

Evaluación del efecto de la adición de dos tipos de hierro en leche entera pasteurizada y ultrapasteurizada como una iniciativa para el Programa de Merienda Escolar en Honduras

**Alba Claudia Mayta Apaza
Marco Eduardo Toc Sagra**

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2013

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

Evaluación del efecto de la adición de dos tipos de hierro en leche entera pasteurizada y ultrapasteurizada como una iniciativa para el Programa de Merienda Escolar en Honduras

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar al título de Ingenieros en Agroindustria Alimentaria en el Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Alba Claudia Mayta Apaza
Marco Eduardo Toc Sagra

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2013

Evaluación del efecto de la adición de dos tipos de hierro en leche entera pasteurizada y ultrapasteurizada como una iniciativa para el Programa de Merienda Escolar en Honduras

Presentado por:

Alba Claudia Mayta Apaza
Marco Eduardo Toc Sagra

Aprobado:

Luis Fernando Osorio, Ph.D.
Asesor Principal

Luis Fernando Osorio, Ph.D.
Director
Departamento de Agroindustria
Alimentaria

Paola Carrillo, M. Sc.
Asesora

Raúl Zelaya, Ph.D.
Decano Académico

**Evaluación del efecto de la adición de dos tipos de hierro en leche entera
pasteurizada y ultrapasteurizada como una iniciativa para el Programa de Merienda
Escolar en Honduras**

**Alba Claudia Mayta Apaza
Marco Eduardo Toc Sagra**

Resumen: La anemia por deficiencia de hierro afecta severamente a niños y mujeres de edad fértil en Honduras. Para combatir la desnutrición, el Gobierno de Honduras implementó en el Programa de Merienda Escolar, la Ley de Vaso de Leche. La leche ha sido probada como un vehículo adecuado para la ingesta de hierro. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la adición de dos tipos de hierro en leche entera pasteurizada y ultrapasteurizada como una iniciativa para el Programa de Merienda Escolar en Honduras. Se utilizó un DCA para todo el estudio. Se aplicó un arreglo factorial $3 \times 3 \times 6$ (días 1 al 6) para los análisis físico-químicos. Un arreglo factorial de 3×2 (días 1 y 4) para el análisis sensorial de atributos por aceptación. Se aplicó un t-student de dos colas en prueba pareada para el análisis sensorial de preferencia en niños escolares de 5 a 12 años de edad. Cada tipo de leche tubo un control (sin fortificar), uno fortificado con hierro monosódico EDTA y uno fortificado con sulfato ferroso más vitamina C. Se utilizó 15 mg de hierro y 100 mg de vitamina C. Se determinó que se aceptó mejor el hierro monosódico EDTA que el sulfato ferroso. El tratamiento de sulfato ferroso con vitamina C presentó mayor ($P < 0.05$) amargor y sabor residual. Los niños prefirieron igualmente ($P > 0.05$) una leche sin fortificar que una fortificada con hierro monosódico EDTA. Se sugiere realizar estudios de absorción del hierro monosódico EDTA para recomendarlo como una fuente de hierro potencial para reducir a largo plazo los índices de anemia ferropénica en Honduras.

Palabras clave: Fortificación de leche, hierro monosódico EDTA, sulfato ferroso.

Abstract: Iron deficiency anemia severely affects children and pregnant women in Honduras. To combat malnutrition, the Government of Honduras implemented the Milk Glass Law in the School Lunch Program. Milk has been proven as a suitable vehicle for iron intake. The objective of this study was to evaluate the effect of the addition of two types of iron in pasteurized and ultrapasteurized whole milk as an initiative for the School Lunch Program of Honduras. Completely randomized design was used. A factorial of $3 \times 3 \times 6$ (days 1 to 6) was used for physic-chemical analysis, a factorial of 3×2 (days 1 and 4) for acceptance test, and a t-student test for paired samples was used for preference test in children with 5-12 years old. Each type of milk has a control (unfortified), one fortified with iron monosodium EDTA and one fortified with ferrous sulfate plus vitamin C. Was used 15 mg of iron and 100 mg of vitamin C. Iron monosodium EDTA was better accepted than ferrous sulfate with vitamin C. Ferrous sulfate with vitamin C has more ($P < 0.05$) bitterness and aftertaste. Children equally prefer ($P < 0.05$) one unfortified milk than a fortified milk with iron monosodium EDTA, therefore iron monosodium EDTA is an iron potential source to add in pasteurized or ultrapasteurized whole milk for children. This study suggest to realize studies of iron absorption recommend iron monosodium EDTA as an iron source, to reduce in long-term, the rates of iron deficiency anemia in Honduras.

Keywords: Ferrous sulfate, iron monosodium EDTA, milk fortification.

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas	ii
Resumen	iii
Contenido	iv
Índice de Cuadros, Figuras y Anexos.....	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	8
4. CONCLUSIONES	19
5. RECOMENDACIONES	20
6. LITERATURA CITADA.....	21
7. ANEXOS	23

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadros		Página
1.	Tratamientos y dosis utilizadas para la fortificación de leche pasteurizada y ultrapasteurizada.....	3
2.	Correlaciones entre el ATECAL, el pH y los días, encontrados en la leche pasteurizada y ultrapasteurizada.	14
3.	Contenido de hierro en las muestra de leche analizadas a través de espectro fotometría de absorción atómica.	15
4.	Análisis sensorial del atributo color de leches.	15
5.	Análisis sensorial del atributo aroma de leches.	16
6.	Análisis sensorial del atributo viscosidad de leches.....	16
7.	Análisis sensorial del atributo amargor de leches.	16
8.	Análisis sensorial del atributo sabor residual de leches.	17
9.	Análisis sensorial del atributo aceptación general de leches.....	17
10.	Análisis sensorial de preferencia en niños escolares.....	18

Figuras		Página
1.	Flujo de proceso para la fortificación de leche entera con hierro después de haber sido pasteurizada (P) o ultrapasteurizada (UHT).	5
2.	Comportamiento del pH durante seis días analizados para los tratamientos de leche pasteurizada.	8
3.	Comportamiento del pH durante seis días analizados para los tratamientos de leche ultrapasteurizada.....	9
4.	Comportamiento del ATECAL durante seis días analizados para los tratamientos de leche pasteurizada.	10
5.	Comportamiento del ATECAL durante seis días analizados para los tratamientos de leche ultrapasteurizada.....	10
6.	Comportamiento de la viscosidad durante seis días analizados para los tratamientos de leche pasteurizada. No significativo ($P>0.05$).	11
7.	Comportamiento de la viscosidad durante seis días analizados para los tratamientos de leche ultrapasteurizada. No significativo ($P>0.05$).....	11
8.	Comportamiento del valor L^* durante seis días analizados para los tratamientos de leche pasteurizada.	12
9.	Comportamiento del valor L^* durante seis días analizados para los tratamientos de leche ultrapasteurizada. No significativo ($P>0.05$).....	12
10.	Comportamiento del índice de blancura durante seis días analizados para los tratamientos de leche pasteurizada.	13
11.	Comportamiento del índice de blancura durante seis días analizados para los tratamientos de leche ultrapasteurizada. No significativo ($P>0.05$).	13

Anexos	Página
1. Hoja sensorial de preferencia para leche pasteurizada, utilizada con niños de la Escuela Bixby Stone	23
2. Hoja sensorial de preferencia para leche ultrapasteurizada, utilizada con niños de la Escuela Bixby Stone	23
3. Hoja de evaluación sensorial de aceptación con escala hedónica de nueve puntos utilizada para los tratamientos.	24
4. Carta de consentimiento para los padres de familia de la Escuela Bixby Stone.....	25
5. Prototipo de etiqueta nutricional de leche de vaca entera (3% grasa) sin fortificar (a) y fortificado con hierro monosódico EDTA (b).	28

1. INTRODUCCIÓN

La anemia ferropénica es un trastorno en la sangre que se caracteriza por la disminución de la concentración de glóbulos rojos causada por la ingesta inadecuada de hierro (WHO 2001). La deficiencia de hierro es un problema que afecta a países en vías de desarrollo y países desarrollados. Actualmente, se ha declarado como el problema de salud pública más difundido a nivel mundial que afecta en su mayoría a niños y mujeres en gestación (Benoist *et al.* 2008). Globalmente, la anemia por carencia de hierro afecta alrededor 1.62 mil millones de personas lo que corresponde al 24.8% de la población mundial y la prevalencia más alta se encuentra en niños preescolares y escolares (47.4%).

La situación de salud pública en Honduras no es la excepción, para el año 2006 la prevalencia de anemia en los niños de 6 a 59 meses de edad fue alrededor del 37% (ENDESA 2013). Aproximadamente, el 23% de los niños sufrían de anemia leve, el 14% sufrían de anemia moderada y alrededor del 1% de los niños sufrían de anemia severa. Para el año 2010 y como un plan de acción para combatir los actuales índices de desnutrición y mejorar la calidad de vida de las futuras generaciones, el Gobierno de Honduras implementó la Ley del Vaso de Leche que consiste en proporcionar al Programa de la Merienda Escolar una cantidad de 250 mililitros de leche fluida entera de vaca (3% grasa) una vez al día durante cinco días.

Uno de los inconvenientes que enfrenta esta ley en vigencia, es que el enfoque principal de suministrar la leche a la merienda escolar, es ser únicamente una fuente de proteína sin tener en consideración que la leche puede ser utilizada también como un vehículo de vitaminas y minerales. Durante muchos años, el hierro ha sido utilizado en la fortificación de alimentos para reducir los índices anemia ferropénica en diversas poblaciones y ha mostrado resultados satisfactorios. Estudios en Chile encontraron que luego de 12 meses de ingesta de leche fortificada con sulfato ferroso y ácido ascórbico (15 mg y 100 mg por cada 100 g de leche en polvo, respectivamente), solamente el 2.5% del grupo tratado presentó anemia, mientras que el 25.7% del grupo control aún prevaleció con anemia. Por otro lado, un estudio en Vietnam determinó que el consumo diario de 10 ml de salsa de pescado que contenía 10 mg de hierro como hierro monosódico EDTA, disminuyó significativamente la prevalencia de anemia pasando de un 53.1% a un 15.6% durante seis meses de consumo (Stekel *et al.* 1988; Van Thuy *et al.* 2003).

Entre los factores negativos que surgen en la fortificación de hierro, es que algunos alimentos de consumo básico contienen sustancias inhibidores de la absorción de este mineral como ser el ácido fítico, los polifenoles y los oxalatos, que se unen al hierro formando complejos insolubles (Allen y Ahluvalia 1997). Sin embargo, se ha encontrado

que la utilización de ácido ascórbico (como co-adición de vitamina C:hierro en proporciones de 6:1) o sodio-ácido etilendiaminotetraacético (sodio EDTA o Na₂EDTA), pueden reducir el efecto de los inhibidores aumentando efectivamente la cantidad total de hierro absorbible de los alimentos fortificados con este mineral (Allen *et al.* 2006). Por otro lado, otro factor negativo que surge en la fortificación de alimentos, es que el hierro interactúa de diferentes maneras con el alimento según sea su naturaleza. Un comportamiento negativo determinante en la aceptabilidad de un alimento es que provoca un cambio sensorial inadmisibles por su efecto principalmente las características de color, sabor y olor (OPS *et al.* 2002).

Dicho lo anterior, la finalidad de este proyecto de investigación fue evaluar el efecto de la adición de dos tipos de hierro en leche pasteurizada y ultrapasteurizada como una iniciativa para el Programa de Merienda Escolar en Honduras. Por lo tanto, el alcance de esta investigación se fundamenta en los siguientes objetivos:

- Determinar el efecto de la fortificación con hierro en leche entera después de pasteurizada y ultrapasteurizada.
- Identificar el mejor tipo de hierro como una iniciativa para fortificar la leche de la Ley de Vaso de Leche del Programa de Merienda Escolar en Honduras.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño Experimental. La investigación tuvo lugar en la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Departamento de Agroindustria Alimentaria en las instalaciones de La planta de procesamiento de Leche, Laboratorio de Análisis de Alimentos Zamorano (LAAZ), El Laboratorio de Análisis Sensorial de Alimentos Zamorano y La Escuela Alison Bixby Stone.

La investigación se llevó a cabo a partir de seis tratamientos (Cuadro 1) que se analizaron independientemente. De estos, tres fueron de leche entera pasteurizada HTST (P) y tres de leche entera ultrapasteurizada (UHT). Para cada grupo de tres tratamientos, uno fue leche únicamente (Control), otro fue leche más sulfato ferroso y ácido ascórbico (FeSO_4+VC) y otro fue de leche más hierro monosódico EDTA (NaFeEDTA). Las concentraciones utilizadas fueron de 15 mg de hierro y 100 mg de vitamina C por litro de leche, y se establecieron de acuerdo a investigaciones que se han realizado (Olivares *et al.* 2003; Stekel *et al.* 1988) y a la ración dietética recomendada (SACN 2010).

La finalidad de analizar separadamente la leche por tratamiento térmico, fue bloquear la influencia de las características de aroma marcado por cada tipo de leche; asimismo, se buscaba reducir el error de estímulo en el análisis sensorial debido al gran número de muestras (6 muestras) a analizar por panelista. Por otro lado, las leches enteras (3% grasa) tratada térmicamente diferente, fueron compradas de una misma empresa y del mismo lote de elaboración, con la finalidad de evitar sesgos por el origen de la leche.

Cuadro 1. Tratamientos y dosis utilizadas para la fortificación de leche pasteurizada y ultrapasteurizada.

Tratamientos [¥]	Materiales [§] (mg/L)		
	$\text{FeSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ [¶]	Ferrazone® XF ^Δ	MC (Vitamina C) ^ϕ
P-Control	-	-	-
P- FeSO_4+VC	45.54	-	100
P- NaFeEDTA	-	115.38	-
UHT-Control	-	-	-
UHT- FeSO_4+VC	45.54	-	100
UHT- NaFeEDTA	-	115.38	-

[¥]La concentración de hierro y vitamina C utilizadas fueron de 15 mg y 100 mg, respectivamente. [§]Las dosis están representadas en mg por litro de leche. [¶]La concentración de hierro en $\text{FeSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ era de 32.94%. ^ΔLa concentración de hierro en Ferrazone® XF era de 13%. ^ϕLa concentración de vitamina C marca MC era de 100%.

El diseño experimental utilizado fue el Diseño Completamente al Azar (DCA) por cada tipo de tratamiento térmico en la leche. Se aplicó un arreglo factorial $3 \times 3 \times 6$ con medidas repetidas en el tiempo (Días 1 al 6) para los análisis físico-químicos, un arreglo factorial de 3×2 con medidas repetidas en el tiempo (Días 1 y 4) para el análisis sensorial de atributos por aceptación y se aplicó un t-student de dos colas en prueba pareada para el análisis sensorial de preferencia en niños escolares de 5 a 12 años de edad. El número total de unidades experimentales fueron 36.

Los datos fueron analizados a través del programa estadístico “Statistical Analysis System” (SAS versión 9.3[®]) y se generaron cuadros de ANDEVA, separación de medias Tukey y las correlaciones entre las variables físico-químicas a través de la correlación Pearson.

Preparación de leche fortificada. La elaboración de la leche fortificada se llevó a cabo en la planta de procesamiento de lácteos y derivados de Zamorano.

Se trabajó en los volúmenes necesarios para todo el estudio considerando cada tratamiento y cada repetición por separado. De acuerdo al volumen de cada tratamiento se pesó la cantidad necesaria de sulfato ferroso más el ácido ascórbico por una parte y el NaFeEDTA por otra parte. Para la mezcla se preparó una pre-mezcla en un elernmeyer (esterilizado a 121 °C y 15 PSI por 30 minutos) utilizando 50 mL de leche previamente tratada térmicamente a la cual se añadió uno de los fortificantes. Una vez bien mezclados ambos ingredientes, luego se mezcló con el 50% del volumen total de leche y posteriormente se le agregó el otro 50% restante de leche y nuevamente se mezcló (Figura 1). De esta forma se realizaron todos los tratamientos de manera individual.

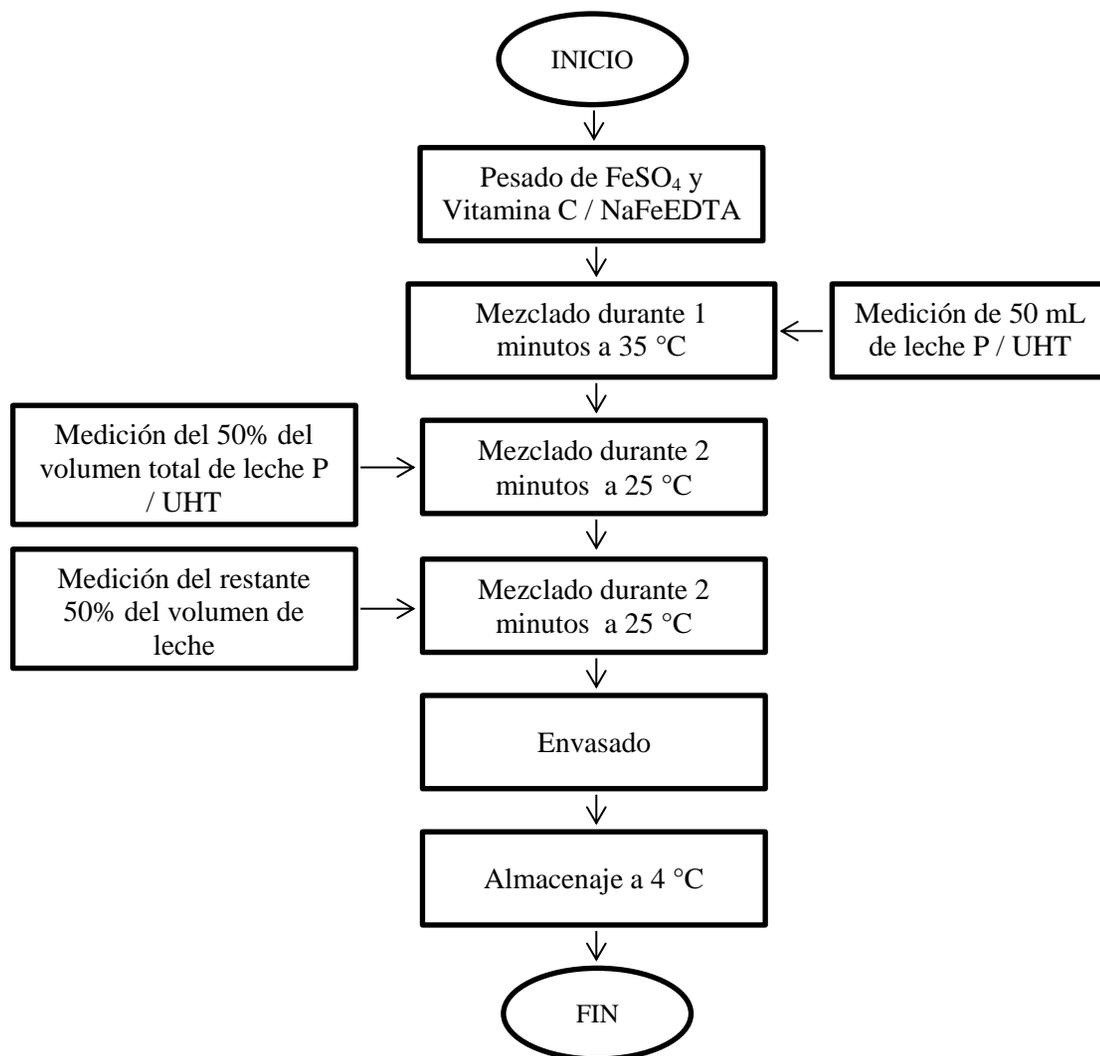


Figura 1: Flujo de proceso para la fortificación de leche entera con hierro después de haber sido pasteurizada (P) o ultrapasteurizada (UHT).

Se tomaron muestras de leche antes y después de agregar la pre-mezcla con el fortificante para tener un control de la posible contaminación de la leche en este procedimiento. El envasado se realizó en envases de polietileno de alta densidad (HDPE) de 1 galón desinfectados con cloro a 100 ppm. Cabe mencionar que la operación unitaria de fortificación en una línea de producción a nivel industrial se realiza antes de homogenización y pasteurización, sin embargo en este estudio no se llevó a cabo de esa manera ya que no era con esos fines y además se realizó a nivel de laboratorio.

Análisis de coliformes totales. Se realizó conteo de coliformes, antes y después de agregar los compuestos con hierro, durante la preparación de los tratamientos. Se utilizó VRBA (Violet Red Bile Agar) como medio de cultivo. Para la siembra, se realizó la técnica de vertido colocando 1 mL de la muestra sin dilución o muestra directa en cada plato petri. Las siembras se hicieron por duplicado. El tiempo de incubación fue de 24 horas a 37 °C donde finalmente se hizo el conteo de las unidades formadoras de colonias.

Análisis de viscosidad. La viscosidad se midió durante seis días consecutivos a través del Reómetro de Brookfield DV-III Ultra V6.1 LV utilizando el spindle LV 61. Los datos de viscosidad fueron tomados por triplicado a los dos minutos a 180 RPM. Las muestras de leche estaban a una temperatura de 4.5±0.5 °C. Los datos se presentaron con las unidades de Pa·s.

Análisis de color. El color se evaluó durante seis días consecutivos utilizando el Hunter Lab Modelo 45/0. Se midió el color de tres pseudoreplicas por cada tratamiento y posteriormente se hizo un promedio. Los resultados se presentaron en valores L de la escala de triple estímulo (L a b) y en índice de blancura (IB). El eje L* mide la claridad de 0-100, siendo 0: negro y 100: blanco. Para calcular el índice de blancura, se utilizaron los valores L a b haciendo uso de la Ecuación 1 (Puebla 2003).

$$IB = 100 - [(100 - L)^2 + a^2 + b^2]^{0.5} \quad [1]$$

Análisis de contenido de hierro. Para el análisis del contenido de hierro en los tratamientos, primero se incineró cada muestra y posteriormente se preparó la ceniza para determinar el contenido de hierro a través de Espectrofotometría de Absorción Atómica.

Obtención de cenizas (Método Oficial AOAC 945.46): Se pesó 3 gramos de leche. Posteriormente, la muestra se evaporó a sequedad a través de una estufa a 150 °C y luego se incineró en una mufla a ≤550 °C durante aproximadamente 4 horas hasta que la ceniza estuviese libre de carbono. Finalmente se enfrió en un desecador.

Preparación de cenizas (Método Oficial AOAC 985.35): A la ceniza contenida en el crisol se le agregó 5 mL de HNO₃ 1M y luego se calentó en una estufa a 95 °C durante 2 - 3 minutos para disolver. Luego, la solución se vertió en un matraz volumétrico de 25 mL. El crisol se lavó tres veces con HNO₃ 1M vertiéndolo en el matraz volumétrico de 25 mL. El matraz volumétrico de 25 mL se aforó con HNO₃ 1M y después la solución se trasladó a un tubo de ensayo (previamente rotulado) para la determinación del contenido de hierro a través de Espectrofotometría de Absorción Atómica a una longitud de onda de 248.3 nm.

Medición de acidez titulable expresado como ácido láctico (ATECAL). Para determinar el ATECAL, se tomó una muestra de 9 mL de leche, luego se le agregó tres gotas de fenolftaleína y se agitó. Posteriormente, se tituló con una solución de hidróxido de sodio (NaOH) a 0.1N agitando continuamente hasta alcanzar el punto de viraje en que la leche cambiara a una coloración rosa tenue. Este procedimiento se repitió dos veces por cada tratamiento expresando los datos en porcentaje de ATECAL. El ATECAL se evaluó durante seis días consecutivos.

Medición de pH. El pH se midió utilizando el potenciómetro digital Oyster-10 de EXTECH Instruments. El pH se evaluó durante seis días consecutivos.

Análisis sensorial de atributos por aceptación con escala hedónica. Se realizó dos etapas de análisis sensorial de atributos por aceptación. La primera etapa se llevó a cabo en el día uno de la preparación de los tratamientos que representa el día 3 de la vida anaquel de la leche. El sensorial se dirigió a un grupo de 60 estudiantes escogidos al azar de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, de varias nacionalidades y edades entre 18 a 24 años. Cada panelista recibió simultáneamente tres muestras de leche y se le pidió que evaluará los atributos de color, aroma, viscosidad, amargor, sabor residual y aceptación general, en una escala hedónica de 1 a 9 siendo 1 me disgusta extremado y 9 me gusta extremado. En la segunda etapa, se realizó el mismo procedimiento pero al tercer día de haber preparado los tratamientos o su equivalente al séptimo día de vida anaquel del producto. El total de panelistas que participaron en las dos fases de evaluación sensorial de aceptación fueron 240.

El análisis sensorial de atributos por aceptación se realizó por separado según el tipo de tratamiento térmico de la leche: pasteurizada o ultrapasteurizada. La finalidad de este tipo de análisis sensorial fue el de identificar el grado de aceptación de los tratamientos y de esa manera, a través de una separación de medias por Tukey, escoger el mejor tratamiento para cada tipo de leche y posteriormente realizar otro análisis sensorial pero de preferencia en niños escolares.

Análisis sensorial de preferencia. Determinando el mejor tratamiento para cada tipo de leche de acuerdo a los resultados preliminares obtenidos de los análisis sensoriales de aceptación, se elaboró una carta de consentimiento informado para los padres de familia de la Escuela Alison Bixby Stone ubicada en el campus de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, en la que se les invitó a que su hijo o hija participara en una evaluación sensorial de leche entera fortificada con hierro.

Los mejores tratamientos se elaboraron un día antes del análisis sensorial. El análisis sensorial se llevó a cabo con un grupo de 77 niños entre 5 y 12 años de edad. Cada niño recibió simultáneamente dos muestras de leche (un control y el mejor tratamiento), luego se le pidió que probara ambas muestras y pintara en la boleta, la carita feliz ubicada en la muestra que más le gustó. Se trabajó con una prueba t-student de dos colas en prueba pareada de preferencia ($P < 0.05$) que determinó si existe mayor preferencia hacia uno de las dos muestras evaluadas.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de coliformes totales. No existió diferencia significativa ($P < 0.05$) entre el conteo de coliformes totales de las muestras tomadas antes y después de preparar los tratamientos con los fortificantes, lo que evidencia que no hubo contaminación durante este proceso. Asimismo, los conteo de coliformes totales estuvieron por debajo del valor legalmente permitido de 10 UFC/mL que según el Reglamento para la Inspección y Certificación Sanitaria de la leche y los productos lácteos de Honduras (SENASA 1994) es permitido, lo que indicó que los tratamientos no fueron un riesgo para la salud de los que lo consumieron.

Análisis de pH. Las figuras 2 y 3 muestran que en la fortificación de leche pasteurizada y ultrapasteurizada respectivamente, no existieron diferencias significativas ($P < 0.05$) para cada día evaluado. Sin embargo, se puede observar que el pH inicial en ambas leches, se encontraba en los rangos de calidad adecuados entre 6.7 - 6.9 pero que a través del tiempo disminuyeron significativamente ($P < 0.05$), comportamiento que concuerda con la naturaleza esperada de la leche por ser un producto perecedero.

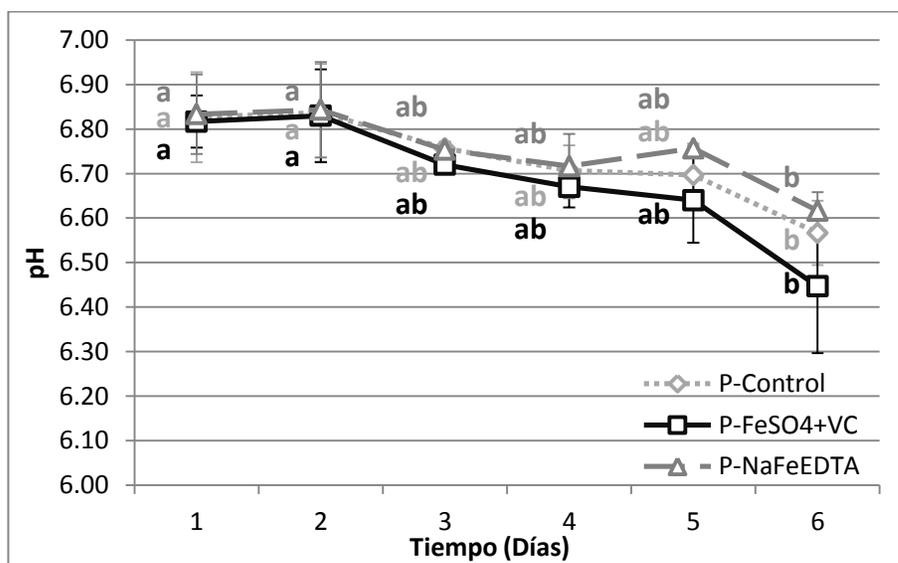


Figura 2. Comportamiento del pH durante seis días analizados para los tratamientos de leche pasteurizada.

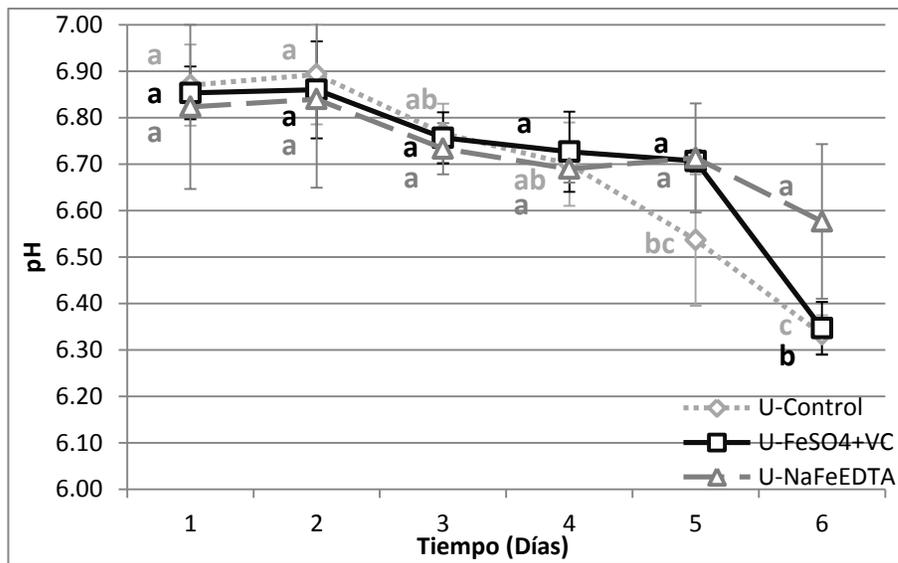


Figura 3. Comportamiento del pH durante seis días analizados para los tratamientos de leche ultrapasteurizada.

Análisis de acidez titulable expresado como ácido láctico (ATECAL). Las figuras 4 y 5 muestran una tendencia similar a lo manifestado con el pH. La leche pasteurizada y la leche ultrapasteurizada no presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) para cada día, pero sí hubo diferencia significativa por el cambio ascendente del ATECAL a través de los días. Dicho lo anterior, se indica que para ambos tipos de leche, un mismo tratamiento no fue el que más se acidificó, lo que refleja que los fortificantes no influyeron en el ATECAL pero si la carga microbiana inicial fue lo que influyó en la acidez desarrollada independientemente el tratamiento. Por otro lado, entre las factores más determinantes que posiblemente aceleraron el cambio de pH y ATECAL en los tratamientos, se encuentra la variación de temperatura durante el almacenamiento (Gaucher *et al.* 2008).

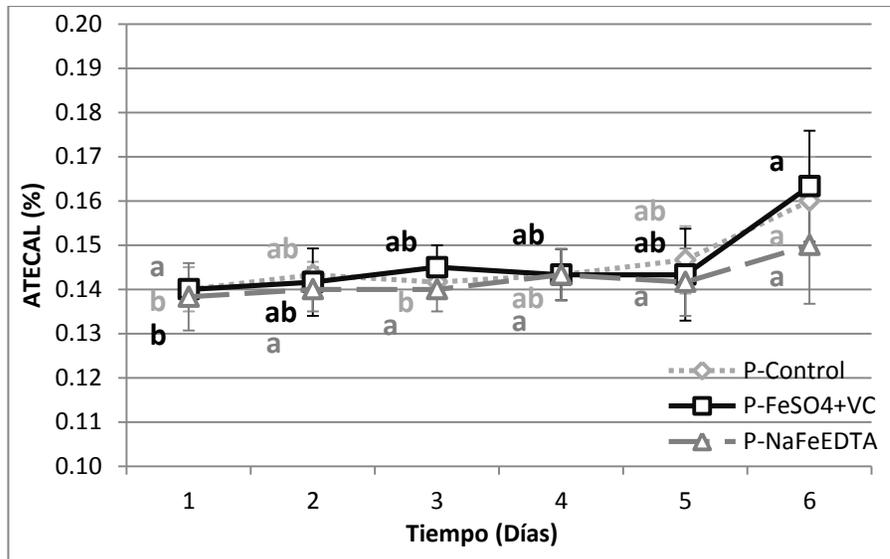


Figura 4. Comportamiento del ATECAL durante seis días analizados para los tratamientos de leche pasteurizada.

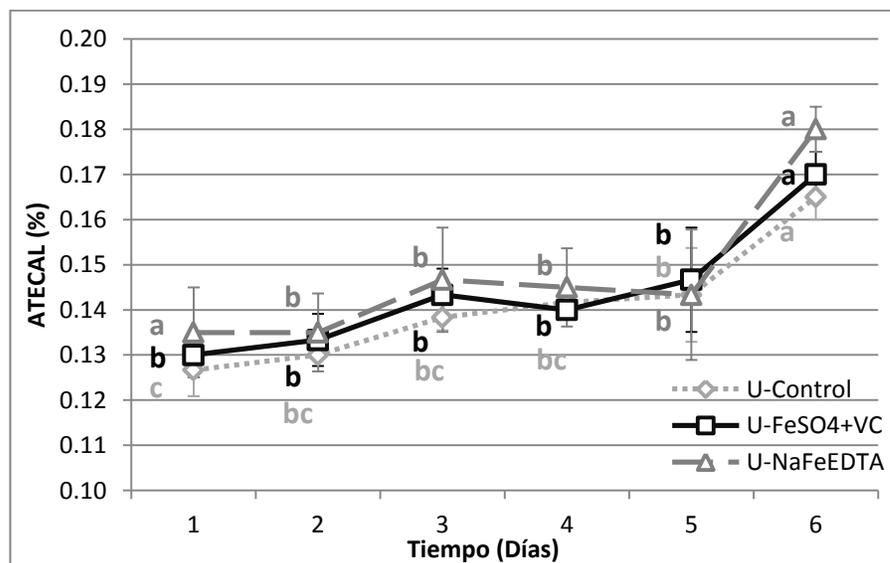


Figura 5. Comportamiento del ATECAL durante seis días analizados para los tratamientos de leche ultrapasteurizada.

Análisis de Viscosidad. La viscosidad por su parte no mostró diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los tratamientos para cada tipo de leche a través del tiempo (Figuras 6 y 7); sin embargo, sí existieron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre la leche pasteurizada y ultrapasteurizada ya que los valores fluctuaron entre 0.0095 - 0.0099 Pa·s en comparación a los valores entre 0.0100 - 0.0107 Pa·s, respectivamente. Esto se debió al efecto del tratamiento térmico aplicado a la leche. En la ultrapasteurización, la inactivación de un inhibidor de transglutaminasa proporciona una mejor reticulación de las micelas de caseínas lo que se traduce en una mejora de la viscosidad del producto (Bonisch *et al.*

2004), factor que pudo ser el influyente en marcar la diferencia entre las viscosidades de ambos tipos de leche.

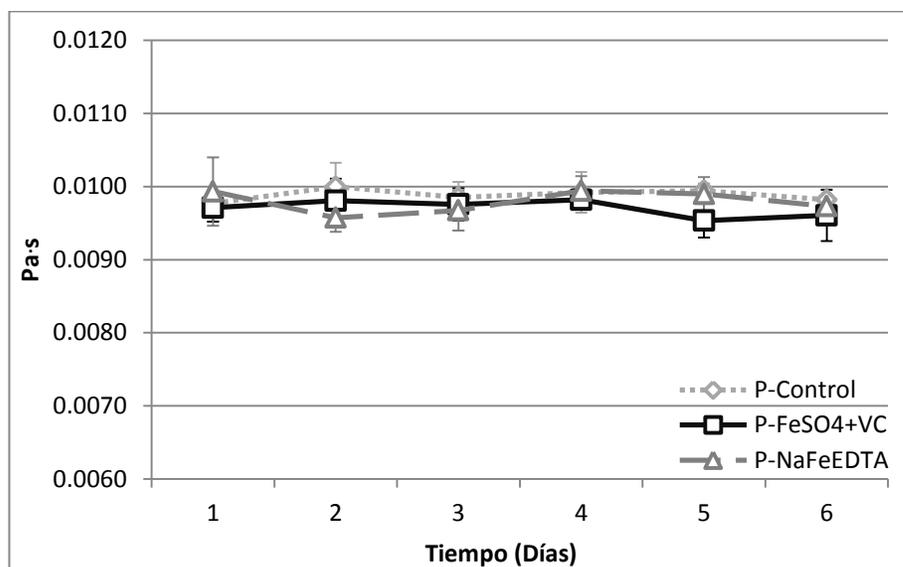


Figura 6. Comportamiento de la viscosidad durante seis días analizados para los tratamientos de leche pasteurizada. No significativo ($P>0.05$).

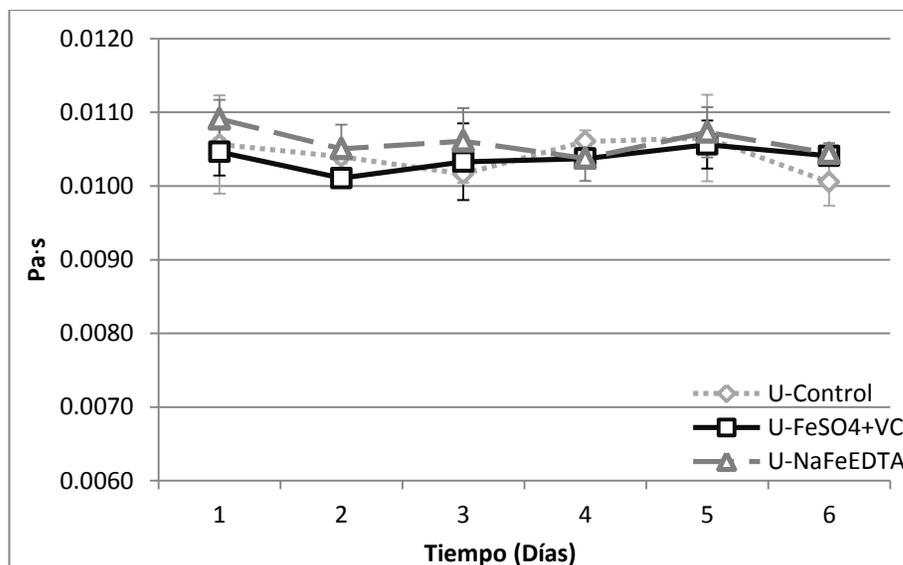


Figura 7. Comportamiento de la viscosidad durante seis días analizados para los tratamientos de leche ultrapasteurizada. No significativo ($P>0.05$).

Análisis de color: Valor de luminosidad (L^*) e índice de blancura. El color de la leche expresado como valor de luminosidad (L^*) y como índice de blancura, no fueron influenciados ($P>0.05$) por la adición de los fortificantes en ambos tipos de leche (Figuras 8 y 9); asimismo, el color se mantuvo estable sin presentar cambios significativos durante los seis días analizados. El índice de blancura de la leche pasteurizada (Figura 10) fue

mayor en comparación a la leche ultrapasteurizada (Figura 11) porque tuvieron valores entre 82.92 – 84.27 en comparación a los valores entre 82.26 – 83.88, respectivamente. Por lo tanto, mientras el valor de índice de blancura se encuentre más cercano a cien, significa que es más blanco ya que se posiciona cerca del blanco perfecto (Bellosta 2004). Esto significa que la leche ultrapasteurizada tiende a ser levemente menos blanca y esto concuerda con Dunkley y Stevenson (1987) quienes demostraron que leches tratadas con ultrapasteurización son más susceptibles a reacciones de maillard que consisten en una serie de cambios cuya consecuencia es la formación de pigmentos de tonalidades marrón tales como las melanoidinas.

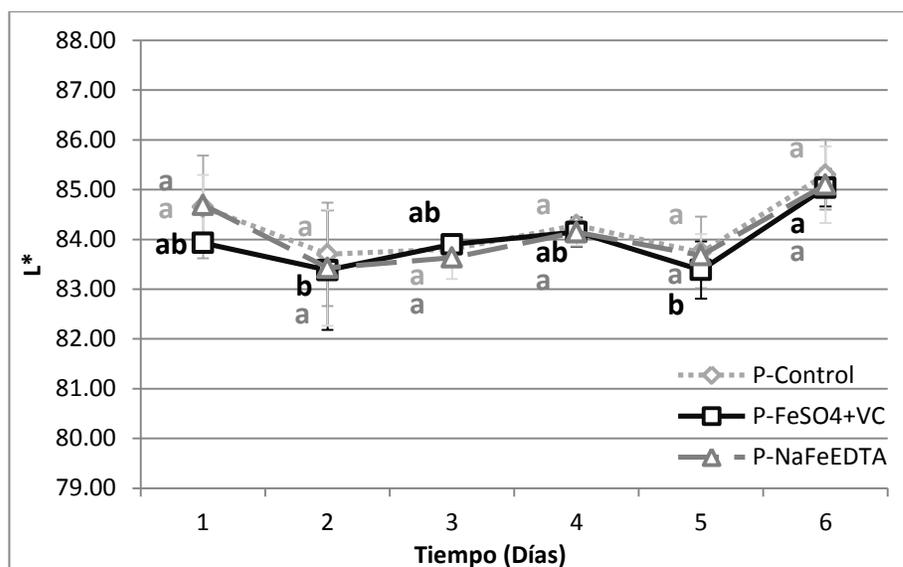


Figura 8. Comportamiento del valor L* durante seis días analizados para los tratamientos de leche pasteurizada.

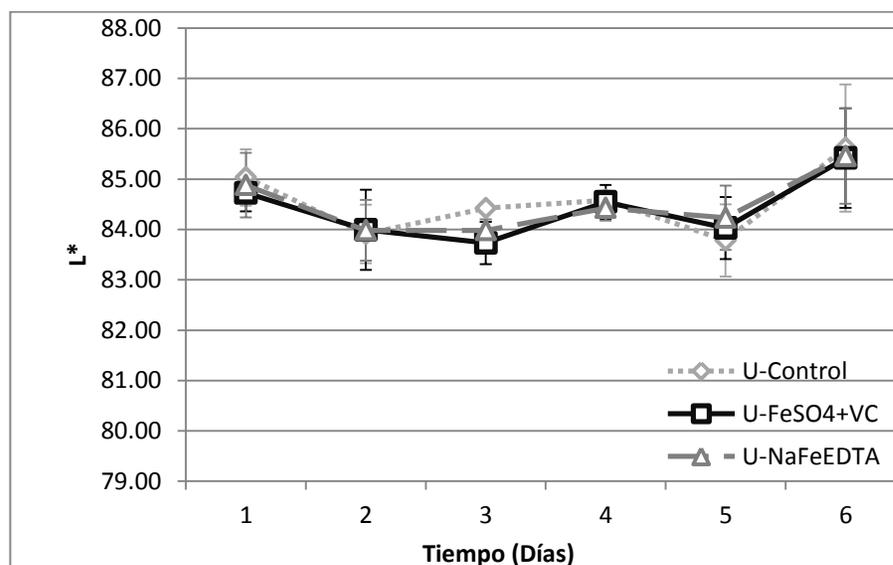


Figura 9. Comportamiento del valor L* durante seis días analizados para los tratamientos de leche ultrapasteurizada. No significativo ($P > 0.05$).

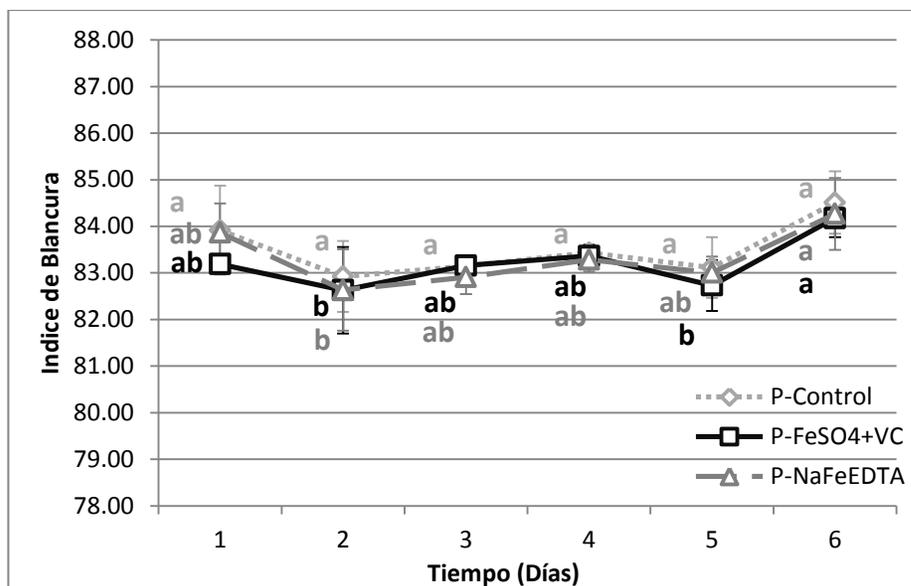


Figura 10. Comportamiento del índice de blancura durante seis días analizados para los tratamientos de leche pasteurizada.

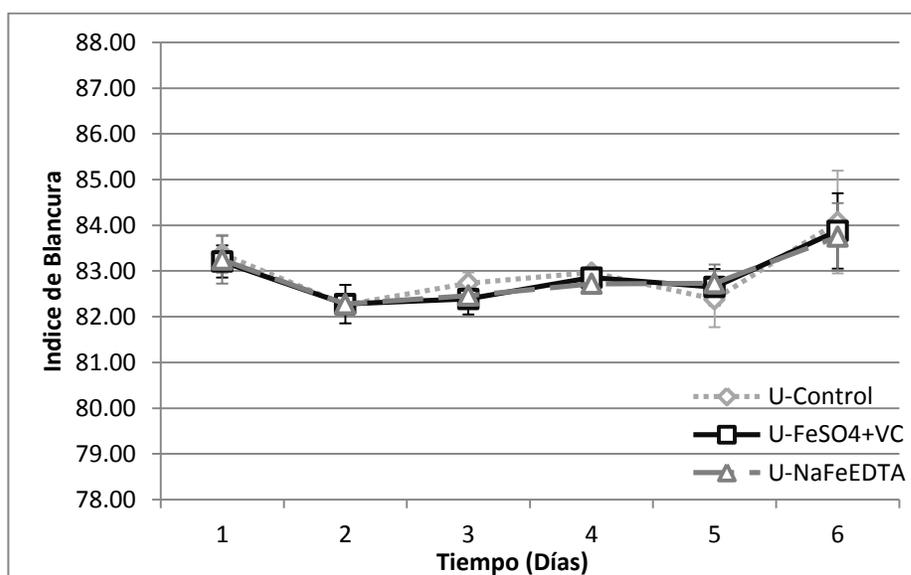


Figura 11. Comportamiento del índice de blancura durante seis días analizados para los tratamientos de leche ultrapasteurizada. No significativo ($P > 0.05$).

Por lo tanto, las diferencias marcadas de color y viscosidad entre la leche pasteurizada y la leche ultrapasteurizada no fueron causados por los fortificantes adicionados sino más bien por el tratamiento térmico aplicado ya que el tratamiento térmico de la leche implica la desnaturalización, degradación e inactivación de proteínas de suero, enzimas y vitaminas (Chavan *et al.* 2011).

Correlaciones entre las variables físico-químicas. El pH y el ATECAL fueron las únicas variables que mostraron una correlación significativa ($P < 0.05$) mostrándose con tendencia inversa para todos los tratamientos en los dos tipos de leche (Cuadro 2). Asimismo, se encontró una correlación entre el pH o ATECAL a través de los días, es decir que mientras los días pasaban el pH disminuyó y el ATECAL aumentó, comportamiento que es natural en la leche y concuerda con la tendencia encontrada por Peña (2009) en leche saborizada.

De manera general, el grado de coeficiente de correlación fue mayor para los tratamientos control en comparación con los tratamientos fortificados, lo que indica que el pH y ATECAL puede predecirse con mayor precisión en los tratamientos control y además indica qué tendencia de las observaciones tuvieron una congruencia más fuerte entre ellas. Por lo tanto, los datos en los tratamientos fortificados manifiestan una dispersión más amplia que redujo el grado de correlación.

Cuadro 2. Correlaciones entre el ATECAL, el pH y los días, encontrados en la leche pasteurizada y ultrapasteurizada.

Variables	Pasteurizada			Ultrapasteurizada		
	Control	FeSO ₄ +VC	NaFeEDTA	Control	FeSO ₄ +VC	NaFeEDTA
Día-pH	-0.779 ¹	-0.81612	-0.72101	-0.8859	-0.81536	-0.56807
Día-pH	0.0001 ²	<.0001	0.0007	<.0001	<.0001	0.0139
Día-ATECAL	0.65061	0.57329	0.43403	0.87202	0.82489	0.69879
Día-ATECAL	0.0035	0.0129	0.0719	<.0001	<.0001	0.0013
pH-ATECAL	-0.6986	-0.73828	-0.30425	-0.8936	-0.90437	-0.7728
pH-ATECAL	0.0013	0.0005	0.2196	<.0001	<.0001	0.0002

¹Grado del coeficiente de correlación de Pearson. ²Nivel de significancia = valores menores de 0.05 indican que sí existió correlación significativa.

Análisis de concentración de hierro. A manera de verificar la adición de hierro en la matriz de leche, se realizó la medición del mineral a través del método de espectrofotometría de absorción atómica. En el cuadro 3 se detalla que la adición de FeSO₄+VC y NaFeEDTA, en las leches tratadas térmicamente diferente, sí mostraron diferencias significativas ($P < 0.05$) en comparación con el control. Estos datos manifiestan que fue efectiva la adición de los fortificantes en cada uno de los tratamientos y además estuvieron cerca del valor esperado de 15 mg por litro de leche. Como se puede observar, el contenido de hierro en los tratamientos a los que se adicionó NaFeEDTA, fue mayor en ambos tipos de leche aun sin considerar el contenido natural de hierro de la leche; esto posiblemente fue causado porque la acción quelatante del EDTA lo protege de cierta forma de inhibidores en los alimentos que en este caso fue el calcio; asimismo, la solubilidad del NaFeEDTA no es afectado por el valor de pH de la leche mientras que el sulfato ferroso sí lo hace cambiando su solubilidad drásticamente de forma negativa (García-Casal y Layrisse 2001).

Cuadro 3. Contenido de hierro en las muestra de leche analizadas a través de espectro fotometría de absorción atómica.

Tratamiento	Pasteurizado ¹	Ultrapasteurizado
	(mg/L)	(mg/L)
	Media±DE ²	Media±DE
Control	2.66±1.61 ^{(x)b}	1.83±0.80 ^{(x)c}
FeSO ₄ +VC	14.83±1.54 ^{(x)a}	12.33±2.59 ^{(x)b}
NaFeEDTA	16.00±0.53 ^{(x)a}	15.50±0.78 ^{(x)a}
Coeficiente de variación (%)	11.37	16.44

^{a-d} Medias con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes (P<0.05).

^{x-z} Medias con igual letra en la misma fila no son significativamente diferentes (P>0.05).

¹ Las concentraciones están dadas en mg/L de leche. ² DE= Desviación estándar.

Análisis sensorial de atributos por aceptación con escala hedónica. De acuerdo a los resultados obtenidos del análisis sensorial, se puede observar que en general, los panelistas calificaron de igual manera (P>0.05) los atributos de color, aroma, y viscosidad (Cuadros 4, 5 y 6) para los tratamientos de leche pasteurizada y la leche ultrapasteurizada dándole un nivel de aceptación entre “me gusta poco” a “me gusta moderado”. Sin embargo, para el día uno la mayoría de los panelistas concordaron en darle un mejor puntaje en la escala hedónica a los tratamientos que contenían NaFeEDTA lo que contradice el efecto causado en el color de la harina de maíz fortificada con este mismo fortificante, ya que obtuvo el peor puntaje en la evaluación sensorial descriptiva (Bovell-Benjamin *et al.* 1997); esto pone en manifiesto que los fortificantes se comportan de diferente manera según sea la composición del alimento a fortificar. Este efecto deseable manifestado en la leche pudo ser causado debido a que el NaFeEDTA es más estable en medios líquidos que el sulfato ferroso (Haro *et al.* 2005) a pesar que ambos son solubles en agua; además, los fortificantes no se expusieron al tratamiento térmico aplicado a la leche.

Cuadro 4. Análisis sensorial del atributo color de leches.

Tratamiento	Pasteurizado		Ultrapasteurizado	
	Día 1	Día 3	Día 1	Día 3
	Media±DE ¹	Media±DE	Media±DE	Media±DE
Control	6.73±1.49 ^{(x)a}	6.62±1.44 ^{(x)a}	7.08±1.31 ^{(x)a}	6.75±1.46 ^{(x)a}
FeSO ₄ +VC	6.80±1.55 ^{(x)a}	6.48±1.23 ^{(x)a}	6.75±1.60 ^{(x)a}	6.43±1.53 ^{(x)a}
NaFeEDTA	6.87±1.60 ^{(x)a}	6.55±1.25 ^{(x)a}	6.70±1.62 ^{(x)a}	6.03±2.07 ^{(x)a}
Coeficiente de variación (%)	22.77	20.01	22.14	26.65

^{a-d} Medias con diferente letra en la misma columna no son significativamente diferentes (P>0.05).

^{x-z} Medias con diferente letra en la misma fila no son significativamente diferentes (P>0.05).

¹ DE= Desviación estándar.

Cuadro 5. Análisis sensorial del atributo aroma de leches.

Tratamiento	Pasteurizado		Ultrapasteurizado	
	Día 1	Día 3	Día 1	Día 3
	Media±DE ¹	Media±DE	Media±DE	Media±DE
Control	6.38±1.44 ^{(x)a}	6.48±1.41 ^{(x)a}	7.02±1.41 ^{(x)a}	6.40±1.67 ^{(y)a}
FeSO4+VC	5.93±1.69 ^{(x)a}	6.03±1.37 ^{(x)a}	6.35±1.93 ^{(x)a}	6.12±2.00 ^{(y)ab}
NaFeEDTA	6.55±1.61 ^{(x)a}	6.25±1.42 ^{(x)a}	6.78±1.55 ^{(x)a}	5.52±1.78 ^{(y)b}
Coeficientedevariación (%)	25.15	22.36	24.49	30.26

^{a-d} Medias con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes (P<0.05).

^{x-z} Medias con diferente letra en la misma fila son significativamente diferentes (P<0.05).

¹ DE= Desviación estándar.

Cuadro 6. Análisis sensorial del atributo viscosidad de leches.

Tratamiento	Pasteurizado		Ultrapasteurizado	
	Día 1	Día 3	Día 1	Día 3
	Media±DE ¹	Media±DE	Media±DE	Media±DE
Control	6.27±1.51 ^{(x)a}	6.20±1.65 ^{(x)a}	7.12±1.28 ^{(x)a}	6.75±1.63 ^{(x)a}
FeSO4+VC	6.17±1.81 ^{(x)a}	6.08±1.54 ^{(x)a}	6.42±1.75 ^{(x)b}	6.10±1.66 ^{(x)a}
NaFeEDTA	6.78±1.58 ^{(x)a}	6.13±1.50 ^{(y)a}	6.82±1.44 ^{(x)ab}	6.20±1.93 ^{(y)a}
Coeficientedevariación (%)	25.55	25.54	22.15	27.51

^{a-d} Medias con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes (P<0.05).

^{x-z} Medias con diferente letra en la misma fila son significativamente diferentes (P<0.05).

¹ DE= Desviación estándar.

Por otra parte, sí se encontraron diferencias estadísticamente significativas (P<0.05) entre las características sensoriales evaluadas en amargor, sabor residual y aceptación general. El grado de amargor se logró diferenciar únicamente en la primera fase de evaluación sensorial (Cuadro 7). Esto se debió posiblemente a que el grado de acidez, en la segunda fase de evaluación sensorial, estaba avanzado por lo que enmascaró el amargor original creado inicialmente por los fortificantes.

Cuadro 7. Análisis sensorial del atributo amargor de leches.

Tratamiento	Pasteurizado		Ultrapasteurizado	
	Día 1	Día 3	Día 1	Día 3
	Media ± DE ¹	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE
Control	6.85±1.56 ^{(x)a}	6.25±1.80 ^{(x)a}	7.30±1.37 ^{(x)a}	6.13±2.01 ^{(y)a}
FeSO4+VC	5.88±2.03 ^{(x)b}	5.88±1.78 ^{(x)a}	6.00±1.97 ^{(x)b}	5.65±2.09 ^{(x)a}
NaFeEDTA	6.63±1.72 ^{(x)ab}	6.17±1.49 ^{(x)a}	6.57±1.45 ^{(x)b}	6.32±1.88 ^{(x)a}
Coeficientedevariación(%)	27.60	27.77	24.43	33.09

^{a-d} Medias con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes (P<0.05).

^{x-z} Medias con diferente letra en la misma fila son significativamente diferentes (P<0.05).

¹ DE= Desviación estándar.

Con respecto al sabor residual (Cuadro 8), se observó que los panelistas aceptaron de manera similar el control y el NaFeEDTA pero no fue así en comparación con el FeSO₄+VC. Uno de los problemas de utilizar sulfato ferroso junto con vitamina C es que causan rancidez y sabores desagradables (Allen *et al.* 2006), lo que pudo haber sucedido con los tratamientos FeSO₄+VC.

Cuadro 8. Análisis sensorial del atributo sabor residual de leches.

Tratamiento	Pasteurizado		Ultrapasteurizado	
	Día 1	Día 3	Día 1	Día 3
	Media ± DE ¹	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE
Control	6.67±1.73 ^{(x)a}	6.63±1.69 ^{(x)a}	7.17±1.42 ^{(x)a}	6.10±1.96 ^{(y)ab}
FeSO ₄ +VC	5.73±2.19 ^{(x)b}	5.65±2.00 ^{(x)b}	6.03±2.07 ^{(x)b}	5.32±2.03 ^{(x)b}
NaFeEDTA	6.75±1.67 ^{(x)a}	6.50±1.36 ^{(x)a}	6.70±1.60 ^{(x)ab}	6.40±2.02 ^{(x)a}
Coefficientedevariación (%)	29.47	27.18	25.91	33.74

^{a-d} Medias con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes (P<0.05).

^{x-z} Medias con diferente letra en la misma fila son significativamente diferentes (P<0.05).

¹ DE= Desviación estándar.

Por último, en el atributo de aceptación general (Cuadro 9), los panelistas finalmente identificaron que los tratamientos control y el NaFeEDTA los prefieren de igual manera con un nivel de aceptación de “me gusta moderadamente” mientras que el tratamiento FeSO₄+VC fue el que menos prefirieron con un nivel de aceptación de “me gusta poco”. El atributo de aceptación general se comportó similar al atributo de amargor ya que en la primera fase de evaluación sensorial, los panelistas lograron identificar diferencias entre los tratamientos para los dos tipos de leches pero para la segunda fase de evaluación sensorial no encontraron diferencias lo que posiblemente también fue provocado por el efecto enmascarador de la acidez de la leche. La aceptación general fue el atributo determinante para seleccionar el mejor tratamiento en la leche pasteurizada y UHT, para realizar el análisis sensorial de preferencia a niños escolares entre 5 a 12 años de edad.

Cuadro 9. Análisis sensorial del atributo aceptación general de leches.

Tratamiento	Pasteurizado		Ultrapasteurizado	
	Día 1	Día 3	Día 1	Día 3
	Media ± DE ¹	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE
Control	6.85±1.40 ^{(x)ab}	6.73±1.55 ^{(x)a}	7.37±1.15 ^{(x)a}	6.37±1.92 ^{(y)a}
FeSO ₄ +VC	6.17±1.83 ^{(x)b}	6.27±1.48 ^{(x)a}	6.43±1.89 ^{(x)b}	5.88±1.97 ^{(x)a}
NaFeEDTA	7.08±1.52 ^{(x)a}	6.53±1.31 ^{(y)a}	7.03±1.46 ^{(x)ab}	6.45±1.85 ^{(x)a}
Coefficientedevariación(%)	23.81	22.28	22.04	30.72

^{a-d} Medias con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes (P<0.05).

^{x-z} Medias con diferente letra en la misma fila son significativamente diferentes (P<0.05).

¹ DE= Desviación estándar.

Análisis sensorial de preferencia. El análisis sensorial de preferencia llevada a cabo con los niños escolares de entre 5 y 12 años de edad de la Escuela Bixby Stone, mostró que los niños prefirieron de igual manera ($P < 0.05$) el tratamiento control en comparación al NaFeEDTA para la leche pasteurizada y UHT, lo que evidencia que el NaFeEDTA puede ser una fuente confiable de hierro para la fortificación de la leche que se proporciona en el Programa de Merienda Escolar de Honduras sin que altere significativamente sus características físicas, químicas y organolépticas.

Cuadro 10. Análisis sensorial de preferencia en niños escolares.

Comparación pareada de tratamientos	t ^φ
P-Control : P-NaFeEDTA	1.147
UHT-Control : UHT-NaFeEDTA	1.835

^φ Valores t superiores a 1.998 indica diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos comparados.

A pesar de que el NaFeEDTA es aproximadamente entre seis a ocho veces el precio del sulfato ferroso por una cantidad equivalente de hierro, su costo disminuye significativamente cuando se toma en cuenta la biodisponibilidad de hierro en la matriz del alimento. El hierro monosódico EDTA es tres a cuatro veces más biodisponible que el sulfato ferroso (Layrisse *et al.* 2000) en presencia de compuestos fitatos que se encuentran naturalmente en granos básicos y que forman parte de la dieta de la merienda escolar, por lo tanto es una ventaja importante para esta fuente de hierro. Dicho lo anterior, el NaFeEDTA justifica ser utilizado como una posible fuente clave para combatir los altos índices de anemia ferropénica en Honduras.

4. CONCLUSIONES

- Los tipos de hierro utilizados no influyeron en las características físicas, químicas y sensoriales de la leche a excepción del atributo sabor residual, amargor y aceptación general.
- El hierro monosódico EDTA fue la mejor fuente de hierro, potencial para fortificar la leche de la Ley del Vaso de Leche del Gobierno de Honduras.

5. RECOMENDACIONES

- Realizar un estudio fortificación pre-tratamiento térmico para determinar el comportamiento y definir la dosis del fortificante hierro monosódico EDTA considerando las pérdidas por exposición al calor.
- Realizar estudios de absorción para conocer la biodisponibilidad del hierro en la leche pasteurizada y ultrapasteurizada.
- Realizar un estudio de la factibilidad financiera de utilizar el hierro monosódico EDTA como fortificante en lácteos y derivados.
- Utilizar el hierro monosódico EDTA en la leche de la Ley del Vaso de Leche como una potencial fuente de hierro para reducir a largo plazo los índices de anemia ferropénica en Honduras.

6. LITERATURA CITADA

Allen, L.H. y N. Ahluvalia. 1997. Improving iron status through diet: the application of knowledge concerning dietary iron in human populations. Washington, DC: US Agency for International Development and Opportunities for Micronutrient Interventions.

Allen, L., B. Benoist, O. Dary y R. Hurrell. 2006. Guidelines on food fortification with micronutrients. World Health Organization (WHO) & Food and Agricultural Organization of the United States (FAO).

Bellosta, M. 2004. IZASA Lab. Revista de Instrumentación científica No. 1/06. 5 p.

Benoist, B., E. McLean, I. Egli y M. Cogswell. 2008. Worldwide prevalence of anemia 1993-2005. World Health Organization (WHO) Press. 41 p.

Bonisch, M.P., S. Lauber y U. Kulozik. 2004. Effect of ultra-high-temperature treatment on the enzymatic cross-linking of micellar casein and sodium caseinate by transglutaminase. *Journal of Food Science* 69:398–404.

Bovell-Benjamin, A.C., J.X. Guinard, E. Frankel y L.H. Allen. 1997. Effect of novel iron fortificants on the sensory qualities and lipid peroxidation of maize-meal porridge. *Journal of the American Dietetic Association* 97(9):A0-A20.

Chavan, R.S., S.R. Chavan, C.D. Khedkar y A.H. Jana. 2011. UHT milk processing and effect of plasmin activity on shelf life: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 10:251-268.

Dunkley, W.L. y K.E. Stevenson. 1987. Ultra-high-temperature processing and aseptic packaging of dairy products. *Journal Dairy Science* 70:2192–202.

ENDESA (Encuesta Nacional de Demografía y Salud). 2013. ENDESA 2011-2012. Honduras. Instituto Nacional de Estadística. 582 p.

García-Casal, M.N. y M. Layrisse. 2001. The effect of change in pH on the solubility of iron bisglycinate chelate and other iron compounds. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 51(1):35-36.

Gaucher, I., D. Mollé, V. Gagnaire y F. Gaucheron. 2008. Effects of storage temperature on physico-chemical characteristics of semiskimmed UHT milk. *Food Hydrocolloids*, 22: 130–143.

Haro, J.F., C. Martínez, M.J. Periago y G. Ros. 2005. Prevención de la deficiencia de hierro mediante el enriquecimiento de los alimentos. Facultad Veterinaria de la Universidad de Murcia, 21: 7-21.

Layrisse, M., M.N. García-Casal, L. Solano, M.A. Barón, F. Arguello, D. Llovera, J. Ramírez, I. Leets y E. Tropper. 2000. Iron bioavailability in humans from breakfast enriched with iron bis-glycine chelate, phytates and polyphenols. *Journal Nutrition* 130:2195-9.

Olivares, M., E. Hertrampf, F. Pizarro y T. Walter. 2003. El enriquecimiento con hierro de la leche: la experiencia chilena. Universidad de Chile. Santiago de Chile. s.e.

OPS (Organización Panamericana de la Salud), OMS (Organización mundial de la Salud), ILSI (Instituto Internacional de Ciencias de la Vida), USAID (Agencia para el Desarrollo Internacional de los Estados Unidos) e INACG (Grupo Consultivo Internacional de Anemia Nutricional). 2002. Compuestos de hierro para la fortificación de alimentos: Guías para América Latina y el Caribe. *Revista de Nutrición NUREA8* 60(7) [II]:S50-S61.

Peña, L.M. 2009. Predicción de la vida útil de leche saborizada con chocolate con base en el conteo de psicrófilos, temperatura y ATECAL. Tesis Ing. Agroindustrial. Honduras, Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano. 16 p.

Puebla, C. 2003. Whiteness Assesment: A Primer. Axiphos GmbH. Germany. PDF. 63 p.

SACN (Scientific Advisory Committee on Nutrition). 2010. The Stationery Office. Londres, Inglaterra. s.e.

SENASA (Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria). 1994. Reglamento para la inspección y certificación sanitaria de la leche y los productos lácteos de la Republica de Honduras, Capitulo IV: de la leche y productos lácteos (en línea). Consultado el 10 de sept. 2013. Disponible en: http://www.oirsa.org/OIRSA/Miembros/Honduras/Decretos_Leyes_Reglamentos/Acuerto-Numero-656-01-04.htm

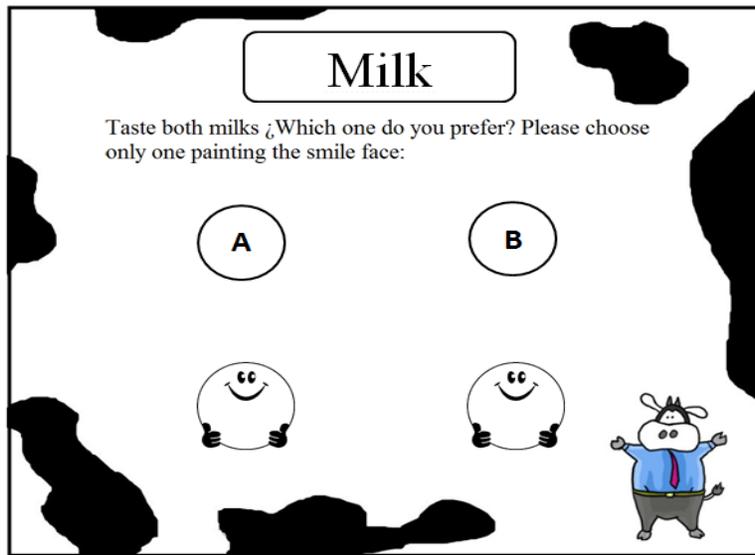
Stekel, A., M. Olivares, M. Cayazzo, P. Chadud, S. Llaguno y F. Pizarro. 1988. Prevention of iron deficiency by milk fortification. II. A field trial with a full-fat acidified milk. *American Journal of Clinical Nutrition*, 47(2): 265-269.

Van Thuy, P., J. Berger, L. Davidsson, C. Cong Khan, N. Thi Lam, J.F. D Cook, R. Hurrell y H. Huy Khoi. 2003. Regular consumption of NaFeEDTA-fortified fish sauce improves iron status and reduces the prevalence of anemia in anemic Vietnamese women. *The American Journal of Clinical Nutrition* 78:284-290.

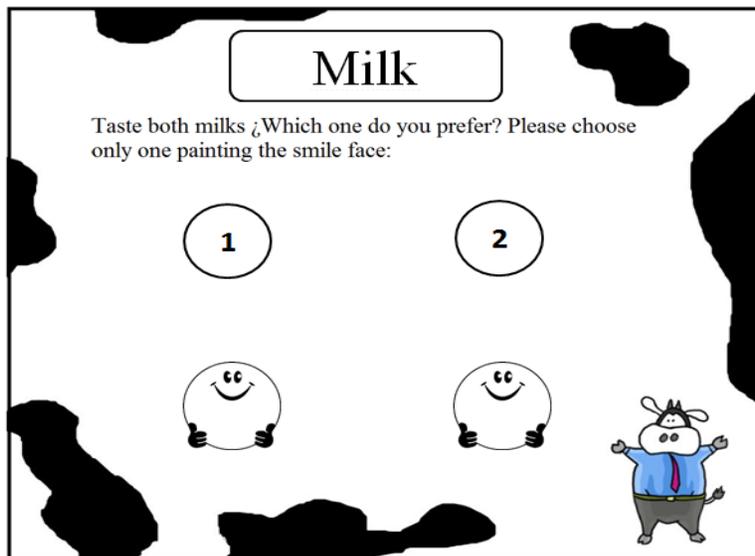
WHO (World Health Organization). 2001. Iron deficiency anemia: Assessment, prevention, and control. Guide for programme managers. 114 p.

7. ANEXOS

Anexo 1. Hoja sensorial de preferencia para leche pasteurizada, utilizada con niños de la Escuela Bixby Stone



Anexo 2. Hoja sensorial de preferencia para leche ultrapasteurizada, utilizada con niños de la Escuela Bixby Stone



Anexo 3. Hoja de evaluación sensorial de aceptación con escala hedónica de nueve puntos utilizada para los tratamientos.

Hoja de evaluación Sensorial de Leche Fluida Entera

Instrucciones:

- Se le presentaran 3 muestras de leche fluida entera, galletas soda y un vaso con agua
- Observe y pruebe cada muestra indicando con una “X” el grado que usted perciba de cada atributo.
- Recuerde tomar agua y una gallera entre cada muestra.

Muchas gracias por su colaboración.

No. Muestra: _____	Disgusta extremado 1	Disgusta mucho 2	Disgusta moderado 3	Disgusta poco 4	No me gusta ni me disgusta 5	Gusta poco 6	Gusta moderado 7	Gusta mucho 8	Gusta extremado 9
Color									
Aroma									
Viscosidad									
Amargor									
Sabor Residual									
Aceptación general									

No. Muestra: _____	Disgusta extremado 1	Disgusta mucho 2	Disgusta moderado 3	Disgusta poco 4	No me gusta ni me disgusta 5	Gusta poco 6	Gusta moderado 7	Gusta mucho 8	Gusta extremado 9
Color									
Aroma									
Viscosidad									
Amargor									
Sabor Residual									
Aceptación general									

No. Muestra: _____	Disgusta extremado 1	Disgusta mucho 2	Disgusta moderado 3	Disgusta poco 4	No me gusta ni me disgusta 5	Gusta poco 6	Gusta moderado 7	Gusta mucho 8	Gusta extremado 9
Color									
Aroma									
Viscosidad									
Amargor									
Sabor Residual									

Anexo 4. Carta de consentimiento para los padres de familia de la Escuela Bixby Stone.
Honduras, 22 de agosto del 2013

Señores.-
Padres de familia
Presente

Ref.- Carta de consentimiento informado

Nuestros nombres son Marco Toc y Alba Mayta estudiantes de cuarto año de la carrera de Agroindustria Alimentaria, mediante la presente queremos extenderle una invitación a su hijo(a) para participar de un panel sensorial que busca evaluar la preferencia de un producto lácteo el día martes 27 de agosto de 2013.

El panel sensorial es parte del estudio que estamos realizando en nuestro proyecto especial de graduación cuyo objetivo es determinar cuál de los hierros fortificantes es el de mayor preferencia para los niños. Trabajamos bajo la asesoría de los docentes Dr. Luis Osorio y la Ing. Paola Carrillo del Departamento de Agroindustria Alimentaria de La Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.

En caso de aceptar participar en el estudio: la evaluación sensorial tendrá dos etapas, primero su hijo (a) recibirá una bandeja con dos muestras pequeñas de leche (1 onza cada uno) y se le preguntará acerca de su preferencia sobre una de ellas. Posteriormente, se le entregará una galleta y agua pura para que descansen un momento. En la segunda etapa, que se llevará después del receso, su hijo (a) recibirá otra bandeja con dos muestras pequeñas de leche (1 onza cada uno) y nuevamente se le preguntará acerca de su preferencia sobre una de ellas. La información recopilada tendrá los objetivos ya mencionados.

El enfoque de fortificación que estamos evaluando se debe a los grandes problemas que la deficiencia de hierro en la salud, esta deficiencia es un tema de salud pública de carácter mundial. Esperamos muy atentamente nos pueda apoyar y una pronta respuesta.

Aclaraciones:

- Su decisión de permitir participar en el estudio a su hijo(a) es completamente voluntaria, no se le brindará beneficios económicos por ser parte de ella.
- No habrá ninguna consecuencia desfavorable para el(a) niño(a), en caso de no aceptar la invitación.
- Si decide permitir participar a su hijo(a) en el estudio y el día de la prueba el niño(a) no quiere participar, el niño (a) puede retirarse en el momento que lo desee.
- No tendrá que hacer gasto alguno durante el estudio.
- En el transcurso del estudio, el niño(a) podrá solicitar información actualizada a los investigadores responsables sobre lo que se está realizando.

Si usted está de acuerdo, le pedimos por favor que llene y firme la Carta de Consentimiento Informado que forma parte de este documento.

Para cualquier información adicional puede contactar a las siguientes personas:

Paola Carrillo H. M.Sc.
Profesora Asistente
ecarrillo@zamorano.edu
Agroindustria Alimentaria
Zamorano

Luis Osorio Ph.D.
Director de Carrera
losorio@zamorano.edu
Agroindustria Alimentaria
Zamorano

Agradecemos de antemano su gentileza al leer este documento.
Atentamente,

Alba Mayta
Estudiante de cuarto año
alba.mayta@est.zamorano.edu
Agroindustria Alimentaria
Zamorano

Marco Toc
Estudiante de cuarto año
marco.toc@est.zamorano.edu
Agroindustria Alimentaria
Zamorano

Carta de Consentimiento Informado

Por favor marcar solamente una respuesta:

- Sí ___ No ___ He leído y comprendido las condiciones y riesgos descritos en este documento.
- Sí ___ No ___ Doy permiso de que se tomen fotografías y video sin que mi cara u otra identificación sea captada y que sean utilizadas sólo para fines demostrativos.
- Sí ___ No ___ Deseo que mi hijo(a) participe en este estudio.

Su nombre (Letra de molde)

Nombre de su hijo(a) (Letra de molde)

Su firma

Fecha

Sección para los Investigadores:

Confirmando que el participante ha tenido la oportunidad de preguntar sobre el estudio y todas las dudas han sido respondidas correctamente según mi mejor conocimiento y habilidad. Además confirmo que el individuo no ha sido obligado para dar el consentimiento y que éste ha sido libre y voluntariamente su participación.

Una copia de esta carta ha sido provista al participante.

Nombre del investigador/a: _____

Firma del investigador/a: _____

Nombre del investigador/a: _____

Firma del investigador/a: _____

Fecha: _____

Anexo 5. Prototipo de etiqueta nutricional de leche de vaca entera (3% grasa) sin fortificar (a) y fortificado con hierro monosódico EDTA (b).

a.

Nutrition Facts	
Serving Size 1 Cup (257g) Servings Per Container 4	
Amount Per Serving	
Calories 150	Calories from Fat 70
% Daily Value*	
Total Fat 8g	12%
Saturated Fat 5g	25%
Trans Fat 0g	
Cholesterol 20mg	7%
Sodium 160mg	7%
Total Carbohydrate 12g	4%
Dietary Fiber 0g	0%
Sugars 12g	
Protein 8g	
Vitamin A 4%	• Vitamin C 0%
Calcium 35%	• Iron 2%
*Percent Daily Values are based on a 2,000 calorie diet. Your daily values may be higher or lower depending on your calorie needs:	
	Calories: 2,000 2,500
Total Fat	Less than 65g 80g
Saturated Fat	Less than 20g 25g
Cholesterol	Less than 300mg 300mg
Sodium	Less than 2,400mg 2,400mg
Total Carbohydrate	300g 375g
Dietary Fiber	25g 30g
Calories per gram: Fat 9 • Carbohydrate 4 • Protein 4	

b.

Nutrition Facts	
Serving Size 1 Cup (257g) Servings Per Container 4	
Amount Per Serving	
Calories 150	Calories from Fat 70
% Daily Value*	
Total Fat 8g	12%
Saturated Fat 5g	25%
Trans Fat 0g	
Cholesterol 20mg	7%
Sodium 160mg	7%
Total Carbohydrate 12g	4%
Dietary Fiber 0g	0%
Sugars 12g	
Protein 8g	
Vitamin A 4%	• Vitamin C 0%
Calcium 35%	• Iron 20%
*Percent Daily Values are based on a 2,000 calorie diet. Your daily values may be higher or lower depending on your calorie needs:	
	Calories: 2,000 2,500
Total Fat	Less than 65g 80g
Saturated Fat	Less than 20g 25g
Cholesterol	Less than 300mg 300mg
Sodium	Less than 2,400mg 2,400mg
Total Carbohydrate	300g 375g
Dietary Fiber	25g 30g
Calories per gram: Fat 9 • Carbohydrate 4 • Protein 4	