

# Artículo Original

## Cuantificación de hierro ferroso en espinaca y harina fortificada: una aplicación para la industria de panificación<sup>1</sup>.

Álvaro de Jesús Arango Ruiz<sup>2</sup>, Catalina María Vélez Argumedo<sup>3</sup>, Yamilé Jaramillo Garcés<sup>4\*</sup>, María Adelaida Valencia Rojas<sup>5</sup>, Ángela Hernández Sierra<sup>6</sup>.

### RESUMEN

**Introducción.** La deficiencia nutricional de ciertos minerales como el hierro afecta a la población a escala mundial con graves efectos sobre la salud dependiendo fundamentalmente del grado de incidencia y de la magnitud de la deficiencia. La espinaca es una de las hortalizas con mayor contenido de hierro biodisponible, lo que lleva este trabajo a evaluar este micromineral en un producto de panificación, como las galletas que hacen parte de la dieta diaria del consumidor colombiano. En el proceso y desarrollo de nuevas tecnologías, la cuantificación de las vitaminas y los minerales que intervienen en los alimentos es esencial, allí la química analítica ha jugado un papel primordial, ya que sus métodos generan resultados muy exactos y de una manera práctica. **Objetivo.** Se cuantificó el hierro ferroso  $Fe^{2+}$  presente en tres matrices: la espinaca *Spinaciaoleracea*, la harina de trigo no clorada y una masa clásica para galletas de realzado con y sin pulpa de espinaca en su formulación, con el fin de observar la posibilidad de una fortificación directa de hierro empleando la adición de una matriz vegetal como la espinaca en un producto terminado de panadería. **Metodología.** El hierro  $Fe^{2+}$  fue cuantificado en cada una de las matrices propuestas por espectrofotometría UV Visible utilizando el método de la orto-fenantrolina. **Resultados.** Se encontró una concentración de hierro

1 Artículo derivado del proyecto de investigación "Cuantificación de hierro ferroso en espinaca y harina fortificada: una aplicación para la industria de panificación" financiado por el semillero de investigación INNOVA de la Corporación Universitaria Lasallista y realizado en Antioquia, Colombia.

2 Ingeniero Químico - Magíster en Ingeniería Ambiental. Docente coordinador del programa de Ingeniería Ambiental e integrante del grupo de investigación GAMA de la Corporación Universitaria Lasallista, Caldas - Antioquia, Colombia. alarango@lasallista.edu.co

3 Ingeniera de Alimentos - Magíster en Alimentación y Salud. Integrante del grupo de investigación GRIAL de la Corporación Universitaria Lasallista, Caldas - Antioquia, Colombia. Innovación y Desarrollo PEPSICO, México. catalina.velez@gmail.com

4 Ingeniera de Alimentos, candidata magíster en Ciencia-Química. Integrante del grupo de investigación GRIAL de la Corporación Universitaria Lasallista, Caldas - Antioquia, Colombia. yamile.garces@gmail.com

5 Ingeniera de Alimentos e integrante del semillero de investigación INNOVA de la Corporación Universitaria Lasallista, Caldas - Antioquia, Colombia. mavalencia@ulasallista.edu.co

6 Ingeniera de Alimentos e integrante del semillero de investigación INNOVA de la Corporación Universitaria Lasallista. anhernandez@ulasallista.edu.co

AUTOR PARA CORRESPONDENCIA (\*): Corporación Universitaria Lasallista. Carrera 51 118Sur-57. Caldas - Antioquia - Colombia. Teléfono: 574-3201999. Correo electrónico: yamile.garces@gmail.com

Artículo recibido: 15/01/2012; Artículo aprobado: 12/04/2012.

del 7,93 mg/L en la masa con espinaca agregada, y para la masa de control, una concentración de 3,56 mg/L, lo que presentó un incremento de 4,37 mg/L.

**Conclusión.** La diferencia significativa en el análisis de la concentración de hierro evaluada entre las muestras, evidencia la funcionalidad de la espinaca por su alto contenido de hierro disponible, resultados que podrían ser usados para fortificar alimentos de panadería y otras matrices alimentarias.

**Palabras clave:** Espectrofotometría UV visible,  $\text{Fe}^{2+}$ , harina de trigo, fortificación, bio-disponibilidad.

## Quantification of ferrous iron in spinach and fortified flour: An application for bakery industries.

### ABSTRACT

**Introduction.** The nutritional deficiency of certain minerals, such as iron, affects people worldwide and affects their health depending, mainly, on the incidence degree and the magnitude of such deficiency. Spinach is one of the vegetables in which iron is more abundant, and this is why this research work evaluates this micro mineral in a bakery product: The cookies or biscuits usually consumed by Colombians in their daily diet. In the process and the development of new technologies, the quantification of vitamins and minerals that intervene in food is essential. Analytic chemistry has played a primordial role in it, because its methods generate very exact results and they do so in a practical way. **Objective.** The ferrous iron  $\text{Fe}^{2+}$  present in three matrices was counted. These matrices are:

*Spinaciaoleraceaspinach*, the unchlorinated wheat flour and a classic mass for enhanced biscuits with and without spinach pulp in its formula, aiming to observe the possibility of a direct fortification with iron, by the use of a vegetal matrix, such as spinach, for a bakery finished product. **Methodology.**  $\text{Fe}^{2+}$  was quantified in every proposed matrix by the use of UV Visible spectrophotometry, with the ortho-phenanthroline method. **Results.** A 7,93 mg /L iron concentration was found in the mass with added spinach and for the control mass, it was 3,56 mg/L. This means a 4,37 mg/L increase. **Conclusion.** The significant difference in the iron concentration analysis evaluated in the samples, demonstrates the functionality of spinach because of its high iron content. This result can be used to fortify bakery products and other alimentary matrices.

**Key words:** Visible UV spectrophotometry,  $\text{Fe}^{2+}$ , wheat flour, fortification, bio-availability.

## Quantificação de ferro ferroso em espinafre e farinha fortificada: uma aplicação para a indústria de panificadora

### Resumo

**Introdução.** A deficiência nutricional de certos minerais como o ferro afeta à população a escala mundial com graves efeitos sobre a saúde dependendo fundamentalmente do grau de incidência e da magnitude da deficiência. O espinafre é uma das hortaliças com maior conteúdo de ferro bio-disponível, o que leva este trabalho a avaliar este micro-mineral num produto de panificação, como os biscoitos que fazem parte da dieta diária do consumidor colombiano.

No processo e desenvolvimento de novas tecnologias, a quantificação das vitaminas e os minerais que intervêm nos alimentos é essencial, ali a química analítica jogou um papel primordial, já que seus métodos geram resultados muito exatos e de uma maneira prática. **Objetivo.** Se quantificou o ferro ferroso  $\text{Fe}^{2+}$  presente em três matrizes: o espinafre *Spinaciaoleracea*, a farinha de trigo não clorada e uma massa clássica para bolachas de realçado com e sem polpa de espinafre em sua formulação, com o fim de observar a possibilidade de uma fortificação direta de ferro empregando a adição de uma matriz vegetal como o espinafre num produto findo de padaria. **Metodologia.** O ferro  $\text{Fe}^{2+}$  foi quantificado em cada uma das matrizes propostas por espectrofotometria UV Visível utilizando o método da orto-fenantrolina. **Resultados.** Encontrou-se uma concentração de ferro do 7,93 mg/L na massa com espinafre agregado, e para a massa de controle, uma concentração de 3,56 mg/L, o que apresentou um incremento de 4,37 mg/L. **Conclusão.** A diferença significativa na análise da concentração de ferro avaliada entre as mostras, evidência a funcionalidade do espinafre por seu alto conteúdo de ferro disponível, resultados que poderiam ser usados para fortificar alimentos de padaria e outras matrizes alimentarias.

**Palavras importantes:** espectrofotometria UV visível,  $\text{Fe}^{2+}$ , farinha de trigo, fortificação, biodisponibilidade.

## ■ INTRODUCCIÓN

El hierro es un micro mineral u oligoelemento que interviene en la formación de la hemoglobina y de los glóbulos rojos, así como en la actividad enzimática del organismo (Chua, 2010). Dado que el hierro participa en la formación de la hemoglobina de más está decir que transporta el oxígeno en la sangre y que es importante para el correcto funcionamiento de la cadena respiratoria. Las reservas de este mineral se encuentran en el hígado, el bazo y la médula ósea (Lund, 2001).

El hierro es clasificado enhémico, que forma parte de la hemoglobina, la mioglobina, los citocromos y muchas otras hemoproteínas, que se encuentran principalmente en los alimentos de origen animal (International Nutritional Anemia Consultative Group, 1988). El hierro no hémico corresponde a aquel hierro que no se encuentra unido al grupo hemo; básicamente está formado por sales inorgánicas de este metal y el mismo se encuentra principalmente en los alimentos de origen vegetal, así como también en la mayoría de los preparados farmacéuticos utilizados en la terapia contra la deficiencia de este mineral (Looker, 1997).

Desde 1943, el Comité de Nutrición y Alimentos del *Institute of Medicine* estableció las guías recomendadas para la ingesta de hierro, como lo muestra la tabla 1 (Food and Nutrition Board, 2001). En general, aquellos que son más propensos a una deficiencia en hierro o anemia son aquellos que tienen necesidades más grandes de este nutrimento. La Organización Mundial de la Salud [OMS] ha recomendado el suplemento de hierro en la alimentación universal haciendo énfasis en el consumo de este en mujeres embarazadas (Swanson, 2003).

**Tabla 1.** Recomendación diaria de ingesta de hierro en miligramos de acuerdo a la etapa de la vida y el sexo (Food and Nutrition Board, 2001).

Edad	Niños	Hombres	Mujeres
7-12 Meses	11		
1-3 años	7		
4-8 años	10		
9-13 años		8	8
14-18 años		11	15
19-50 años		8	18
51 años		8	8

Para la determinación de componentes químicos en alimentos, en este caso el hierro, la química analítica ha jugado un papel primordial, ya que sus métodos generan resultados muy exactos de una manera práctica, en este caso, la espectrofotometría UV VIS que usa la luz para medir las concentraciones de las sustancias químicas (Leslie, 1991). Cuando una molécula absorbe un fotón pasa de un estado basal o fundamental, a un estado excitado (la energía de la molécula se incrementa); así, la intensidad de los fotones que pasan a través de una muestra que contiene el analito se atenúa debido a la absorción; la medida de esta atenuación, que recibe el nombre de absorbancia, es la que sirve de señal (Leslie, 1991) (Lozano, 2004) (Kirk, 2006).

El principal objetivo de este proyecto fue desarrollar un alimento funcional a partir de una matriz vegetal como la espinaca, que posee una cantidad considerable de hierro  $Fe^{+2}$  bio-disponible (Delgar, 2006), y que contribuye a la fortificación de un alimento de panadería como las masas de unas galletas de realzado, que hacen parte de la dieta diaria del consumidor colombiano.

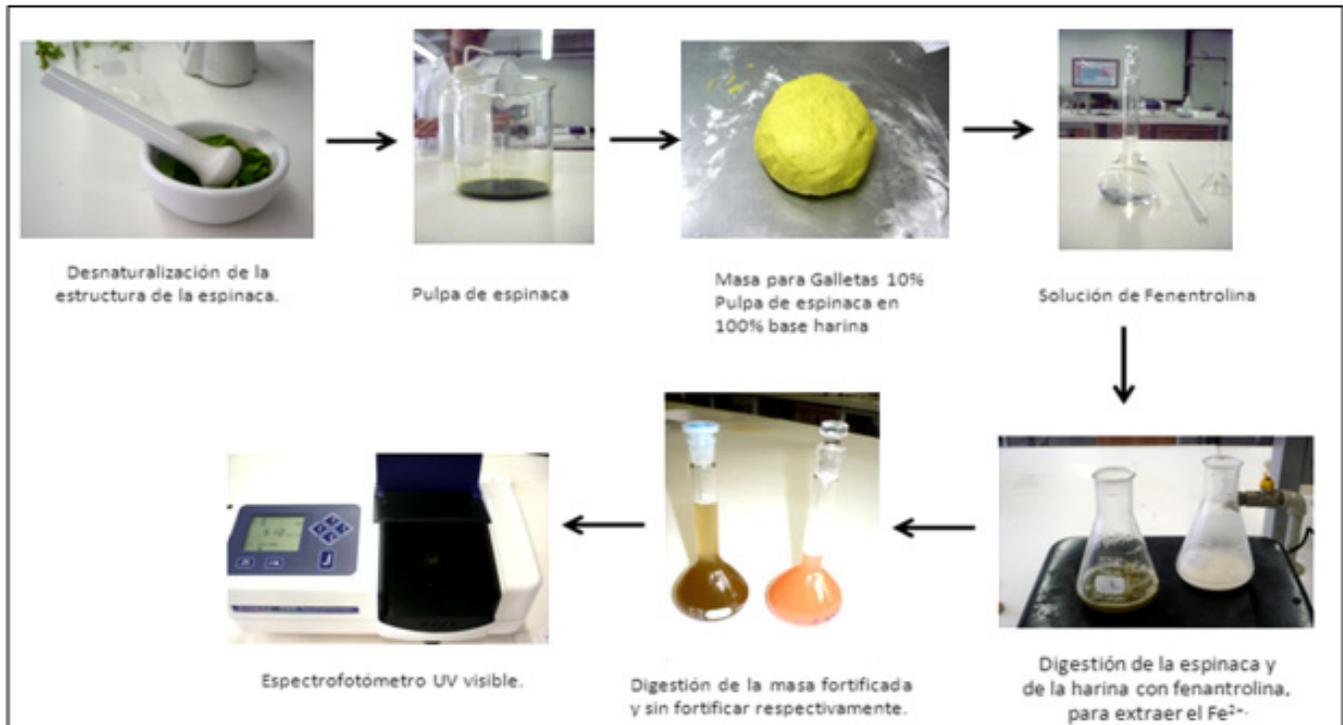
■ **MATERIALES Y MÉTODOS**

**Extracto de espinaca.**

Se maceró la espinaca hasta obtener un macerado verde. Posteriormente, se pasó por un cedazo para obtener el extracto de la espinaca. La harina de trigo utilizada para los análisis fue harina no clorada de marca comercial con un contenido de hierro de 44 mg/kg.

**Elaboración de la masa de panificación.**

La masa se preparó siguiendo una formulación para elaboración de galletas de realzado estándar la cual contenía harina de trigo, leche entera en polvo, leudantes (bicarbonato de amonio, bicarbonato de sodio, levadura fresca), margarina, azúcar tamizada, huevo líquido, extracto de espinaca y sal (Hazelton, 2003). Diez por ciento (10%) del extracto de espinaca fue agregado a la masa para un 100% de harina de trigo no clorada. La figura 1 muestra un diagrama de flujo con la preparación de cada una de las matrices a evaluar. Inicialmente se hizo un pesaje de los ingredientes, luego un mezclado de estos, comenzando por el cremado, y luego el amasado hasta obtener una masa homogénea la cual se evaluó en crudo por espectroscopia UV-VIS (Lozano, 2004). Es importante resaltar que se dejó una masa control la cual no tenía el extracto de espinaca.



**Figura 1.** Proceso de obtención y digestión de materiales experimentales (pulpa de espinaca, masa fortificada con espinaca, harina de trigo no clorada) para la determinación de la concentración de hierro.

Fuente: Elaboración propia.

**Determinación de hierro (método AOAC 944.02).**

Para la determinación del hierro es utilizado el método de la orto-fenantrolina (Association of Official Analytical Chemistry (AOAC). La orto-fenantrolina reacciona con el Fe<sup>2+</sup>, originando un complejo de color rojo característico (ferroína) que absorbe notablemente en las regiones del espectro visible de 510nm. El Fe<sup>3+</sup> no presenta absorción a esa longitud de onda y debe ser reducido a Fe<sup>2+</sup> mediante un agente reductor apropiado, como la hidroxilamina.

La reducción cuantitativa de Fe<sup>3+</sup> a Fe<sup>2+</sup> ocurre en pocos minutos en un medio

ácido (pH 3-4), de acuerdo con la siguiente ecuación:



Después de la reducción del Fe<sup>3+</sup> a Fe<sup>2+</sup>, se da la formación de un complejo con la adición de orto-fenantrolina. En un medio ácido la orto-fenantrolina se encuentra en su forma protonada como ion 1,10-fenantrolin (FenH<sup>+</sup>).

La reacción puede ser descrita por la siguiente ecuación:



**Curva de calibración.**

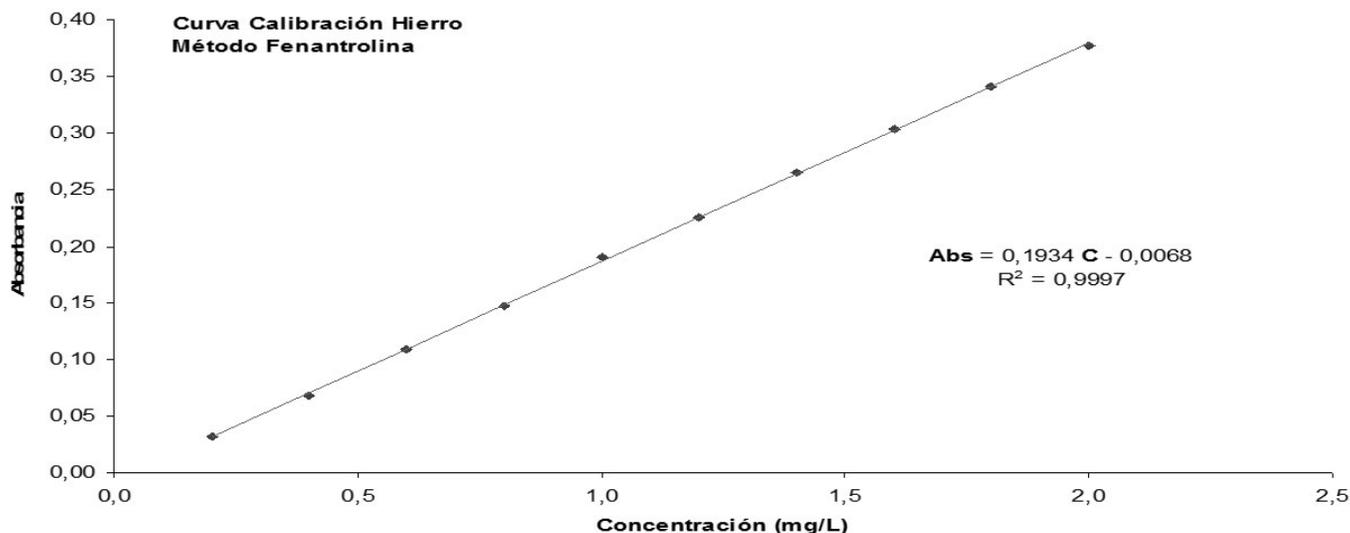
Para la curva de calibración se prepararon 10 muestras a diferentes concentraciones desde 0 a 2.1 mg/L con intervalos de 0.15 mg/L conocidas de hierro para determinar la concentración final en la masa harina y espinaca. (Kirk, 2006).

Las muestras fueron analizadas en un espectrofotómetro UV-VIS marca Jenway 6305 Spectrophometer.

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

**Curva de calibración.**

Se realizó la curva de calibración con un coeficiente de correlación de 0,9997 en relación con la absorbancia, lo cual indica que no existe variación significativa en la relación lineal de Y; así se muestra mostrando así un aumento proporcional entre la absorbancia y la concentración de  $Fe^{2+}$  ( $Abs=0,1934 C-0,0068$ ). Basados en esta curva, se hallaron los datos correspondientes a las concentraciones respectivas de hierro en las diferentes matrices.



**Figura 2.** Curva de calibración para hierro por el método orto - Fenantrolina. Concentración de hierro (mg/L) vs Absorbancia (nm).

**Análisis espectrofotométrico.**

Los datos que aparecen en la tabla 2 muestran los datos experimentales y teóricos del análisis espectrofotométrico a cada una de las matrices anteriormente

mencionadas. Experimentalmente se obtuvo un resultado en la concentración de hierro en la espinaca de 4,37mg/L. Estos datos pueden ser comparados con aquellos obtenidos por Crispin y Vayre en el 2002, los cuales utilizaron el mismo

método de cuantificación y cuyos resultados experimentales fueron de 4.83 mg/L (p. 117) (Denise, 2002). Teóricamente, la concentración de hierro ferroso en la espinaca es 5,2 mg/L, con un porcentaje de error de 15,96% con respecto a los

resultados experimentales. En la harina de trigo no clorada se obtuvo una concentración de hierro experimental de 2,42 mg/L, y cuyo valor teórico es de 3,86 mg/L, con un porcentaje de error de 37,48%.

**Tabla 2.** Concentraciones de hierro en la espinaca, en la harina de trigo, en la masa con y sin adición de pulpa de espinaca.

Matrices	Concentración de hierro experimental (mg/L)	Concentración de hierro teórico (mg/L)	% Error
Espinaca	4.37	5.2	15.96%
Harina	2.41	3.86	37.48%
Masa con pulpa de espinaca	7.93	No detectado	No detectado
Masa control	3.56	No detectado	No detectado

Para la masa con espinaca agregada se encontró una concentración de hierro del 7,93 mg/L, y para la masa no control, una concentración de 3,56 mg/L, para una diferencia de 4,37 mg/L. Estos resultados en las respectivas masas muestran un avance en cuanto a fortificación de productos industriales mediante matrices vegetales, ricos en micro y macro nutrimentos de una manera natural, aportándole un valor agregado benéfico para la salud del consumidor final (La Manna, Vivino, Libber, & Smutt, 2008). Algunas investigaciones con productos de panificación fortificados con hierro reportan aumentos de 3.89 mg/L en budines y 7.12 mg/L en galletas; también estudiantes de Instituto Politécnico Nacional en México IPN desarrollaron galletas con hígado de res para combatir la anemia (Mares, 2010); cabe resaltar que el hierro que se usó en estos productos fue hémico, mientras que el hierro empleado en este estudio se extrajo de una fuente vegetal.

■ **CONCLUSIÓN**

Existe un diferencia significativa de aproximadamente 4.37mg/L entre la masa con espinaca y la masa control. Este dato lleva a concluir que existe una cantidad mayor del mineral presente en la masa de las galletas que tienen la matriz vegetal en su formulación, convirtiendo a este en un ingrediente funcional en el producto final. Es recomendable experimentar con otras matrices de origen vegetal, para encontrar compuestos activos biodisponibles que puedan generar un valor agregado, y aumenten los positivos en las diferentes masas utilizadas en la industria panificadora, los cuales se podrían declarar como funcionales.

## ■ REFERENCIAS

Association of Official Analytical Chemistry AOAC, O. M. (s.f.). *Method AOAC 944.02*. (16 th edition ed.). United States.

Boccio, J., & Bessan, J. (2004). Fortificación de alimentos con hierro y zinc: pros y contras desde un punto de vista alimenticio y nutricional. *Revista de Nutrição*, 8.

Chua, A. B. (2010). Iron: An emerging factor in colorectal carcinogenesis. *World Journal of Gastroenterology (World Journal of Gastroenterology)*, 663-672.

Denise, J. (2002). Iron release from spinach: effects of treatment on levels of iron (II) and iron (III) released in vitro. *Food Chemistry*, 76, 117-123.

Dergal, S. B. (2006). *Química de los alimentos*. México: Pearson.

Food and Nutrition Board, I. o. (2001). Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. *National Academies Press, Washington, DC*.

Hazelton, J. D. (2003). *Biscuits, cookies, and crackers | Chemistry of Biscuit Making*. Manhattan: Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition).

International Nutritional Anemia Consultative Group, W. a. (1988). *Guidelines for the Use of Iron Supplements To Prevent and*

*Treat Iron Deficiency Anemia*. Washington: International Life Sciences Institute.

Kirk, R. S. (2006). *Composición y análisis de alimentos*. México: CECSA Pearson.

La Manna, V., Vivino, E., Libber, M., & Smutt, E. (Enero de 2008). *Instituto Nacional de Tecnología Industrial*. Recuperado de <http://www.inti.gov.ar/sabercomo/sc60/inti6.php>

Leslie, H. F. (1991). *Análisis Moderno de los Alimentos*. Zaragoza: Acribia.

Looker, P. D. (1997 ). *Prevalence of iron deficiency in the United States*. JAMA, 277, 973-976. Lozano, U. T. (2004).

*Especrofotometría - Determinación de Hierro*. Bogotá: Departamento de Ciencias Básicas, Laboratorio Química Analítica e Instrumental.

Lund, T. S. (2001). Chronic exposure to high levels of dietary iron fortification increases lipid peroxidation in the mucosa of the rat large intestine. *Journal of Nutrition*, 2928-2931.

Mares Morales, C. G., & et. al. (28 de 08 de 2010). *Alimentaria Online*. Recuperado de [http://www.alimentariaonline.com/desplegar\\_notas.asp?did=6405](http://www.alimentariaonline.com/desplegar_notas.asp?did=6405).

Swanson, C. A. (2003). Iron intake and regulation: implications for iron deficiency and iron overload. *Symposium on Role of Iron in Alcoholic Liver Disease*.