

Evaluación de la bioaccesibilidad *in vitro* de diferentes formas de hierro en coladas a base de
harina de plátano

Andrés Felipe Vera Anteliz y Jose Andrés Serna Quintero

Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero Químico

Directora:

Viviana Sánchez Torres

Ph. D. Ingeniería Química

Codirectora:

Oliva Yineth Páez Madariaga

Ing. Química

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ingenierías Físicoquímicas

Escuela de Ingeniería Química

Bucaramanga

2024

Dedicatoria

Dedico este trabajo de grado y mi título de ingeniero químico a mis padres José de la Cruz Vera Lizarazo y Olga Teresa Anteliz Beltrán y a mi hermana Andrea Carolina Vera Anteliz que me apoyaron en todos los momentos de mi carrera, dándome su comprensión y escucha siempre que los necesite, de igual manera por ser modelos grandes para seguir.

También les dedico este logro a mis compañeros que me acompañaron durante toda mi formación, de manera especial a mi compañero de trabajo de grado, a Lida Mercedes Calderón Mejía y a Juliana Andrea Larrota Ibarguen, por acompañarme durante este proceso de finalización de mi carrera.

Andrés Felipe Vera Anteliz.

A mi abuela, María Urcelina Quiñonez Ballesteros por ser mi mayor referente de alegría.

A mis padres, Nancy Quintero Quiñonez y Jose Bernardo Serna por los valores que me han inculcado y su apoyo fundamental.

A mi hermana, Ginary Quintero Quiñonez por enseñarme lo que es el amor puro, incondicional y desinteresado.

A mis compañeros durante la carrera los cuales hicieron de este arduo proceso algo lindo y llevadero, en especial a mi compañero de grado y amigo Andrés Felipe Vera por su apoyo, motivación y entendimiento en todos los problemas.

Por último, a la familia que me deja la universidad: Paulina, Laura, Andrés, Valentina y David, los cuales me motivaron siempre a seguir adelante y me hicieron sonreír con sus ocurrencias.

Jose Andrés Serna Quintero

Agradecimientos

A nuestra directora, Viviana Sánchez Torres por su disposición y consejos los cuales fueron parte fundamental para garantizar una apropiada ejecución, comprensión y culminación de nuestro proyecto de grado.

A nuestra codirectora, Oliva Yineth Páez por asesoría y recomendaciones en la parte experimental y a su vez por su acompañamiento constante en el proceso de ejecución del proyecto de grado.

Al profesor, Luis Javier López Giraldo por su orientación frente a los problemas que surgieron durante el proyecto de grado.

Al profesor, Arley René Villamizar por sus consejos y su apoyo en la ejecución del proyecto.

Al Grupo de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos CICTA por la gestión y el apoyo brindado en el desarrollo de este trabajo de grado.

Tabla de contenido

	Pág.
Introducción	1
1. Objetivos.....	3
1.1. Objetivo general.....	3
1.2. Objetivos específicos	3
2. Marco conceptual	4
2.1. Fortificación.....	4
2.1.1. Harina de plátano	4
2.2. Tipos de hierro	5
2.2.1. Hierro hemo	5
2.2.2. Hierro no hemo	6
2.3. Digestión <i>in vitro</i>	7
2.3.1. Simulación de partes que conforman el sistema digestivo	8
2.4. Bioaccesibilidad.....	9
3. Estado del arte	10
3.1. Bioaccesibilidad del hierro en alimentos	10
3.2. Digestión <i>in vitro</i> para diferentes alimentos	11
4. Metodología.....	12
4.1. Formulación de la colada.....	12

4.2. Pruebas organolépticas.....	14
4.2.1. Condiciones de la muestra	15
4.2.2. Modo de entrega	15
4.2.3. Método de testeo	16
4.3. Pruebas de caracterización fisicoquímica	16
4.3.1. Prueba bromatológica	16
4.3.2. Prueba de pH.....	17
4.3.3. Prueba de absorción de agua.....	17
4.3.4. Prueba de solubilidad y capacidad de hinchamiento	17
4.3.5. Densidad a granel suelta y empaquetada.	18
4.3.6. Análisis estadístico.....	18
4.3.7. Viscosidad.....	19
4.4. Digestión <i>in vitro</i>	19
4.4.1. Preparación de las soluciones	19
4.4.2. Fase oral	20
4.4.3. Fase gástrica.....	20
4.4.4. Fase intestinal.....	20
4.5. Determinación de hierro	20
5. Resultados.....	21
5.1. Pruebas sensoriales	21

5.1.1. Colada sin fortificar	21
5.1.2. Colada fortificada con sulfato ferroso.....	23
5.1.3. Colada fortificada con hierro hemo	23
5.2. Caracterización fisicoquímica.....	24
5.2.1. Prueba bromatológica	24
5.2.2. Prueba de pH.....	25
5.2.3. Prueba de absorción de agua (CAA).....	26
5.2.4. Prueba de solubilidad (%S) y capacidad de hinchamiento (SP).....	27
5.2.5. Densidad a granel suelta (DS) y empaquetada (DE).	28
5.2.6. Viscosidad.....	29
5.3. Determinación de hierro	30
6. Conclusiones.....	33
7. Recomendaciones	33
Referencias.....	35
Apéndices.....	44

Lista de tablas

Tabla 1. Tipos de fortificación.....	4
Tabla 2. Metodología para los diferentes alimentos	11
Tabla 3. Formulación de la harina de colada para un litro de leche	13
Tabla 4. Requisitos para la harina de plátano	16
Tabla 5. Normatividad y métodos utilizados para la prueba bromatológica	17
Tabla 6. Resultados de las pruebas afectivas para las coladas sin fortificar.....	22
Tabla 7. Resultados de las pruebas afectivas para las coladas fortificadas con sulfato.....	23
Tabla 8. Resultados de las pruebas afectivas para las coladas fortificadas con hierro hemo	23
Tabla 9. Análisis bromatológico de la formulación.....	25
Tabla 10. Resultados de pH	25
Tabla 11. Absorción de agua	26
Tabla 12. Prueba de solubilidad y capacidad de hinchamiento	27
Tabla 13. Densidad a granel suelta y empaquetada	28
Tabla 14. Comparación de los datos teóricos y experimentales	31
Tabla 15. Determinación de hierro	31

Lista de figuras

Figura 1. Etapas de la metodología del proyecto	12
Figura 2. Esquema del balance de masa para el hierro	13
Figura 3. Viscosidad vs velocidad de deformación	29

Lista de Apéndices

	Pág.
Apéndice A. Balances de masa.....	44
Apéndice B. Encuestas.....	49
Apéndice C. Análisis estadístico.....	52
Apéndice D. Protocolo de digestión <i>in vitro</i>	55
Apéndice E. Prueba de Kramer.....	61

Resumen

Título: Evaluación de la bioaccesibilidad *in vitro* de diferentes formas de hierro en coladas a base de harina de plátano*

Autor: Andrés Felipe Vera Anteliz, Jose Andrés Serna Quintero**

Palabras clave: Fortificación de alimentos, digestión *in vitro*, pruebas organolépticas, hierro, bioaccesibilidad, coladas.

Descripción: Actualmente la deficiencia de hierro en niños menores de 5 años ha generado una preocupación a nivel nacional. Al tener en cuenta la población objetivo, se identificó que la colada es un alimento de consumo común para ellos, siendo este el alimento a fortificar. Considerando que el tipo de hierro que se emplea en la fortificación de alimentos y la matriz alimentaria pueden influir en la absorción del nutriente, se determinó estudiar la bioaccesibilidad de dos coladas fortificadas con diferentes tipos de hierro (sulfato ferroso y hierro hemo) y una sin fortificar. Para esto se crearon 18 formulaciones con el fin de modificar las características organolépticas en donde se varió el tipo de aglutinante (goma de guar y xantana) y su concentración (1,5, 2,5 y 4 g/L). Luego, se seleccionaron tres de las formulaciones para la elaboración de una colada según los resultados obtenidos por una prueba organoléptica a potenciales consumidores. Por otro lado, a las formulaciones seleccionadas se les realizaron estudios fisicoquímicos: bromatológicos, pH, absorción de agua, solubilidad, capacidad de hinchamiento, densidad suelta, densidad empaquetada y viscosidad. Posteriormente, se evaluó la bioaccesibilidad de los diferentes tipos de hierro en las fases de la digestión *in vitro*. Los resultados de las pruebas organolépticas indicaron que no se encontró diferencia significativa en las formulaciones, seleccionando la colada con goma de guar 1,5 g/L debido al menor costo de producción. Las pruebas fisicoquímicas sugirieron que la formulación es apta para ser usada en mezclas de harinas, ya que mejora las propiedades del producto. Por último, se determinó la bioaccesibilidad del hierro en cada una de las fases de la digestión, obteniendo que para cada una de las coladas seleccionadas se tiene una mayor cantidad de hierro soluble en la fase intestinal y la colada fortificada con sulfato ferroso presentó mayor bioaccesibilidad.

* Trabajo de grado

** Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Directora: Viviana Sánchez Torres. PhD. Ingeniera Química. Codirectora: Oliva Yineth Páez. Ingeniera química.

Abstract

Title: Evaluation of the *in vitro* bioaccessibility of different forms of iron in beverages based on plantain flour*

Author: Andrés Felipe Vera Anteliz, Jose Andrés Serna Quintero**

Keywords: Food fortification, *in vitro* digestion, organoleptic tests, iron, bioaccessibility, plantain beverage.

Description: Currently, iron deficiency in children under the age of five has raised national concerns. Considering the target population, it was identified that plantain beverage is a common food for them, for this reason it was chosen to fortify. Considering that the type of iron used in food fortification and the food matrix can influence nutrient absorption, it was decided to study the bioaccessibility of two fortified formulations with diverse types of iron (ferrous sulfate and heme iron), and an unfortified one. To achieve this, eighteen formulations were created to modify organoleptic characteristics, varying the type of binder (guar gum and xanthan) and its concentration (1.5, 2.5, and 4 g/L). Subsequently, three formulations were selected based on organoleptic test results with potential consumers. Furthermore, selected formulations underwent physicochemical studies, including bromatological analysis, pH, water absorption, solubility, swelling capacity, loose density, packed density, and viscosity. Subsequently, the bioaccessibility of different iron types was evaluated during *in vitro* digestion phases. Organoleptic test results indicated no significant difference in formulations, and the plantain beverage with 1.5 g/L guar gum was chosen due to lower production costs. Physicochemical tests suggested that the formulation is suitable for use in flour mixes, as it improves product properties. Finally, the bioaccessibility of iron in each digestion phase was determined, revealing higher soluble iron levels in the intestinal phase for each selected formulations, the ferrous sulfate-fortified exhibiting greater bioaccessibility than the others.

* Bachelor Thesis

** Faculty of Physiochemistry. School of Chemical Engineering. Director Viviana Sánchez Torres. PhD. Chemical Engineer. Tutor Oliva Yineth Páez. Chemical Engineer.

Introducción

Actualmente, en Colombia, aproximadamente el 25% de los niños menores de 5 años presentan anemia (Minsalud, 2020). Lo anterior ha provocado una profunda preocupación nacional que ha incentivado la búsqueda de soluciones a dicho problema, ya sea a partir de la diversificación de la alimentación, la promoción de la lactancia materna, la biofortificación, la suplementación con micronutrientes y/o la fortificación de alimentos procesados (Minsalud, 2020). Por ende, en la formulación de alimentos se ha incentivado la fortificación con hierro para ayudar al tratamiento y/o prevención de enfermedades causadas por la deficiencia de este mineral en el organismo (Minsalud, 2020). Teniendo en cuenta lo mencionado, en este estudio se fortificó una colada de plátano, ya que es un producto establecido en el mercado, lo cual facilitará el consumo en la población. Es importante conocer cómo influye en la bioaccesibilidad el tipo de hierro empleado para fortificar, definiendo la bioaccesibilidad como la liberación de los nutrientes en la matriz alimentaria para su posterior absorción gastrointestinal (Perales *et al.*, 2020).

Para determinar la cantidad de hierro presente en la colada de plátano que el cuerpo digiere, se utilizó la técnica de digestión *in vitro*, la cual es un método para tratar de imitar las condiciones fisiológicas *in vivo*, teniendo en cuenta la presencia de enzimas y sus concentraciones, el pH, el tiempo de digestión, entre otros factores, para determinar la absorción y el comportamiento de los diferentes alimentos en el cuerpo humano (Minekus *et al.*, 2014). Debido a que la absorción de hierro puede verse afectada por la presencia de otros compuestos en la matriz alimentaria, como el calcio (González, 2005), se busca determinar cuál de los tipos de hierro entre el sulfato ferroso y el hierro extraído de sangre bovina adicionados a la colada de plátano presenta una mejor absorción.

Por otro lado, se estudiaron las propiedades funcionales y fisicoquímicas que permiten caracterizar el producto, las cuales fueron: la prueba bromatológica, pH, absorción de agua, solubilidad, capacidad de hinchamiento, viscosidad, densidad suelta y empaquetada. De igual manera se compararán las propiedades de las formulaciones para determinar si el hierro o el tipo de hierro tiene alguna influencia sobre estas.

En resumen, esta investigación tiene como objetivo formular una colada aceptada sensorialmente y conocer la bioaccesibilidad *in vitro* del hierro en matrices alimenticias. Esta información será útil para el desarrollo de productos alimentarios fortificados con hierro en el futuro.

1. Objetivos

1.1. Objetivo general

Evaluar la bioaccesibilidad *in vitro* de diferentes formas de hierro en coladas a base de harina de plátano.

1.2. Objetivos específicos

- Seleccionar una formulación de colada de harina de plátano según sus características organolépticas.
- Determinar las características fisicoquímicas y funcionales de harinas a base de plátano.
- Determinar la bioaccesibilidad de las diferentes formas de hierro en las etapas de la digestión *in vitro*.

2. Marco conceptual

2.1. Fortificación

La fortificación es la adición de uno o más micronutrientes a un alimento, ya sea que este se encuentre o no en la matriz alimentaria, con la finalidad de prevenir o corregir una deficiencia de uno o más nutrientes en la población (Montoya, 2020).

La adición de micronutrientes es una estrategia implementada por el gobierno para corregir las enfermedades causadas en la población por su deficiencia. Por esta razón, los tipos de fortificación fueron clasificados en tres como se muestra en la tabla 1.

Tabla 1

Tipos de fortificación

Fortificación	Características
Obligatoria	Alimentos altamente consumidos por la población
Focalizada	Alimentos destinados para subgrupos con características específicas, como los alimentos complementarios para niños
Voluntaria	Cuando se fortifica un alimento de manera intencional

Fuente: (Serpa *et al.*, 2016)

2.1.1. Harina de plátano

La harina de plátano es un producto altamente usado en Colombia para la preparación de papilla y sopas porque tiene un alto valor nutricional, ya que contiene almidón resistente que no se absorbe en el intestino delgado, sirviendo de alimento para las bacterias duodenales beneficiosas (Moresco y Righi, 2019). De igual manera, contienen “vitaminas A y C, fósforo y potasio, también contiene pequeñas cantidades de hierro, zinc y vitaminas como la tiamina, riboflavina y niacina” (Moresco y Righi, 2019).

Considerando lo expuesto anteriormente, la harina de plátano es un producto que es adecuado para emplearlo como vehículo en la fortificación de alimentos, debido a que se utiliza

para la elaboración de diferentes productos que son suministrados a los niños, además presenta un alto valor nutricional que se puede complementar al fortificar con hierro.

2.2. Tipos de hierro

El hierro es un mineral importante para el desarrollo, mantenimiento y funcionamiento del cuerpo humano. Hace parte de la hemoglobina, una proteína que transporta el oxígeno en la sangre a las distintas partes del cuerpo, asimismo está presente en la mioglobina que es la encargada de llevar oxígeno a los músculos (National Institutes of Health, 2022). Las funcionalidades que tiene el hierro se pueden clasificar como:

1. Funcional: forma compuestos como \approx 65% hemoglobina, 15% enzimas como las catalasas, peroxidasas, oxigenasas y transportador de los citocromos, también para la mioglobina (Tostado *et al.*, 2015).
2. Transporte: se transporta por el cuerpo en la transferrina (entre 0.1 y 0.2%) (Tostado *et al.*, 2015).
3. Depósito: se almacena como hierro de almacenamiento en forma de ferritina y la hemosiderina (20%) (Tostado *et al.*, 2015).

2.2.1. Hierro hemo

El hierro hemo proviene de la hemoglobina y mioglobina que está presente en la carne, aves de corral y pescado (Delage *et al.*, 2016). Cuando se hace la ingesta de productos que lo contengan, en la digestión gástrica se degrada estas proteínas por acción del ácido clorhídrico, la pepsina y enzimas pancreáticas, quedando el grupo hemo estabilizado por los componentes de la dieta y los productos de la degradación de la globina (Tostado *et al.*, 2015).

El grupo hemo ingresa al lumen intestinal y atraviesa la membrana apical del enterocito, posteriormente libera el ion ferroso (Fe^{2+}) de la estructura tetrapirrólica (grupo hemo), donde una

parte es almacenada como ferritina o hemosiderina en pequeñas cantidades y el resto es enviado al torrente sanguíneo, donde el Fe^{2+} es oxidado a ion férrico (Fe^{3+}) y se transporta en la transferrina para cumplir sus funciones (Tostado *et al.*, 2015).

El hierro hemo presenta un porcentaje de absorción del 15 al 35%, mientras que el hierro no hemo varía en su absorción del 2 al 20%. Esto se debe a que el hierro hemo está menos influenciado por las interacciones con otros elementos de la ingesta diaria, permitiendo una mayor absorción de este a comparación del hierro no hemo (González, 2005).

2.2.2. Hierro no hemo

El hierro no hemo se encuentra en alimentos fortificados o de forma natural como la leche, los huevos, los cereales, las leguminosas, los vegetales y suplementos farmacológicos (Tostado *et al.*, 2015). Entre las sales férricas utilizadas para la fortificación está el sulfato ferroso, fumarato ferroso y hierro reducido (Ministerio de Salud, 1996), de los cuales se escogió el sulfato ferroso para la presente investigación.

En la digestión, el Fe^{3+} que se libera en la degradación de los alimentos es insoluble a soluciones de pH mayor a 3, por esta razón en el estómago se forman complejos solubles, lo que permite mejorar la absorción de este (Tostado *et al.*, 2015). Para pasar la membrana del enterocito ubicada en el intestino los iones férricos (Fe^{3+}) deben pasar por una reducción a estado ferroso (Fe^{2+}), cuando pasan la membrana las moléculas siguen el procedimiento ya descrito con el hierro hemo (Tostado *et al.*, 2015). La absorción es influenciada por factores dietéticos descritos por Delage *et al.* (2016):

2.2.2.1. Potenciadores de la absorción.

- Vitamina C (ácido ascórbico): esta reduce el Fe^{3+} a Fe^{2+} y forma un complejo soluble.

- Ácidos orgánicos: los ácidos cítricos, málicos, tartárico y láctico estimulan la absorción del hierro no hemo.
- Carne, aves de corral y pescado: estimulan la absorción del hierro no hemo.

2.2.2.2. Inhibidores de la absorción

- Ácido fítico (fitato): presente en las legumbres, nueces y semillas, inhibe la absorción del hierro por la unión que forma con él.
- Compuestos polifenólicos: presentes en el café, té negro y té de hierbas.
- Proteína de soya: se comporta como inhibidor por contener ácido fítico.
- Calcio: es un inhibidor que se puede regular consumiendo potenciadores de la absorción.

2.3. Digestión *in vitro*

La digestión *in vitro* es una técnica utilizada para simular la digestión gastrointestinal, que es el proceso mediante el cual los nutrientes presentes en los alimentos se descomponen en unidades más pequeñas para facilitar su absorción en el intestino (Asensio *et al.*, 2021). Mediante esta simulación, es posible obtener una variedad de información sobre un alimento, como su digestibilidad, la liberación de nutrientes, el punto de liberación de ingredientes encapsulados y la evaluación de la absorción (Andrés, 2019).

El uso de la simulación *in vitro* facilita la obtención de la información mencionada anteriormente, ya que este enfoque permite el control de variables que podrían interferir en un proceso *in vivo*. Además, la capacidad de controlar estas variables permite la estandarización de la digestión.

Dentro de los procesos de digestión *in vitro* encontramos dos modelos: estáticos y dinámicos. Los modelos estáticos presentan más sencillez y un coste disminuido. En este modelo

se utiliza un compartimiento único, en este compartimiento se añaden de forma manual las soluciones simuladas de cada fase, tras los periodos de incubación/agitación establecidos; además de corregir el pH del medio. Sin embargo, este modelo presenta limitaciones en cuanto a la reproducción de los movimientos peristálticos del estómago e intestino o el vaciado gástrico. Mientras que, el modelo dinámico suple las limitaciones de los modelos estáticos siendo estos monocompartimentados o bi-multicompartimentados (González, 2016).

2.3.1. Simulación de partes que conforman el sistema digestivo

Para la simulación, se tiene en cuenta los fluidos gastrointestinales que tienen mayor influencia en la descomposición de los alimentos. El proceso de simulación se divide en tres etapas: oral, gástrica e intestinal. En cada una de ellas, intervienen distintos mecanismos y agentes que se encargan de desestructurar los alimentos para permitir la liberación de nutrientes, su hidrólisis y eventual absorción (Asensio *et al.*, 2021).

2.3.1.1. Simulación de la fase oral.

La primera parte de la simulación corresponde a la fase bucal, donde tiene lugar la masticación, que es la primera fuerza mecánica del proceso y contribuye de manera significativa a desestructurar la matriz del alimento (Asensio *et al.*, 2021). Para simular esta fase, se utilizan picadoras convencionales si el alimento es sólido. Sin embargo, si el alimento es líquido, esta fase generalmente se omite, a menos que contenga almidón.

2.3.1.2. Simulación de la fase gástrica.

Esta fase se inicia con la llegada del bolo alimenticio al estómago, donde se secreta el fluido gástrico que contiene el ácido clorhídrico como principal agente responsable de la reducción del

pH, alcanzando valores medios de alrededor de 3. Para simular esta fase, se toma el bolo alimenticio resultante de la fase bucal y se combina con los fluidos simulados que representan la fase gástrica (Asensio *et al.*, 2021).

2.3.1.3. Simulación de la fase intestinal.

En esta última fase, se produce un aumento abrupto del pH, pasando de alrededor de 3-4 a 6-7. El fluido intestinal contiene pancreatina, una mezcla de enzimas hidrolíticas que incluye proteasas como la tripsina y quimiotripsina, amilasas como la alfa-amilasa y lipasa. Durante esta fase, es necesario mantener la mezcla agitada durante 2 horas a una temperatura de 37 °C (Asensio *et al.*, 2021). En esta etapa, se puede determinar la fracción bioaccesible de los compuestos presentes en el alimento. Para ello, se utiliza el método de centrifugación para obtener el sobrenadante, que recoge dichos compuestos, mientras que el residuo resultante de la centrifugación se considera como la fracción que llega al intestino grueso (Andrés, 2019).

En términos generales, los métodos *in vitro* ofrecen estimaciones relativas en lugar de absolutas en lo que respecta a la bioaccesibilidad, ya que resulta difícil tener en cuenta todos los factores fisiológicos intrínsecos del organismo. A pesar de esta limitación, estos métodos se utilizan debido a que proporcionan datos útiles que permiten realizar comparaciones y evaluar los efectos causados por diversos factores durante la ingesta de alimentos y fármacos (Rivas, 2014).

2.4. Bioaccesibilidad

Una de las aplicaciones más utilizadas de la digestión *in vitro* es determinar la bioaccesibilidad de los distintos nutrientes y componentes activos de los alimentos. Este término es definido como la cantidad de un componente alimentario soluble en consecuencia de la liberación de la matriz alimentaria, y que es susceptible de atravesar la barrera intestinal (Saura-Calixto *et al.*, 2007).

3. Estado del arte

3.1. Bioaccesibilidad del hierro en alimentos

En la actualidad, se utilizan diferentes procesos para mejorar la liberación de hierro y así disminuir los índices de enfermedades causadas por la deficiencia de este mineral. Entre estos procesos se encuentran la mezcla de alimentos y la fortificación. También, se ha estudiado cómo el cambio de los componentes del suelo puede afectar la disponibilidad de hierro para su absorción. Estos cambios se evaluaron mediante la digestión *in vitro* para observar su influencia en la bioaccesibilidad del hierro. A continuación, se presentarán estudios que se han hecho con las propuestas de procesos de fortificación.

En cuanto a las condiciones en las que se cultivan los alimentos, las concentraciones de los componentes del suelo conllevan a que los alimentos difieran en la cantidad de hierro disponible para su absorción; en Perú se estudiaron los clones de camote en dos lugares distintos, Satipo y San Ramón, obteniendo una bioaccesibilidad promedio de 61,9% y 46,5% respectivamente, concluyendo que, a concentraciones menores de arena y concentraciones mayores de limo, se obtiene una mejor bioaccesibilidad de hierro disponible en el tubérculo (Andre *et al.*, 2018).

Referente a la fortificación, para extruidos de maíz se usaron concentrados de hemoglobina bovina como fuente de hierro hemo a los cuales se les realizó un proceso de hidrólisis para mejorar su absorción, obteniendo una bioaccesibilidad aproximada del 10%. Sin embargo, en esta investigación se encontraron factores que disminuyen la absorción del hierro, entre ellos la ausencia de proteínas de la carne y/o las interacciones que el hierro tiene con otros componentes de los alimentos (Cian *et al.*, 2010), por esta razón es importante realizar el estudio de bioaccesibilidad para matrices alimentarias que se diferencien a las carnes.

En 2022 se presenta un artículo donde se fortificaba una bebida de arroz con diferentes sales para determinar la mejor formulación que permitió la mayor liberación de hierro; para esta fortificación, se usó EDTA férrico sódico (NaFeEDTA) y pirofosfato férrico ($\text{Fe}_4(\text{P}_2\text{O}_7)_3$) mostrando un porcentaje de liberación de $\leq 50,7\%$ y $\leq 3,9\%$ respectivamente; además, se concluyó que, la adición de los compuestos, los factores de pH, la interacción de los minerales con los constituyentes de los alimentos y la solubilidad afectan la carga de hierro liberada (Siqueira et al., 2022).

3.2. Digestión *in vitro* para diferentes alimentos

Existen varios métodos de digestión *in vitro* (tabla 2), con diferentes condiciones experimentales, lo que no permite una adecuada comparación en los resultados de los diferentes grupos de investigación; además, esto dificulta la obtención de conclusiones generales. Por ello, la *Royal Society of Chemistry* en el 2014 propuso una metodología para estandarizar este proceso (Minekus et al., 2014).

En la presente investigación se plantea identificar qué tipo de hierro aporta la mejor bioaccesibilidad en alimentos a base de harina mediante el método estandarizado por Minekus et al. (2014).

Tabla 2

Metodología para los diferentes alimentos

Alimento	Fase oral (FO)	Fase gástrica (FG)	Fase Intestinal (FI)	Observaciones
Harina de frijol y de maíz (Drago et al., 2007).	No se realizó	- pH: 2 -Tiempo: 2 horas -Temperatura: 37°C	- pH: - -Tiempo: 2 horas -Temperatura: 37°C	En la solución resultante de la FG se agrega una solución buffer PIPES por 50 min a 37°C.

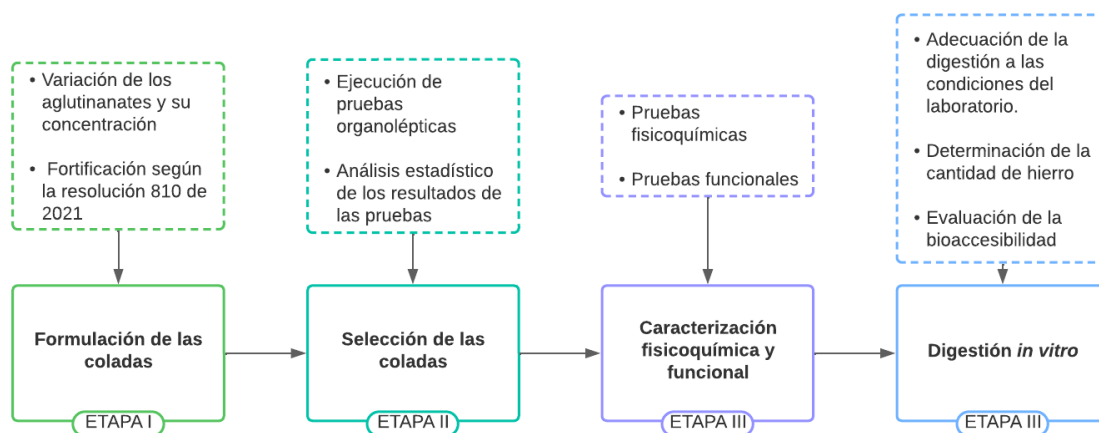
Alimento	Fase oral (FO)	Fase gástrica (FG)	Fase Intestinal (FI)	Observaciones
Clones de camote (Andre <i>et al.</i> , 2018).	- pH: 6,9 - Tiempo: 10 min - Temperatura: Ambiente	- pH: 2 - Tiempo: 1 hora - Temperatura: 37°C	- pH: 7 - Tiempo: 2 horas - Temperatura: 37°C	A la solución resultante de FG se le agrega NaHCO ₃ para subir el pH a 5,5.
Bebida de arroz (Siqueira <i>et al.</i> , 2022).	No se realizó	- pH: 2 - Tiempo: 2 horas - Temperatura: 37°C	- pH: 7,2 - Tiempo: 2 horas - Temperatura: 37°C	En la solución resultante de la FG se agrega una solución de agua con NaHCO ₃ por 30 min a 37°C.

4. Metodología

El esquema de la metodología que abordó el proyecto se presenta en la figura 1.

Figura 1

Etapas de la metodología del proyecto



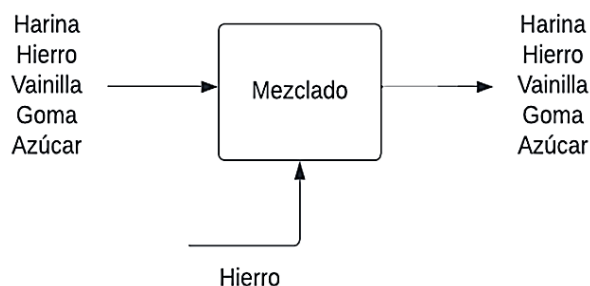
4.1. Formulación de la colada

En la formulación de la colada se empleó sulfato ferroso (no hemo) o hierro hemo extraído de la sangre de bovino. El hierro no hemo utilizado para la fortificación se seleccionó de las “Guías para la fortificación de alimentos con micronutrientes” propuesto por la organización mundial de

la salud (2017). Para fortificar las harinas se recurrió a la resolución 810 de 2021 la cual indica que una porción de 10 gramos de harina de colada debe contener 2,2 mg de hierro adicionándolo como se muestra en la figura 2. Como la harina de plátano no contiene gluten, se necesita agregar un aglutinante para obtener la consistencia final de una colada, para este trabajo se usaron goma de Guar y Xantana. Teniendo en cuenta lo mencionado, se varió la concentración y el tipo de goma. Para esto se plantea hacer un litro de colada en leche, variando la concentración de goma de Guar y Xantana en 1,5 g/L, 2,5 g/L, y 4 g/L (Palma, 2023).

Figura 2

Esquema del balance de masa para el hierro



Considerando que la harina que se utilizó tiene 2,75 mg Fe/100g harina se realizaron los cálculos utilizando balances de masa para saber cuánto hierro se debe agregar para llegar a la cantidad requerida por la norma (apéndice A). Para determinar las cantidades de azúcar y vainilla a agregar se compararon varias coladas de marcas reconocidas que están en el mercado, entre ellas la colada “Aveia” y la avena “Natruly”. La cantidad de cada componente se muestra en la tabla 3.

Tabla 3

Formulación de la harina de colada para un litro de leche

Componentes	Sin fortificar [g]	Sulfato ferroso [g]	Hierro hemo [g]
Harina	22,917	22,917	22,917
Hierro	-	0,008	0,005*
Vainilla	2,083	2,083	2,083
Azúcar	13,667	13,667	13,667

Nota. *Los gramos de hierro hemo que se muestran en la tabla 3 hacen referencia a los gramos de pulverizado que deben agregarse y el valor depende de la concentración del hierro en este (apéndice A).

Para homogeneizar los componentes de las harinas, se mezclaron en un recipiente los ingredientes adicionando uno después del otro y agitando en sentido horario el recipiente la misma cantidad de veces para cada formulación.

4.2. Pruebas organolépticas

Para conocer las propiedades organolépticas que son color, sabor, olor, textura y a su vez seleccionar una muestra de cada tipo de colada, se recurrió a un panel no especializado para seleccionar las formulaciones que presenten una mayor aceptación. En el caso de esta investigación no se evaluó el sabor, debido a que no se realizaron pruebas microbiológicas, por esta misma razón no fue posible evaluar la textura, en remplazo de esta propiedad se tuvo en cuenta el espesor.

Para esta prueba se eligió una variación de las pruebas de aceptación propuesta por Gay y Mead, donde se posiciona una muestra en lo más alto de la escala asignada y una en lo más bajo de esta, el resto de las muestras se posicionan en los puestos intermedios sin dar posibilidad de asignarle a dos o más muestras la misma posición como se muestra en el apéndice B (Lawless y Heymann, 2010), al final de la encuesta se sumaron todos los resultados para cada formulación y con base en estos se realizó el análisis estadístico de Friedman. Este tipo de prueba se optó para el proyecto, debido a que permite conocer la colada preferida por el público y saber la percepción relativa de las otras coladas con respecto a esta a pesar de que la variación de la prueba no entrega la opinión objetiva sobre el producto. Además, se realizó una prueba hedónica de 9 puntos a la colada mejor valorada para conocer la posible aceptación de este producto en el mercado.

Este estudio se realizó a 300 potenciales consumidores de forma aleatoria en la Universidad Industrial de Santander con el fin de tener una muestra significativa. La ejecución de estas pruebas consta de las etapas descritas a continuación.

4.2.1. Condiciones de la muestra

Con el fin de que los encuestados testeen en las mismas condiciones, la muestra se entregó en un recipiente plástico transparente, con igual temperatura y cantidad de muestra.

4.2.2. Modo de entrega

Para reducir la variabilidad de los resultados se usó el método *Latin Square* que se basa en presentar las muestras en un orden diferente un número igual de veces, con esto se logra minimizar el efecto de “la primera muestra” el cual consiste en que la persona encuestada tiende a comparar todas las muestras respecto a la primera muestra entregada (Lawless, y Heymann, 2010). En la prueba se definieron grupos de 10 personas donde cada uno tenía una secuencia diferente. Para el método de entrega se utilizó el *Sequential Monadic* el cual consiste en entregar una muestra a la vez, con el fin de que la persona mantenga su atención en ella (Kemp *et al.*, 2009). Como en la etapa de formulación se propusieron 18 coladas, 3 tipos de colada (sin fortificar, fortificada con sulfato ferroso y fortificada con hierro-hemo) con dos aglutinantes y cada uno con tres concentraciones diferentes, para evitar pruebas que fueran extensas y dificultar la recolección de datos se dividieron las coladas a estudiar en tres grupos de 100 personas, evaluando en cada grupo cada tipo de colada.

4.2.3. Método de testeo

Para estandarizar el método de testeo y de esta manera aminorar la variabilidad que se podría generar de este (Kemp *et al.*, 2009), se dieron instrucciones detalladas a los encuestados las cuales consistían en abrir el recipiente de la muestra, olfatearla de forma inmediata y posteriormente agitarla mientras se observaba, con el objetivo de que las personas pudieran generar una percepción completa para puntuarla.

4.3. Pruebas de caracterización fisicoquímica

Las pruebas que se realizaron tuvieron como fin conocer las características de las formulaciones, por esta razón se realizaron las siguientes pruebas:

4.3.1. Prueba bromatológica

Se compararon los resultados con los valores establecidos en la NTC 2799 (tabla 4) con la prueba bromatológica que se realizó a la harina fortificada para determinar la composición que posee el alimento (tabla 5).

Tabla 4

Requisitos para la harina de plátano

Requisito en % en masa	Valores	
	Mínimo	Máximo
Humedad (H)	-	10,0
Ceniza (C)	-	2,5
Grasas (G)	0,4	1,0
Proteína (V)	2,0	-

Nota. Adaptado de INCONTEC. (1991). *Industrias alimentarias. Harina de plátano.* (NTC 2799).

Food Industry & Banana Meal. <https://dokumen.tips/documents/ntc-2799-industrias-alimentarias-harina-de-platano.html?page=1>

Tabla 5*Normatividad y métodos utilizados para la prueba bromatológica*

Parámetro	Método de análisis / Normatividad
Humedad (H)	Gravimétrico / GOMESL. 01 V.06 2018-07-30
Ceniza (C)	Gravimétrico / GOMECH. 01 V.09 2019-04-01
Grasas (G)	Gravimétrico-Soxhlet/ GOMEGC. 01 V.06 2019-04-01
Proteína (V)	Volumétrico Kjeldahl / GOMEPL. 01 V.08 2019-04-01

4.3.2. Prueba de pH

Para la prueba de pH se pesaron 10 g de cada tipo de harina los cuales se mezclaron con 100 ml de agua destilada en una plancha de agitación magnética. La mezcla se dejó reposar a temperatura ambiente durante 30 min, después de este tiempo se procedió a tomar los valores de pH al sobrenadante (Ngoma *et al.*, 2019).

4.3.3. Prueba de absorción de agua

Para esta prueba se pesaron 0,5 gramos de muestra junto con el tubo Falcon (W_1) y a esta muestra se le adicionaron 5 mL de agua destilada, se mezcló por 1 min en un agitador tipo Vortex. Luego, se mantuvo la muestra a temperatura ambiente durante 30 min, paso seguido se centrifugó a 4000 rpm durante 30 min. El sobrenadante se descartó y el precipitado se pesó en el recipiente (W_2), con estos datos podemos conocer la absorción del agua a partir de la siguiente fórmula (Chikpah *et al.* 2020).

$$\text{Absorción de agua (\%)} = \frac{W_2 - W_1 [g]}{\text{Muestra inicial [g]}} \times 100 \quad (\text{Ec. 1})$$

4.3.4. Prueba de solubilidad y capacidad de hinchamiento

Se pesaron 0,5 gramos de harina y se agregaron a un tubo Falcon previamente pesado. Se añadió 10 mL de agua destilada al tubo con la muestra y esta mezcla se agitó durante 20 segundos

en un agitador tipo Vortex, posteriormente se calentó durante 30 min a 65°C agitando cada 10 minutos, después se centrifugó a 3000 rpm durante 30 minutos. El sobrenadante se colocó en una caja Petri, se sometió a calentamiento constante durante una hora a 90°C y se pesaron los sólidos disueltos (W_1). Se calculó la solubilidad utilizando la siguiente ecuación (Ricra, 2019).

$$\text{Solubilidad en agua (\%)} = \frac{W_1 \text{ [g]}}{\text{Muestra inicial [g]}} \times 100 \quad (\text{Ec. 2})$$

El precipitado resultante de la centrifugación se pesó (W_2) y con este valor se calculó la capacidad de hinchamiento.

$$\text{Capacidad de hinchamiento} = \frac{W_2 \text{ [g]}}{\text{Muestra inicial} - W_1 \text{ [g]}} \quad (\text{Ec. 3})$$

4.3.5. Densidad a granel suelta y empaquetada.

Se pesó 20 g de harina y se trasladaron a una probeta de 100 mL donde se registró el volumen sin comprimir la harina (V_1), luego se dan golpes suaves en la superficie en la que se encuentra la probeta desde una altura de aproximadamente 10 cm hasta que el volumen permanezca constante (V_2) (Chikpah *et al.* 2020). Las densidades se calcularon a partir de las siguientes fórmulas:

$$\text{Densidad suelta } (d_s) = \frac{\text{Peso de la harina [g]}}{V_1 \text{ [mL]}} \quad (\text{Ec. 4})$$

$$\text{Densidad empaquetada } (d_e) = \frac{\text{Peso de la harina [g]}}{V_2 \text{ [mL]}} \quad (\text{Ec. 5})$$

4.3.6. Análisis estadístico

Se utilizó la prueba gratuita del programa informático MINITAB para hacer un análisis ANOVA a las pruebas fisicoquímicas anteriormente mencionadas (apéndice C).

4.3.7. Viscosidad.

Con el fin de conocer las propiedades fisicoquímicas de las coladas que fueron aceptadas por el panel en la prueba organoléptica, se procede a medir la viscosidad. Primero se prepararon las coladas con 20 g de harina en 480 mL de leche, agitando constantemente hasta que llegaron a la temperatura de ebullición. Posteriormente, se realizó el estudio con un viscosímetro rotacional de marca ViscoQC-100 a temperatura de 43,1°C, con una velocidad de rotación de 12, 30 y 60 rpm. (Ngoma *et al.*, 2019).

4.4. Digestión *in vitro*

En esta fase se adecuó el procedimiento descrito por Minekus a los implementos del laboratorio CICTA, usando una chaqueta conectada a un baño térmico para mantener constante la temperatura en el volumen de reacción. También se utilizó un titulador de marca Hanna Instruments para el monitoreo del pH y la adición de las soluciones ácidas y básicas. Con el fin de simular el peristaltismo del sistema digestivo se utilizó un agitador magnético. Para este proyecto, se propuso el protocolo que se encuentra en el apéndice D.

4.4.1. Preparación de las soluciones

Para la preparación de las soluciones (solución de fluido salival SFS, solución de fluido gástrico SFG y solución de fluido intestinal SFI) se basó en la metodología planteada por Minekus *et al.* (2014). Si es necesario, para ajustar y mantener el pH en las fases de la digestión se utiliza NaOH 1 M y HCl 1 M, dependiendo si se necesita acidificar o alcalinizar la muestra.

4.4.2. Fase oral

Para la digestión oral se mezclan 10 mL de colada con la cantidad suficiente de la solución electrolítica (SFS) y enzimas para completar una razón de 50:50 (v/v). Es decir, 7 mL de SFS, 1 mL de α -amilasa salival de 1500 U/mL, 50 μ L de CaCl_2 0,3 M y 1,95 mL de agua, todo esto se mezcla rigurosamente y se deja actuar por 2 minutos a 37°C, tener en cuenta que los reactivos deben ser precalentados y la mezcla debe estar a pH 7 (Minekus *et al.*, 2014).

4.4.3. Fase gástrica

Para la digestión gástrica se mezclan 10 mL de la solución resultante de la fase oral con la misma proporción de la mezcla de la SFG y las enzimas. Es decir, 7,5 mL de SFG, 1,6 mL de solución de pepsina porcina de 25000 U/mL, 5 μ L de CaCl_2 0,3 M, 0,695 mL de agua y los mililitros sobrantes se completan con HCl para ajustar a pH $3 \pm 0,1$. Para esta fase la mezcla se debe mantener agitada por 2 horas a 37°C (Minekus *et al.*, 2014).

4.4.4. Fase intestinal

Para la digestión intestinal se mezclan 10 mL de la solución resultante de la fase gástrica con la misma proporción de la mezcla de la SFI y las enzimas. Es decir, 5,5 mL de SFI, 2,5 mL de solución de pancreatina de 800 U/mL, 1,25 mL de bilis al 0,5%, 20 μ L de CaCl_2 0,3 M, 0,655 mL de agua y los mililitros sobrantes se completan con NaOH para ajustar a pH $7 \pm 0,1$. Para esta fase se debe mantener agitada por 2 horas a 37°C (Minekus *et al.*, 2014).

4.5. Determinación de hierro

Para determinar la cantidad de hierro bioaccesible se toman 10 mL de cada fase residual de la digestión y se somete a un choque térmico de 4 a 0,5 °C por 20 minutos con el fin de aminorar

la actividad enzimática. Luego, la muestra se centrifuga a 10600 RCF por 30 min para separar la fase bioaccesible (clarificado) del precipitado (Suarez y Mejía, 2022). El clarificado se refrigeró para posteriormente hacer una espectroscopía de absorción atómica de llama (FAAS) para conocer la cantidad de hierro liberado en cada muestra (Siqueira *et al.*, 2022).

Con la siguiente ecuación se conoce la bioaccesibilidad de este mineral:

$$\% \text{ Bioaccesibilidad del hierro} = \frac{\text{hierro bioaccesible}}{\text{contenido de hierro total}} * 100 \quad (\text{Ec. 6})$$

Donde el hierro bioaccesible es la cantidad de hierro resultante del análisis FAAS y el contenido de hierro total corresponde al hierro que tiene la colada elaborada en la fase de formulación.

5. Resultados

5.1. Pruebas sensoriales

En esta parte del proyecto se aplicaron las encuestas previamente mencionadas en la metodología obteniendo diferentes puntuaciones para cada muestra, donde el valor de uno (1.0) fue la colada preferida por el público y el número seis (6.0) la menos preferida. A continuación, se introducen los resultados de la encuesta que corresponden a la aceptación que tuvo cada tipo de colada donde la mínima puntuación representa la mejor posición.

5.1.1. Colada sin fortificar

En la tabla 6 se muestra la sumatoria de los puestos elegidos por los consumidores de las pruebas realizadas para las coladas sin fortificar.

Tabla 6

Resultados de las pruebas afectivas para las coladas sin fortificar

Tipo de goma	[g/L]	Aceptación
Xantana	1,5	323
	2,5	340
	4	367
Guar	1,5	365
	2,5	362
	4	345

Para el análisis estadístico de la prueba se propuso la siguiente hipótesis nula (H_0): “no hay diferencia significativa entre los datos”. Para corroborar esta hipótesis se utilizó el método de Friedman y se apoyó en el método de Kramer expuesto en el apéndice E (Lawless y Heymann, 2010).

Friedman propone comparar la fórmula de *Chi*-cuadrado (χ^2) con *Chi*-crítico para rechazar o aceptar la hipótesis nula.

$$\chi^2 = \left\{ \frac{12}{K(J)(J+1)} [\sum_{j=1}^J T_j^2] \right\} - 3K(J + 1) \quad (\text{Ec. 7})$$

Donde,

K : número de personas encuestadas; J : Número de muestras; T_j : Sumatoria de cuadrados de los valores registrados en la tabla 6.

Se obtuvo un χ^2 de 8,32 y el *Chi*-crítico para esta prueba es de 11,07, este dato se extrajo de tablas teniendo en cuenta los grados de libertad ($J-1$) y $\alpha = 5\%$ (Lawless y Heymann, 2010). Un χ^2 mayor que *Chi*-crítico significa que se puede rechazar la hipótesis nula, en este caso χ^2 es menor a *Chi*-crítico indicando que no existe una diferencia significativa entre las coladas estudiadas.

La moda de la escala hedónica para la colada que contiene goma de guar a la concentración 1,5 g/L fue “me gusta mucho”. Lo anterior permite establecer esta formulación preliminar para posteriores estudios y contemplar la comercialización de esta.

5.1.2. Colada fortificada con sulfato ferroso

En las pruebas realizadas para las coladas fortificadas con sulfato ferroso se obtuvieron los resultados expuestos en la tabla 7.

Tabla 7

Resultados de las pruebas afectivas para las coladas fortificadas con sulfato

Tipo de goma	[g/L]	Código	Aceptación
Xantana	1,5	A	345
	2,5	B	355
	4	C	348
Guar	1,5	D	322
	2,5	E	372
	4	F	358

Los resultados de la encuesta fueron analizados con el método de Friedman anteriormente mencionado. El valor calculado de χ^2 es 3,96 y el *Chi*-crítico para esta prueba es de 11,07 (Lawless y Heymann, 2010), por ende, no existe una diferencia significativa.

En la prueba hedónica de 9-puntos para la colada escogida la moda de la prueba fue “me gusta muchísimo”, dando como resultado una potencial formulación para seguir siendo estudiada.

5.1.3. Colada fortificada con hierro hemo

En las pruebas realizadas para las coladas fortificadas con hierro hemo se obtuvieron los resultados presentados en la tabla 8.

Tabla 8

Resultados de las pruebas afectivas para las coladas fortificadas con hierro hemo

Tipo de goma	[g/L]	Código	Aceptación
Xantana	1,5	A	335
	2,5	B	359
	4	C	316
Guar	1,5	D	338
	2,5	E	364
	4	F	388

Los resultados de la encuesta fueron analizados de igual forma que los anteriores. El valor de χ^2 es 9,27 y el *Chi*-crítico para esta prueba es de 11,07 (Lawless y Heymann, 2010), por ende, no existe una diferencia significativa. Teniendo en cuenta que para ninguno de los tres tipos de coladas existe una diferencia significativa se escogió la colada elaborada con goma guar a una concentración de 1,5 g/L, debido a que representa el menor costo de elaboración.

En la prueba hedónica de 9-puntos para la colada escogida la moda de la prueba fue “me gusta muchísimo”, dando como resultado una potencial formulación.

5.2. Caracterización fisicoquímica

A continuación, se presentan los resultados de las pruebas de caracterización de las formulaciones de harinas seleccionadas por las pruebas organolépticas.

5.2.1. Prueba bromatológica

La prueba bromatológica se realizó para la harina fortificada con hierro hemo, en la tabla 9 se muestra un valor de humedad y ceniza acorde a la NTC 2799 (tabla 4), mientras que los de grasa y proteína son ligeramente menores a los establecidos. Al tener una humedad no superior al 8% la harina no es propensa a favorecer el crecimiento de hongos. La cantidad de ceniza está relacionada con la cantidad de nutrientes como el calcio, fósforo, potasio, manganeso y hierro (Bernal, 1998), como está dentro de los valores permitidos por la NTC 2799 se afirma que el producto de esta investigación cumple con la cantidad de nutrientes. En cuanto al bajo porcentaje de grasa disminuye la probabilidad de la rancidez del alimento (Sánchez y Arenas, 2023) y el bajo porcentaje de proteína indica que el alimento es libre de gluten, así que es de fácil asimilación para el cuerpo (Montoya *et al.*, 2016).

Tabla 9*Análisis bromatológico de la formulación*

Variable	%Valor	%C.V.
Humedad	3,27%	1,51%
Ceniza	1,21%	2,24%
Grasa	0,21%	1,18%
Proteína	1,98%	0,64%

5.2.2. Prueba de pH**Tabla 10***Resultados de pH*

Tipo de harina	pH	%C.V.
Sin fortificar	5,705 ± 0,021	0,37%
Sulfato ferroso	5,780 ± 0,028	0,49%
Hierro hemo	5,740 ± 0,014	0,25%

Los datos de pH obtenidos en la tabla 10 son ligeramente superiores a los reportados para las harinas a base de *Musa Cavendish* donde se reportaron resultados de 5,3 y superior a los del fruto madurado que tienen un pH de 4,8 (Toconás *et al.*, 2022). Para tres muestras de *Musa spp.* seleccionadas de los cultivares Pisang Awak, FHIA-18 y Yangambi km 5 los dos últimos cultivares mostraron una similitud con los datos de la tabla 10, siendo estos 5,73 y 6,06 respectivamente, mientras que el cultivar Pisang Awak presento un valor de 6,70 (Espinosa *et al.*, 2018). En el estudio de *Musa paradisiacal sp.* se evaluó el pH durante 7 días a una temperatura de 24 °C para observar el cambio del pH en el proceso de maduración del fruto obteniendo un pico a los 3 días de aproximadamente 6,4 y finalizando en el día 7 con un pH de aproximadamente 4,6. Lo anterior demuestra que el pH depende del grado de maduración del fruto con el que se hace la harina, este cambio de pH es influenciado por el incremento acelerado del ácido málico a medida que transcurre el proceso de maduración, cambiando el sabor del fruto debido a la concentración de acidez, azúcares totales y reductores de la pulpa (Quiceno *et al.*, 2014).

5.2.3. Prueba de absorción de agua (CAA)

En la tabla 11 se evidenció que la harina utilizada tiene una baja capacidad de absorción de agua al comparar con los datos obtenidos de los almidones de plátano de *Hom Khieo* y *Namwa* que son provenientes de Tailandia donde se mostró un porcentaje de absorción de 127% y 153% respectivamente (Thanyapanich *et al.*, 2021). Para las harinas elaboradas con dos variedades de plátano identificados como *Musa balbisiana BBB* (Guayabo y Bellaco) se obtuvo un porcentaje de absorción de agua de 172% y 145% respectivamente (Vela y Larissa, 2012). A pesar de que estos valores son similares, la absorción de agua de las harinas depende del tipo de plátano que se utilice y el grado de maduración, debido a que un plátano maduro tiene una menor absorción que un plátano verde (Vela y Larissa, 2012). Así mismo, la absorción de agua en las harinas de plátano se ve limitada por la presencia de cadenas de almidón resistente que dificulta el acceso del agua a la estructura (Godoy *et al.*, 2016). El análisis estadístico determinó que no hay diferencias significativas entre las formulaciones (apéndice C).

Tabla 11

Absorción de agua

Tipo de harina	%CAA	%C.V.
Sin fortificar	74,10 ± 8,0 %	10,81%
Sulfato ferroso	86,87 ± 9,6 %	10,99%
Hierro hemo	82,36 ± 8,4 %	10,19%

Por otro lado, la harina de plátano es tradicionalmente usada para hacer sopas, purés, papillas y coladas (Flores, 2013), esto radica en que su baja absorción de agua le impide ser usada para productos de panadería (Dereje *et al.*, 2020). A pesar de esto, la harina estudiada se puede combinar con otras harinas aptas para panadería con el fin de mejorar el manejo y la textura del producto final debido a que la harina posee almidones resistentes (Contreras *et al.*, 2018).

5.2.4. Prueba de solubilidad (%S) y capacidad de hinchamiento (SP)

Tabla 12

Prueba de solubilidad y capacidad de hinchamiento

Tipo de harina	SP	%C.V. SP	%S	%C.V. %S
Sin fortificar	3,549 ± 0,219	6,174 %	40,02 ± 4,66 %	11,638%
Sulfato ferroso	3,696 ± 0,240	6,501%	38,68 ± 0,62 %	1,599%
Hierro hemo	3,623 ± 0,079	2,187%	40,14% ± 1,94%	4,843%

En el estudio de los almidones de *Namwa* y *Hom Khieo* se reportaron valores de SP para una temperatura de 65°C de 3,83 y 5,35 respectivamente (Thanyapanich, 2021), de los cuales el almidón de *Namwa* presentó un SP similar al de las harinas estudiadas en este proyecto. Para una mezcla de harina de plátano con harina de guandul a temperaturas de 95 y 87 °C se registraron valores de SP de 4,7 y 5,4 y valores de %S de 25,23% y 27,74% respectivamente (Godoy *et al.*, 2016), estos datos muestran un SP mayor y un %S menor a los estudiados. En Colombia se realizó un estudio de solubilidad a harinas y almidones de plátano de *Musa spp.* a una temperatura de 60°C en el cual se obtuvo %S de 9,75, 9,56 y 9,93 (Enriquez *et al.*, 2023). La variación de los datos está asociada a la temperatura de la prueba y los tipos de plátano usados para las harinas, ya que los almidones presentes en las harinas poseen enlaces de hidrógeno que forman complejos con las proteínas, restringiendo la capacidad de hinchamiento de los gránulos de almidón (Thanyapanich, 2021). En cuanto a la relación que se tiene con la temperatura, esta se debe a que los enlaces de hidrógeno se rompen a temperaturas superiores de 70°C, permitiendo un mayor ingreso de agua a los gránulos, aumentando su hinchazón y solubilidad (Thanyapanich, 2021).

El poder de hinchamiento y la solubilidad están ligadas al contenido de amilosa y amilopectina, el contenido de amilosa tiene una relación inversa con el SP y %S, mientras que la amilopectina presenta una relación directa con estos parámetros (Thanyapanich, 2021), lo que incide en los valores obtenidos. También, la diferencia entre los datos de plátano de *Musa spp.* y

los datos de esta investigación (tabla 12) radican en que la formulación de las coladas de plátano contiene goma de guar que es un polisacárido soluble en agua.

El poder de hinchamiento que se obtuvo con la harina sugiere que no es apta para realizar productos que necesiten ser voluminosos como es el caso de panadería y confitería (Dereje *et al.*, 2020), esto se puede verificar con el estudio hecho a varias harinas utilizadas para panadería que presentan un promedio de SP de $4,80 \pm 0,01$ y un promedio de solubilidad de $12,28 \pm 1,16$ % (Fernández, 2020); sin embargo, debido a la solubilidad de las harinas estudiadas, una combinación de estas formulaciones con otras harinas que posean un poder de hinchamiento mayor habilitaría su uso en esta industria.

5.2.5. Densidad a granel suelta (DS) y empaquetada (DE).

Tabla 13

Densidad a granel suelta y empaquetada

Tipo de harina	DS [g/mL]	%C.V.	DE [g/mL]	%C.V.
Sin fortificar	$0,564 \pm 0,011$	1,981%	$0,890 \pm 0,028$	3,131%
Sulfato ferroso	$0,572 \pm 0,000$	0,011%	$0,870 \pm 0,000$	0,011%
Hierro hemo	$0,556 \pm 0,000$	0,013%	$0,835 \pm 0,049$	5,880%

Para harinas elaboradas con la pulpa y la cáscara del plátano verde clon *Hartón Común* y su combinación, se obtuvieron DS de 0,48, 0,41 y 0,56 g/mL y DE con valores de 0,65, 0,63 y 0,83 g/mL respectivamente (Colmenares, 2009), al comparar los datos de la tabla 13 se observó que son similares con la combinación de pulpa y cáscara, pero difieren de los elaborados solo con pulpa o cáscara de plátano, dando a entender que la densidad depende de las características de sus componentes, el porcentaje de humedad, tamaño de partículas, presencia de impurezas, entre otras (Colmenares, 2009).

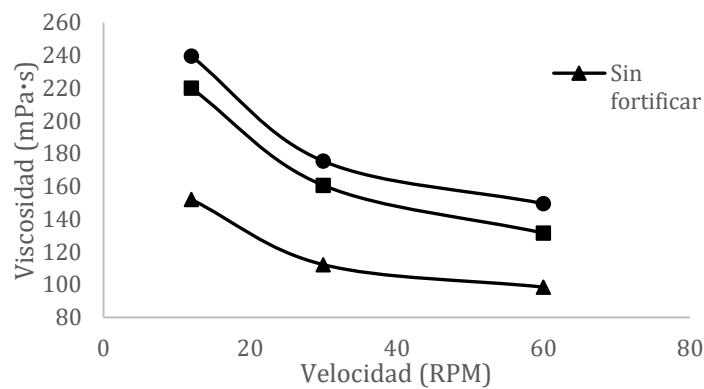
Los resultados obtenidos de las densidades indican que en la formulación tiene facilidad en el transporte y almacenamiento en contenedores (Pacheco *et al.*, 2008). Dado que los valores de densidad son altos, estos sugieren que empacan bien en el envase debido a su granulometría fina (Bressani *et al.*, 2001).

5.2.6. Viscosidad.

Se realizaron las pruebas de viscosidad para cada colada a una temperatura de 43,1 °C como se muestra en la siguiente figura.

Figura 3

Viscosidad vs velocidad de deformación



Analizando la gráfica se observó que los fluidos disminuyen su viscosidad a medida que aumenta la velocidad de deformación, sugiriendo que las formulaciones presentan el comportamiento de un fluido no newtoniano, lo que indica que su viscosidad depende del esfuerzo cortante aplicado (Sanín *et al.*, 2017). La pendiente negativa de las curvas de la figura 3 evidenció que los fluidos son pseudoplásticos, ya que estos se caracterizan por disminuir su viscosidad a medida que aumenta la velocidad de deformación, lo que se puede producir por el rompimiento de la estructura de la colada (Arteaga *et al.*, 2015).

Al observar la figura 3, se evidenció que las formulaciones que están fortificadas tienen una mayor viscosidad (entre 239,5 y 220 cP) que la colada sin fortificar (152 cP). Lo anterior concuerda con lo reportado en un estudio de la Universidad de la Salle, donde se demostró que al aumentar la cantidad de hemoglobina aumenta la viscosidad de la solución estudiada, esto se debe a la hidratación del hierro hemo (Preciado y Cristancho, 2021); Para una muestra de sulfato ferroso microencapsulado también se registró un aumento de viscosidad (entre 224 y 1227 cP) al aumentar la concentración de hierro (Mendoza *et al.*, 2020), lo que sugiere que el cambio de viscosidad de las formulaciones estudiadas puede estar fuertemente ligado a la adición de este mineral.

5.3. Determinación de hierro

Basado en un estudio realizado a fideos comerciales se encontró que la cantidad de hierro presente en el producto crudo y la declarada en el rótulo diferían, encontrando que tres de los cuatro fideos presentan una diferencia mayor o menor al 20% (Galán *et al.*, 2014). Por esta razón es necesario realizar una determinación del mineral de interés para conocer la cantidad presente en el producto final. Cuantificando el hierro presente en la colada sin fortificar, fortificada con sulfato ferroso y hierro hemo se obtuvieron concentraciones de 0,11, 0,20 y 0,13 [mg/100g de muestra] respectivamente.

Al comparar los datos teóricos calculados para las coladas (apéndice A) con los datos experimentales se mostró que el rendimiento no es el esperado el cual es mostrado en la tabla 14, esto puede ser ocasionado por pérdidas en las paredes del recipiente de cocción y en el recipiente de almacenamiento.

Tabla 14*Comparación de los datos teóricos y experimentales*

Tipo	[Fe mg/100 g]_{teórico}	[Fe mg/100 g]_{experimental}	%Rendimiento
Sin fortificar	0,30	0,11	37,29%
Sulfato ferroso	0,99	0,20	20,22%
Hierro hemo	0,99	0,13	13,14%

En la tabla 15 se presentan las concentraciones de hierro en cada fase teniendo en cuenta las diluciones (apéndice A) descritas en el inciso 4.4. del presente artículo (diluido) y la cantidad de hierro soluble determinada experimentalmente en cada fase (soluble).

Tabla 15*Determinación de hierro*

Tipo de colada	Fase	[Fe mg/100g]_{diluido}	[Fe mg/100g]_{soluble}	%Bioaccesibilidad
Sin fortificar	Oral	0,055	0,13	236,36%
	Gástrica	0,028	0,11	400,00%
	Intestinal	0,014	0,08	581,82%
Sulfato ferroso	Oral	0,100	0,21	210,00%
	Gástrica	0,050	0,25	500,00%
	Intestinal	0,025	0,24	960,00%
Hierro hemo	Oral	0,065	0,12	184,62%
	Gástrica	0,033	0,12	369,23%
	Intestinal	0,016	0,10	615,38%

En la fase oral, la colada entra en contacto con la α -amilasa, la cual es la responsable de empezar la digestión haciendo hidrolisis con el fin de degradar los almidones (Lamby *et al.*, 2013), lo que empieza a liberar el hierro que contiene la harina y a su vez se solubiliza en los fluidos de simulación oral, permitiendo ser cuantificado en la determinación de hierro. Al observar esta fase se evidenció que la colada fortificada con sulfato ferroso tiene una mayor concentración de hierro soluble a pesar de tener una menor bioaccesibilidad que la colada sin fortificar, mientras que la colada con hierro hemo presenta una concentración similar a la colada sin fortificar.

En la fase gástrica, el volumen resultante de la fase oral entra en contacto con el fluido de simulación gástrico acidificando el medio, lo que aumenta la solubilidad del sulfato ferroso (García

y Layrisse, 2001) explicando que esta colada tenga la mayor bioaccesibilidad entre las tres formulaciones.

Para terminar, en la fase intestinal se observa que las coladas fortificadas tienen una mejor bioaccesibilidad, lo que se debe al hierro agregado. Al hacer una comparación entre las coladas fortificadas, se evidenció que la colada con sulfato ferroso tiene una bioaccesibilidad mayor, esto puede deberse a que el grupo hemo está sufriendo una desnaturalización al momento de cocinar la colada, ya que al llegar a la temperatura de ebullición de esta (aprox. 96°C), la proteína que contiene al hierro se desnaturaliza (Martínez *et al.*, 2000), lo que puede provocar la liberación del hierro el cual está en estado ferroso (Tostado *et al.*, 2015); como este mineral se libera en la cocción, es más susceptible a cambios químicos como lo es la oxidación, lo que implica que pase de estado ferroso (Fe^{2+}) a estado férrico (Fe^{3+}) (Pons, 2004), siendo este último menos soluble que el ion ferroso, lo que reduce la bioaccesibilidad del hierro (Boccio *et al.*, 2003).

Analizando los resultados de la bioaccesibilidad se calculó un porcentaje mayor al 100%, lo que sugiere que hay más hierro solubilizado del que debería estar presente en cada fase, infiriendo que hubo contaminación cruzada. Este aumento de mineral pudo ser ocasionado por la termocupla de acero inoxidable con la que se monitoreaba la temperatura, ya que según estudios el acero inoxidable tiende a liberar trazas de hierro al estar en contacto con soluciones a largos periodos de tiempo con agitación y cambios de pH (Casaburi *et al.*, 2019). Además, es necesario tener en cuenta que en algunas fases la concentración de hierro (diluido) es menor que el límite de detección de hierro del instrumento utilizado para la determinación por el laboratorio CICTA (0,04 mg Fe/100g). No obstante, los datos son comparables debido a que se mantuvieron las mismas condiciones en las digestiones realizadas.

6. Conclusiones

La colada seleccionada por el método de Gay y Mead fue la colada con goma de guar a una concentración de 1,5 g/L, puesto que no se obtuvo una diferencia significativa entre las formulaciones y es la colada que representa un menor costo de elaboración.

El contenido de humedad y ceniza cumple con los requisitos establecidos en la NTC 2799. Sin embargo, la proteína y grasa se encuentra por debajo de la norma establecida. Además, el análisis ANOVA indicó que no hubo diferencias significativas entre las formulaciones para las pruebas de pH, CAA, SP, %S, DE y DS.

Los componentes de la colada hacen que su viscosidad tenga un comportamiento pseudoplástico y difieren por la adición de las diferentes fuentes de hierro.

En la fase oral se evidenció una liberación superior para la colada sin fortificar, caso contrario con las coladas fortificadas para las cuales se tuvo una mejor liberación en las fases gástrica e intestinal debido a que las condiciones de estas fases propician una alta solubilidad del mineral.

La colada fortificada con sulfato ferroso exhibió una mayor bioaccesibilidad en la fase intestinal, fase donde se absorben los nutrientes de los alimentos.

7. Recomendaciones

Si se quiere evaluar la aceptación de la formulación con respecto al gusto y textura en el paladar es necesario remitirse a la norma sanitaria de manipulación de alimentos (NTS- USNA 007) y realizar pruebas microbiológicas al alimento.

Para evitar la contaminación cruzada en la digestión se recomienda usar la termocupla durante un breve lapso para evitar la liberación de hierro en el volumen de reacción.

Por otro lado, si se quiere cuantificar la cantidad de hierro en matrices alimentarias que contengan abundante calcio, como es el caso de las coladas, se recomienda cuantificar también la cantidad de calcio con el fin de identificar la proporción entre el calcio y el hierro inhibido.

Referencias

- Andre, C., Burgos, G., Ziebel, J., Guignard, C., Hausman, J., & Felde, T. (2018). In vitro iron bioaccessibility and uptake from orange-fleshed sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) lam.) clones grown in Peru. *Journal of Food Composition and Analysis*, 68, 79-86. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.07.035>
- Andrés, A. (2019). *Desarrollo de un sistema de digestión in vitro para la determinación de la bioaccesibilidad de componentes bioactivos*. [Tesis de pregrado, Universidad Politècnica de València]
- Arteaga, M., Andrade, R., Durango, D., & Mosquera, J. (2015). Proceso de elaboración de mazamorra de plátano. *Información tecnológica*, 26(4), 45-52. <https://doi.org/10.4067/s0718-07642015000400007>
- Asensio, A., Heredia, A., Calvo, J., & Andrés, A. (2021). *Simulación in vitro de la digestión gastrointestinal de alimentos*. [Artículo docente, Universidad Politècnica de València]. <http://hdl.handle.net/10251/158446>
- Bernal, I. (1998). *Análisis de alimentos*. Editora Guadalupe Ltda.
- Boccio, J., Salgueiro, J., Lysionek, A., Zubillaga, M., Goldman, C., Weill, R., & Caro, R. (2003). Metabolismo del hierro: conceptos actuales sobre un micronutriente esencial. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 53(2), 119-132. <http://www.alanrevista.org/ediciones/2003/2/art-2/>
- Bressani, R., Turcios, J., Reyes, L., & Mérida, R. (2001). Caracterización física y química de harinas industriales nixtamalizadas de maíz de consumo humano en América Central. *Archivos Latinoamericanos de nutrición*, 51(3), 309-313. https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222001000300015

- Casaburi, M., Flamini, N., Lettieri, J., Therisod, M., Stambullian, M., (2019). Revisión bibliográfica sobre la migración de metales y otros elementos desde utensilios de cocina hacia los alimentos. *Revista Nutrición Investiga*, 4(1), 1-58. 832_c.pdf (uba.ar)
- Chikpah, S., Korese, J., Hensel, O., & Sturm, B. (2020). Effect of Sieve Particle Size and Blend Proportion on the Quality Properties of Peeled and Unpeeled Orange Fleshed Sweet Potato Composite Flours. *Foods*, 9(6), 740. <https://doi.org/10.3390/foods9060740>
- Cian, R., Drago, S., De Greef, D., Torres, R., & González, R. (2010). Iron and zinc availability and some physical characteristics from extruded products with added concentrate and hydrolysates from bovine hemoglobin. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 61(6), 573-582. <https://doi.org/10.3109/09637481003649075>
- Colmenares, M. (2009). *Elaboración de harina de pulpa y cáscara de plátano verde clon hartón común para la formulación de una mezcla de harina para arepas a base de plátano: maíz* [Tesis de licenciatura, Universidad Central de Venezuela]. <http://saber.ucv.ve/bitstream/10872/8988/1/Tesis%20COLMENARES%20LEAL.pdf>
- Contreras, R., De La Torre, L., González, N., & Jiménez, R. (2018). Caracterización funcional de almidones de plátano cuadrado (*Musa Balbisiana* Colla). *European Scientific Journal*, 14(30), 82. <https://doi.org/10.19044/esj.2018.v14n30p82>
- Decreto 1944 de 1996 [Ministerio de Salud pública]. Por el cual se reglamenta la fortificación de la harina de trigo y se establecen las condiciones de comercialización, rotulado, vigilancia y control. 30 de octubre de 1996. Artículo 6. https://www.icbf.gov.co/cargues/avance/docs/decreto_1944_1996.htm#:~:text=Derecho%20del%20Bienestar%20Familiar%20%5BDECRETO_1944_1996%5D&text=Por%20e1%20cual%20se%20reglamenta,%2C%20rotulado%2C%20vigilancia%20y%20control.

- Delage, B., Drake, V. J., Higdon, J., (2016). Hierro. Linus Pauling Institute. <https://lpi.oregonstate.edu/es/mic/minerales/hierro>
- Dereje, B., Girma, A., Mamo, D., & Chalchisa, T. (2020). Functional properties of sweet potato flour and its role in product development: a review. *International Journal of Food Properties*, 23(1), 1639-1662. <https://doi.org/10.1080/10942912.2020.1818776>
- Drago, S., González, R., Chel, L., & Valencia, M. (2007). Evaluación de la disponibilidad de minerales en harinas de frijol y en mezclas de Maíz/Frijol extrudidas. *Información tecnológica*, 18(1), 41-46. <https://doi.org/10.4067/s0718-07642007000100007>
- Enriquez, A., Lucas, J., Caicedo, Á., Rodríguez, E., Aguilera, G., Cañar, D., & Ocampo, J. (2023). Evaluación fisicoquímica y funcional de harinas y almidones del germoplasma de *Musa* spp. en Colombia. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Science*, 39(1), 107-120. <https://doi.org/10.29393/chjaa39-9efaj70009>
- Espinosa, J., Centurión, D., Mayo, A., García, C., Martínez, A., García, P., & Lagunes, L. (2018). Calidad de harina de tres cultivares de banano (*Musa* spp.) resistentes a la enfermedad sigatoka negra en tabasco. *Agrociencia*, 52(2), 217-229. <http://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v52n2/2521-9766-agro-52-02-217-en.pdf>
- Fernández, J. (2020). *Estudio de las características de las harinas elaboradas con panes endurecidos*. [Trabajo de maestría, Universidad de Valladolid].
- Flores, W. (2013). *Manual técnico para el procesamiento tradicional del plátano*. Bioersity International. <https://www.musalit.org/seeMore.php?id=15226>
- Galán, M., Llopart, E., Tissera, E., Alladio, A., & Drago, S. (2014). Bioaccesibilidad de hierro de fortificación y zinc endógeno de fideos comerciales tipo spaghetti. *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética*, 18(2), 74-80. <https://doi.org/10.14306/renhyd.18.2.53>

- García, M., & Layrisse M. (2001). The effect of change in pH on the solubility of iron bis-glycinate chelate and other iron compounds. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 51(1). 35.
ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222001000500007
- Godoy, S., Lemus, C., & López, A. (2016). Disponibilidad proteica de una bebida instantánea a partir de harina de plátano (*Musa Paradisiaca* L.) y guandúl (*Cajanus Cajan* (L.) Millsp). *Revista colombiana de investigaciones agroindustriales*, 3, 76-82.
<https://doi.org/10.23850/24220582.344>
- González, R. (2005). Biodisponibilidad del hierro. *Revista Costarricense de Salud Pública*, 14(26), 6-12.
https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-14292005000100003
- González, R. (2016). Digestión de alimentos: tendencias en los modelos de digestión in vitro. *Revista Doctorado UMH*, 2(2), 5. <https://doi.org/10.21134/doctumh.v2i2.1278>
- Kemp, S., Hollowood, T., & Hort J. (2009). *Sensory Evaluation: A practical handbook*. WILEY-BLACKWELL.
- Lamby, C., Gómez, O., & Jaramillo, L. (2013). La a-amilasa saliva: relación con la caries dental y la salud en general. *Univ Odontol*, 32(69), 93-101. ISSN 0120-4319.
- Lawless, H., & Heymann, H. (1999). *Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices*. Springer.
- Martínez, C., López, G., Ros, G., Vidal, M., & Abellán, P. (2000). Use of heme iron concentrate in the fortification of weaning foods. *J. Agric. Food Chem*, 48(7), 2930-2936.
<https://doi.org/10.1021/jf991091q>

- Mayo Clinic. (2022, enero 4). Anemia por deficiencia de hierro. Mayo Clinic de <https://www.mayoclinic.org/es/diseases-conditions/iron-deficiency-anemia/symptoms-causes/syc-20355034>
- Mendoza, C., Gaytán, M., Morales, E., & Contreras, M. (2020). Características fisicoquímicas y térmicas de Fe microencapsulado por coacervación electrostática. *BIO CIENCIAS*, 7, 1-17. <https://doi.org/10.15741/revbio.07.e680>
- Minekus, M., Alming, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu-Lacanal, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Feunteun, S. L., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., . . . Brodkorb, A. (2014). A standardized static *in vitro* digestion method suitable for food – an international consensus. *Food & Function*, 5(6), 1113-1124. <https://doi.org/10.1039/c3fo60702j>
- Ministerio de Salud y Protección Social de Colombia. (noviembre 11 2020). *Minsalud cuenta con estrategia para prevenir anemia en primera infancia*. <https://www.minsalud.gov.co/Paginas/Minsalud-cuenta-con-estrategia-para-prevenir-anemia-en-primera-infancia-.aspx>
- Montoya, J., Rodríguez, S., & Giraldo, G. (2016). Características fisicoquímicas de la harina de plátano (*Musa paradisiaca*) dominico hartón y harina de trigo comercial con tendencias funcionales/physico-chemical features of the flour of plantain (*Musa Paradisiaca*) dominico hartón and comercial wheat flour with functional trends. *Vitae, Suppl. Supplement 1*, 23, S396-S399. <https://www.proquest.com/scholarly-journals/caracterisiticas-fisicoquimicas-de-la-harina/docview/1783661606/se-2>

- Montoya, J. (2020). *Formulación de Una Matriz Alimentaria a Base de Harina de Plátano Dominico Hartón paradisiaca L.) Para el Diseño de Alimentos Funcionales Libres de Gluten*. [Tesis de doctorado, Universidad Nacional de Colombia]. <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/78569/7563112.2020.pdf?sequence=4&isAllowed=y>
- Moresco, C. M., Righi, H. N., (2019). *Harina de plátano y su aplicación en galletas dulces con semillas de lino, libres de gluten*. [Trabajo de investigación, Universidad Nacional de Córdoba]. https://rdu.unc.edu.ar/bitstream/handle/11086/14229/informe_final%208-11%20FINISH.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- National Institutes of Health (2022, 5 de abril). *Datos sobre el hierro*. <https://ods.od.nih.gov/pdf/factsheets/Iron-DatosEnEspanol.pdf>
- Ngoma, K., Mashau, M., & Silungwe, H. (2019). Physicochemical and Functional Properties of Chemically Pretreated *Ndou* Sweet Potato Flour. *International Journal of Food Science*, 2019, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2019/4158213>
- INCONTEC. (1991). *Industrias alimentarias. Harina de plátano*. (NTC 2799). Food Industry & Banana Meal. <https://dokumen.tips/documents/ntc-2799-industrias-alimentarias-harina-de-platano.html?page=1>
- Organización Mundial de la Salud. (2017). *Guías para la fortificación de alimentos con micronutrientes*.
- Pacheco, E., Maldonado, R., Pérez, E., & Schroeder M. (2008). Production and characterization of unripe plantain (*Musa paradisiaca* L.) flours. *Journal of Science and Technology of the Americas*, 33(4), 290-296.

- Palma, I. (7 febrero 2023). Gomas espesantes: xantana, guar y garrofín, ¿Cuál elegir? *Blog Conasi*. <https://www.conasi.eu/blog/consejos-de-salud/gomas-espesantes/>
- Perales, G., Mercado, G., De La Rosa, L., & Sáyago, S. (2020). Bioaccesibilidad y cinética de liberación in vitro de compuestos fenólicos en algunas salsas de la cocina mexicana. *Tip Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 23, 1-9. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.205>
- Pons, L. (2004). Iones ferrosos: un eslabón metálico del fotoenvejecimiento cutáneo. *Offarm: farmacia y sociedad*, 23(11), 136-138. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5325285>
- Preciado, S., & Cristancho, L. (2021). *Aprovechamiento del hierro proveniente de hemoglobina bovina en polvo en la fortificación de galletas de chocolate y néctar de mora*. [Trabajo de pregrado, Universidad de la Salle]. https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_alimentos/731
- Quiceno, M., Giraldo, G., & Villamizar, R. (2014). Caracterización fisicoquímica del plátano (*Musa paradisiaca* sp. AAB, Simmonds) para la industrialización. *UGCiencia*, 20, 48-54. <https://revistas.ugca.edu.co/index.php/ugciencia/article/view/313>
- Resolución 810 del 2021 [Ministerio de Salud y Protección]. Por la cual se establece el reglamento técnico sobre los requisitos de etiquetado nutricional y frontal que deben cumplir los alimentos envasados o empacados para consumo humano. 16 de junio 2021 https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/Resoluci%C3%B3n%20No.%20810de%202021.pdf
- Ricra, R. (2019). *Efecto de la temperatura y velocidad de aire de secado por convección en las propiedades funcionales y el color de la harina de para amarilla tumbay (Solanum goniocalyx)*. [Trabajo de pregrado, Universidad Nacional José María Arguedas].

- Rivas E. (2014). *Desarrollo de un prototipo simulador del tracto gastrointestinal mediante reactores químicos automatizados*. [Tesis doctoral, Universidad de Málaga].
- Sánchez L., & Arenas B. (2023). *Producción y caracterización fisicoquímica de una harina vegetal a base de papa*. [Trabajo de pregrado, Universidad Industrial de Santander].
- Sanín, A., Torres, L., Jiménez, J., Díaz, Y., Ladino, N., & Calderón, M. (2017). Caracterización fisicoquímica de una formulación alimentaria a partir de materias primas andinas. *UGCiencia*, 23, 27-33. <https://doi.org/10.18634/ugcj.23v.0i.582>
- Saura-Calixto, F., Serrano, J., & Goñi, I. (2007). Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chemistry*, 101(2), 492-501. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.006>
- Serpa, A. M., Vélez, L. M., Barajas, J. A., Castro, C. I., & Gallego, R. (2016). Compuestos de hierro para la fortificación de alimentos: El desarrollo de una estrategia nutricional indispensable para países en vía de desarrollo. - Una revisión TT - Iron compounds for food fortification: The development of an essential nutritional str. *Acta Agronómica*, 65(4), pp. 340–353. <https://doi.org/10.15446/acag.v65n4.50327>
- Siqueira, J., Rebellato, A., Silvestre, J., Greiner, R., & Lima, J. (2022). Impact of the fortification of a rice beverage with different calcium and iron sources on calcium and iron bioaccessibility. *Food Research International*, 161, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111830>
- Suarez, S., & Mejía, J. (2022). *Estudio De Bioaccesibilidad De Antioxidantes Presentes Y Añadidos En Formulaciones De Chocolate Mediante Digestión Gastrointestinal In Vitro*. [Tesis de pregrado, Universidad Industrial de Santander].

- Thanyapanich, N., Jimtaisong, A., & Rawdkuen, S. (2021). Functional properties of banana starch (Musa spp.) and its utilization in cosmetics. *Molecules*, 26(12), 36-37. <https://doi.org/10.3390/molecules26123637>
- Toconás, N., Villalva, F., Sajama, J., Olivares, A., Ramón, A., Alcocer, J., Goncalvez, E., & Armada, M. (2022). Harina de banana: producción, caracterización fisicoquímica, tecnológica y funcional. *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética*. 27(1), 7-16. <https://doi.org/10.14306/renhyd.27.1.1732>
- Tostado, T., Benítez, I., Pinzón, A., Bautista, M., Ramírez, J. A., (2015). Actualidades de las características del hierro y su uso en pediatría. *Acta pediátrica de México*, 36(3), 189-194. <https://www.medigraphic.com/pdfs/actpedmex/apm-2015/apm153h.pdf>
- Vela, H., & Larissa, P. (2012). *Harina de plátano sazón de dos variedades como ingrediente funcional para la sustitución parcial en la elaboración de fideos*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Agraria de la Selva]

Apéndices

Apéndice A. Balances de masa

Balance de masa para las harinas de coladas fortificadas con 2,2 mg Fe para cada 10 g

Para el balance de masa se tuvo en cuenta el flujo de entrada y la composición de salida del hierro en la harina, la cantidad de mezcla que entro al proceso fue de 10 g de los cuales la harina de plátano presentó 0,275 mg Fe por cada 10 g de harina. Teniendo en cuenta que la concentración de salida del hierro debe ser de 2,2 mg Fe por porción de 10 g, la ecuación general planteada para el balance de hierro es la siguiente:

$$Hierro_{porción} = Hierro_{harina} + Hierro_{agg} \quad (\text{Ec. 8})$$

Para el sulfato ferroso se usaron las cantidades necesarias para la formulación de un litro (Tabla 3) y se consideró que el sulfato ferroso era puro, proponiendo la siguiente ecuación:

$$[Hierro_{porción}]g_{porción} = [Hierro_{harina}]g_{harina} + Hierro_{agg} \quad (\text{Ec. 9})$$

$$\left[\frac{2,2 \text{ mg Fe}}{10 \text{ g}_{porción}} \right] 40,167 \text{ g}_{porción} = \left[\frac{0,275 \text{ mg Fe}}{10 \text{ g}_{harina}} \right] 22,917 \text{ g}_{harina} + Hierro_{agg}$$

$$\left[0,22 \frac{\text{mg Fe}}{\text{g}_{porción}} \right] 40,167 \text{ g}_{porción} = \left[0,0275 \frac{\text{mg Fe}}{\text{g}_{harina}} \right] 22,917 \text{ g}_{harina} + Hierro_{agg}$$

$$8,837 \text{ mg Fe} = 0,630 \text{ mg Fe} + Hierro_{agg}$$

$$Hierro_{agg} = 8,207 \text{ mg Fe} = 0,008 \text{ g Fe}$$

En los balances de hierro hemo se consideró la concentración del hierro en el pulverizado (pul) de sangre bovina y las cantidades necesarias para la formulación de un litro (Tabla 3), reescribiendo la Ec. 8 de la siguiente manera:

$$[Hierro_{porción}]g_{porción} = [Hierro_{harina}]g_{harina} + [Hierro_{pul}]g_{pul} \quad (\text{Ec. 10})$$

$$\left[\frac{2,2 \text{ mg Fe}}{10 \text{ g}_{porción}} \right] 40,167 \text{ g}_{porción} = \left[\frac{0,275 \text{ mg Fe}}{10 \text{ g}_{harina}} \right] 22,917 \text{ g}_{harina} + \left[\frac{17696,580 \text{ mg Fe}}{10 \text{ g}_{pulverizado}} \right] g_{pul}$$

$$\left[0,22 \frac{\text{mg Fe}}{\text{g porción}}\right] 40,167 \text{g}_{\text{porción}} = \left[0,0275 \frac{\text{mg Fe}}{\text{g harina}}\right] 22,917 \text{g}_{\text{harina}} + \left[1769,658 \frac{\text{mg Fe}}{\text{g pulverizado}}\right] \text{g}_{\text{pul}}$$

$$8,837 \text{ mg Fe} = 0,630 \text{ mg Fe} + \left[1769,658 \frac{\text{mg Fe}}{\text{g}_{\text{pulverizado}}}\right] \text{g}_{\text{pul}}$$

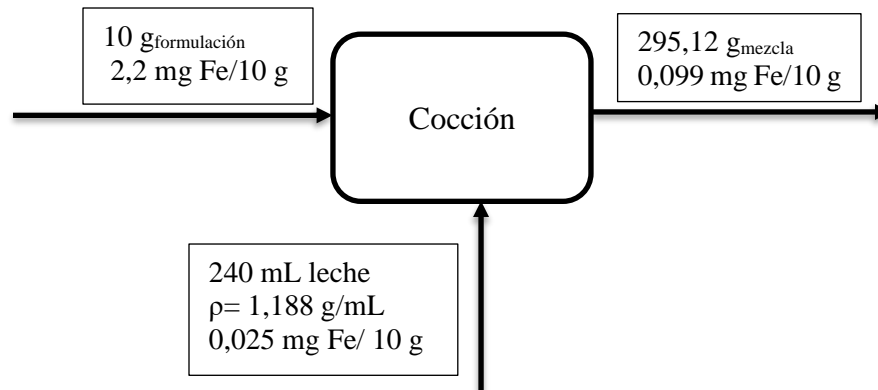
$$\text{g}_{\text{pul}} = \frac{8,837 \text{ mg Fe} - 0,630 \text{ mg Fe}}{1769,658 \frac{\text{mg Fe}}{\text{g}_{\text{pulverizado}}}} = 0,005 \text{ g}_{\text{pulverizado}}$$

Concentración de hierro en la colada preparada en un litro de leche

Teniendo en cuenta que la porción de 10 gramos se diluyó en 240 mL de leche, la cual tiene una densidad de 1,188 g/mL, se realizaron los balances para conocer la concentración teórica de hierro en las coladas fortificadas y sin fortificar.

Figura A1

Esquema del balance de hierro para las coladas fortificadas



- Balance general de masa:

$$m_{\text{total}} = m_{\text{formulación}} + m_{\text{leche}} \quad (\text{Ec. 11})$$

- Cálculo de la masa de la leche:

$$m_{\text{leche}} = \rho V = \left(1,188 \frac{\text{g}_{\text{leche}}}{\text{mL}_{\text{leche}}}\right) (240 \text{ mL}_{\text{leche}}) = 285,12 \text{ g}_{\text{leche}}$$

- Cálculo de la masa total

$$m_{\text{total}} = 10 \text{ g}_{\text{formulación}} + 285,12 \text{ g}_{\text{leche}} = 295,12 \text{ g}_{\text{total}}$$

- Balance de hierro en la colada

$$m_t \cdot [hierro_t] = m_f \cdot [hierro_f] + m_l \cdot [hierro_l] \quad (\text{Ec. 12})$$

La leche deslactosada de marca “Latti” utilizada para preparar las coladas contiene 0,72 mg de hierro en 240 mL.

- Cálculo de la concentración para las coladas fortificadas con la Ec. 11

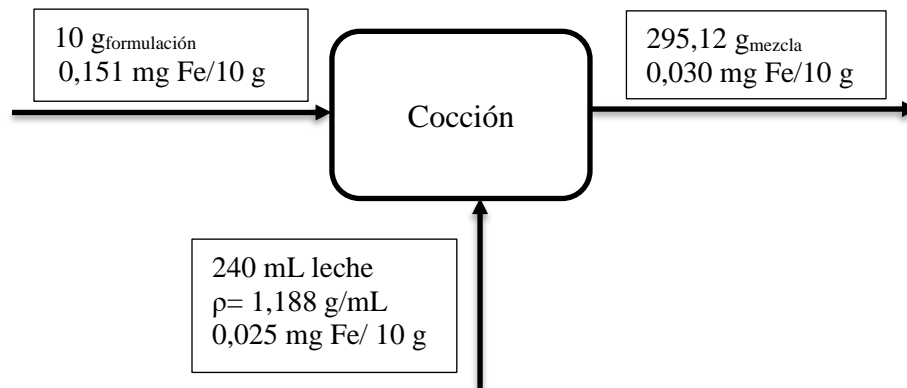
$$295,12 \text{ g}_{total} [hierro_t] = 10 \text{ g}_{formulación} \left[0,22 \frac{\text{mg Fe}}{\text{g}_{formulación}} \right] + 0,72 \text{ mg Fe}$$

$$[hierro_t] = \frac{2,92 \text{ mg Fe}}{295,12 \text{ g}_{total}} = 0,010 \frac{\text{mg Fe}}{\text{g}_{total}} = \frac{0,989 \text{ mg Fe}}{100 \text{ g}_{total}}$$

$$[hierro_t] = \frac{0,099 \text{ mg Fe}}{10 \text{ g}_{total}} = \frac{0,989 \text{ mg Fe}}{100 \text{ g}_{total}}$$

Figura A2

Esquema del balance para la colada sin fortificar



- Cálculo de la concentración para la colada sin fortificar con la Ec. 11.

Es importante tener presente que el hierro que contiene la formulación únicamente proviene de la harina de plátano, por lo tanto, se puede considerar que en 10 g de formulación hay 0,151 mg de Fe/ 10 g que corresponden a los proporcionados por los 5,5 g de harina. Por ende, la Ec. 11 se reescribe de la siguiente manera:

$$m_t [hierro_t] = m_{harina} [hierro_{harina}] + m_l [hierro_l] \quad (\text{Ec. 13})$$

$$295,12 g_{total}[\text{hierro}_t] = 5,5 g_{\text{harina}} \left[0,0275 \frac{\text{mg Fe}}{g_{\text{harina}}} \right] + 0,72 \text{ mg Fe}$$

$$295,12 g_{total}[\text{hierro}_t] = 0,151 \text{ mg Fe} + 0,72 \text{ mg Fe}$$

$$[\text{hierro}_t] = \frac{0,871 \text{ mg Fe}}{295,12 g_{total}} = 0,003 \frac{\text{mg Fe}}{g_{total}} = \frac{0,295 \text{ mg Fe}}{100 g_{total}}$$

$$[\text{hierro}_t] = \frac{0,030 \text{ mg Fe}}{10 g_{total}} = \frac{0,295 \text{ mg Fe}}{100 g_{total}}$$

Balances de las diluciones realizadas en la digestión in vitro

Al realizar las fases de la digestión *in vitro*, la concentración de hierro en la colada se diluyó en una proporción 50:50 para cada fase. A continuación, se realizó el cálculo de la concentración experimental diluida para cada fase (Tabla 15). Para esto se utilizó la fórmula de diluciones.

$$C_1V_1 = C_2V_2 \quad (\text{Ec. 14})$$

- Cálculo de las concentraciones para la colada sin fortificar

$$C_{\text{oral}} = \frac{\left(\frac{0,11 \text{ mg Fe}}{100 g_{total}} \right) (10 \text{ mL})}{20 \text{ mL}} = \frac{0,055 \text{ mg Fe}}{100 g_{total}}$$

$$C_{\text{gástrica}} = \frac{\left(\frac{0,055 \text{ mg Fe}}{100 g_{total}} \right) (10 \text{ mL})}{20 \text{ mL}} = \frac{0,028 \text{ mg Fe}}{100 g_{total}}$$

$$C_{\text{intestinal}} = \frac{\left(\frac{0,028 \text{ mg Fe}}{100 g_{total}} \right) (10 \text{ mL})}{20 \text{ mL}} = \frac{0,014 \text{ mg Fe}}{100 g_{total}}$$

- Cálculo de las concentraciones para la colada fortificada con sulfato ferroso

$$C_{\text{oral}} = \frac{\left(\frac{0,200 \text{ mg Fe}}{100 g_{total}} \right) (10 \text{ mL})}{20 \text{ mL}} = \frac{0,100 \text{ mg Fe}}{100 g_{total}}$$

$$C_{\text{gástrica}} = \frac{\left(\frac{0,100 \text{ mg Fe}}{100 g_{total}} \right) (10 \text{ mL})}{20 \text{ mL}} = \frac{0,050 \text{ mg Fe}}{100 g_{total}}$$

$$C_{institinal} = \frac{\left(\frac{0,050 \text{ mg Fe}}{100 \text{ g}_{total}}\right) (10 \text{ mL})}{20 \text{ mL}} = \frac{0,025 \text{ mg Fe}}{100 \text{ g}_{total}}$$

- Cálculo de las concentraciones para la colada fortificada con hierro hemo

$$C_{oral} = \frac{\left(\frac{0,130 \text{ mg Fe}}{100 \text{ g}_{total}}\right) (10 \text{ mL})}{20 \text{ mL}} = \frac{0,065 \text{ mg Fe}}{100 \text{ g}_{total}}$$

$$C_{gástrica} = \frac{\left(\frac{0,065 \text{ mg Fe}}{100 \text{ g}_{total}}\right) (10 \text{ mL})}{20 \text{ mL}} = \frac{0,033 \text{ mg Fe}}{100 \text{ g}_{total}}$$

$$C_{intestinal} = \frac{\left(\frac{0,033 \text{ mg Fe}}{100 \text{ g}_{total}}\right) (10 \text{ mL})}{20 \text{ mL}} = \frac{0,016 \text{ mg Fe}}{100 \text{ g}_{total}}$$

Los datos calculados en esta sección se utilizaron para calcular las bioaccesibilidades de cada fase expuestas en la tabla 15.

Apéndice B. Encuestas

A continuación, se presenta la estructura de la encuesta realizada a los potenciales consumidores de las coladas. Esta encuesta se realizó en la aplicación Google Forms.

Ranking de preferencia: coladas de plátano.

El propósito de esta encuesta es recopilar información sobre sus preferencias en relación con seis variedades de coladas elaboradas a partir de harina de plátano. Nuestro objetivo principal al llevar a cabo esta encuesta es contribuir a la selección de una fórmula preliminar de colada de plátano. Es importante destacar que esta encuesta se enfoca exclusivamente en datos relacionados con su percepción en cuanto a las coladas, y no se recopila ningún tipo de información personal. Su participación es fundamental para ayudarnos a tomar decisiones en el desarrollo de este producto y trabajo de grado.

Instrucciones:

Durante la encuesta se le proporcionará seis muestras de coladas elaboradas con harina de plátano. El objetivo principal de esto es que usted pueda interactuar con cada una de las muestras y asignarles un número del 1 al 6, donde 1 representa su colada preferida y 6 indica la menos preferida en su opinión. Es importante tener en cuenta que la escala no permite empatar, lo que significa que una vez que haya asignado un número a una colada, no podrá otorgar el mismo número a otra.

Al momento de realizar la prueba se solicita que reciba la colada, perciba el olor de esta al destaparla, agítela suavemente moviendo el recipiente en círculo y observe cuidadosamente el producto. Estas indicaciones se dan para minimizar la variabilidad de los datos.

Importante: No ingiera las muestras

- Seleccione la letra que el encuestador le indicó.

- A
 - B
 - C
 - D
 - E
 - F
 - G
 - H
 - I
 - J
- Realice el ranking de las muestras

	1	2	3	4	5	6
Muestra 1	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Muestra 2	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Muestra 3	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Muestra 4	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Muestra 5	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Muestra 6	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

- Indique cuanto le gustó la colada seleccionada como primera en el ranking utilizando la siguiente escala:
 - 1 – Me gusta muchísimo
 - 2 – Me gusta mucho

- 3 – Me gusta moderadamente
- 4 – Me gusta
- 5 – Ni me gusta ni me disgusta
- 6 – No me gusta
- 7 – Me desagrada
- 8 – Me desagrada mucho
- 9 – Me desagrada muchísimo

Gracias por su participación.

Apéndice C. Análisis estadístico

Se realizaron pruebas ANOVA con el software MINITAB para las pruebas de pH, CAA, %S, SP, DE y DS con el fin de determinar si había diferencias significativas en los resultados. Para determinar si se rechaza o acepta la hipótesis nula (H_0) se comparó el valor P con un intervalo de confianza de 0,05.

Prueba de pH

Figura C1

Análisis ANOVA prueba de pH

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0,05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Colada	2	0,005633	0,002817	5,83	0,093
Error	3	0,001450	0,000483		
Total	5	0,007083			

Prueba de CAA

Figura C2

Análisis ANOVA prueba de CAA

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
 Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
 Nivel de significancia $\alpha = 0,05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Colada	2	0,01672	0,008362	1,11	0,437
Error	3	0,02269	0,007564		
Total	5	0,03942			

Prueba %S**Figura C3***Análisis ANOVA prueba de %S***Método**

Hipótesis nula	Todas las medias son iguales
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales
Nivel de significancia $\alpha = 0,05$	

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Colada	2	0,000262	0,000131	0,15	0,865
Error	3	0,002581	0,000860		
Total	5	0,002843			

Prueba SP**Figura C4***Análisis ANOVA prueba de SP***Método**

Hipótesis nula	Todas las medias son iguales
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales
Nivel de significancia $\alpha = 0,05$	

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Colada	2	0,02161	0,01080	0,29	0,768
Error	3	0,11212	0,03737		
Total	5	0,13373			

Prueba DE**Figura C5***Análisis ANOVA prueba de DE***Método**

Hipótesis nula	Todas las medias son iguales
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales
Nivel de significancia $\alpha = 0,05$	

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Colada	2	0,003050	0,001525	1,43	0,367
Error	3	0,003210	0,001070		
Total	5	0,006261			

Prueba DS**Figura C6***Análisis ANOVA prueba de DS***Método**

Hipótesis nula Todas las medias son iguales
Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
Nivel de significancia $\alpha = 0,05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Colada	2	0,000256	0,000128	3,00	0,192
Error	3	0,000128	0,000043		
Total	5	0,000384			

Apéndice D. Protocolo de digestión *in vitro****Preparación de enzimas***

1. Conectar las mangueras del baño a la chaqueta de digestión.
2. Revisar que el baño no tenga nada adentro.
3. Encender el baño y colocar el set point en 42,8 °C para mantener la temperatura de 37°C en el volumen de reacción.
4. Pesar las enzimas en los tubos falcon asignados y taparlos.

Nota: La digestión se hace con luz mínima.

Fase oral

Nota: se pesa la cantidad de α -amilasa requerida para tener las U/mL que necesitamos en la reacción.

1. En un vaso de precipitado pequeño se agrega agua de la llave y se lleva a la nevera del laboratorio (**importante:** tener en cuenta que para asegurar los 4-0,5°C el vaso de precipitado debe estar al menos 15 min en la nevera)
2. Como la α -amilasa esta líquida no se le agrega agua.
3. Agregar los ingredientes (SFS, CaCl₂ y agua destilada) de la fase oral al tubo falcon donde está la α -amilasa.

Sugerencia: Preparar de una vez la solución de simulación gástrica

- a. Colocar la pepsina de forma horizontal (que este extendida a lo largo del tubo para mejorar su disolución) y agregar el agua destilada necesaria para la enzima.
- b. Agitar a 800 rpm en el vortex por 30 seg (verificar que no se vean solidos suspendidos, si se siguen viendo seguir agitando)

- c. Agregar los ingredientes (SFG, CaCl_2 y agua destilada) de la fase gástrica en el tubo falcon donde está la pepsina.
- d. Agitar a 800 rpm en el vortex por 30 seg.
4. Agitar a 800 rpm en el vortex por 30 seg.
5. Colocar 10 mL del líquido a digerir en la chaqueta de reacción.
6. Agregar el fluido de simulación oral preparado en el tubo falcon.
7. Colocar el agitador magnético y encender la plancha de agitación magnética a 200 rpm (estos rpm son para poder simular el peristaltismo de manera óptima)
8. Ubicar el pH-metro en el soporte universal y se activa el titulador para llegar a pH 7 (tener en cuenta que el método a utilizar debe ser previamente creado con las necesidades del proceso).
9. Cuando el sistema llegue al pH y temperatura deseada se empieza a cronometrar el tiempo de la fase oral.
10. Al terminar el tiempo de reacción de la fase oral se miden 10 mL en una probeta y el resto se pasa a un frasco de vidrio para sumergirlo en el vaso de precipitado que teníamos en la nevera.
11. Tapar el frasco donde está el fluido resultante de la fase oral con aluminio y llevar a la nevera por 20 min.

Fase gástrica

1. Agregar los 10 mL de la fase oral reservados en la probeta a la chaqueta de reacción.
2. Agregar el fluido de simulación gástrica reservado en el tubo falcon del inciso d a la chaqueta.
3. Encender la plancha de agitación magnética a 200 rpm.

4. Colocar el pH-metro en la solución y se activa el titulador con el método previamente creado para la acidificación del medio.
5. Al llegar a la temperatura y pH requerido se empieza a contabilizar el tiempo necesario para la rxn de la fase.
6. Mientras transcurre esta fase se cumplen los 20 min de refrigeración de la solución resultante de la fase oral, se traspasa con una micropipeta la totalidad del volumen a los eppendorfs para centrifugarlos a 10600 RCF por 30 min.
7. Luego de la centrifugación se extrae la fase soluble con una micropipeta o una jeringa sin extraer el precipitado, este volumen se resguarda en un tubo falcon forrado con aluminio y se lleva a refrigeración para su posterior determinación de hierro.

Importante: Estar monitoreando el pH en la digestión.

8. Faltando 15 min para que acabe la fase gástrica, en un vaso de precipitado pequeño se agrega agua de la llave y se lleva a la nevera del laboratorio.
9. Colocar la pancreatina y bilis de forma horizontal (que este extendida a lo largo del tubo para mejorar su disolución) y agregar el agua destilada necesaria a cada uno.
10. Agitar a 800 rpm en el vortex por 30 seg (verificar que no se vean solidos suspendidos, si se siguen viendo seguir agitando).

Nota: En el caso de la pancreatina se debe mantener en agitación de 800 rpm hasta no observar solidos suspendidos.

11. Mezclar la pepsina y la bilis.
12. Agregar los ingredientes (SFG, CaCl₂ y agua destilada) de la fase intestinal en la mezcla anterior.
13. Agitar a 800 rpm en el vortex por 30 seg.

14. Al terminar el tiempo de reacción de la fase gástrica se miden 10 mL en una probeta y el resto se pasa a un frasco de vidrio para sumergirlo en el vaso de precipitado que teníamos en la nevera.
15. Tapar el frasco donde está el fluido resultante de la fase gástrica con aluminio y llevar a la nevera por 20 min.

Fase intestinal

1. Agregar los 10 mL de la fase gástrica reservados en la probeta a la chaqueta de reacción.
2. Agregar el fluido de simulación intestinal reservado en el tubo falcon del inciso d a la chaqueta.
3. Encender la plancha de agitación magnética a 200 rpm.
4. Colocar el pH-metro en la solución y activar el titulador con el método previamente creado para la alcalinización del medio.
5. Al llegar a la temperatura y pH requerido se empieza a contabilizar el tiempo necesario para la rxn de la fase.
6. Mientras transcurre esta fase se cumplen los 20 min de refrigeración de la solución resultante de la fase gástrica, se traspasa con una micropipeta la totalidad del volumen a los eppendorfs para centrifugarlos a 10600 RCF por 30 min.
7. Luego de la centrifugación se extrae la fase soluble con una micropipeta o una jeringa sin extraer el precipitado, este volumen se resguarda en un tubo falcon forrado con aluminio y se lleva a refrigeración para su posterior determinación de hierro.
8. Faltando 15 min para que acabe la fase intestinal, en un vaso de precipitado pequeño se agrega agua de la llave y se lleva a la nevera del laboratorio.

9. Al terminar el tiempo de reacción de la fase intestinal el volumen resultante se traspasa a un frasco de vidrio para meterlo en el vaso de precipitado que teníamos en la nevera.
10. Tapar el frasco donde está el fluido resultante de la fase intestinal con aluminio y llevar a la nevera por 20 min.
11. Cambiar el set point del baño a 25°C y se espera a que llegue a la temperatura.
12. Al llegar a la temperatura, se apaga el baño y se retiran de la chaqueta las mangueras para lavar la chaqueta.
13. Al terminar los 20 min de refrigeración de la solución resultante de la fase intestinal, se traspasa con una micropipeta la totalidad del volumen a los eppendorfs para centrifugarlos a 10600 RCF por 30 min.
14. Luego de la centrifugación se extrae la fase soluble con una micropipeta o una jeringa sin extraer el precipitado, este volumen se resguarda en un tubo falcon forrado con aluminio y se lleva a refrigeración para su posterior determinación de hierro.

Pasos finales

1. Vaciar las buretas del titulador y se lavan con agua destilada, haciendo dos purgas.
2. Lavar el pH-metro con agua destilada, se seca y se guarda en la solución de almacenamiento.

Tener en cuenta:

- El pH-metro debe estar sumergido al menos hasta los puntos que se visualizan en el vidrio de este mismo para tener una correcta medición.
- Mantener en refrigeración los SFS, SFG y SFI preparados con anterioridad y solo sacar de refrigeración para preparar los fluidos de simulación con las enzimas.

- Siempre estar monitoreando el pH, para el estudio con las coladas de plátano en la fase oral solo se debe agregar base al inicio; en la fase gástrica se agregan dos veces ácido y en la fase intestinal se agrega dos veces base y una vez ácido (esto se debe a que después de la hora el volumen de reacción empieza a alcalinizarse)
- El proceso tiene una duración aproximada de 5 horas.
- Leer el protocolo para el uso del titulador Hanna Instruments.

Apéndice E. Prueba de Kramer

Con el fin de facilitar la comprensión de esta prueba se codificaron las diferentes formulaciones de manera que a cada una de esta le corresponde una letra como se muestra a continuación en la tabla E1.

Tabla E1

Codificación de las coladas

Código	Formulación
A	Xantana 1,5 [g/L]
B	Xantana 2,5 [g/L]
C	Xantana 4 [g/L]
D	Guar 1,5 [g/L]
E	Guar 2,5 [g/L]
F	Guar 4 [g/L]

Para realizar el método de Kramer se calculó *Least Significant Ranked Difference* (LSRD) que tiene como fórmula:

$$LSRD = t \sqrt{\frac{JK(J+1)}{6}} \quad (\text{Ec. 15})$$

Donde,

K : Número de personas encuestadas; J : Número de muestras; t : Valor crítico t a $\alpha = 5\%$ y

$(J - 1) = 5$

Coladas sin fortificar

Se comparó el $LSRD = 53,31$ con los resultados de la tabla E2, donde se muestra la resta de pares de sumatorias de la tabla E2 y las posibles combinaciones.

Tabla E2*Diferencias entre los tipos de coladas sin fortificar*

Combinatoria	Diferencia	Combinatoria	Diferencia	Combinatoria	Diferencia
A vs B	17	B vs C	27	C vs E	5
A vs C	44	B vs D	25	C vs F	22
A vs D	42	B vs E	22	D vs E	3
A vs E	39	B vs F	5	D vs F	20
A vs F	22	C vs D	2	E vs F	17

Una diferencia mayor al LSRD significa que se rechaza la hipótesis nula. Para este caso ninguna diferencia supera el valor, por lo tanto, no se rechaza la hipótesis nula reafirmando que no existe una diferencia significativa entre las muestras.

Coladas fortificadas con sulfato ferroso

En cuanto a las coladas fortificadas con sulfato ferroso el LSRD es igual a 53,31 y la tabla E3 de las diferencias es la siguiente:

Tabla E3*Diferencias entre los tipos de coladas fortificadas con sulfato*

Combinatoria	Diferencia	Combinatoria	Diferencia	Combinatoria	Diferencia
A vs B	10	B vs C	7	C vs E	24
A vs C	3	B vs D	33	C vs F	10
A vs D	23	B vs E	17	D vs E	50
A vs E	27	B vs F	3	D vs F	36
A vs F	13	C vs D	26	E vs F	14

Para este caso la diferencia D vs E se acerca al valor del LSRD, en primera instancia un valor cercano haría pensar que podría haber una diferencia entre las muestras, sin embargo, este no es el caso porque la diferencia debe ser significativamente mayor al LSRD para rechazar la hipótesis nula.

Coladas fortificadas con hierro hemo

Con respecto a las coladas fortificadas con hierro hemo el LSRD es igual a 53,31 y la tabla E4 de las diferencias es la siguiente:

Tabla E4*Diferencias entre los tipos de coladas fortificadas con hierro hemo*

Combinatoria	Diferencia	Combinatoria	Diferencia	Combinatoria	Diferencia
A vs B	24	B vs C	43	C vs E	48
A vs C	19	B vs D	21	C vs F	72
A vs D	3	B vs E	5	D vs E	26
A vs E	29	B vs F	29	D vs F	50
A vs F	53	C vs D	22	E vs F	24

En los resultados se observó que la combinatoria A vs F es bastante cercana al valor de LSRD, pero no lo supera, caso contrario de la combinatoria de C vs F para la cual existe una diferencia mayor al valor estadístico propuesto por Kramer, evidenciando que existe una diferencia significativa entre estas dos formulaciones, como F tuvo el mayor puntaje en la tabla 8 (muestra menos aceptada) se descarta la formulación. Considerando que la prueba de Friedman compara todas las formulaciones entre sí, mientras que la prueba de Kramer compara entre 2 formulaciones y en esta prueba no se obtuvo una formulación que destacara sobre todas las otras, se pudo inferir que se mantiene la hipótesis nula pero la formulación F podría tener una menor aceptación en el consumidor.