la fortificación de la harina de trigo en Colombia es sulfato ferroso mientras que el hierro utilizado en la pre mezcla de vitaminas y minerales de la Bienestarina Mas® es hierro aminoquelado el cual estructuralmente es una forma de hierro no ionizable, con buena estabilidad química, que no cambia las propiedades organolépticas de los alimentos con que se mezcla; está constituido en su totalidad por compuestos naturales que se encuentran presentes en los alimentos

y no por compuestos sintéticos (Moya y Sevilla, 2008), y su absorción se ve poco afectada por los inhibidores naturales de la dieta, debido a su estructura en la que los aminoácidos ocupan todas las cargas eléctricas en el ion metálico protegiéndolo de reaccionar con otras sustancias (Cornbluth *et al.*, 2001).

Por otra parte, en las formulaciones se usaron 60 g de huevo por 500 g de harina el cual aportó 0,84 mg de hierro según información obtenida de la tabla de composición de alimentos (I.C.B.F., 2005).

La cantidad de hierro obtenida en los panes, tienen similitud con los identificados por (Mendoza y Palacios, 2013) quienes elaboraron pan enriquecido con harina de quinua y soja el cual contenía cantidades superiores de hierro frente al pan francés (6,0 - 6,2 mg/100 g); (Surco y Alvarado., 2010) elaboraron panes con sustitución de harina de trigo por sorgo obteniendo valores de hierro de (7,21-14,96%).

Fibra. En cuanto al contenido de fibra las diferencias significativas se presentaron entre el tratamiento testigo con las formulaciones 40% y 50%, entre 30% y 40%, y finalmente entre 30% con 50%. Estos valores cumplen con los requisitos establecidos para fibra cruda de pan blanco o francés (Norma Técnica Colombiana 1363 de 2005). En los análisis químicos de la harina de trigo y la Bienestarina Mas® no se detectaron valores de este compuesto; sin embargo, durante el proceso de elaboración, la adición de agua y levadura hacen que se incremente su contenido en un 56,72% con la sustitución 50% referente a la muestra testigo.

Proteínas. El contenido proteico presentó un aumento significativo y progresivo, proporcional al aumento de la sustitución de Bienestarina Mas® por harina de trigo (9,74, 11,72, 12,03, 12,63%, respetivamente). En la sustitución del 50% se aumentó el contenido proteico en un 30%, representado en su contenido de leche y soja respecto a la harina de trigo; se han reportado estudios con incrementos

de proteína del 4% al 15% valores inferiores a los reportados en esta investigación (Sanz, *et al.*, 2011), (Pascual y Zapata, 2010).

Los valores obtenidos son superiores a los valores de proteína (8,7%) del pan tradicional (pan blanco) obtenido por (Chapelle, 2007), al pan de labranza de maíz (13,45%) reportados por (Reynoso y Lastarria, 1994). El aporte de proteína mejora notablemente las características nutricionales del producto elaborado y se constituye en una muy buena alternativa en los programas de asistencia alimentaria a nivel institucional.

Valor calórico. Respecto al valor calórico aportado por los diferentes panes no se observan diferencias significativas entre las formulaciones ni con la muestra testigo.

Es también importante realizar una comparación de los requisitos mínimos del pan blanco y francés con las diferentes formulaciones como se puede evidenciar en la tabla 26.

Tabla 26. Comparativo con los requisitos del pan común NTC 1363

Requisitos	Pan Blanco		Pan francés		P000	PB01	PB02	PB03
	Min.	Max.	Min.	Max.				
Grasa	4.0	10	---	3.0	4,57	4,28	4	3,54
Humedad	---	40	---	40	29,31	28,68	27,94	26,84
Cenizas insolubles en ácido (% en base seca)	---	0,1	---	0,1	1,72	2,88	2,92	3,78
Fibra cruda(% base seca)	---	0,5	---	0,5	0,54	0,55	0,89	0,91
Proteínas (% en base seca)	8.0		8.0		13,72	16,43	16,69	17,26

Fuente: Autora, 2015

Al realizar un comparativo con los resultados obtenidos, se puede establecer que los panes elaborados con y sin sustitución de harina de trigo fortificada por Bienestarina Mas® presentaron un contenido similar de grasa con respecto al pan blanco y francés; en cuanto al contenido de fibra las muestras P000 y PB01 presentan valores similares al pan blanco y francés mientras que en las formulaciones PB02 y PB03 se observa un incremento del 78%-82%, respectivamente. La humedad, cenizas y proteínas se encontraron en mayor proporción en las formulaciones elaboradas en este proyecto comparado con los valores establecidos en la NTC 1363. Es importante destacar que en las sustituciones del 40 y 50% el contenido de fibra es superior al requisito máximo para el pan blanco y el pan francés.

4.3.4 Valor nutricional. En la primera infancia, los cereales constituyen una buena fuente de energía y el consumo de pan ayuda a conseguir una alimentación correcta, con la ventaja de ser un producto económico, básico para satisfacer las necesidades de nutrientes y energía del organismo. Existen muchos alimentos ante los cuales el niño experimenta rechazo, como las verduras y el pescado. Sin embargo, el pan no tiene especiales connotaciones negativas ni grandes dificultades para ser aceptado. Es el contexto familiar y social el que ha creado cierto desapego hacia este alimento (López, 2010).

Al realizar el análisis del valor nutricional de los panes elaborados con y sin sustitución de Bienestarina Mas®, se observó con respecto a las proteínas que al incrementar la sustitución de harina de trigo por Bienestarina Mas®, se obtuvo un mayor contenido de este macronutriente (9,74%, 11,72%, 12,030%, 12,63%, respectivamente), esto debido al aporte proteico proveniente de la harina de soya y de maíz presentes en la Bienestarina Mas®; no obstante, la calidad proteica está dada únicamente por las proteínas de la soya, cuya composición aminoacídica balanceada las convierte en un ingrediente potencial para complementar proteínas de carne o de productos lácteos (Renkema, 2001). Si

bien las proteínas de soja poseen una alta proporción del aminoácido lisina, son deficientes en aminoácidos azufrados (cisteína y metionina). Por el contrario, las proteínas del trigo son pobres en lisina pero ricas en cisteína (la cual puede convertirse en metionina en el organismo). Por ello, la combinación de las dos fuentes de proteínas genera un mejor balance de estos dos aminoácidos esenciales, los cuales deben ser incorporados en la dieta (Stauffer, 2004). Las proteínas de la soja pueden utilizarse como ingredientes en los denominados “alimentos funcionales”, que son aquellos que proveen beneficios fisiológicos adicionales además de los requerimientos nutricionales que satisfacen, por el conocido efecto de complementación entre las proteínas de cereales y leguminosas. Estudios han demostrado que el contenido de proteínas de un pan elaborado con una receta básica suele tener un porcentaje de proteínas entre 8-11% y que este valor se puede elevar hasta 15-16% añadiendo derivados de la soja (León y Rosell, 2007). El alto contenido de proteínas contenidas en las formulaciones de pan se constituyen en un medio importante para mejorar la nutrición en la población vulnerable beneficiaria de los programas hogares infantiles del ICBF.

En cuanto al contenido de carbohidratos las sustituciones con respecto a la muestra 100% harina de trigo presentaron menor contenido de carbohidratos, considerándose beneficioso para la salud, especialmente en la prevención de enfermedades relacionadas con la resistencia insulínica, ya que presentan un bajo índice glicémico (Guillon *et al.*, 2002). De igual manera, un aumento, en el consumo de pan, supone un incremento en la ingesta de hidratos de carbono y en el aporte de otros componentes muy importantes desde el punto de vista nutricional (Ortega, 2010).

En las formulaciones de pan se usó margarina, la cual estructuralmente corresponde a una grasa insaturada, que aporta ácidos grasos esenciales al organismo. La disminución en el contenido de grasa en las piezas panarias

resultó favorable debido a que en la actualidad juega un papel importante los alimentos con bajo contenido en grasas.

Referente al contenido de fibra se observó que al incorporar Bienestarina Mas® en las formulaciones de pan, se incrementó significativamente su contenido en la sustitución del 40% y 50% con respecto a la muestra testigo. En la actualidad, la Asociación Americana para la Salud recomienda en niños sanos mayores de dos años la ingesta de una cantidad de fibra en gramos equivalente a la “Edad en años + 5 gramos por día” (Williams, 1995) representando así su nivel de consumo más bajo que puede aportar beneficios para la salud sin comprometer el balance mineral ni el aporte calórico. Por otro lado, se establece el margen de seguridad máximo en la “Edad en años + 10 gramos por día” (Williams, (1995); Slavin, (2003), proporcionan una mayor información al distribuir las necesidades diarias de fibra alimentaria estableciendo para el grupo de 1-3 años un requerimiento de 19 g/día y para la edad de 4-8 años 25 g/día. Otros autores, como (Heimbürger y Weinsier, 1997) recomiendan en los niños el consumo de 10 a 13 g de fibra alimentaria por cada 1000 Calorías.

En cuanto al contenido de hierro, los panes elaborados con Bienestarina Mas® tienen mayor contenido de este mineral permitiendo cubrir el 16,88% de los requerimientos para niños y niñas en edades de 1-3 años 11 meses con el consumo de 20 g y el 33,77% para niños de 4-5 años 11 meses con el consumo de una porción de 40 g. (Ortega y col., 2009^a); (Ortega, 2010) definen que la ingesta de 100 g de pan blanco/integral/ permiten cubrir más del 5% de las ingestas diarias recomendadas para el calcio, fósforo, hierro, magnesio, selenio y zinc (este último sólo cuando se consume pan integral).

Referente al aporte calórico, los panes obtenidos aportaron entre 299 - 301 kcal por 100 g de alimento en las diferentes formulaciones no presentando diferencias significativas; los valores obtenidos fueron superiores a los reportados por (Ortega

et al., 2010) quienes definen que el pan aporta entre 244 y 285 Kcal/ 100 g. Estos mismos autores refieren que los panes de miga dura son más energéticos que los de miga blanda, debido al diferente contenido en agua, en torno al 29 y 30%, coincidiendo con el tipo de miga obtenido al realizar las diferentes sustituciones, las cuales fueron más compactas y duras. El pan es un alimento con alta densidad en nutrientes (aporte por 1000 kcal), de gran relevancia ya que aporta muchos nutrientes, pocas calorías, y además, posee un poder saciable elevado (Ortega, 2010).

4.3.4.1 Aporte nutricional de las porciones de 20 y 40 g. Tomando en cuenta las recomendaciones de consumo diarias de energía y nutrientes para población Colombiana ICBF 1992, se estableció la proporción en el aporte de hierro y macronutrientes en las porciones de 20 y 40 g establecidas en la minuta patrón para los niños y niñas de 1-3 años (Tabla 26) y de 4-5 años 11 meses (Tabla 27) en el programa hogares infantiles para cada una de la formulaciones

Tabla 27. Aporte nutricional de las formulaciones de pan con y sin Bienestarina Mas® en la porción de 20 g

NUTRIENTE	RECOMENDACIONES DE ENERGIA Y NUTRIENTES	Sustituciones				% Aporte nutricional ración 20 g			
		P000 Testigo	PB01 30%	PB02 40%	PB03 50%	P000 Testigo	PB01 30%	PB02 40%	PB03 50%
Proteínas (g)	43,1	1,94	2,34	2,40	2,52	4,5	5,4	5,5	5,8
Grasa (g)	41	0,91	0,85	0,80	0,70	2,2	2,1	1,9	1,7
Carbohidratos (g)	172,2	11,03	10,65	10,78	10,84	6,4	6,1	6,2	6,2
Fibra cruda (g)	----	0,07	0,07	0,12	0,13	----	----	----	----
Hierro (mg)	9	0,88	1,28	1,30	1,52	9,7	14,2	14,4	16,8
Valor calórico (Kcal)	1230	60	60	60	60	4,8	4,8	4,8	4,8

Fuente: Autora, 2015

Los resultados obtenidos muestran que con el consumo de una ración de 20 g la población infantil de 1-3 años recibiría aportes importantes de proteínas con los panes elaborados con Bienestarina Mas® partiendo de un aporte diario de 5,4 g hasta 5.8 g en la sustitución del 50% al igual que el aporte de hierro el cual oscila (14,2, 14,4 y 16,8 mg respectivamente).

Tabla 28. Aporte nutricional de las formulaciones de pan con y sin Bienestarina Mas® en la porción de 40 g

NUTRIENTE	RECOMENDACIONES DE ENERGIA Y NUTRIENTES	Sustituciones				% Aporte nutricional ración 40 g			
		P000 Testigo	PB01 30%	PB02 40%	PB03 50%	P000 Testigo	PB01 30%	PB02 40%	PB03 50%
Proteínas (g)	55,7	3,80	4,6	4,8	5,0	6,8	8,2	8,6	8,9
Grasa (g)	53	1,82	1,7	1,6	1,4	3,4	3,2	3,0	2,6
Carbohidratos (g)	222,6	22,06	21,30	21,56	21,68	9,9	9,5	9,6	9,7
Fibra cruda (g)	----	0,14	0,14	0,24	0,26	---	---	---	----
Hierro (mg)	9	1,76	2,56	2,60	3,04	19,5	28,4	28,8	33,7
Valor calórico (Kcal)	1590	120	119	120	120	7,5	7,4	7,5	7,5

Fuente: Autora, 2015

El aporte de calorías y nutrientes para la población de 4-5 años 11 meses se mejora notablemente con el suministro de una ración día de 40 g de los panes elaborados con Bienestarina Mas® y en especial con el pan con sustitución del 50%, es de resaltar el aporte de hierro del 33,7% con esta formulación.

Según la ENSIN 2010, en el comportamiento del consumo diario de pan, arepa, galletas, el 34,5% de los colombianos consume este tipo de productos 1 vez al

día; 27%, 2 veces al día, y un 5%, 3 o más veces al día. La categoría semanal muestra que el 15,1% de los colombianos consume estos alimentos de 3 a 4 veces a la semana. De acuerdo con los grupos de edad se observa un menor consumo diario y un mayor consumo semanal, a medida que la edad es mayor.

4.4 BIODISPONIBILIDAD DE HIERRO (*in vitro*).

La absorción del hierro y su biodisponibilidad se encuentra ampliamente documentada por varios autores; sin embargo, los resultados han sido contradictorios, posiblemente a la existencia de dos tipos de hierro en alimentos (hemo y no hemo), sus diferencias en la absorción (hierro no hemo es menos fácilmente absorbido), los efectos del medio químico sobre la biodisponibilidad del hierro y la presencia de otros factores dietéticos que usualmente coexisten en alimentos con el ácido fólico (Clydesdale, 1983); (Fox *et al.*, 1989); (Torre *et al.*, 1991); (Davidsson, *et al.*, 1997).

Al realizar las diferentes sustituciones de harina de trigo por Bienestarina Mas® aplicando la prueba ANOVA no se observaron diferencias significativas porque el p-valor es inferior al nivel de significancia de la prueba ($p=0,000$, $p<0,05$), realizándose entonces comparaciones múltiples mediante la prueba de Scheffé (por cuanto las varianzas entre las diferentes muestras son iguales) (Tabla 28)

Tabla 29. Dializabilidad de hierro en panes elaborados con y sin Bienestarina Mas®

		SUSTITUCION			
Muestra	Unidades	TESTIGO	30%	40%	50%
Dializabilidad mineral	($\mu\text{g/g}$)	5,128 a	0,693 b	1,259 b, c	0,842 b, c, d

Fuente: Autora, 2015. Valores seguidos de la misma letra en la misma fila no son significativamente diferentes a un nivel de confianza del 95%

El contenido de hierro dializable (Anexo F) fue disminuyendo a medida que se fueron realizando las sustituciones de harina de trigo fortificada por Bienestarina Mas®, evidenciándose diferencias significativas de todas las formulaciones con la muestra testigo esto debido posiblemente al incremento de compuestos inhibidores del hierro afectándose su porcentaje de absorción (%DFe) y por consiguiente su aporte potencial como se puede evidenciar en la tabla 29.

Tabla 30. Porcentaje de dializabilidad y aporte potencial de hierro en panes elaborados con y sin Bienestarina Mas®

Muestra	% Absorción	Aporte potencial de hierro (mg/100 g)
P000	11,66	0,51
PB01	1,09	0,07
PB02	1,94	0,12
PB03	1,11	0,08

Fuente: Autora, 2015

En cuanto al hierro no hemo, este se absorbe entre 1% a 15%, dependiendo su absorción de diversos factores, tales como el estado nutricional de hierro, la forma química y la presencia de favorecedores, por ejemplo: ácido ascórbico, proteínas; y de inhibidores de la absorción, como las fibras, polifenoles y soya (Zimmermann *et al.*, 2010). Los diferentes panes obtenidos se encuentran en el rango de absorción mencionado anteriormente (11,66%, 1,09%, 1,94%, 1,11%, respectivamente)

En múltiples investigaciones se ha documentado el efecto inhibitorio de algunos compuestos como (calcio, fosfatos, fitatos, fibra, oxalatos, zinc) contenidos en las materias primas utilizadas en esta investigación, los cuales podrían haber disminuido la eficiencia en la absorción de hierro y el aporte potencial de este

mineral, a medida que se incrementó la sustitución de harina de trigo por Bienestarina Mas®. Es de anotar que en la actual reformulación de la Bienestarina Más ® se aumentó el contenido de calcio de 700 a 800 mg, zinc de 8,3 a 10,5 mg y se le adicionó 0,98 mg de cobre.

Las investigaciones sobre el efecto del calcio como inhibidor en la absorción de hierro no hemínico, se encuentran muy bien documentadas por (Cook *et al.*, 1991); (Minihane y Fairweather, 1998); (Hallberg *et al.*, 1991); (Hallberg *et al.*, 1992^a); (Hallberg *et al.*, 1992b); (Gleerup *et al.*, 1993); (Gleerup *et al.*, 1995), (Dawson-Hughes *et al.*, 1986); (Deehr *et al.*, 1990). (Sandstrom , 2001), (Rossander, *et al.*, 1991), analizaron el efecto del calcio (Ca), cinc (Zn), cobre (Cu) y manganeso (Mn) en la biodisponibilidad de hierro, estableciendo que estos minerales compiten por los transportadores de membrana de los enterocitos, modificando el estado de oxidación o interfiriendo en el metabolismo del Fe. Este mineral tiene especial importancia ya que además de intervenir en la biodisponibilidad de hierro no hemo interviene también en la biodisponibilidad del hierro hemínico; entre 40 y 300 mg podría disminuir la biodisponibilidad en un 50% (Hallberg, 1998); el mecanismo de reducción en la biodisponibilidad parece ser un paso intracelular común para ambos elementos donde se presenta competencia (Martínez *et al.*, 1999). Con respecto a las harinas usadas en este proyecto su contenido de calcio es de 40 mg /100 g para la harina de trigo fortificada y de 800 mg/100 g para la Bienestarina Mas®. A partir de la información contenida en la etiqueta de las harinas empleadas, se pudo calcular que en la formulación 70:30, 60:40, 50:50 el contenido de calcio fue de 252 mg/100 g, 336 mg/100 g, 420 mg/100 g respectivamente, estableciendo que en las sustituciones del 40% y 50% el calcio podría ejercer su efecto inhibitorio en la biodisponibilidad de hierro. Por otra parte, se ha observado que el agregado de Ca inhibe la acción de fitasas endógenas de la harina, lo que podría implicar un contenido final más alto en fitatos en las muestras (Caldera, 2012).

En relación al contenido de fosfatos se encuentran presentes tanto en la clara como en la yema en forma de fosfoproteínas (Oliveira 2001), este insumo fue utilizado en la elaboración de los panes como parte de la mezcla y para barnizar la superficie de los mismos, componente que podría ejercer su influencia en la inhibición del hierro.

Monsen y Cook, (1976) evaluaron el efecto del calcio y sales de fosfato por si solos y en conjunto sobre la absorción de Fe no-hem, muestran que al agregar ambos minerales la absorción de hierro se reduce a un 47%, sin embargo al adicionar solamente calcio no existe una disminución significativa en la absorción del Fe no-hem. En el caso particular de esta investigación, la forma de calcio contenido en la Bienestarina Mas® es fosfato tricálcico $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ lo que permitiría atribuirle a este compuesto su efecto directo sobre la inhibición en la biodisponibilidad de hierro en los panes elaborados.

Por otra parte, se ha observado una disminución de la absorción de hierro por efecto del zinc cuando ambos compuestos han sido consumidos en solución o en pan (Crofton *et al.*, 1989), (Rossander *et al.*, 1991). Olivares *et al.*, (2007a) observaron que el zinc inhibe la absorción de 0.5 mg de hierro cuando se encuentra en proporciones de Zn:Fe de 5:1 o más, dicho efecto desaparece cuando el zinc es ingerido 30 ó 60 minutos antes que el hierro (Olivares *et al.*, 2007b). La Bienestarina Más®, aporta 10,5 mg/100 g de zinc según información de la ficha técnica; consecuentemente al aumentar el nivel de sustitución se incrementaría el contenido de este micronutriente en 0,98 mg/100 g, 3,84 mg/100 g, 4,79 mg/100 g y 5,74 mg/100 g respectivamente afectando la biodisponibilidad del hierro.

Estudios realizados *in-vitro* en células caco-2 sugieren que el Cu disminuye la biodisponibilidad del Fe-No Hem, debido a que ambos metales utilizan el transportador de membrana apical DMT1 para su absorción (Arredondo y Núñez,

2005). En la nueva formulación de la Bienestarina Mas® se adicionó 0,98 mg de cobre.

Otro inhibidor de la absorción del Fe-No Hem son los fitatos, los cuales se relacionan proporcionalmente con la cantidad del compuesto que se encuentra en los alimentos (Hallberg y Hulthen, 2000), estos compuestos pueden disminuir la absorción entre 51 a 82% debido probablemente a la formación de fitatos di y tetra férricos (Allen y Ahluvalia, 1997). Sin embargo, se ha determinado que la fermentación propia del proceso de panificación incrementa de manera importante la biodisponibilidad (Sharma, 2003). La fermentación de cereales y leguminosas reduce de forma significativa el contenido de fitato de las semillas debido tanto a la fitasa endógena como la que procede de la levadura añadida.

En el pan, la hidrólisis de los fitatos, depende de la cantidad de levadura y el tiempo durante el cual actúa. Si una harina es rica en proteínas la hidrólisis de los fitatos es menos importante (Febles, 1998).

Ruiz de Lope *et al.*, (1982) estudiaron el contenido en ácido fítico, durante el proceso de elaboración del pan blanco, integral y ázimo. El análisis se efectuó en las diferentes etapas del proceso de fabricación del pan de trigo con levaduras naturales, tanto en el pan blanco como en el integral, concluyendo que la destrucción del ácido fítico se iniciaba durante el amasado y era total en la masa fermentada. Sin embargo, en el pan ázimo (sin levadura) no se observa destrucción alguna del ácido fítico.

De todos los productos ricos en fitatos, la soya y los sustitutos de soya en la alimentación humana son los que tienen mayor riesgo nutricional. Sin embargo, en el caso del trigo, cebada y centeno, los fitatos se encuentran en menor cantidad, se destruyen en los procesos culinarios habituales y no subsisten a la panificación (Febles, 1998).

La Bienestarina Más® utilizada en las diferentes formulaciones contiene harina de soya la cual hace parte de su composición en un 30%, compuesto que aumentaría la presencia de fitatos en las formulación 70:30, 60:40 y 50:50 comparadas con la formulación 100% harina de trigo fortificada.

Los resultados obtenidos en cuanto al contenido de fibra, ponen de manifiesto que al ir incrementado el contenido de Bienestarina Mas® en las diferentes formulaciones, aumentaba de manera directa este compuesto, con diferencias significativas en las sustituciones 40 y 50%. La fibra es considerada un importante inhibidor de la biodisponibilidad de hierro debido a que disminuye la disponibilidad digestiva de minerales como hierro, calcio, zinc y cobre (Reinhold *et al.*, 1976); (Pointillart y Gueguen , 1992). Se estima que los componentes de fibra dietética pueden interactuar con restos anfóteros de enzimas digestivas y generar una menor actividad enzimática (Caldera, 2012).

Por último, (O'Donnell *et al.*, 1997) identificaron que las proteínas vegetales de gluten y proteína de soya tuvieron marcado efecto inhibitorio sobre el hierro. En los panes elaborados con sustituciones del 30%, 40% y 50% las cantidades de proteínas se incrementaron proporcionalmente, indicando una correlación inversa proteína- biodisponibilidad de hierro. De igual manera es conocido el efecto inhibitorio de las proteínas lácteas en la dializabilidad del hierro, principalmente por las caseínas, (Hurrell *et al.*, 1989), parece ser que la fosforilación de la serina y de la treonina permite la unión de residuos de hierro y de otros minerales, reduciendo la eficiencia de la absorción de estos (West, 1986). Con respecto a las proteínas del huevo (conalbúmina), proteína quelante del metal, no muestran un efecto positivo en la absorción del hierro (Hurrell *et al.*, 1989; (Emery, 1992). Las caseínas son aportadas por la Bienestarina Mas®, mientras que las conalbuminas por el huevo utilizado en las diferentes formulaciones (12%).

El hierro aminoquelado utilizado en la actual reformulación de la Bienestarina Mas® , podría afectar su absorción por la presencia de inhibidores como leche, fitatos y polifenoles (Fox *et al.*, 1998); (Lindsay, 2002); (Olivares *et al.*, 1997; (Bovell *et al.*, 1997;). Actualmente se establece que el hierro para los programas de fortificación debe adicionarse a los productos alimenticios únicamente en la forma aminoquelada (bisglicinato ferroso)¹; debido a que este compuesto presenta una mejor biodisponibilidad y solubilidad comparado con el sulfato ferroso anteriormente empleado.

4.5. EVALUACIÓN SENSORIAL

La evaluación sensorial se realizó 12 horas después de elaborado el pan. Se determinó el nivel de agrado, mediante la aplicación de una prueba de aceptabilidad hedónica, con la participación de 40 jueces no entrenados, en edades comprendidas entre 4 y 5 años beneficiarios del programa hogar infantil niño Jesús de Praga.

La cata se realizó en el aula de pre jardín del Hogar infantil, en donde cada docente recibió las hojas de respuestas y 4 platos que contenían las muestras rotuladas (P000, PB01, PB02, PB03). Previamente se les explicó a los niños y niñas de manera clara y concisa la actividad a realizar; la docente entregó una a una las muestras individualmente, en donde según la expresión facial seleccionada por el menor procedió a registrarla en el formato establecido.

Los datos obtenidos de esta prueba no recibieron ningún manejo estadístico porque el 100% de los jueces calificaron las cuatro muestras con la escala hedónica “me gusta” no manifestando ninguna preferencia o rechazó entre la muestra testigo y las sustituciones.

Para el análisis estadísticos de los resultados de la prueba discriminativa las respuestas dadas por los jueces se transformaron de la siguiente manera: cuando el juez indicaba que no había diferencias entre la muestra y el referente se asignó una calificación de 1, y en caso contrario 2 esta calificación se estableció por cada uno de los atributos evaluados.

Los resultados obtenidos de los atributos evaluados sensorialmente en las diferentes formulaciones de pan (Tabla 30), se realizaron con 18 jueces semientrenados, con edades comprendidas entre 18-37 años, de los cuales 12 fueron mujeres y 6 hombres.

Tabla 31. Evaluación sensorial de color en las formulaciones de pan con y sin Bienestarina Mas®

Comparaciones múltiples							
DMS							
ATRIBUTO	(I) Muestra	(J) Muestra	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
						Límite inferior	Límite superior
Color	Sustitución 30%	Sustitución 40%	,250	,169	,145	-,09	,59
		Sustitución 50%	,000	,169	1,000	-,34	,34
		Testigo	,750*	,169	,000	,41	1,09
	Sustitución 40%	Sustitución 30%	-,250	,169	,145	-,59	,09
		Sustitución 50%	-,250	,169	,145	-,59	,09
		Testigo	,500*	,169	,005	,16	,84
	Sustitución 50%	Sustitución 30%	,000	,169	1,000	-,34	,34
		Sustitución 40%	,250	,169	,145	-,09	,59

		Testigo	,750*	,169	,000	,41	1,09
	Testigo	Sustitución 30%	-,750*	,169	,000	-1,09	-,41
		Sustitución 40%	-,500*	,169	,005	-,84	-,16
		Sustitución 50%	-,750*	,169	,000	-1,09	-,41
Sabor	Sustitución 30%	Sustitución 40%	-,333*	,152	,033	-,64	-,03
		Sustitución 50%	-,667*	,152	,000	-,97	-,36
		Testigo	,250	,152	,107	-,06	,56
	Sustitución 40%	Sustitución 30%	,333*	,152	,033	,03	,64
		Sustitución 50%	-,333*	,152	,033	-,64	-,03
		Testigo	,583*	,152	,000	,28	,89
	Sustitución 50%	Sustitución 30%	,667*	,152	,000	,36	,97
		Sustitución 40%	,333*	,152	,033	,03	,64
		Testigo	,917*	,152	,000	,61	1,22
	Testigo	Sustitución 30%	-,250	,152	,107	-,56	,06
		Sustitución 40%	-,583*	,152	,000	-,89	-,28
		Sustitución 50%	-,917*	,152	,000	-1,22	-,61
Textura	Sustitución 30%	Sustitución 40%	,000	,169	1,00 0	-,34	,34
		Sustitución 50%	-,417*	,169	,017	-,76	-,08
		Testigo	,417*	,169	,017	,08	,76
	Sustitución 40%	Sustitución 30%	,000	,169	1,00 0	-,34	,34
		Sustitución 50%	-,417*	,169	,017	-,76	-,08

		Testigo	,417*	,169	,017	,08	,76	
	Sustitución 50%	Sustitución 30%	,417*	,169	,017	,08	,76	
		Sustitución 40%	,417*	,169	,017	,08	,76	
		Testigo	,833*	,169	,000	,49	1,17	
	Testigo	Sustitución 30%	-,417*	,169	,017	-,76	-,08	
		Sustitución 40%	-,417*	,169	,017	-,76	-,08	
		Sustitución 50%	-,833*	,169	,000	-1,17	-,49	
	Olor	Sustitución 30%	Sustitución 40%	-,333*	,155	,037	-,65	-,02
			Sustitución 50%	-,667*	,155	,000	-,98	-,35
			Testigo	,167	,155	,288	-,15	,48
Sustitución 40%		Sustitución 30%	,333*	,155	,037	,02	,65	
		Sustitución 50%	-,333*	,155	,037	-,65	-,02	
		Testigo	,500*	,155	,002	,19	,81	
Sustitución 50%		Sustitución 30%	,667*	,155	,000	,35	,98	
		Sustitución 40%	,333*	,155	,037	,02	,65	
		Testigo	,833*	,155	,000	,52	1,15	
Testigo		Sustitución 30%	-,167	,155	,288	-,48	,15	
		Sustitución 40%	-,500*	,155	,002	-,81	-,19	
		Sustitución 50%	-,833*	,155	,000	-1,15	-,52	
Apariencia	Sustitución 30%	Sustitución 40%	-,250	,153	,109	-,56	,06	
		Sustitución 50%	-,667*	,153	,000	-,97	-,36	

		Testigo	,250	,153	,109	-,06	,56
	Sustitución 40%	Sustitución 30%	,250	,153	,109	-,06	,56
		Sustitución 50%	-,417*	,153	,009	-,72	-,11
		Testigo	,500*	,153	,002	,19	,81
	Sustitución 50%	Sustitución 30%	,667*	,153	,000	,36	,97
		Sustitución 40%	,417*	,153	,009	,11	,72
		Testigo	,917*	,153	,000	,61	1,22
	Testigo	Sustitución 30%	-,250	,153	,109	-,56	,06
		Sustitución 40%	-,500*	,153	,002	-,81	-,19
			-,917*	,153	,000	-1,22	-,61

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Fuente: Autora, 2015

Para el color se observó diferencia significativa de la muestra testigo con las sustituciones del 30%, 40% 50% indicando que a mayor porcentaje de sustitución se percibió una corteza más oscura y una miga más amarilla; ya que la presencia de soya en estas formulaciones incrementa el contenido de proteínas, lo cual favorecería las reacciones de Maillard entre proteínas y azúcares reductores. Dhingra y Jood, (2004) observaron que al aumentar el nivel de sustitución de harina de trigo con harina de cebada y de soya integral se apreciaba también un claro oscurecimiento de la corteza del pan. Por otra parte Sabanis y Tzia, (2009) observaron que la sustitución parcial de harina de trigo por harina de soya disminuía significativamente la luminosidad de la corteza mientras que al utilizar harina de arroz, ocurría lo contrario. En la coloración del pan tiene que ver la granulometría de las harinas utilizadas, o el grado de almidón dañado, o el contenido de amilasa, cuando el contenido de alfa – amilasa es excesivo pueden obtenerse colores de corteza rojizos.

Las diferencias de color evaluadas por medidas instrumentales no tuvieron correlación con los resultados estadísticos por la observación visual de los jueces semientrenados, evidenciando la complejidad de la percepción humana de los atributos.

En cuanto al sabor se presentaron diferencias significativas entre P000 con PB02 y PB03, de igual manera entre PB01 con PB02 y PB03 y por último PB02 con PB03 contrariamente a que se evidenció diferencias significativas los jueces perciben un sabor agradable en todas las formulaciones.

En relación a la textura se presentaron diferencias significativas de la formulación P000 con todas las sustituciones, igualmente PB01 con PB03 y PB02 con PB03; los jueces percibieron que los panes distintos a la muestra referente, eran más compactos y duros mientras que el pan 100% harina de trigo era más suave, blando y esponjoso. En esta variable desempeñó un papel importante el grado de preferencias de los jueces hacia la textura de los panes blandos o compactos.

Para el olor se observan diferencias significativas de P000 con PB02 y PB03, PB01 con PB02 y PB01 con PB03, PB02 con PB03 los jueces percibieron un olor más dulce a medida que se incrementó el grado de sustitución. Con la formulación PB01 con respecto a la P000 no se evidenciaron diferencias significativas.

Respecto a la apariencia existen diferencias significativas entre P000 con PB02 y PB03, PB01 con PB03 y PB02 con PB03 percibiendo menor tamaño a mayor contenido de Binestarina Mas®. Es de anotar que con la PB01 no se observan diferencias significativas respecto a la muestra P000.

Contrariamente a los resultados estadísticos obtenidos en donde se presentan diferencias significativas en los atributos evaluados, los jueces de manera general manifestaron un alto grado de aceptabilidad hacia todas las formulaciones especialmente a la formulación PB02.

CONCLUSIONES

El estudio de las propiedades físicas de granulometría y absorción de agua de las materias primas permitieron conocer las condiciones iniciales de las mismas, ajustando las formulaciones y el proceso de elaboración de pan, identificando que la Bienestarina Mas® presentó un mayor tamaño de partícula (0.355 mm) y de absorción de agua (68,36%) con respecto a la harina de trigo fortificada con tamaño de partícula de 0.128 mm y 43,2% de absorción de agua.

Con respecto, al estudio de las propiedades químicas de las materias primas, la Bienestarina Mas® presentó un mayor porcentaje de hierro y de macronutrientes, con relación a la harina de trigo fortificada, fundamentando la hipótesis de investigación “a mayor sustitución de harina de trigo por Bienestarina Mas® se mejoraría el perfil nutricional y la biodisponibilidad de hierro en los panes elaborados”.

A medida que se sustituyó la harina de trigo por Bienestar Mas®, se logró desarrollar un pan de sal tipo rollo con sustitución parcial de 30, 40 y 50% de harina de trigo fortificada por Bienestarina Mas®, siendo necesario el incremento en el contenido de agua, tiempo de amasado y fermentación en las sustituciones 40% y 50%, obteniendo una masa con características visco-elásticas adecuadas.

El uso de Bienestarina Mas® en la formulación de pan incrementó el valor nutricional del producto en cuanto al contenido y la calidad de proteínas de mayor valor biológico, hierro, y fibra. Es de anotar que el volumen disminuyó cuando se utilizaron sustituciones del 40 y 50% relacionándose a su vez con una miga más compacta en relación a los panes elaborados con harina de trigo fortificada 100%.

Los panes elaborados cumplieron microbiológicamente con los rangos establecidos en la Norma técnica colombiana NTC 1363 para pan (2005) garantizando un alimento apto para el consumo humano.

Los panes elaborados con Bienestarina Mas® presentaron diferencias significativas en el contenido de hierro con respecto a la formulación 100% harina de trigo, presentándose un aumento del 76%.

Los niños y niñas que participaron en la evaluación sensorial no manifestaron ningún tipo de diferencia en cuanto a la preferencia entre la muestra testigo y las sustituciones, mostrando un grado de aceptación igual entre todas ellas, lo que permitiría que este alimento fuera utilizado en los programas de asistencia alimentaria y así poder ofrecer la Bienestarina Mas® en otro tipo de preparación diferente a la colada que es la preparación comúnmente utilizada en este tipo de programas.

En cuanto a los resultados de las pruebas discriminativas, se evidencia que los descriptores sensoriales no presentaron una correlación directa con los parámetros físicos de peso, volumen y color, dejando en evidencia la complejidad de la percepción humana de los atributos y la afectación por los gustos y preferencias individuales hacia el producto evaluado.

La disminución de la biodisponibilidad de hierro fue significativa en las diferentes sustituciones de 30, 40 y 50% de Bienestarina Más® con respecto a los panes elaborados 100% harina de trigo fortificada, afectada por la presencia de inhibidores en la absorción de este micronutriente, presentes en esta materia prima como son el calcio, zinc y cobre.

Teniendo en cuenta todos los factores analizados se concluye que con la sustitución de harina de trigo fortificada por Bienestarina Mas® en un porcentaje máximo del 50% en la formulación de pan, se obtuvo un producto mejorado nutricionalmente.

RECOMENDACIONES

Los resultados obtenidos en esta investigación permiten emitir las siguientes recomendaciones:

Realizar los análisis granulométricos a las formulaciones establecidas y no sólo a las materias primas.

Continuar investigando los factores inhibidores del hierro no hemínico, en alimentos complementarios utilizados en los programas de asistencia alimentaria con la finalidad de poder medir el impacto de esta estrategia en un problema de gran magnitud en salud pública como lo es la deficiencia de hierro.

Realizar el análisis aminoácido y la digestibilidad proteica por el efecto inhibidor de las proteínas presentes en las materias primas utilizadas.

Realizar estudios de investigación a nivel ingenieril con el fin de mejorar las características reológicas del mismo y estudios de vida útil.

Incorporar en el proceso de elaboración del pan potenciadores del hierro no hemínico como el ácido ascórbico.

Efectuar estudios más detallados de los inhibidores de la biodisponibilidad de hierro y el efecto del hierro aminoquelado en los alimentos

Realizar de un estudio que cuantifique las pérdidas de minerales como el hierro en las diferentes etapas del proceso de elaboración de pan, como amasado, fermentación y horneado.

BIBLIOGRAFÍA

Acevedo, G. (1989). Fortificación del pan con harina de frijoles (*Phaseolus vulgaris*) valor nutritivo del pan fortificado. Arch Lat Nutr 1989; 39:62030.

Agency for International Development. AID-USA (2000). Proceedings: midcourse 2000 researchers meeting of the bean/cowpea collaborative research support program. Bean/Cowpea CRSP 2000 Center for International Programs Michigan State University, USA.

Aggett, M. (2010). Population reference intakes and micronutrient bioavailability: A european perspective. Am J Clin Nutr. 1433S- 7S. USA.

Agte, V.; Jahagirdar, M. y Chiplonkar, S. (2005). Apparent absorption of eight micronutrients and phytic acid from vegetarian meals in ileos - tomized human volunteers. Nutrition.;21(6):678-85. India.

Agurto, K.; Mero, E. y Vasquez, G. (2010). Sustitucion parcial de harina de trigo por harina de arroz para la elaboracion de pan. Ecuador.

Allen, L. y Ahluvalia, N. (1997). Improving iron status through diet: the application of knowledge concerning dietary iron in human populations.: US Agency for. Washington, D.C.

Álvarez, M. (1995). Estabilidad Relativa y Rendimiento Medio de Cultivares de Soja en Villa Mercedes. Revista facultad de Agronomia (Vol. 1). Buenos Aires, San Luis, Argentina.

Amaro, M. (2004). Biodisponibilidad mineral de menús escolares. Tesis Doctoral, Universidad de Córdoba. (N. del T.:En español: [tesis]). Córdoba, España.

Anderson, R.H.; Conway, H.F.; Pfeifer, V. y Griffin, E. (1969). Gelatinization of corn grits by roll and extrusión cooking. *Cereal Science. Today* 14:4, 11.12. Illinois.

Andrés, C. y Liuzzi, J. (1998). Biodisponibilidad de nutrientes: fácil de definir: difícil de evaluar. *An venez nutr.*; 11: 66-78. Venezuela.

Andrews, N. (1999). Disorders of iron metabolism.(Medical Progress) *The New England Journal of Medicine* 341 (26):1986-1995. Vol 341.Boston

Angiolini, A y Dalla, R. (2005). Dough Thermo- Mechanical Propeties: Inlucne of Sodium chloride, Mixing Time and Equipmet, *Journal ceral Science* 41: 327-331.

Annet, L.E.; Muralidharan, V.; Boxall, P.C.; Cash, S.B. y Wismer, W.V. (2008). Influence of health and environmental information on hedonic evaluation of organic and conventional bread. *Journal of Food Science*, 73, n°4, H-50-H-55. Canada.

Aparna, Oltikar. O.M.D. (2001) URAC: www.urac.com .Department of Community Medicine, University of Connecticut School of appearing in the portal blood and ceruloplasmin substitution. *Biol Met.* 1990;3:1-7.

Arendt, EK. y Moore, MM. (2006). Gluten-free cereal based products. En: Hui YH, editor. *Bakery products science and technology*. Iowa: Backwell Publishing. pag 471-495.

Argyri, K.; Birba, A.; Miller, D. Komaitis, M. y Kapsokafalou, M. (2009). Predicting relative concentrations of bioavailable iron in foods using in vitro digestion: New developments. *Food Chem.*; 113: 602-7.USA.

Arredondo, M. y Núñez, MT. (2005). Iron and copper metabolism. *Mol Aspects Med.*;26(4-5):313-27.

Baech, S.B.; Hansen, M.; Bukhave, K.; Jensen, M.; Sorensen, SS.; Kristensen, L. et al. (2003). Nonheme-iron absorption from a phytate-rich meal is increased by the addition of small amounts of pork meat. *Am. J Clin. Nutr.* 77, 173-179

Bakker, G. y Boyer, R. (1986). Iron incorporation into apoferritin. The role of apoferritin as a ferroxidase. *J Biol Chem.*; 28:13182-13185.

Ballat, M. F. (2014). Desarrollo de un product de panificacion, mediante harina compuesta de trigo, mandioca y soya. Tesis para optar al titulo de Master en tecnología y calidad en las industrias aroalimentarias. Pamplona España. Pag 210 .
Banco Mundial. (2011). Food Price Watch.

Basman A, Köksel H, Ng PK. 2003. Utilization of transglutaminase to increase the level of barley and soy flour incorporation in wheat flour breads. *Journal of Food Science*, 68:2453–2460

Bean, M.; Hanamoto, M.; Nishita, K.; Mecham, D. y Fellers, D. (1977). Soy-fortified wheat-flour blends. IV. Storage stability with several surfactant additives. *Cereal Chemistry*, 54: 1159-1169.

Beard, J. y Piñero, D. (1997). Metabolismo del Hierro. Deficiencia de hierro. CESNI.; 13-47. Buenos Aires. Argentina.

Beard, JL. Dawson, H. y Pinero, DJ. (1996). Iron metabolism: a comprehensive review. *Nutr. Rev.* 54:295-317.

Belitz, HD. y Grosch, W. (1999). Food Chemistry. 2nd Edition. Berlin: Springer-Verlag. Pág 671.

Benedito, C. (1999). Cereales y derivados. En: Hernández M, Sastre A.

Benito, P. y Miller, DD. (1998) Iron Absorption and bioavailability: and updated review. Nutr Res. 18 (3): 581-603.

Bennion, B. (1970). Fabricación del pan. Edit. Acribia- Zaragoza (España). 4ta . Edición.

Berk, Z. (1992). Technology of production of edible flours and protein products from soybeans. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Recuperado de: <http://www.fao.org/docrep/t0532e/t0532e00.htm#con.agosto/2015>.

Berton, J.; Villieras, F. y Hardy, J. (2002). Measurement of Hydration Capacity of Wheat Flour: Influence of Composition and Physical Characteristics. Powder Technology. 128: 326-331.

Bettge, A.D. y Morris, C.F. (2000) Relationships among grain hardness, pentosan fractions and end-use quality of wheat. Cereal Chemistry 77 (2): 241-247.

Binaghi, M. Greco, C. López, L. Ronayne, P. y Valencia, M. (2008). Biodisponibilidad de hierro en la dieta infantil. Arch Argent Pediatr.; 106: 387- 89.

Black, RE. Vitoria, CG. Walker, SP. Bhutta, ZA. Christian, P. et al. Maternal and child undernutrition and overweight in lowincome and middle-income countries. Lancet. 2013;382(9890):427–51

Boato, F. Wortley, GM. Hai, Lu. y Glahn, RP. (2002). Red grape juice inhibits iron availability: application of an in vitro digestion/Caco-2 cell model. *J. Agric Food Chem.* 50:6935-8.

Bovell, B.; Allen, L y Viteri, F. (1997). Iron is well absorbed from ferrous bisglycinate (Ferrochel) added to a high phytate whole-maize meal. United States of America.

Brennan, J. (2006). *Food Processing Handbook*. Traders. Weinheim, Alemania: Verlag GmbH & Co.

Brown, J. (1993). Advances in bread baking technology. En: Kamel B. y Stauffer C. editors. *Advances in Baking Technology*. Ney York: Blackie A & P. Pág. 38-87.

Brune, M.; Hallberg, L. y Skanberg, A. (1991). Determination of iron binding by phenolic groups in foods. *J. Food Sci*; 56:128-167.

Brune, M.; Rossander, Hulté, L. Hallberg, L.; Gleerup, A. y Sandburg, AS. (1992). Iron absorption from bread in humans: inhibiting effects of cereal fiber, phytate and inositol phosphates with different numbers of phosphate groups. *J. Nutr.* 122.442-9.

Buitrago, S.; Hurtado, J.; Salazar, M.; (2012). Verificación De La Fortificación Con Hierro En Productos De Trigo En Bogotá Vitae, vol. 19, núm. 1. pp. S457-S459 Universidad de Antioquia Medellín, Colombia.

Burešová, I.; Krácmár, S.; Dvorská, P. y Streda, T. (2014). The relationship between rheological characteristics of gluten-free dough and the quality of biologically leavened bread. *Journal of Cereal Science*, 60(2), 271-275. En línea. Disponible en: <http://doi.org/10.1016/j.jcs.2014.07.001>. Agosto/2015.

Burk, R.F. y Solomons, NW. (1985). Trace elements and vitamins and bioavailability as related to wheat and wheat food. *Am. J. Clin. Nutr.*, 41:1091-1102.

Cagnasso, C.; López, L.; Binaghi, M.; Pellegrino, N. y Valencia, M. (2010). Dializabilidad de hierro y zinc en cereales para desayunos comerciales fortificados con hierro elemental, sulfato ferroso o EDTA férrico sódico. *Rev Chil Nutr.* 37: 138-44.

Calaveras, J. (2004). *Nuevo tratado de panificación y bollería*. España: Antonio Madrid Vicente AMV

Caldera, P.Y. (2012). Tesis para optar al título master universitario en calidad y seguridad alimentaria. 3a edición 2011-2012.

Caldera, Yuri. (2012). Biodisponibilidad in vitro de hierro y calcio en cereales y derivados. Tesis para optar al título de master. Venezuela.

Callejo, M.J. (2002). *Industrias de Cereales y Derivados*. Edición AMV- Mundi-Prensa libros, S.A, Madrid, España.

Calvel, R. (1983). *La Panadería Moderna*. Editorial. América Lee, Buenos Aires, Argentina.

Calvel, R. (1994). *El sabor del pan*. Editorial Montagud, Barcelona, España.

Carpenter, C. y Mahoney, A. (1992). Contributions of heme and nonheme iron to human nutrition. *Crit Rev Food Sci Nutr.*; 31:333-367.

Carr, N.; Daniels, N. y Frazier, P. (1992). Lipid interactions in breadmaking. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 31: 237-258.

Carter, K. y Risky, D. (1990). The roles of sensory research and marketing research in bringing a product to market. *Food Technology* 43 (11): 160.

Carvalho, A.; Marçal de Vasconcelos, A.; Silva, P.; Assis, G.; y Ramirez, J. (2010). Caracterização tecnológica de extrusados de terceira geração à base de farinhas de mandioca e pupunha. *Ciênc. agrotec., Lavras*, 34(4), 995-1003.

Casp, A. (2014). *Tecnología de los alimentos de origen vegetal Volumen 2*. Madrid Castro, del Pozo. S. (1995). *Metabolismo del hierro normal y patológico*. Segunda edición. Masson. Barcelona. España.

Caulfield, L.; et al. (2004). "Undernutrition as an Underlying Cause of Child Deaths Associated with Diarrhea, Pneumonia, Malaria, and Measles", *The American Journal of Clinical Nutrition*, Houston, Vol. 80, version en internet.

Cauvain, S.P. (1998). Improving the control of staling in frozen bakery products. *Food Science and Technology*, 9: 56-61

Cauvain, S.P. y Young, L. S. (2002). *Fabricación de Pan*. Zaragoza (España): Editorial ACRIBIA S.A.

Cauvin, S. y Young, L. (1998). "Fabricación de pan". Editorial acribia. Zaragoza-España. Pag 4-10, 333-337.

Cazzola, M.; Huebers, H.; Sayers, M-; MacPhail, A. Eng, M. y Finch, C. (1985). Transferrin saturation, plasma iron turnover, and transferrin uptake in normal humans. *Blood.*; 66:935-939.

Cepal. (2010). Panorama Social de América Latina. Santiago de Chile

Cerón, A.; Hurtado, A.; Osorio, O. y Bucheli, M. (2011). Estudio de la formulación de la harina de papa de la variedad parda pastusa (*Solanum tuberosum*) como sustituto parcial de la harina de trigo en panadería. Rev. Biotecn. Sect. Agrop. Agroind. 9(1):115-121.

Chapelle, M. (2007). Servicio de información agropecuaria del ministerio de agricultura y ganadería del Ecuador. Guayaquil – Ecuador.

Cheftel, J.C. Cuq, J.L. y Lorient, D. (1989) Propiedades nutricionales de las proteínas. En: Proteínas alimentarias. Ed. Acribia S.A. 5:107-139.

Chirinos, Z. *et al.* (2001). Elaboración de galletas utilizando harinas sucedáneas obtenidas con productos de la región. Tesis para optar el título profesional de Ingeniero de la Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias UNAP. Iquitos – Perú.

Chryssohoidis, G. y Krystallis, A. (2005). Organic consumer's personal values research: testing and validating the list of values (LOV) scale and implementing a value-based segmentation task. Food Quality Preference., 16: 585-599

Chung, O.; Pomeranz, Y. y Finney, K.F. (1978). Wheat flour lipids in breadmaking. Cereal Chemistry 55 (5): 598-618.

Chung, O.; Tsen, C. y Robinson, R. (1981). Functional properties of surfactants in breadmaking. III. Effects of surfactants and soy flour on lipid binding in breads. Cereal Chemistry, 58: 220-226.

Cipriani, J. F. (2012). El gran libro de la panadería. Bogotá: Print S.A.S.

Clydesdale, FM. (1983). Physicochemical determinants of iron bioavailability. *Food. Food Tech.* 37 (10): 133-138.

Cobo, G.; Quiroz, M. y Santacruz, S. (2013). Sustitución parcial de trigo (*Triticum aestivum*) por zanahoria blanca (*Arracacia xanthorrhiza* B.) en la elaboración de pan.

Conrad, M.; Umbreit, J. y Moore, E. (1999). Iron absorption and transport. *Am J Med Sci.*; 318:213-229.

Conrad, M.; Umbreit, J.; Moore, E. (1993). Rat duodenal iron-binding protein mobilferrin is a homologue of calreticulin. *Gastroenterology.*;104:1700-1704.

Conrad, M.E. (1987). Iron Absorption. En: *Physiology of the Gastrointestinal tract*. Johnson, LR, Ed. 2nd ed. New York: Raven Press.

Conrad, M.E. Umbreit, J.N. & Moore E.G. (1991): A role for mucin in the absorption of inorganic iron and other metals cations. *Gastroenterology* 100, 129-136.

Consumer Eroski. (2009). "Harina de Maiz". Disponible en línea. Disponible: <http://www.Consumer.es/we/es/alimentacion/guia-alimentos/cereals-y-derivados/2001/04/10/35013.php>.

Cook, JD. Dassenko, S.A. y Whittaker, P. (1991). Calcium supplementation: effect on iron absorption. *Am J Clin Nutr.* 53(1):106-11.

Cornbluth, S.; Núñez, L.M.; Fujimori, E.; Guerra, Shinohara E. y Vianna, I. (2001). Relative effectiveness of iron bis-glycinate chelate (Ferrochel) and ferrous sulfate in the control of iron deficiency in pregnant women. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición. Suplemento.* 51(1):6.

Correa, M. J. (2012). Efecto de celulosas modificadas y pectinas sobre la microestructura y atributos de calidad de la masa panaria. Argentina: universidad nacional de la plata. Centro de investigación y desarrollo en criotecnología de alimentos. Argentina.

Crofton, R.W.; Gvozdanic, D. Gvozdanic, S. Khin, C.C. Brunt, P.W.; Mowat, N.A.; y Cols. Inorganic zinc and the intestinal absorption of ferrous iron. Am J Clin Nutr. 1989 Jul;50(1):141-4.

Crowley, P.; Schober, T.J.; Clarke, C.J. y Arendt, E.K. (2002). The effect of storage time on textural and crumb grain characteristics of sourdough wheat bread. European Food Research Technology, 214: 489-496.

Da Silva, J. T.; Ribeiro, M.; De Paula, C. D.; Leite, D. y Paes, J. B. (2011). Caracterização físico-química e sensorial de pão de sal enriquecido com farinha integral de linhaça. Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos, 29(1), 83-96.

Da Silva, J.T.; Gonçalves, J.; De Sousa, N.A., Ribeiro, M. y De Paula, C. D. (2013). Caracterização físico-química e sensorial de pão de forma contendo farinha mista de trigo e quinoa. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, 15(3), 305319. Recuperado a partir de <http://www.deag.ufcg.edu.br/rbpa/rev153/Art15313.pdf>.

Dallman, P. I. (1990). Present knowledge in nutrition. Sixth edition. International Life Sciences Institute. ILSI. North América.

Davidsson, L.; *et al.* (1997). Bioavailability in infants of iron from infants cereals: effect of dephytinization. Am J Clin Nutr. 65(4): 916-20.

Dawson, B.; Seligson, Hughes, F.H. (1986). Effects of calcium carbonate and hydroxyapatite on zinc and iron retention in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr.* Jul;44(1):83-8.

De Onis, M. y Blossner, M. (2003). The World Health Organization global database on child growth and malnutrition: Methodology and applications. *98 International Journal of Epidemiology*, 32(4), 518-526. doi: 10.1093/ije/dyg099.

Decreto Número 1994 del 28 de Octubre de (1996). Colombia.

Deehr, M.S.; Dallal, G.E.; Smith, K.T.; Taulbee, J.D.; Dawson, B. (1990). Effects of different calcium sources on iron absorption in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr.* Jan;51(1):95-9.

Dendy, D.A.V. y Dobraszczyk, B.J. (2004). Harinas compuestas y alternativas. *Cereales y productos derivados*. S.A. Acriba. Zaragoza: 323-338.

Departamento Administrativo Nacional de Estadística. (2013). Proyecciones de población. Cálculos propios con base en datos proyección población En: <http://dane.gov.co/index.php/poblacion-ydemografia/proyecciones-de-poblacion>.

Dewettinck, K., F.; Van Bockstaele, B.; Kühne, D.; Van de Walle, T.M.; Courtens y Gellynck, X. (2008). Nutritional value of bread: Influence of processing, food interaction and consumer perception. *Journal of Cereal Science*, 48: 243–257.

Dhingra, S. y Jood, S. (2004) “ Effect of flour blending on functional, backing and organoleptic characteristics of bread” *International Journal of foods Science and technology*.39 (2) 213-222.

Doxastakis, G.; Zafiriadis, I.; Irakli, M.; Marlani, H. y Tananaki, C. (2002). Lupin, soya and triticale addition to wheat flour doughs and their effect on rheological properties. *Food Chemistry*, 77:219-227.

El Dash, A.A.; Cabral L.C. *et al* (1994). *Tecnologia de farinhas mistas: Uso de farinhas mista de trigo e soya na produção de pães*. Rio de Janeiro.

Eliasson, A.C. (2003). Starch structure and bread quality. Capítulo 7 en *Breadmaking Improving Quality*. Editado por Stanley P. Cauvain. Woodhead Publishing Limited. Cambridge, Inglaterra.

Emery, T. (1992). Iron oxidation by casein. *Biochem Biophys Res Commun*; 182:1047-52.

Encuesta Nacional de la situación nutricional en Colombia (2010). ENSIN.

Escobar, M. (1994). El pan aporte a la buena nutrición. *Defensa del alimento*. Panadería y pastelería No. 30 Colombia.

Estrada, M. (2013). Elaboración de un pan gourmet enriquecido en hierro proveniente de productos naturales. Tesis para optar al título de Ingeniero en Ciencia y tecnología de los alimentos.

European Food Information Council. EUFIC. (2010). The –.[Internet]. Bélgica; Nutrient bioavailability - getting the most out of food. [descargado 2011 Enero 5; citado 2011 Enero 5]. En línea. Disponible en: <http://www.eufic.org/article/en/artid/Nutrientbioavailability-food/>.

Fairweather-Tait, S.J. (1989). Iron in food and its availability. *Acta Paediatrica Scandinavia Supplement*, 361, 12-20.

FAO. (2013) Panorama de la seguridad alimentaria y nutricional en América latina y el caribe.

Farvili, N.; Walter, C.E. y Qarooni, J. (1995). Effects of Emulsifier on Pita bread quality. Journal of cereal science. 21 pag 301-308.

Febles, C. (1998). Tesis Estudio Del Contenido De Fitatos En Derivados De Cereales De Consumo En Canarias. Para optar al título de Doctora.

Fernández, E.; Carvajal, I. y Pérez, A. (2009). In vitro bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency. Nutr Res; 29: 75-60.

Finch, C. y Huebers, H. (1986). Iron metabolism. Clin Physiol Biochem.;4:5-10.

Finch, C.; Deubelbliss, K.; Cook, J.; Eschbach, J.; Harker, L.; Funk, D.; Marsaglia, G.; Hillman, RS.; Slichter, S.; Adamson, J.; Canzoni, A. y Giblett, ER. (1970). Ferrokinetics in man. Medicine.;49:17-53.

Forrelat, M.; Gautier, Ou.; Oefaix, H. y Fernandez, H. (2000). Metabolismo de hierro. Rev Cubana HematolInmunol Hemter 16: 149-160.

Fox, MRS y Tao, SH. (1989). Antinutritive effects of phytate and others phosphorylated derivatives. Nutr Toxicol. 3: 59.

Fox, T.; Eagles, J. y Fairweather, S. (1998). Bioavailability of iron glycine as a fortificant in infant foods. Am J Clin Nutr. abr;67(4):5.

Frazier, P. (1979). Lipoxygenase action and lipid binding in bread making. Baker's Digest, 53:8-11.

Friedman, M. y Brandon, D. (2001). Nutritional and health benefits of soy proteins. *Journal of Agricultural of Food Chemistry*, 49:1069–1086.

Frontela, C. (2007). Efecto de la adición de fitasa sobre la biodisponibilidad mineral in vitro en papillas infantiles. Tesis Doctoral, Universidad de Murcia, Murcia, España. (N. del T.: En español: [tesis]).

Frontela, C.; García, F.J.; Ros, G. y Martínez, C. (2008). Phytic acid and inositol phosphates in raw flours and infant cereals: The effect of processing. *Journal of Food Composition and Analysis* 21:4, 343-350.

Gaitán, D.; Olivares, G.; Arredondo, M. y Pizarro, A. (2006). Biodisponibilidad de hierro en humanos. *Rev Chil Nutr.*; 33: 142-8.

Galdi, M. y Valencia, ME. (1988) Stability of iron (III) chelates of nutritional interest. *J. Food Sci.* 1988; 53:1844-7.

Gallagher, E.; Gormley, TR. y Arendt, EK. (2003). Crust and crumb characteristic of gluten free breads. *Journal of Food Engineering*, 56: 153–161.

García, B. y Guerra, E. (2010). Cereales y productos derivados. En: Gil A, editor. *Tratado de Nutrición. Tomo II: Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos, Capítulo 5.* Madrid: Editorial Médica panamericana S.A., p. 97-138.

Garrido, J.; Gutiérrez, N.; Núñez, G.; Turbio, J. y Valderrama G. (2002) optimización de las Propiedades Reológicas y Fermentativas de la Harina Mediante la Aplicación Combinada de Enzimas de Última Generación. Departamento de Control de Calidad de harina Vilafranquina, S.A. Cadiz. Primer certamen convocado por la Asociación Cultural y Técnicas de Molineros de España (ACTME) y patrocinado por Apliena.

Gibson, R. (2007). The role of diet- and host-related factors in nutrient bioavailability and thus in nutrientbased dietary requirement estimates. *FNB*. 28(1): S77-S100.

Glahn, RP.; Wortley, GM.; South, PK. y Miller, DD. (2002). Inhibition of iron uptake by phytic acid, tannic acid and ZnCl₂: studies using an in vitro digestion/Caco-2 cell model. *J. Agric. Food Chem.* 50: 390-5.

Gleerup, A.; Rossander, L. y Hallberg, L. (1993). Duration of the inhibitory effect of calcium on non-haem iron absorption in man. *Eur J Clin Nutr.* 1993 ec;47(12):875-9.

Gleerup, A.; Rossander, L.; Gramatkovski, E. y Hallberg, L. (1995). Iron absorption from the whole diet: comparison of the effect of two different distributions of daily calcium intake. *Am J Clin Nutr.* Jan;61(1):97-104.

Gómez, M.; León, AE. y Rosell, CM. (2007). Trigo. En: *De Tales Harinas, Tales Panes: granos, harinas y productos de panificación en Iberoamérica*. Editado por León AE, Rosell CM. Primera edición. Córdoba, Argentina. pp. 17-73.

Gómez, MH. (1985). Development of a food of intermediate moistness from extracts of corn and soybean. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición.* 35 (2):306-314.

González, R. (2005). Biodisponibilidad del hierro. *Rev Costarric Salud Pub.*; 14: 1409-29.

Goodman, G. (1996). *The pharmacological basis of therapeutics*. Pergamon Press Inc. New York. USA.

Grande, F. (1988). *Nutrición y salud: Mitos, peligros y errores de las dietas de adelgazamiento*. Madrid: Editorial Temas de Hoy, S.A.

Gray, J.A. y Bermiller, J. N. (2003). Bread staling: molecular basis and control. *Comprehensive reviews in food science and food safety*.

Guillón, F. y Champ, M. (2002). Carbohydrate fractions of legumes: uses in human nutrition and potential for health. *Br J Nutr*, 88 (Suppl. 3): 293- 306.

Guy, E. (1984). Evaluation of the bread-baking quality and storage stability of 12% soy-for tified wheat flour containing sweet cheese whey solids. *Cereal Chemistry*, 61:83-88.

Hajselová, M. (2003) *Analysing wheat and flour*. Capítulo 9 en *Bread making Improving Quality* Editado por Stanley P. Cauvain. Publicado por Woodhead Publishing Limited, Cambridge, Inglaterra.

Hallberg, L. (1998). Does calcium interfere with iron absorption?. *Am. J. Clin.Nutr* 68:3.

Hallberg, L. (1998). Does calcium interfere with iron absorption? *Am J Clin Nutr*. 68:3–4.

Hallberg, L. y Hulthen, L. (2000). Prediction of dietary iron absorption: an algorithm for calculating absorption and bioavailability of dietary iron. *Am J Clin Nutr*. May;71(5):1147-60.

Hallberg, L., Rossander, L., Brune, M. y Glerup, A. Calcium and iron absorption: mechanism of action and nutritional importance. *Eur J Clin Nutr*. (1992a). May;46(5):317-27.

Hallberg, L.; Brune, M.; Erlandsson, M.; Sandberg, AS. y Rossander, L. (1991). Calcium: effect of different amounts on nonheme- and heme-iron absorption in humans. *Am J Clin Nutr.* Jan;53(1):112-9.

Hallberg, L.; Rossander L.; Brune, M. y Gleeurup, A. (1992 b) Inhibition of haem-iron absorption in man by calcium. *Br J Nutr.* Mar;69(2):533-40.

Hallberg; L.; Rossander, L. y Skanberg AB. (1987). Phytates in the inhibitory effect of bran on iron absorption in man. *Am. J. Clin. Nutr.*, 45:988-996.

Haro, J.; Martínez, C y Ros, G. (2006). Optimisation of in vitro measurement of available iron from different fortificants in citric fruit juices. *Food Chem.* 98: 639-48.

Haro, J.; Martínez, C.; Periago, M^a J y Ros G. (2005) Prevención de la deficiencia en hierro mediante el enriquecimiento de los alimentos. *An Vet. (Murcia).* 21: 7-21.

Hayman, A.; Sipes, K.; Hosney, RC. y Faubion, JM. (1998). Factors controlling gas cell failure in bread dough. *Cereal Chem.*, 69,17.

He, H.; Hosney, RC.; (1992). Factors controlling gas retention in nonheated doughs. *Cereal Chem.* 53, 338.

Hegedüs, M.; Pedersen, B.; Eggum, Bo.; (1985). The influence of milling on the nutritive value of flour from cereal grains. 7. Vitamins and tryptophan. *Qual. Plant Foods Hum, Nutr.*, 35:175-180.

Heimbürger, D. y Weinsier, R. (1997). Gastrointestinal and liver diseases. In: Heimbürger D, Weinsier R, Butterworth C (Comp.), *Handbook of clinical nutrition.* (pp. 425 – 444). Philadelphia, Mosby

Henao, S. y Aristizabal J. (2009). Influencia de la variedad de yuca y nivel de sustitución de harinas compuestas sobre el comportamiento reológico en panificación. Volumen: 29. Colombia.

Hernández, B. (2007). Evaluación de las propiedades fisicoquímicas y reológicas en la producción de harina de trigo galletera en una harinera comercial. Tesis para optar al título de ingeniero de alimentos. México.

Hernández, G. (2010). Libro Blanco del Pan. Madrid, España: Medica Panamericana.

Hernández, G. M.; (1993). Anemia ferropénica. *Medicine*. 10:545-554.

Hernández, O. M. (2008). Uso de α amilasa como inhibidor del envejecimiento del pan de agua producto autóctono de Pamplona (N.de.S). Tesis para optar al título de Magister en ciencia y tecnología de los alimentos. Colombia.

Hernández, O.; Pinzón, M. y Carvajal, T. (2013). Uso de la harina de okara como sustituto parcial de harina de trigo en un pan típico regional. Colombia.

Hoseney, R.C, Rogers, D.E. (1990). The formation and properties of wheat flour doughs. *Food Science and Nutrition* 29 (2): 73-93.

Howitt, C:A.; Tamás, L.; Solomon, R. G.; Gras, P.W.; Morell, M. K.; Békés, F.; y Appels, R. (2003). Modifying flour to improve functionality. Capítulo 11 en *Breadmaking Improving Quality* Editado por Stanley P. Cauvain. Publicado por Wood head Publishing Limited, Cambridge, Inglaterra.

Huebers, H. y Finch, C. (1984). Transferrin: Physiologic behavior and clinical implications. *Blood.*; 64:763-767.

Hurrell, R. y Egli, I. (2010). Iron bioavailability and dietary reference values. *Am J Clin Nutr.*; 91: 1461S-67S.

Hurrell, RF.; Lynch, SR.; Trinidad, TP.; Dassenko, SA. y Cook, JD. (1989). Iron absorption in humans as influenced by bovine milk proteins. *Am. J. Clin. Nutr.* 49:546-52.

Hurrell, RF.; Reddy, M. y Cook, JD. (1999). Inhibition of non-haem iron absorption in man by polyphenolic-containing beverages. *Br. J Nutr.* 81:289-95.

Hurrell, RF.; Reddy, MB.; Juillerat, MA. y Cook, JD. (2003). Degradation of phytic acid in cereal porridges improves iron absorption by human subjects. *Am J Clin Nutr.* 77(5):1213-9.

Instituto Colombiano de Bienestar Familiar (1985). Tabla de composición de alimentos.

Instituto Colombiano de Bienestar Familiar (ICBF). Recomendaciones de consumo diario de calorías y nutrientes para la población colombiana. [Internet]. ICBF. 1998 [citado 2011 abr 15]. Available a partir de: <https://www.icbf.gov.co/icbf/directorio/portel/libreria/php/03.030805.html>.

Jovaní, M.; Alegría, A.; Barberá, R.; Farré, R.; Lagarda, MJ.; y Clemente, G. (2000). Effect of proteins, phytates, ascorbic acid and citric acid on dialysability of calcium, iron zinc and copper in soy-based infant formulas. *Nahrung.* 44(2):114-7.

Kent, N. (1987). "Tecnología de Cereales". Editorial Acribia.S.A, Zaragoza. Pág. 140.

Khatkar, B. S.; Bell, A.E. y Schofield J.D.(1995). The Dynamic Rheological Properties of Glutens and Sub-Fractions from Wheats of Good and Poor bread Making Quality. *Journal of Cereal Science*. 22: 29-44.

Kim, M.; Atallah, MT.; Amarsiwardena, C. y Barnes, R. (1996). Pectin with low molecular weight and high degree of esterification increases absorption of ^{59}Fe in growing rats. *J. Nutr.* 126:1883-90.

Kim, M.; Lee, DT. y Lee, YS. (1995). Iron absorption and intestinal solubility in rats are influenced by dietary proteins. *Nutr. Res.* 15:1705- 1716.

Kim, S.K. y D' Appolonia, B.L. (1977b). Effect of pentosans on dough , bread and bread staling rate. *Bread staling studies III. Cereal Chemistry* 54: 225- 229.

Kimmel, SA.; Sigman, M.; Guinard, J. (1994). Sensory testing with young children. *Food Tech* 4:92-99.

Kroll, B.J. (1990). Evaluating rating scales for sensory testing with children. *Food Technol.* 44(11), 78-80.

Lai, C.; Davis, A. y Hosney, R. (1989). Production of Whole Wheat Bread with Good Loaf Volume. *Cereal Chemistry* 66:224-246.

Lallemand B.U. (2009). "Calidad de las harinas. Cómo la Harina Afecta la Calidad del Pan" Volumen 1/Número 17. Disponible en: www.lallemandmexico.com/pdf/LBU-01-17.pdf.

Larsson, M.; Rossander, L.; Sandstrom, B. y Sandsberg, AS. (1996). Improved zinc and iron absorption from breakfast meals containing malted oats with reduced phytate content. *Br. J. Nutr.* 76:677-88.

Lee, M.R.; Swanson, B.G. y Baik, B.K. (2001). Influence of amylose content on properties of wheat starch and breadmaking quality of starch and gluten blends. *Cereal Chemistry* 78 (6):701-706.

Lehninger, A.; Nelson, D. y Cox, M. (1995). *Principles of biochemistry*. Worth Publishers, Inc. New York. USA.

León, A.E. y Rosell, C.M. (2007). *De tales harinas tales panes: granos, harinas y productos de panificación en iberoamerica*. Cordoba Argentina.

León, M. y Villacorta, M. (2010). Valor nutritivo de pan con sustitución parcial de harina de trigo (*Triticum aestivum*) por arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft), fortificado. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*; 1 (2): 244-261.

Levrat, M.A.; Coudray, C.; Bellanguer, J.; Lopez, HW.; Demigné, C.; Rayssiguier Y, et al. (1999). Wholewheat flour ensures higher mineral absorption and bioavailability than white wheat flour in rats. *Br. J. Nutr.* 82:17-21.

Liem; DG. y Mennella, JA. (2003). Heightened sour preferences during childhood. *Chem Senses*. 28: 173-80.

Lindsay, H.A. (2002). Advantages and Limitations of Iron Amino Acid Chelates as iron Fortificants. *Nutrition Reviews*. 60(7):S18–S21.

López, C. (2010). Cuestiones frecuentes que el consumidor plantea sobre el pan. En Gil A, Serra L, editores. *El libro blanco del pan*. Madrid: Editorial Médica Panamericana, p. 191-202.

Lorimer, N.; Zabik, ME.; Harte, JB.; Stchiw, NC. y Uebersax MA. (1991). Effect of navy bean protein flour and bean globulins on composite flour rheology, chemical bonding and microstructure. *Cereal Chemistry*, 68: 213-220.

Lucarini, M.; Di Lullo, G.; Cappelloni, M.; Lombardi, G. (2000). In vitro estimation of iron and zinc dialysability from vegetables and composite dishes commonly consumed in Italy: effect of red wine. *Food Chem.* 70:39-44.

Lusas, EW. y Riaz, MN. (1995). Soy Protein Products: Processing and Use. *The Journal of Nutrition* 125(3S): 573S-580S.

Lutter, CK. y Dewey, KG. (2003). Proposed Nutrient Composition for Fortified Complementary Foods. *Journal of Nutrition* 133: 3011S-3020S.

Margen, S. y King, J. (1975). Effect of oral contraceptive agents on the metabolism of some trace minerals. *Am J Clin Nutr.*;28:392-402.

Martinez C, Ros G, Periago M y López G. (1999). Biodisponibilidad del hierro de los alimentos. *Arch Latinoamer Nutr.* 49: 106-13.

Martinez, C., Fox, T., Eagles, J., Fairweather-Tait, S. (1998). Evaluation of iron bioavailability in infant weaning foods fortified with haem concentrate. *J. Ped. Gastroent. Nutr.* 27: 419-424.

Martínez, R. y Fernández, A. (2007). Impacto social y económico de la desnutrición infantil en Centroamérica y República Dominicana. Cepal, PMA. Naciones Unidas, julio. Santiago de Chile.

Martins, Á.S. (2007). Adaptación de la escala hedónica facial para medir preferencias alimentarias de alumnos de pre-escolar. Faculdade de Nutrição, CCV Pontifícia Universidade Católica de Campinas.

Martorell, R. (1999). The nature of child malnutrition and its long-term implications. *Food Nutr Bull.* (3):288–92.

Mataix, J. y Mariné, A. (2002). Cereales y derivados y otros elementos hidrocarbonados. En: Mataix J, editor. *Nutrición y Alimentación humana*. 1ª Edición. Madrid: Ergon, p. 273-290.

Matos, A. y Muñoz, K. (2010). Elaboración de pan con sustitución parcial de harina pre cocida de ñuña (*Phaseoleus vulgaris* L.) y tarwi (*Lupinus mutabilis*). *Revista de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 1(1):31-35.

Matz, S.A. (1996). *Ingredients for Bakers*. Ed. Pan-Tech.International, Texas.

Mecham, D.; Hanamoto, M.; Bean, M.; Fellers, D. y Guadagni, D. (1976). Soy–fortified wheatflour blends. III. Storage stability of ingredients and incomplete blends. *Cereal Chemistry*, 53:405-412.

Meilgaard, M. Civille, G.V. y Carr, T. (2007). *Sensory evaluation techniques*. IVrd edition. Taylor and Francis eds. 448 pg.

Méndez, R.; Bueno, K.; Campos, N.; López, D.; Wyatt, C. y Ortega M. (2005). Contenido total y disponibilidad in vitro de hierro y zinc en alimentos de mayor consumo en Sonora y Oaxaca, México. *Arch Latinoamer Nutr*. 55: 187-93.

Mendoza, D.; Palacios, F. (2013). Elaboración y valoración del hierro en el pan enriquecido con harina de quinua (*Chenopodium quinoa w.*) y soja (*Glycine max*). Revista científica ciencias de la salud 6: 6 59-67.

Menegazo, L. (2002). Formulación y aceptabilidad de alimentos gratificantes de alto valor nutritivo para niños hospitalizados. Universidad Francisco Marroquín. Tesis para optar al título de licenciada en nutrición Clínica.

Mesas, J. M. y Alegre, M. T. (2002). El pan y su proceso de elaboración Ciencia y Tecnología Alimentaria, vol. 3, núm. pp. 307-313 Sociedad Mexicana de Nutrición y Tecnología de Alimentos. Reynosa, México.

Messina M.J. (1999). Legumes and soybeans: overview of their nutritional profile and health effects. American Journal of Clinical Nutrition. 70:439-450.

Milde, L.B.; Ramallo, L.A. y Puppo, M.C. (2012). Gluten-free Bread Based on Tapioca Starch: Texture and Sensory Studies. Food and Bioprocess Technology, vol. 5, pp.888-896

Miller, D.; Schiricker, B.; Rasmussen, B. y Van Campen, D. (1981). An in Vitro Method for Estimation of Iron Availability from Meals. American Journal of Clinical Nutrition (34): 2248-2256.

Minihane, AM. y Fairweather, S.J. (1998). Effect of calcium supplementation on daily nonheme-iron absorption and long-term iron status. Am J Clin Nutr. Jul;68(1):96-102.

Miralbés, C. (2000). Enzimas en Panadería. Ed. Montagud, Barcelona.

Miralbes, C. (2003). Prediction Chemical Composition and Alveograph parameters on wheat by Near-infrared Transmittance Spectroscopy. *Journal Agric. Food Chemistry*, 51 (21), 6335-6339.

Mitchikpe, ECS.; Dossa, RAM.; Ategbo, EA.; Van R. JMA.; Hulshof, PJM. y Kok, FJ. (2008). The supply of bioavailable iron and zinc may be affected by phytate in Beninese children *Journal of Food Composition and Analysis* 21 (1):17-25.

Moiraghi, M.; P.D. RIBOTTA, A. AGUIRRE, G.T.PEREZ and A.E. LEON 2005. "Study of hard wheat flour quality in cookie and sponge cake elaboration". *Agrisciencia XXII* (2): 47-54

Moiraghi, M.; P.D. Ribotta, A.; Aguirre, G.T.; Perez A. y León E. (2005). "Study of hard wheat flour quality in cookie and sponge cake elaboration". *Agrisciencia XXII* (2): 47-54.

Mondal, A. y Datta, AK. (2007). Bread baking – a review. *Journal of Food Engineering*. 86:465-474.

Monsen, ER.; Cook, JO. (1976). Food iron absorption in human subjects. IV. The effects of calcium and phosphate salts on the absorption of nonheme iron. *Am J Clin Nutr* 29: 1142-1148.

Montoya, J. (2010). Estudio de la incidencia de incorporación de masa de papa variedad superchola (*solanum tuberosum*), como sustituto parcial de harina de trigo (*triticum spp*) en el proceso de elaboración de pan.

Montoya, J.; Giraldo, G. y Cárdenas, C. (2012). Determinación del efecto del procesamiento de panificación de la harina de trigo en la concentración de vitaminas y minerales. *Sinapsis* 4 (4): 228-240.

Moreira, T.; Pirozi, R.; Borges, S. y Duke, U. (2007). Elaboração de pão de sal utilizando farinha mista de trigo e linhaça. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, 18(2), 141-150.

Moya, A.; Sevilla A. SJSJS. (2008). Estudio comparativo de hierro aminoquelado Vs sulfato ferroso más ácido fólico en el tratamiento de la anemia ferropénica en el embarazo. *Revista Médica de los Post Grados de Medicina UNAH*. 2008 abr;11(1):42–9.

Nicklas, TA.; Baranowski, T.; Baranowski, JC.; Cullen, K.; Rittenberry, L.; Olvera, N. (2001). Family and child-care provider influences on preschool children's fruit, juice, and vegetable consumption. *Nutr Rev* 2001; 59:224-35

Norma técnica Colombiana NTC 4132 (1997). Microbiología. Guía general para el recuento de Mohos y Levaduras. Técnica de recuento de Colonias a 25°C. (ICONTEC). Bogotá.

Norma técnica Colombiana NTC 4458 (1998). Microbiología de alimentos y alimentos para animales. Guía general para el recuento de coliformes. Técnica de recuento de Colonias. (ICONTEC). Bogotá.

Norma Técnica Colombiana NTC 1363 (2005). Pan requisitos generales. Instituto Técnico Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC). Bogotá.

Norma Técnica Colombiana NTC 267 (2007). Harina de trigo. Instituto Técnico Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC). Bogotá.

O'Donnell, A.; Viteri, F.; Carmuega, E. (1997). Deficiencia de Hierro, desnutrición oculta en América Latina. CESNI. Centro de Estudios Sobre Alimentación Infantil.

Ohta A.; Ohtsuki, M.; Baba, S.; Takizawa, T.; Adachi, T. y Kimura, S. (1994). Effects of fructooligosaccharides on the absorption of iron, calcium and magnesium in irondeficient rats. *J Nutr Sci Vitaminol.* 41:281-291.

Olivares, M.; Pizarro, F. y Ruz M. Zinc inhibits nonheme iron bioavailability in humans. *Biol Trace Elem Res.* 2007 Summer;117(1-3):7-14.

Olivares, M.; Pizarro, F.; Gaitán, D. y Ruz, M. (2007). Acute inhibition of iron absorption by zinc. *Nutrition Research.* 27(5):279-82.

Olivares, M.; Pizarro, F.; Pineda, O.; Name, J.; Hertrampf, E. y Walter, T. (1997). Milk Inhibits and Ascorbic Acid Favors Ferrous Bis-Glycine Chelate Bioavailability in Humans. *J. Nutr.* jul;127(7):1407–11.

Oliveira, M.I. (2001). *Anemia en crianças e adolescentes.* Brasil: Sociedade Pareense De Pediatria.

Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura. FAO. (1996). *Food Fortification: Technology and Quality Control.* Report of an FAO Technical Meeting, Rome, 20-23 November 1995. FAO Food and Nutrition Paper. Rome: FAO.

Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura. FAO. (1996). *Declaración de Roma sobre la Seguridad Alimentaria Mundial.* Retrieved Nov 09, 2012, from En línea. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/003/w3613s/w3613s00.htm>

Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura. FAO. (2012). *Nuevo informe sobre el hambre: casi 870 millones de personas sufren*

subnutrición crónica en el mundo, FAO. Retrieved from <http://www.fao.org/news/story/es/item/161867/icode/>

Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura. FAO, WFP and IFAD. (2012). The State of Food Insecurity in the World 2012. Economic growth is necessary but not sufficient to accelerate reduction of hunger and malnutrition. Rome, FAO

Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura FAO/PMA. (2010). El estado de la inseguridad alimentaria en el mundo: La inseguridad alimentaria en crisis prolongadas.

Organizacion mundial de la salud/organizacion panamericana de la salud WHO/PAHO (2001). Country Health Profile. Health Situation Analysis Updates 2001.

Organizacion mundial de la salud / Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia, organizacion de las naciones unidas. WHO/UNICEF/UNU. (2001). Iron Deficiency Anaemia, Assessment, Prevention, and Control. WHO, Geneva.

Organizacion mundial de la salud WHO (2004). Conclusions of an Informal Meeting on Infant and Young Child Feeding organized by the World Health Organization, Ginebra, marzo 8-10, 2004 Food and Nutrition Bulletin 5(4):403-406.
WHO. (1999). International Programme on Chemical Safety. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Fifty-third meeting, Rome, 1-10 June. Additives and Contaminants.

Organizacion mundial de la salud WHO. (2010). Intake Monitorinh, Assessment and Planning Prrogram (IMAPP); meeting report. Geneva, World Health

Organization. En línea. Disponible en: <http://www.who.int/nutrition/publications/micronutrients/9789241599603.pdf>, accessed.

Organización Panamericana de la Salud. OPS. (2002). Compuestos de hierro para la fortificación de alimentos: Guías para América Latina y el Caribe, Washington DC, 1-18.

Oropeza, E. y Ortiz, LB. (1989) Evaluación nutrimental de la proteína del grano de seis cultivares de maíz (*Zea mays* L.). Revista Facultad de Agronomía. 15:225-234.

Ortega, R.M. (2010). Composición y valor nutricional del pan. En Gil A, Serra LI, editores. El libro blanco del pan. Madrid: Editorial Médica Panamericana, p. 79-94.

Ortega, R.M.; López, A.M.; Andrés P.; Requejo, A.M. y Molinero, L.M. (2009). Programa DIAL para valoración de dietas y cálculos de alimentación. Departamento de Nutrición (UCM) y Alce Ingeniería, S.A. Madrid. Disponible en: <http://www.alceingenieria.net/nutricion.htm>.

Osuna, M.; Avallone, C.; Montenegro, S. y Aztarbe M. (2006). Elaboración de pan fortificado con ácidos grasos Omegas 3 y 6. Universidad Nacional del Nordeste, Argentina. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. Resumen: T-094. http://www.unne.edu.ar/Web/cyt/cyt_2006/07-Tecnologicas/2006-T-094.pdf.

Páez, J. (1970). Situación actual de las mezclas vegetales en Colombia. In: Béhar M, Bressani R, eds. Recursos Proteínicos en América Latina. Guatemala City: INCAP, 493–503.

PAHO. (2002). La salud en las Américas, edición. Washington, D.C.: p.12-3.

Paliwal, R. (2009). Usos del Maiz disponible. PAN (2009). Planta productora de leche de soya. Disponible en <http://www.comitepan.org/v2/proyectos/productivos.html> (en linea) 10 de octubre.

Parada, J.; Aguilera, JM. (2007). Food microstructure affects the bioavailability of several nutrients. *J Food Sci.* 2007; 7: R21-R32.

Pascual, G.; Zapata, J. (2010). Sustitución parcial de harina de trigo por harina de kiwicha *triticum aestivum*. *amaranthus caudatus* L., usando el método directo y esponjaya masa, en la elaboración de pan.

Pasmio, S. (1982). Evaluación de mezclas de harinas de trigo de trigo ecuatoriano e importado para panificación. Tesis previa a la obtención de título de ingeniero de alimentos. FCIAL. UTA Ambato Ecuador. Pag 6-26, 32-68

Pateras, I. (1998). Bread spoilage and staling (pp 240-261). En *Technology of Breadmaking*. Eds S P Cauvain y L S Young, London, Blackie Academic & Professional.

Pelletier, D.L.; Frongillo, E.A.; Jr, Schroeder; D.G. y Habicht, J.P. (1995). The effects of malnutrition on child mortality in developing countries. *Bulletin of the World Health Organization* 73 (4): 443-448.

Perales, S.; Barberá, R.; Lagarda, M. y Farré, R. (2005). Bioavailability of Calcium from Milk-Based Formulas and Fruit Juices Containing Milk and Cereals Estimated by in Vitro Methods (Solubility, Dialyzability, and Uptake and Transport by Caco-2 Cells). *J Agric Food Chem.* 53: 3721-26.

Pérez, A.P.; García, R.D. (2013). Evaluación Del Comportamiento Reológico De Dos Muestras De Harina De Trigo (*Triticum Aestivum* L) Acondicionada Con

Mezcla De Fibras Comerciales. Tesis de grado para optar al título de ingeniero de alimentos. Pag 67. Colombia.

Pietrangelo, A.; Casalgrandi, G.; Quaglino, D.; Gualdi, R.; Conte, D.; Milani, S.; Montosi, G.; Cesarini, L.; Ventura, E. y Cairo, G. (1995). Duodenal ferritin synthesis in genetic hemochromatosis. *Gastroenterology*. 108:208-217.

Pietrangelo, A.; Rocchi, E.; Casalgrandi, G.; Rigo, G.; Ferrari, A.; Pirini, M., Ventura, E. y Cairo, G. (1992). Regulation of transferrin, transferrin receptor, and ferritin genes in human duodenum. *Gastroenterology*. 102:802-809.

Plan Nacional de Desarrollo Colombia 2010-2014

Pointillart, A.; y Gueguen, L. (1992). Influence des fibres alimentaires sur la biodisponibilité des minéraux. *Bana*; 8: 157-82.

Pomeranz, Y.; Shogren, M.; Finney, K.; (1969). Improving bread making properties with glycolipids. I. Improving soy products with sucroesters. *Cereal Chemistry*, 46:503-511.

Pylar E.J. (1988). *Baking Science and Technology*. 3ª ed. Kansas City: Sosland Publishing Co.

Quaglia, G. (1991). *Ciencia y tecnología de la panificación*. Editorial Acribia. Zaragoza (España). 181, 387p.

Raffin, S.; Woo, C.; Roost, K.; Price, D. y Schmid R. (1974). Intestinal absorption of hemoglobin hemo iron cleavage by mucosal hemo oxygenase. *J Clin Invest*; 54:1344-1352.

Reddy, M.B.; Hurrell, R.F. y Cook, J.D. (2006). Meat consumption in a varied diet marginally influences nonheme iron absorption in normal individuals. *J. Nutr.* 136:576-581.

Reinhold, J.G.; Faradji, R.; Abadi, P. y Ismail B.F. (1976). Decreased absorption of calcium, magnesium, zinc, and phosphorus by humans due to increased fiber and phosphorus consumption as wheat bread. *J Nutr*; 106: 493-503.

Renkema, JMS.; (2001). Formation, structure and rheological properties of soy protein gels. Ph. D. thesis, Wageningen University, The Netherlands.

Resolución 2121 de 2010. Nuevos patrones de crecimiento. Colombia

Resolución 333. (2011). Colombia.

Reyes, M.; Palomo, P. y Bressani, R. (2004). Desarrollo de un producto de panificación apto para el adulto mayor a base de harina de trigo y harina de arroz. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 54(3):314-321.

Reynoso, Z. y Lastarria, S. (1994). "Panificación Básica". Publicación N°01/94. Programación de investigación en alimento – UNA La Molina. Lima – Perú.

Ribotta, P. D. y Tandini C. C. (2009). Alternativas tecnológicas para la elaboración y conservación de los productos panificados. Editorial universidad Nacional de Córdoba. Pág. 151.

Ribotta, P.D.; Arnulphi, S.A.; León, A.E. y Añón M.C. (2005). Effect of soybean addition on the rheological properties and breadmaking quality of wheat flour. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85:1889-1896.

Ribotta, PD.; Ausar, S.; Morcillo, M.; Pérez, GT. y Beltramo, DM. y León, AE. (2004). Production of gluten free bread using soybean flour. *J Sci Food Agric*, 84: 1969-1974.

Richardson, D. (1999). Role of ceruloplasmin and ascorbate in cellular iron release. *J Lab Clin Med*. 134:454-465.

Rodríguez, J.; Beltrame, S. C.; Maciero, M.; Grotto, P.; Cervejeira, B.; y Godoy, E. D. (2011). Avaliação da composição e dos parâmetros tecnológicos de farinhas produzidas a partir de subprodutos agroindustriais. *Revista Tecnológica, Edição Especial V Simpósio de Engenharia, Ciencia y tecnología de Alimentos*, 21-28

Rosell, C., Marco, C., Garcia-Alvarez J., y Salazar J. (2009). "Rheological properties of rice-soybean protein composite flours assessed by mixolab and ultrasound" *Journal of Food Process Engineering*. DOI:10.1111/j.1745-4530.

Rosenmund, A.; Gerber, S.; Huebers, H. y Finch, C. (1980). Regulation of iron absorption and storage iron turnover. *Blood*. 56:30-37.

Rossander, L.; Brune, M.; Sandstrom, B.; Lonnerdal, B. y Hallberg, L. (1991). Competitive inhibition of iron absorption by manganese and zinc in humans. *Am J Clin Nutr*. 54(1):152-6.

Rossander-Hulten L, Brune M, Sandstrom B, Lonnerdal B, Hallberg L. (1991). Competitive inhibition of iron absorption by manganese and zinc in humans. *Am J Clin Nutr*. Jul;54(1):152-6.

Rueda, W. R. (1982). Experiencia colombiana en la producción y el consumo de mezclas vegetales para la alimentación infantil. In: Bacigalupo A, Linn O, eds.

Ruiz de Lope, C.; García, V. R.J.; García-Villanova R. (2002). Estudio del contenido en Sánchez, H.; Osella, C. y De La Torre, M. Optimization of Gluten-Free Bread Prepared from Cornstarch, Rice Flour, and Cassava Starch. *Journal of Food Science*, vol. 67, no. 1, pp. 416-419.

Ryan K, Homco-Ryan CL, Jenson J, Robbins K.L, Prestat C, Brewer M. 2002. Lipid extraction process on texturized soy flour and wheat gluten protein-protein interactions in a dough matrix. *Cereal Chemistry*, 79:434-438.

Sabanis D. and Tzia C. (2009).” Effect of rice, corn and soy flour addition on characteristics of bread produced from different wheat cultivars.” *Food and Bioprocess Technology* 2 (1): 68-79.

Sandstrom, B. (2001). Micronutrient interactions: effects on absorption and bioavailability . *Br. J. Nutr.* 85 (suppl. 2): S181-S185.

Sanz, N.; Sanz, J.M. y Haros, M. (2011). Desarrollo de panes especiales con harina integral de amaranto.

Sayers, M.; English, G. y Finch, C. (1994). Capacity of the store-regulator in maintaining iron balance. *Am J Hematol.* 47:194-197.

Scade, J. (1985). *Cereales*. Editorial Acribia. Zaragoza. España.

Schmiele, M.; Hackbart Da Silva, L.; Pinto Da Costa, P. F.; Da Silva, R. y Chang, Y. K. (2011). Influência da adição de farinha integral de aveia, flocos de aveia e isolado proteico de soja na qualidade tecnológica de bolo inglês. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 29(1), 71-82.

Schober, T.J.; Bean, S.R.; Boyle, DL. y Park, S,H. (2008). Improved viscoelastic zein–starch doughs for leavened gluten–free breads: their rheology and microstrucutre. *Journal of Cereal Science*, 48: 755–767.

Sciarini; L.; Ribotta, P.; León, A. y Pérez, G.T. (2008). Influence of gluten-free flours and their mixtures on batter properties and bread quality. *Food Bioprocess Technol.* DOI 10.1007/s11947-0080098-2.

Serna, O.S. (1996). *Química, almacenamiento e industrialización de los cereales*. Ed, Editar, Mexico DF. Pp 30-85.

Sharma, KK. (2003). Improving bioavaibility of iron in Indian diets through food-based approaches for the control of iron deficiency anemia. *Revista Alimentación, Nutrición y Agricultura*. 2003;32:51-61.

Shewry, PR.; Tatham, AS.; Forde, J.; Kreis, M. y Mifflin, BJ. (1986). The classification and nomenclature of wheat gluten proteins: A reassessment. *Journal of Cereal Science*, 4: 97–106.

Shibanuma, K.; Takeda, Y.; Hizukuri, S. y Shibata, S. (1994). Molecular-structures of some wheat starches. *Carbohydrate Polymers* 25: 111–116

Skikne. B.; Lynch, S.; Cook, J. (1981). Role of gastric acid in food iron absorption. *Gastroenterology*. 81:1068-1071.

Slavin, J.L., (2003). Impact of the proposed definition of dietary fiber on nutrient databases. *J Food Comp Anal*, 16:287-291.

Sroan, B.S, Bean, S.R., MacRitchie, F. (2009). Mechanism of gas cell stabilization in bread making. I. The primary gluten–starch matrix. *Journal of Cereal Science* 49: 32– 40.

Stauffer, C.E. (2004). Beneficial soy. Baking Snack. pp. 26, 51.

Stauffer, C. (1998). Fundamentos de formación de la masa (pp. 309-347). En Fabricación de pan editado por Cauvain, S. y Young, L. Acribia, Zaragoza.

Steinke, FH.; (1992). Nutritional value of soybean protein foods. En Waggle DH, Steinke HA, editors. New protein foods on human health: nutrition, prevention and therapy. Boca Raton, FL: CRC Press. Pág 59-66.

Stone, H. and Sidel. J.L. (1985). Sensory Evaluation Practices, pp. 13-19. Academic Press Inc. Boca Raton, Orlando. EEUU.

Surco, J. C. y Alvarado, J. A. (2010). Harinas Compuestas De Sorgo-Trigo Para Panificación. Revista Bolivariana de química, 27(1), 19-28.

Técnico Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC). Bogotá.

Tejero, F. (1992-1995). Panadería Española (2Vol). Editorial Montagud, Barcelona, España.

Tolstoguzov, V. (1997). Thermodynamic aspects of dough formation and functionality. FoodHydrocolloids 11(2): 193-197.

Torre M, Rodríguez AR, Saura-Calixto F. (1991). Effects of dietary fiber and phytic acid on mineral availability. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 1:1-22

Torres, E.; Pacheco, D. E., (2007). Evaluación nutricional, física y sensorial de panes de trigo, yuca y queso llanero. Rev Chil Nutr., 34(2), p 133-141.

Uauy, R. y Castillo, C. (2002). Lipid requirements of infants: implications for nutrient composition of fortified complementary foods. J Nutr. 133(9):2962S-72S.

UNICEF (2006). Análisis de situación de los alimentos complementarios fortificados para la niñez entre 6 y 36 meses de edad. En la región de América latina y el Caribe

Urbanowski, J. y Piper, R. (1999). The iron transporter Fth1p forms a complex with the Fet5 iron oxidase and resides on the vacuolar membrane. *J Biol Chem.* 274:38061- 38070.

Uzel, C.; Conrad, M. (1998). Absorption of heme iron. *Sem Hematol.* 35:27-34.
Van Dukkum W (1992) Significance of iron availability for iron recommendation. *Biol. Trace Elem. Res.* 35:1-11.

Van, Dyck. K.; Tas, S., Robberecht, H., Deelstra, H. (1996). The influence of different food components on the in vitro availability of iron, zinc and calcium from a composed meal. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 47:499-506.

Veraverbeke, W. S.; Verbruggen, I.M. y Delcour, J.A. (1998) Effects of increase High Molecular Weight Glutenini Subunits Content of Flour on Dough Mixing Behavior and Breadmaking. *Journal Agric.Food Chemistry* (46) 4830-4835.

Viadel , C. B. (2002). Biodisponibilidad de calcio, hierro y zinc en leguminosas mediante ensayos in vitro con cultivos celulares. Tesis Doctoral. Universidad de Valencia.

Wandel, M.; y Bugge, A. (1987). Environmental concern in consumer evaluation of food quality. *Food Quality and Preference*, 8(1): 19-26.

Wardle J, Herrera ML, Cooke L, Gibson EL. Modifying children's food preferences: the effects of exposure and reward on acceptance of an unfamiliar vegetable. *Eur J Clin Nutr* 2001; 57:341-8.

Wessling, R. M. (1999). Biochemistry of iron uptake. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 34:285-314.

West, DW. (1986). Structure and function of the phosphopyrilated residues of casein. *J. Dairy Sci.* 53: 333-52.

Wheat Marketing Center, wheat and flour testing methods: (2008). A guide to understanding wheat and flour quality, Version 2, Kansas State University.

Whittaker, P. (1998). Iron and zinc interactions in humans. *Am J Clin Nutr.* 68 Suppl 2:S442-6.

Whittaker, P.; Skikne, B.; Covell, A.; Flowers, C.; Cooke, A.; Lynch, S. y Cook, J. (1989). Duodenal iron proteins in idiopathic hemochromatosis. *J Clin Invest.* 261-267.

Wienk, KJ.; Marx, JJ. y Beynen, AC. (1999). The concept of iron bioavailability and its assessment. *Eur. J. Nutr.* 38:51-75.

Williams, CL. (1995). Importance of dietary fiber in childhood. *J Am Diet Assoc* (10): 1140-1149

Wolfgor, R.; Drago, S.; Rodríguez, V. *et al.* (2002). In vitro measurement of availability of fortification iron. *Food Res Int* 35:85-90.

Wood, R.J. y Han, O. (1998). Recently identified molecular aspects of intestinal iron absorption. *J. Nutr.* 128, 1841-1844.

World Health Organization. (1992). The prevalence of anaemia in women: a tabulation of available information. Ginebra: OMS, (OMS/MCH/MSM/92.2).

Xiujin, Z.; Jinquan, S.; y Zaigui. L.(2007). Effects of DATEM on Dough Rheological Characteristics and Qualities of CSB and Bread. *Cereal Chemistry*, 84(2):181–185.

Young, VR. (1991). Soy protein in relation to human protein and amino acid nutrition. *Journal of American Diet Association*. 91 (7):828-835.

Zimmermann, M.B.; Winichagoon, P.; y Col. (2005). Comparison of efficacy of wheat-based snacks fortified with ferrous sulfate, electrolytic iron, or hydrogen-reduced elemental iron: randomized, double-blind, controlled trial in Thai women. *Am. J. Clin. Nutr.* 82: 1276-1282.

Zimmermann, M.B.; Biebinger, R.; Egli, I.; Zeder, C. y Hurrell, RF. (2010). Iron deficiency up-regulates iron absorption from ferrous sulphate but not ferric pyrophosphate and consequently food fortification with ferrous sulphate has relatively greater efficacy in iron-deficient individuals. *Br J Nutr.* Dec 17:1-6