

Universidad del Valle de Guatemala
Facultad de Ingeniería



Comparación en la degradación de la vitamina B9 y hierro en un cereal
hojuelado, aplicando la premezcla vitamínica antes y después del proceso de
extrusión

Trabajo de graduación presentado por

Ana Paula Alpírez Bock

para optar al grado académico de Licenciada en Ingeniería Química

Guatemala,

2017

Comparación en la degradación de la vitamina B9 y hierro en un cereal hojuelado,
aplicando la premezcla vitamínica antes y después del proceso de extrusión

Universidad del Valle de Guatemala

Facultad de Ingeniería



Excelencia que trasciende

DELVALLE
GRUPO EDUCATIVO

Comparación en la degradación de la vitamina B9 y hierro en un cereal hojuelado, aplicando la premezcla vitamínica antes y después del proceso de extrusión

Trabajo de graduación presentado por

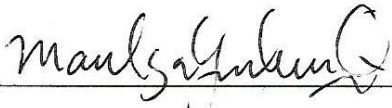
Ana Paula Alpírez Bock

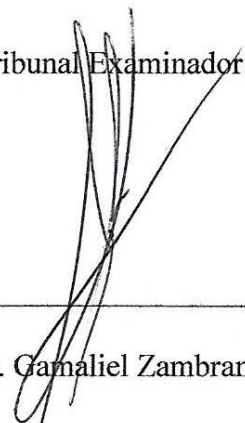
para optar al grado académico de Licenciada en Ingeniería Química

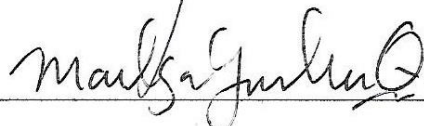
Guatemala,

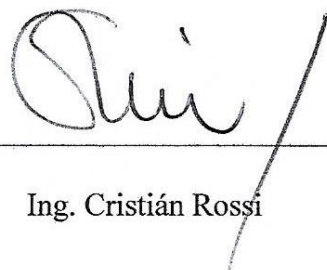
2017

Vo. Bo.

(f) 
Ing. María Isabel Aguilera

Tribunal Examinador:
(f) 
Ing. Gamaliel Zambrano

(f) 
Ing. María Isabel Aguilera

(f) 
Ing. Cristián Rossi

Fecha de Aprobación: Guatemala, 13 de enero 2017

PREFACIO

A lo largo de este trayecto aprendí que los cambios son difíciles, pero necesarios. Que proponerse metas es motivante, pero alcanzarlas, transforma. Aprendí a no subestimar la disciplina, pero tampoco a descuidar el ingenio.

Agradezco al Ingeniero Gamaliel Zambrano, de quien nunca me faltó el apoyo y de quien aprendí constantemente a lo largo de estos cinco años, así como de todo el equipo en el Departamento de Ingeniería Química de la Universidad. Un agradecimiento especial a la Ingeniera María Isabel Aguilera quien me apoyó en el transcurso de esta etapa y asesoró este trabajo de graduación. También agradezco la guía y ayuda del Licenciado Francisco Martínez durante la experimentación que se realizó para este proyecto.

Gracias a mi familia por ser incondicional y alentarme a llegar cada vez más alto. A mis amigos, a los viejos y a los nuevos, porque hicieron que cada paso fuera memorable.

Por supuesto, a Dios.

Este trabajo lleva algo de ustedes en él.

Para Piros, quien se alegraría mucho con la culminación de este trayecto.

ÍNDICE

PREFACIO	v
LISTA DE CUADROS	viii
LISTA DE GRÁFICAS	xiv
LISTA DE ILUSTRACIONES	xv
RESUMEN.....	xvi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	2
A. General	2
B. Específicos	2
III. JUSTIFICACIÓN.....	3
IV. MARCO TEÓRICO.....	5
A. Proceso de fabricación de cereales hojuelados listos para comer	5
B. Premezcla de nutrientes.....	8
1. Mezclado de premezcla de nutrientes	9
2. Hierro en premezclas.....	10
a. Determinación de hierro en muestras.....	10
b. Cinética de oxidación del hierro.....	11
C. Vitaminas	12
2. Sensibilidad de las vitaminas	12
3. Ácido fólico.....	13
D. Cinética de degradación en alimentos	14

1.	Cinética de degradación de ácido fólico.....	15
E.	Aceleración de vida de anaquel: Modelo de Arrhenius.....	15
V.	ANTECEDENTES.....	18
VI.	METODOLOGÍA	21
VII.	RESULTADOS.....	27
VIII.	DISCUSIÓN	36
IX.	CONCLUSIONES	43
X.	RECOMENDACIONES	45
XI.	BIBLIOGRAFÍA.....	47
XII.	ANEXOS.....	51
A.	Mediciones realizadas	51
B.	Cálculos de muestra	62
C.	Datos calculados.....	66
D.	Metodología propuesta.....	76
E.	Registro gráfico de análisis de hierro y ácido fólico a muestras	80

LISTA DE CUADROS

Cuadro No. 1 Reacciones de pérdida de calidad en alimentos	14
Cuadro No. 2 Constantes cinéticas obtenidas en experimentos realizados a distintos pH. Cada valor es el resultado de promediar, al menos, 10 constantes correspondientes a distintas longitudes de onda.....	15
Cuadro No. 3 Listado del equipo utilizado para el análisis de hierro y ácido fólico en muestras de cereal hojuelado	25
Cuadro No. 4 Listado de reactivos utilizados para análisis de ácido fólico y hierro	26
Cuadro No. 5 Concentración de hierro inicial, promedio de seis muestras obtenidas luego de aplicación de premezcla vitamínica en etapa de recubrimiento.....	27
Cuadro No. 6 Concentración de ácido fólico inicial promedio de seis muestras obtenidas luego de aplicación de premezcla vitamínica en etapa de recubrimiento.....	27
Cuadro No. 7 Concentración de hierro promedio en hojuela azucarada obtenida luego de aplicación de premezcla vitamínica en etapa de recubrimiento, a través del tiempo, almacenada a diferentes temperaturas, expresada en mg/100g	28
Cuadro No. 8 Concentración de hierro promedio en hojuela chocolatada obtenida luego de aplicación de premezcla vitamínica en etapa de recubrimiento, a través del tiempo, almacenada a diferentes temperaturas, expresada en mg/100g	29
Cuadro No. 9 Concentración de ácido fólico promedio en hojuela azucarada obtenida luego de aplicación de premezcla vitamínica en etapa de recubrimiento, a través del tiempo, almacenada a diferentes temperaturas, expresada en µg/kg.....	30
Cuadro No. 10 Concentración de ácido fólico promedio en hojuela chocolatada obtenida luego de aplicación de premezcla vitamínica en etapa de recubrimiento, a través del tiempo, almacenada a diferentes temperaturas, expresada en µg/kg	31
Cuadro No. 11 Cinética de degradación de hierro y ácido fólico en cereales hojuelados obtenidos luego de aplicación de premezcla vitamínica en etapa de recubrimiento, a través del tiempo, almacenada en cuatro cabinas de temperatura controlada	32

Cuadro No. 12 Comparación de la degradación de hierro en cereal hojuelado azucarado	34
Cuadro No. 13 Comparación de la degradación de hierro en cereal hojuelado chocolatado	34
Cuadro No. 14 Comparación de la degradación de ácido fólico en cereal hojuelado azucarado	35
Cuadro No. 15 Comparación de la degradación de ácido fólico en cereal hojuelado chocolatado	35
Cuadro No. 16 Absorbancia en muestras de cereal hojuelado azucarado al inicio de la experimentación para determinación de hierro	51
Cuadro No. 17 Absorbancia en muestra de cereal hojuelado azucarado al cabo de 20 días en incubación para determinación de hierro	51
Cuadro No. 18 Absorbancia en muestra de cereal hojuelado azucarado al cabo de 40 días en incubación para determinación de hierro	52
Cuadro No. 19 Absorbancia en muestra de cereal hojuelado azucarado al cabo de 55 días en incubación para determinación de hierro	52
Cuadro No. 20 Absorbancia en muestras de cereal hojuelado chocolatado al inicio de la experimentación para determinación de hierro	53
Cuadro No. 21 Absorbancia en muestra de cereal hojuelado chocolatado al cabo de 20 días en incubación para determinación de hierro	53
Cuadro No. 22 Absorbancia en muestra de cereal hojuelado chocolatado al cabo de 40 días en incubación para determinación de hierro	54
Cuadro No. 23 Absorbancia en muestra de cereal hojuelado chocolatado al cabo de 55 días en incubación para determinación de hierro	54
Cuadro No. 24 Absorbancia de estándares para determinación inicial de hierro en muestras de cereal hojuelado chocolatado	55
Cuadro No. 25 Absorbancia de estándares para determinación inicial de hierro en muestras de cereal hojuelado azucarado	55
Cuadro No. 26 Absorbancia de estándares para determinación de hierro en muestras al cabo de 20 días de incubación a temperaturas de 23°C y 34°C	55
Cuadro No. 27 Absorbancia de estándares para determinación de hierro en muestras al cabo de 20 días de incubación a temperaturas de 37°C y 40°C	55

Cuadro No. 28 Absorbancia de estándares para determinación de hierro en muestras al cabo de 40 días de incubación a temperaturas de 23°C y 34°C	56
Cuadro No. 29 Absorbancia de estándares para determinación de hierro en muestras al cabo de 40 días de incubación a temperaturas de 37°C y 40°C	56
Cuadro No. 30 Absorbancia de estándares para determinación de hierro en muestras al cabo de 55 días de incubación a temperaturas de 23°C y 34°C	56
Cuadro No. 31 Absorbancia de estándares para determinación de hierro en muestras al cabo de 55 días de incubación a temperaturas de 37°C y 40°C	56
Cuadro No. 32 Absorbancia en muestra de cereal hojuelado azucarado al inicio de la experimentación para determinación de ácido fólico	57
Cuadro No. 33 Absorbancia en muestra de cereal hojuelado azucarado al cabo de 20 días en incubación para determinación de ácido fólico.....	57
Cuadro No. 34 Absorbancia en muestra de cereal hojuelado azucarado al cabo de 45 días en incubación para determinación de ácido fólico.....	57
Cuadro No. 35 Absorbancia en muestra de cereal hojuelado azucarado al cabo de 55 días en incubación para determinación de ácido fólico.....	58
Cuadro No. 36 Absorbancia en muestra de cereal hojuelado chocolatado al inicio de la experimentación para determinación de ácido fólico.....	58
Cuadro No. 37 Absorbancia en muestra de cereal hojuelado chocolatado al cabo de 20 días en incubación para determinación de ácido fólico.....	58
Cuadro No. 38 Absorbancia en muestra de cereal hojuelado chocolatado al cabo de 45 días en incubación para determinación de ácido fólico.....	59
Cuadro No. 39 Absorbancia en muestra de cereal hojuelado chocolatado al cabo de 55 días en incubación para determinación de ácido fólico.....	59
Cuadro No. 40 Absorbancia de estándares para determinación inicial de ácido fólico en muestras	59
Cuadro No. 41 Absorbancia de estándares para determinación de ácido fólico en muestras al cabo de 20 días de incubación.....	60

Cuadro No. 42 Absorbancia de estándares para determinación de ácido fólico en muestras al cabo de 45 días de incubación	60
Cuadro No. 43 Absorbancia de estándares para determinación de ácido fólico en muestras al cabo de 55 días de incubación	60
Cuadro No. 44 Absorbancia para determinación de hierro de partículas finas depositadas en cereal hojuelado azucarado	60
Cuadro No. 45 Absorbancia de estándares para determinación de hierro de partículas finas depositadas en cereal hojuelado azucarado.....	61
Cuadro No. 46 Absorbancia para determinación de ácido fólico en partículas finas depositadas en cereal hojuelado azucarado	61
Cuadro No. 47 Absorbancia de estándares para determinación de ácido fólico de partículas finas depositadas en cereal hojuelado azucarado	61
Cuadro No. 48 Absorbancia para determinación de hierro de partículas finas depositadas en cereal hojuelado chocolatado.....	61
Cuadro No. 49 Absorbancia de estándares para determinación de hierro de partículas finas depositadas en cereal hojuelado chocolatado	62
Cuadro No. 50 Absorbancia para determinación de ácido fólico en partículas finas depositadas en cereal hojuelado chocolatado	62
Cuadro No. 51 Absorbancia de estándares para determinación de ácido fólico de partículas finas depositadas en cereal hojuelado chocolatado	62
Cuadro No. 52 Concentración de hierro en muestras de cereal hojuelado azucarado al inicio de la experimentación	66
Cuadro No. 53 Concentración de hierro en muestra de cereal hojuelado azucarado al cabo de 20 días almacenada a distintas temperaturas.....	66
Cuadro No. 54 Concentración de hierro en muestra de cereal hojuelado azucarado al cabo de 40 días almacenada a distintas temperaturas.....	67
Cuadro No. 55 Concentración de hierro en muestra de cereal hojuelado azucarado al cabo de 55 días almacenada a distintas temperaturas.....	67

Cuadro No. 56 Concentración de hierro en muestras de cereal hojuelado chocolatado al inicio de la experimentación	68
Cuadro No. 57 Concentración de hierro en muestra de cereal hojuelado chocolatado al cabo de 20 días almacenada a distintas temperaturas.....	68
Cuadro No. 58 Concentración de hierro en muestra de cereal hojuelado chocolatado o al cabo de 40 días almacenada a distintas temperaturas.....	69
Cuadro No. 59 Concentración de hierro en muestra de cereal hojuelado chocolatado al cabo de 55 días almacenada a distintas temperaturas.....	69
Cuadro No. 60 Concentración de ácido fólico en muestras de cereal hojuelado azucarado al inicio de la experimentación	70
Cuadro No. 61 Concentración de ácido fólico en muestra de cereal hojuelado azucarado al cabo de 20 días almacenada a distintas temperaturas.....	70
Cuadro No. 62 Concentración de ácido fólico en muestra de cereal hojuelado azucarado al cabo de 45 días almacenada a distintas temperaturas.....	70
Cuadro No. 63 Concentración de ácido fólico en muestra de cereal hojuelado azucarado al cabo de 55	71
Cuadro No. 64 Concentración de ácido fólico en muestras de cereal hojuelado chocolatado al inicio de la experimentación	71
Cuadro No. 65 Concentración de ácido fólico en muestra de cereal hojuelado chocolatado al cabo de 20 días almacenada a distintas temperaturas	71
Cuadro No. 66 Concentración de ácido fólico en muestra de cereal hojuelado chocolatado al cabo de 45 días almacenada a distintas temperaturas	72
Cuadro No. 67 Concentración de ácido fólico en muestra de cereal hojuelado chocolatado al cabo de 55 días almacenada a distintas temperaturas	72
Cuadro No. 68 Logaritmo natural de concentración promedio de hierro en muestra de cereal hojuelado azucarado a través del tiempo, almacenada a diferentes temperaturas	72
Cuadro No. 69 Logaritmo natural de concentración promedio de hierro en muestra de cereal hojuelado chocolatado a través del tiempo, almacenada a diferentes temperaturas	73

Cuadro No. 70 Logaritmo natural de concentración promedio de ácido fólico en muestra de cereal hojuelado azucarado a través del tiempo, almacenada a diferentes temperaturas	73
Cuadro No. 71 Logaritmo natural de concentración promedio de ácido fólico en muestra de cereal hojuelado chocolatado a través del tiempo, almacenada a diferentes temperaturas.	73
Cuadro No. 72 Parámetros cinéticos de ecuación de reacción de degradación de hierro en muestras de cereal hojuelado azucarado	73
Cuadro No. 73 Parámetros cinéticos de ecuación de reacción de degradación de hierro en muestras de cereal hojuelado chocolatado	74
Cuadro No. 74 Parámetros cinéticos de ecuación de reacción de degradación de ácido fólico en muestras de cereal hojuelado chocolatado	74
Cuadro No. 75 Parámetros cinéticos de ecuación de reacción de degradación de ácido fólico en muestras de cereal hojuelado chocolatado	74
Cuadro No. 76 Concentración de hierro en partículas finas depositadas en cereal hojuelado azucarado.....	75
Cuadro No. 77 Concentración de ácido fólico en partículas finas depositas en cereal hojuelado azucarado ...	75
Cuadro No. 78 Concentración de hierro en partículas finas depositadas en cereal hojuelado chocolatado.....	75
Cuadro No. 79 Concentración de ácido fólico en partículas finas depositas en cereal hojuelado chocolatado	75

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica No. 1 Concentración de hierro promedio en muestra de cereal hojuelado azucarado luego de la aplicación de la premezcla vitamínica en la etapa de recubrimiento. Datos correspondientes a Cuadro No.7.....	28
Gráfica No. 2 Concentración de hierro promedio en muestra de cereal hojuelado chocolatado luego de la aplicación de la premezcla vitamínica en la etapa de recubrimiento. Datos correspondientes a Cuadro No.8.....	29
Gráfica No. 3 Concentración de ácido fólico promedio en muestra de cereal hojuelado azucarado luego de la aplicación de la premezcla vitamínica en la etapa de recubrimiento. Datos correspondientes a Cuadro No.9.....	30
Gráfica No. 4 Concentración de ácido fólico promedio en muestra de cereal hojuelado chocolatado luego de la aplicación de la premezcla vitamínica en la etapa de recubrimiento. Datos correspondientes a Cuadro No.10.....	31
Gráfica No. 5 Modelo de Arrhenius para determinación de cinética de degradación de hierro en cereal hojuelado azucarado, luego de aplicación de premezcla vitamínica en etapa de recubrimiento	32
Gráfica No. 6 Modelo de Arrhenius para determinación de cinética de degradación de hierro en cereal hojuelado chocolatado, luego de aplicación de premezcla vitamínica en etapa de recubrimiento	33
Gráfica No. 7 Modelo de Arrhenius para determinación de cinética de degradación de ácido fólico en cereal hojuelado azucarado, luego de aplicación de premezcla vitamínica en etapa de recubrimiento	33
Gráfica No. 8 Modelo de Arrhenius para determinación de cinética de degradación de ácido fólico en cereal hojuelado chocolatado, luego de aplicación de premezcla vitamínica en etapa de recubrimiento	34

LISTA DE ILUSTRACIONES

Ilustración No. 1 “Secciones de un extrusor convencional de tornillo simple. Se muestra también el preacondicionador”	7
Ilustración No. 2 Diagrama de flujo típico del proceso de extrusión-cocción de expansión directa.	8
Ilustración No. 3 Representación de la cinética de primer orden en la oxidación del complejo hierro (II) - ofenantrolina.....	11
Ilustración No. 4 Cinética y constante de degradación del complejo hierro (II) – ofenantrolina,	12
Ilustración No. 5 Sensibilidad de las vitaminas a los tratamientos tecnológicos.	12
Ilustración No. 6 Espectrofotómetro Spectroquant ® Nova 60	25
Ilustración No. 7 Espectrofotómetro BioTek Elx800	25
Ilustración No. 8 Incubadoras Lab-Line	26
Ilustración No. 9 Lectura de absorbancia en análisis de hierro	80
Ilustración No. 10 Análisis de absorbancia en análisis de ácido fólico	80
Ilustración No. 11 Partículas depositadas al fondo bolsa de almacenaje de muestra.....	81
Ilustración No. 12. Partículas finas de color verdoso encontradas en muestras	81

RESUMEN

En una empresa productora de cereales listos para comer, se evaluó la degradación de una vitamina y un micronutriente agregados en la premezcla vitamínica a dos tipos de cereales hojuelados: azucarados y chocolatados, comparando la diferencia en la degradación que tiene la vitamina y el micronutriente cuando la premezcla vitamínica es agregada antes del proceso de extrusión y cuando es agregada en la etapa de recubrimiento. Los análisis se realizaron periódicamente, cada 15-20 días, durante dos meses, con el objetivo de modelar la cinética de la degradación de la vitamina y el micronutriente, por medio del método matemático de Arrhenius. La vitamina estudiada fue la vitamina B9, llamada comúnmente *ácido fólico*; y el micronutriente, hierro. Estos fueron elegidos ya que, debido a que el ácido fólico es una vitamina sensible a los factores principales a los que se expone el cereal en su proceso de fabricación, permite, entonces, conocer el comportamiento de las demás vitaminas, las cuales no son tan sensibles como esta; por el otro lado, el micronutriente hierro se evaluó ya que este tiene una degradación muy leve, tanto cuando se hace pasar por los procesos de fabricación del cereal, como a través del tiempo. Por lo tanto, se trabajó con una vitamina muy sensible, y un micronutriente poco sensible, lo que proporciona una idea del comportamiento de las demás vitaminas y micronutrientes en a premezcla vitamínica. La degradación se evaluó en las dos variantes del proceso, para así poder determinar en cuál de estos se tiene una menor degradación de los micronutrientes y vitaminas.

El cambio en el proceso se llevó a cabo, y se tomaron muestras, las cuales serían almacenadas en cabinas de temperatura controlada para acelerar su vida de anaquel. Se realizó la primera determinación de hierro, y se midió una concentración, en el día 0 de almacenaje (luego de aplicar la premezcla vitamínica junto con el jarabe, y antes de ingresar las muestras a las cabinas de temperatura controlada), en la hojuela azucarada de 18.00 ± 1.53 mg/100 g con un coeficiente de variación del 8.50%, y para la hojuela chocolatada fue de 25.12 ± 3.28 mg/100 g, con un coeficiente de variación del 13.04%. Para el ácido fólico se determinó una concentración en el día 0 de almacenaje de 4875 ± 77 µg/kg en la hojuela azucarada, con un coeficiente de variación del 1.60%, mientras que en la hojuela chocolatada se determinó una concentración inicial de 4560 ± 240 µg/kg. Las muestras se almacenaron a cuatro distintas temperaturas de 23°C, 34°C, 37°C y 44°C para acelerar su vida de anaquel, y determinar el modelo cinético mediante la ecuación de Arrhenius. Para la hojuela azucarada la degradación del hierro con la metodología y las condiciones de este experimento presentó el modelo cinético $\ln(k) = -5544.5 \times \left(\frac{1}{T}\right) + 24.3$, y para la chocolatada, $\ln(k) = 2108.1 \times \left(\frac{1}{T}\right) - 1.5$, con un R² de 0.236 y 0.755, respectivamente. La degradación de la vitamina B9 también se modeló por medio de Arrhenius, y se

obtuvo, para la hojuela azucarada, con la metodología y las condiciones de esta experimentación, el modelo cinético $\ln(k) = -469.0 \times \left(\frac{1}{T}\right) - 7.2$, y para la hojuela chocolatada, $\ln(k) = 402.8 \times \left(\frac{1}{T}\right) + 4.2$, con un R^2 de 0.954 y 0.0931, respectivamente. Mediante el modelo cinético se proyectó que, a los nueve meses, que es el tiempo de caducidad de los cereales, el cereal hojuelado azucarado tendría una concentración de hierro de 11.21 ± 1.58 mg/100 g, y una concentración de ácido fólico de 11.1 ± 0.01 µg/kg. Para el cereal hojuelado chocolatado se proyectó una concentración de hierro de 12.96 ± 0.19 mg/100 g, y de 140.10 ± 0.14 µg/kg de ácido fólico. La adición de la premezcla vitamínica junto con el jarabe de recubrimiento, con la metodología llevada a cabo en esta experimentación no obtuvo los resultados esperados, ya que la premezcla no se homogenizó por completo en el jarabe, y, adicionalmente, no se adhirió completamente a la hojuela. Para los dos tipos de cereales no fue posible asegurar la cantidad de vitamina y micronutriente presente mediante estos modelos cinéticos. Se recomienda tener un mayor control del ambiente y de las variables involucradas en el proceso, para así, definir la metodología adecuada para la aplicación de la premezcla vitamínica en la etapa de recubrimiento.

I. INTRODUCCIÓN

Desde 1992 en Guatemala se creó la Ley General de Fortificación de Alimentos, en la que se considera obligatorio fortificar los alimentos. En el caso de la harina de trigo, esta se debe fortificar con hierro, ácido fólico y vitaminas del complejo B (Unicef, 2010). Esto se hizo con el objetivo de erradicar la deficiencia de micronutrientes, y por ende la desnutrición crónica en la población guatemalteca. Por esto mismo, las empresas productoras de cereales de harina de trigo se ven obligada a fortalecer sus productos con cantidades específicas de estas vitaminas y minerales, así como también etiquetar sus productos con el contenido correcto de vitaminas y micronutrientes.

Para la fabricación de cereales hojuelados se lleva a cabo una serie de procesos a altas temperaturas, los cuales degradan la vitamina y micronutrientes presentes, ocasionando una menor cantidad a la agregada en el producto final. Estos procesos involucran la extrusión y el secado del cereal, principalmente, así como el proceso de recubrimiento. La extrusión es el proceso mediante el cual se le da la forma deseada al cereal y alcanza temperaturas superiores a 100°C, entre 150-180°C, usualmente. Durante el secado, se le remueve el exceso de humedad, así como también se tuesta, trabajando con temperaturas elevadas, de hasta 270°C. Durante el recubrimiento el jarabe de recubrimiento puede alcanzar una temperatura de hasta 180°C, por lo que, al ser aplicado al cereal, puede también degradar las vitaminas. (Guy, 2001)

El presente estudio se realizó con el objetivo de estudiar la degradación de una vitamina muy sensible a estos factores (vitamina B9), y un micronutriente poco sensible (hierro) aplicando la premezcla vitamínica en dos diferentes etapas del proceso de fabricación: en el mezclado de harinas antes de la extrusión, y en la olla de cocimiento del jarabe de recubrimiento, luego de que el cereal ya fue extruido. Para evaluar la degradación de las vitaminas, se llevó a cabo la determinación de la concentración de hierro y ácido fólico presente en cereales hojuelados con dos tipos de recubrimiento. Los análisis se llevaron a cabo por medio del estudio de la vida de anaquel acelerada del cereal hojuelado, controlando las cantidades de ácido fólico y hierro presentes en intervalos de tiempo de 15-20 días durante dos meses, con el objetivo de proyectar la cantidad de hierro y ácido fólico presente en los cereales al alcanzar su fecha de caducidad. Por medio del estudio se determinó que la aplicación de la premezcla vitamínica en las ollas de cocimiento del jarabe utilizando la metodología propuesta en este estudio no fue efectiva, debido a que la premezcla no quedó totalmente adherida a la hojuela, luego de que se aplicó junto con el jarabe de recubrimiento. Además, no se logró una buena homogenización de la premezcla vitamínica en el jarabe. Por lo tanto, se recomienda realizar pruebas, teniendo un mayor control de las variables involucradas, como la luz, la humedad, la suspensión de la premezcla vitamínica en el jarabe, para plantear la metodología adecuada.

II. OBJETIVOS

A. General

Comparar la degradación de la vitamina B9 y el micronutriente hierro en dos alternativas al proceso de aplicación de premezcla vitamínica durante la fabricación de cereales hojuelados con recubrimiento: antes de extrusión y en etapa de recubrimiento, de una empresa productora de alimentos, con la determinación de la concentración de hierro y ácido fólico presente en ellos.

B. Específicos

- Determinar la cantidad de hierro y ácido fólico que contienen los cereales hojuelados con recubrimiento de azúcar y con recubrimiento de chocolate, cuando la premezcla vitamínica es aplicada a la olla de cocimiento del jarabe de recubrimiento, después de la extrusión.
- Calcular el coeficiente de variación en la cantidad de hierro y ácido fólico de las muestras anteriores para determinar si se logra un mezclado efectivo de la premezcla vitamínica en el jarabe de recubrimiento.
- Realizar estudios periódicos de la degradación de ácido fólico y hierro en el producto a través del tiempo.
- Obtener el comportamiento de la degradación mediante el modelo de vida de anaquel acelerada de Arrhenius y proyectar la cantidad de vitamina presente en el producto al alcanzar su fecha de caducidad.
- Determinar si la diferencia en la degradación de la vitamina es significativa al cambiar el proceso de aplicación para evaluar el cambio en el proceso.

III. JUSTIFICACIÓN

Las vitaminas son sensibles a agentes físicos y químicos, tales como la luz, el calor, la humedad y la oxidación. Durante la extrusión de cereales listos para comer, la mezcla de maíz, la cual contiene la premezcla vitamínica, se humedece, y mientras se hace pasar a altas presiones por medio del extrusor, incrementa su temperatura, alcanzando entre 100 y 150°C. Luego, en la etapa de secado se alcanzan temperaturas de hasta 250°C. Durante todos estos procesos, las vitaminas se ven afectadas y se desnaturalizan conforme se hacen pasar a través de ellos. Entre más procesos se hace pasar la vitamina, más propensa está a degradarse. Por esta razón, es importante evaluar si la aplicación de la vitamina al inicio del proceso, en la mezcla de harinas, es desfavorable. Una alternativa a esto es la aplicación de la vitamina en la olla de cocimiento del jarabe de recubrimiento de los cereales, para que luego estas sean atomizadas a la hojuela. En estas ollas se cuenta con temperaturas altas, sin embargo, menores a las de la extrusión (75-80°C). La aplicación del recubrimiento es de los pasos finales del proceso de fabricación del cereal hojuelado, por lo que se evitaría el paso de las vitaminas por los procesos de extrusión, que involucran el aumento en humedad y otros procesos que elevan su temperatura.

Para las empresas productoras de alimentos es necesario cumplir con lo que se ofrece en sus productos a través del etiquetado. Según el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA), se acepta una tolerancia de $\pm 20\%$ respecto a los valores de macronutrientes declarados en las etiquetas, y respecto a los micronutrientes, se debe cumplir con el 80% del valor declarado en la etiqueta, al cabo de su vida de anaquel. Es por esto que muchas empresas optan por sobredosificar sus productos, con el objetivo de asegurarse que no se encuentren por debajo del margen aceptado según la etiqueta nutricional. Esto es importante, ya que las vitaminas sufren una degradación con el tiempo, además de la degradación sufrida en el proceso de fabricación del cereal. Por esto, al cabo de la fecha de caducidad del producto, no se tendrá la misma cantidad de vitamina que la adicionada inicialmente. Por este motivo, las empresas aseguran el contenido vitamínico ofrecido en sus alimentos llevando a cabo una sobredosificación. La mayoría de vitaminas son sensibles a la temperatura, luz y oxidación, por lo que, evitando la exposición de las vitaminas a estos, se obtiene una menor degradación. Al tener una menor degradación de las vitaminas en los procesos de fabricación de los alimentos, se está haciendo mejor uso de los recursos, ya que, en ese caso, la sobredosificación podría llegar a disminuir.

En una industria es de gran importancia el manejo eficiente de los recursos. El producto final ofrecido al cliente es resultado del uso de muchos recursos, ingredientes, y procedimientos, que, trabajados eficazmente, genera el producto deseable para el cliente. Cada paso que da lugar a la generación del producto final debe ser trabajado de forma eficiente, ya que, aunque por separado no representen un impacto negativo, juntos pueden hacer que en el proceso global se estén dando desperdicios o mal usos de los insumos innecesarios. Es importante evaluar los procesos, para encontrar oportunidades de mejora y ahorro. De esta manera se considera que existe una oportunidad de mejora en la empresa de alimentos, por medio de la evaluación en el proceso de aplicación de la premezcla vitamínica, ya que se podría lograr un mayor aprovechamiento de este recurso, si estas son aplicadas en los procesos finales de la elaboración de los cereales listos para comer. Actualmente las

vitaminas agregadas a los cereales de la empresa de alimentos sí cumplen con lo establecido en el etiquetado al alcanzar el final de su vida de anaquel, sin embargo, a través de este estudio se evaluó si, debido al cambio de proceso, las vitaminas sufren una menor degradación, lo que implicaría la posibilidad de disminuir la cantidad de premezcla agregada a los cereales. Tomando en cuenta los costos que la empresa tiene respecto a la premezcla vitamínica, se lograría un ahorro de Q95.07 por tonelada de cereal producido, por cada 20% de premezcla vitamínica menos que se agregue.

Es necesario estudiar el comportamiento de la degradación de los micronutrientes y vitaminas en ambas variantes del proceso de aplicación de las vitaminas, para conocer si en cada uno de ellos se cumple con lo establecido en la etiqueta nutricional al cabo de la fecha de caducidad de los productos. Es por esto que se llevó a cabo el estudio tanto de una vitamina sensible a los procesos de producción del cereal, tales como altas temperaturas, así como de un nutriente que no tenga tal sensibilidad. Es por lo mismo que se decidió realizar análisis del ácido fólico (vitamina B9), que es una vitamina fotosensible, así como también sensible al calor. Se estudió también el comportamiento de degradación del hierro, el cual no se ve afectado por estos factores.

La etiqueta nutricional de los cereales evaluados en este estudio declara un contenido, tanto de hierro como de ácido fólico, del 30% de la ingesta recomendada según las recomendaciones de ingesta diaria de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). Esto significa que cada 100 gramos de producto final debe contener 200 μg de ácido fólico y 14 mg de hierro. La empresa productora de alimentos adiciona una cantidad del 50-60% sobre la cantidad declarada en la etiqueta; esto es 22 mg de hierro y 303 μg de ácido fólico por cada 100 gramos de producto final. Según los estudios previos realizados en la empresa productora de alimentos, todos los micronutrientes y las vitaminas tienen una sobredosificación del 50-100%. Esto implica una mayor cantidad de premezcla vitamínica adicionada al producto.

Debido a que no se tiene una proyección concluyente general para alimentos, es necesario llevar a cabo estudios específicos para cada tipo de alimento y premezcla vitamínica. Es decir, no es posible generalizar la degradación de las vitaminas para distintos alimentos, ya que, para su producción, estos pasan por distintos procesos que modifican y degradan en diferente grado la cantidad de vitamina presente en ellos. Con los estudios de aceleración de vida de anaquel, mediante el Método de Arrhenius, se determinó la cinética de degradación de la vitamina y el micronutriente para las condiciones establecidas en la variante del proceso, y se proyectó la cantidad de ambos, un micronutriente poco sensible, y una vitamina con sensibilidad a los procesos, al cabo del tiempo de caducidad del cereal hojuelado.

IV. MARCO TEÓRICO

A. Proceso de fabricación de cereales hojuelados listos para comer

Los cereales listos para comer son productos elaborados por la industria alimenticia a partir de trigo, maíz y/o arroz. Estos son sometidos a procesos con el objetivo de modificar su forma, textura, sabor, entre otras características, y que se encuentren listos para consumir. Los cereales listos para comer conservan su valor nutricional, además de que usualmente se enriquecen, según su formulación, con vitaminas y minerales que completan el producto, para que tenga un mayor aporte nutricional, y que contribuya a completar las Cantidades Diarias Recomendadas de nutrientes (CDR). En el proceso de elaboración de los cereales listos para comer, se llevan a cabo procedimientos en los que se aplica alta temperatura. Esto reduce el valor inicial de ciertas vitaminas. Es por esto la importancia de fortificarlos. Algunos fabricantes agregan también minerales, ya que algunos de estos nutrientes actúan como cofactores en reacciones implicadas en el metabolismo energético, el cual es de gran importancia en niños y mujeres embarazadas, y estos, junto con el hierro, contribuyen a la prevención de ciertos tipos de anemia. (Maya Cerón & Ricaurte Farfán, 2006)

En el proceso de fabricación de cereales hojuelados se utiliza sémola de maíz, comúnmente llamada *grits*. Esta sémola se hace pasar por una serie de operaciones unitarias para obtener el cereal de la forma deseada, así como también con su sabor y características específicas. (Serna Saldivar, 2011)

El primer paso por el que pasa la sémola de maíz es la inspección por parte del productor. Una vez inspeccionada, se realiza el mezclado de la sémola de maíz con aditivos y agua. Se prepara la harina, utilizando la sémola y agregando sal, azúcar y, en el caso de que sea fortificada, se le agregan las vitaminas en esta etapa. Este proceso se conoce como *preacondicionamiento*. Durante el preacondicionamiento, se le agrega agua y vapor a esta harina, para tener una temperatura de salida del producto entre 70-100°C.

Durante el preacondicionamiento, se forman grumos del maíz. Es por esto, que luego se lleva a cabo el *desagregado*. Durante esta operación se enfría y se separa la mezcla en unidades individuales. El objetivo es homogenizar la mezcla. Seguidamente, la mezcla pasa al proceso de extrusión.

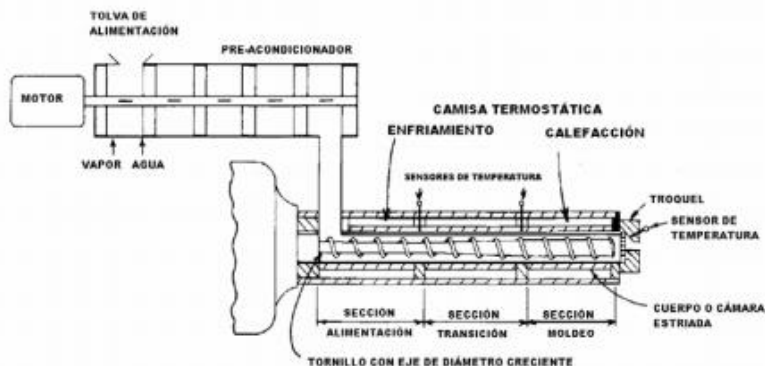
La extrusión es el proceso por medio del cual se le da la forma a la hojuela, haciendo pasar la harina por una pequeña abertura con un diseño específico. La extrusión puede o no implicar, al mismo tiempo, el proceso de cocción. La harina se hace pasar a presión por medio de un tornillo sin fin que gira a una velocidad constante. Este proceso se puede llevar a cabo con el preacondicionamiento de la harina antes de la extrusión, utilizando vapor, o sin vapor, según el método que se utilice: método seco o método húmedo. En el método húmedo, es de gran importancia que el producto se encuentre molido. También es de gran importancia tener control sobre

la temperatura en todas las secciones del proceso para conseguir una buena calidad nutricional del producto, ya que manteniendo las temperaturas adecuadas se evita la pérdida innecesaria de nutrientes y vitaminas. El agua y el vapor también deben ser cuidadosamente controlados para conseguir el nivel de humedad necesario, y la presión y apertura deben ser idóneas para conseguir el producto con la mejor calidad. El método seco, por el otro lado, solamente se puede utilizar con productos que tienen alto contenido de aceite. Una desventaja del método seco es que se alcanzan temperaturas muy elevadas; esto no ocurre en el método húmedo. Por lo mismo, no se utiliza el método seco para la extrusión de cereales. El proceso de extrusión implica la fase en la que se corta el producto elaborado para darle la forma deseada. (Escribano León, Vaqueiro, & Pino Pérez, 2008)

Existen tres tipos generales de extrusores: extrusores de rodillos, extrusores de pistón, y extrusores de tornillo. En los extrusores de rodillos, la mezcla de harinas es forzada a pasar entre dos rodillos que giran en sentido contrario. Estos pueden ser lisos o tener troqueles. Los troqueles son los que dan alguna forma específica al producto. Si no se tiene troquel, se obtiene una lámina del grosor deseado, dependiendo de la separación entre rodillos. El segundo tipo de extrusor es el de pistón. En este, la harina se bombea por medio de uno o varios pistones, a través de una boquilla. Esta boquilla cuenta con un diseño para dar al producto la forma deseada. Luego una cuchilla corta porciones iguales. El extrusor de tornillo consiste en uno o varios tornillos que giran en el interior de una cámara cilíndrica. Los tornillos en movimiento transportan el material hasta que este se ve forzado a pasar a través de un troquel con la forma deseada. Se puede variar la velocidad y configuración de los tornillos para obtener distintos productos. Este tipo de extrusor permite obtener productos semi-acabados o completamente acabados, ya que es capaz de llevar el proceso de cocción. Por esta razón, son muy utilizados en la industria de alimentos, y son los que se utilizan para la producción de cereales listos para comer. (García Román, 2006)

Los extrusores de tornillo pueden ser de tornillo simple o de tornillo doble. Los de tornillo simple son los más comunes en la práctica, ya que son fáciles de operar, y tienen un costo inicial y de mantenimiento más bajo que los de tornillo doble. Los extrusores de tornillo doble constan de dos tornillos de igual longitud situados en el interior de un mismo cilindro. Su mecanismo no se basa en el rozamiento para el transporte de la masa, sino que estos actúan como bombas de desplazamiento positivo. Permiten una mayor versatilidad y un mejor control de las variables de proceso de extrusión, como el tiempo de residencia y la cizalla. Esto permite obtener más variedad de productos con diversas apariencias. Estos se clasifican dependiendo la dirección del giro, y de la posición de un tornillo respecto del otro, que puede ser desde completamente engranados, hasta completamente separados. (García Román, 2006)

Ilustración No. 1 “Secciones de un extrusor convencional de tornillo simple. Se muestra también el preacondicionador”



(García Román, 2006)

Durante la extrusión de cereales el producto se ha ido humedeciendo, hasta alcanzar una humedad entre el 22-30%, y la temperatura se va incrementando por la transformación de la energía mecánica en calor a través del extrusor. El agua está sometida a temperaturas superiores a la temperatura de vaporización, pero no se vaporiza debido a que está sometida a presiones mayores a decenas de atmósferas. Cuando el producto sale por el agujero de la matriz, el agua está mezclada íntimamente con el producto, y al sufrir el brusco cambio de presión, esta se evapora instantáneamente. Por esto el producto se expande, ocasionando que se modifiquen las cadenas de proteína y almidón, causando el aumento en la superficie y haciéndose más atacable por los enzimas, lo que hace el producto más digestible. De esta manera se obtienen los cereales expandidos. (Valls Porta, 1993)

Para los cereales hojuelados, las harinas de maíz son cocidas y moldeadas en un extrusor de tornillo. La masa cocida es cortada conforme sale del extrusor, para formar pellets. Estos pellets se dejan reposar para que el interior y exterior del grano alcancen la misma humedad. A este proceso se le conoce como *atemperado*. Durante esta etapa se da cierta retrogradación del almidón, la cual es importante para el correcto laminado. El laminado se lleva a cabo en un laminador, el cual consta de dos rodillos que giran en sentido opuesto. Los granos se hacen pasar por el espacio entre ellos. Este espacio es regulable para modificar el grosor del producto. El interior de los rodillos es hueco; esto permite pasar agua refrigerante, ya que la temperatura en la superficie de los rodillos se eleva debido a la presión ejercida a los granos. (García Román, 2006)

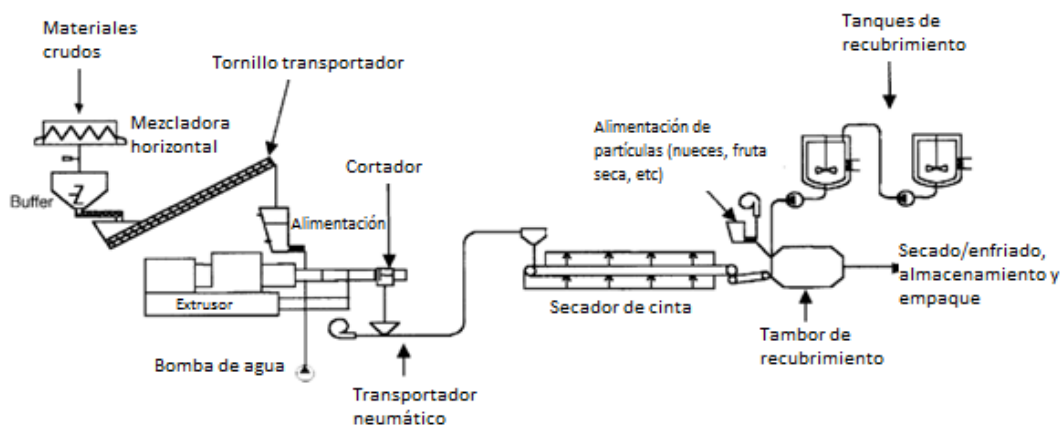
Luego de la extrusión, ya se cuenta con la forma deseada. Las hojuelas se hacen pasar a través de una criba para descartar todas las hojuelas que no tienen el tamaño deseado. Las hojuelas que sí cumplen, se hacen pasar por un secador/tostador en el que se les quita el exceso de humedad; se lleva a 32-38°C y para una humedad de 18-20%. Generalmente se utilizan secadores de aire a altas temperaturas. Usualmente, estos secadores tienen tres sub-unidades. La primera es de altas temperaturas (220-270°C) para eliminar el exceso de humedad e inflar las hojuelas; la segunda, actúa como tostador a temperaturas entre 160 y 200°C, para darle la expansión deseada,

las propiedades crujientes y el color característico de las hojuelas; la tercera sub-unidad, enfría las hojuelas y detiene el proceso de tostado. De esta manera se prepara el producto para el siguiente proceso. (Guy, 2001)

Finalmente, el producto entra a los tambores rotatorios de recubrimiento. En este proceso se agrega azúcar, aromas o sabores. El recubrimiento consiste en la aplicación de jarabe azucarado, el cual está conformado por ingredientes como sacarosa, glucosa, jarabe e dextrosa, maltosa, miel, entre otros. Se pueden agregar otros saborizantes o aceites para que el producto tenga las características deseadas. El recubrimiento puede, también, ser libre de azúcar, dependiendo del tipo de cereal a producir. El jarabe debe ser previamente preparado, alcanzando una temperatura de hasta 180°C. De esta manera es alimentado al tambor de recubrimiento. Para la aplicación de recubrimiento con sabor usualmente se utiliza un tambor hueco inclinado que rota, y en su interior, tiene un sistema de aspersión. La aplicación del recubrimiento usualmente se lleva a cabo después del horneado, con el objetivo de evaporar agua, y que se adhiera mejor. Durante este proceso también es posible agregar la premezcla vitamínica, en caso de que no se haya hecho al inicio del proceso. (Serna Saldivar, 2011)

A continuación, se muestra un diagrama general del proceso:

Ilustración No. 2 Diagrama de flujo típico del proceso de extrusión-cocción de expansión directa.



(Guy, 2001)

B. Premezcla de nutrientes

La fortificación de alimentos se da debido a ciertos criterios, entre los que están la carencia comprobada de micronutrientes en la población, el amplio consumo del alimento por fortificar entre la población expuesta a riesgo, y la conveniencia del alimento y el nutriente en conjunto. (FAO, 2010). La industria de los alimentos en América Latina y el Caribe ha aceptado fácilmente la noción de fortificar alimentos debido a que las industrias de alimentos están bien desarrolladas, y, por lo tanto, facilitan el cumplimiento de los programas de fortificación

de alimentos. También debido a que hay una creciente urbanización y mayor consumo de alimentos procesados industrialmente, y, por último, porque los gobiernos y opinión pública han aceptado la fortificación de alimentos con micronutrientes, y por lo tanto se cuenta con apoyo legislativo. En América, la fortificación de alimentos se puede clasificar en tres tipos de programas: fortificación obligatoria de alimentos de consumo masivo, como lo es la harina de trigo y maíz; la fortificación focalizada para grupos determinados, como la fortificación de alimentos complementarios, cereales para niños, leche en polvo, galletas, entre otros; y la fortificación voluntaria, por medio de la cual la industria productora de alimentos agrega hierro y otros nutrientes a los alimentos procesados, como los cereales listos para comer. (Organización Panamericana de la Salud, 2002)

Las premezclas son mezclas de trazas de vitaminas, minerales y otros aditivos que se adicionan a la mezcla bruta de los ingredientes de una ración en la preparación de un producto alimenticio. El propósito de adicionar la premezcla es balancear o completar los nutrientes requeridos en la fórmula que se está llevando a cabo. Se utilizan comúnmente para fortificar los productos alimenticios. La premezcla debe estar preparada de tal forma que se evite la segregación de partícula, que no sea polvoriento, que no sea higroscópico, que no tenga propiedades electrostáticas, y que se encuentren protegidas contra hongos e insectos. (UNAD, 2011)

1. **Mezclado de premezcla de nutrientes.** El mezclado y las técnicas de proceso influyen directamente en la calidad de premezcla que se tiene. El mezclado es determinante para definir si una premezcla de nutrientes es confiable, de alta calidad, homogénea, y estable. Las variables que deben ser cuidadosamente controladas son el tamaño de partícula, el equipo y la selección de ingredientes, así como la interacción entre los ingredientes potenciales. Una premezcla vitamínica típica contiene de 10 a 14 nutrientes activos, además de tres a seis ingredientes funcionales, los cuales son excipientes. La variedad de materias primas hace difícil tener un tamaño de partícula uniforme. Por lo mismo, se suele diluir a los nutrientes de menor tamaño con otro vehículo, para lograr el mezclado efectivo y proporcionar un producto homogéneo. (FortiTech, 2016)

Los nutrientes más comunes en las premezclas son vitaminas, minerales, aminoácidos y nucleótidos. Es importante evitar la segregación de partícula de estos nutrientes para que la premezcla sea de calidad. Se utilizan dos procesos de mezclado comunes empleados en la industria para lograr la homogeneidad: mezcla en seco y granulación en húmedo. El mezclado en seco es el método más comúnmente utilizado. Para lograr una mezcla homogénea, se pueden seguir ciertos pasos que ayudan a evitar la segregación de partícula: (FortiTech, 2016)

- Análisis de todos los ingredientes activos para identificar cumplimiento de los límites de potencia.
- En caso de que sea posible, hacer que los ingredientes fluyan. Puede ser mediante molienda, granulado, triturado, recubrimiento de partícula, entre otros.
- Procurar que la materia prima sea del mismo tamaño de partícula o con rango de variación estrecho.

- Añadir primero la porción del ingrediente de mayor cantidad a la mezcladora. Esto previene que los ingredientes de menor cantidad queden adheridos a las paredes.
- Si se utiliza un mezclador tipo V, se recomienda dividir los ingredientes en partes iguales, y añadir las porciones de cada lado. (FortiTech, 2016)

2. Hierro en premezclas. El hierro que se agrega a las premezclas vitamínicas debe ser fácilmente adsorbible, estable bajo diferentes condiciones de almacenamiento, y no debe causar modificaciones indeseables en el producto alimenticio, o vehículo de ingestión. Por lo mismo, usualmente se utiliza hierro aminoquelado, el cual cumple con estas características (Hernández Posadas, 2006). También se pueden agregar promotores de la absorción, o eliminación de inhibidores. En Centroamérica, se agrega hierro en forma de sulfato ferroso o fumarato ferroso a los alimentos, ya que no afectan las propiedades organolépticas de estos (color, sabor, uniformidad). (Organización Panamericana de la Salud, 2002)

La función principal del hierro es transportar oxígeno a través del cuerpo. La deficiencia de hierro es la deficiencia nutricional más común en el mundo, afectando a la población de escasos recursos, especialmente a las mujeres. Es la causa de casi la mitad de los casos de anemia. Esta aumenta el riesgo de una hemorragia y de sufrir una infección bacteriana durante el parto; es por esto que afecta gravemente a las mujeres, teniendo como consecuencia, incluso, la muerte. Los bebés también se ven afectados, ya que pueden nacer prematuramente, y sufrir infecciones, además de problemas de aprendizaje durante su desarrollo. La anemia, además, reduce los niveles de energía en las personas (Micronutrient Initiative, 2015). Según el Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia, UNICEF, casi el 40% de las mujeres embarazadas, y más del 40% de los niños menores de 5 años en los países en desarrollo sufren de anemia. Es por esto que UNICEF apoya y promueve el enriquecimiento de alimentos, garantizando que mayor número de personas tenga acceso a este micronutriente. (UNICEF, UNICEF Nutrición, 2015)

a. Determinación de hierro en muestras. Para la determinación de hierro en alimentos se puede utilizar el método de espectroscopia de absorción atómica. Este es un método instrumental, el cual permite medir concentraciones específicas de un analito en una mezcla. Además de determinar hierro, también permite determinar otra gran variedad de elementos. Es muy exacta, pero su costo es elevado. El método está basado en la atomización del analito en una matriz líquida, que utiliza, usualmente, una cámara de nebulización para formar una niebla de la muestra, y un quemador con forma de una ranura que da una llama con una longitud de trayecto más larga, podría ser una lámpara de cátodo hueco. La niebla atómica queda desolvatada y expuesta a una energía a una longitud de onda emitida. El nebulizador y la llama desolvatan y atomizan la muestra, pero la excitación del analito se logra utilizando lámparas que brillan a través de la llama a diversas longitudes de onda para cada analito. La cantidad de luz absorbida luego de que la llama atraviese la muestra, determina la cantidad de analito presente en la muestra. (Razmilic, 1994)

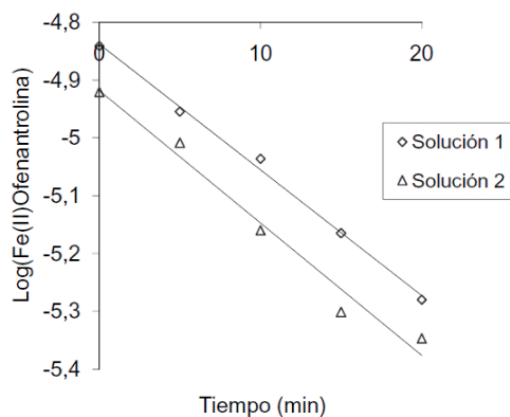
Otro método para la determinación de hierro es el método UV/VIS 14.011 descrito por la AOAC. Su principio está basado en la combustión total de materiales orgánicos, para obtener solamente las cenizas, la cual contiene la parte mineral de los alimentos. El proceso transforma todo el hierro presente a su forma férrica oxidada (Fe^{3+}). Se prepara una solución de la ceniza utilizando ácido clorhídrico y el hierro (III) es reducido a hierro (II) utilizando cloruro de hidroxilamonio. El ion ferroso (Fe^{2+}) puede ser determinado, entonces, utilizando espectrofotometría, ya que forma compuestos coloreados usando agentes cromógenos que interaccionan con este ion. Usualmente se utiliza 1,10-fenantrolina· H_2O , o, α,α -dipiridilo. La reacción de color debe ser realizada bajo condiciones controladas de pH adecuadas para el cromógeno utilizado. Se agrega también una solución de acetato de sodio 2M con el fin de reducir la competencia de los iones hidronios para el ligando. (Castro, Litter, Wong, & Mori, 2003)

b. Cinética de oxidación del hierro. La velocidad de la reacción de oxidación del hierro se puede expresar matemáticamente mediante la siguiente ecuación:

$$-\frac{d[Fe^{2+}]}{dt} = K_{aparente}[Fe^{2+}]^n$$

De acuerdo con esta ecuación, la oxidación sigue una cinética de primer orden, respecto a la concentración de los iones ferrosos. Según Navas y Carrasquero-Durán, en el experimento llevado a cabo en la Universidad Central de Venezuela, se determinó la cinética de oxidación del complejo hierro(II)-ofenantrolina. A continuación, se muestra el resultado. (Navas & Carrasquero-Duran, 2008)

Ilustración No. 3 Representación de la cinética de primer orden en la oxidación del complejo hierro (II) - ofenantrolina



(Navas & Carrasquero-Duran, 2008)

Ilustración No. 4 Cinética y constante de degradación del complejo hierro (II) – ofenantrolina,

Experimento	Ecuación	R ²	K _{Aparente}
1	$y = -0,0217x - 4,8381$	0,996	0,050
2	$y = -0,0229x - 4,9186$	0,977	0,053

(Navas & Carrasquero-Duran, 2008)

C. Vitaminas

Las vitaminas son “un grupo de sustancias orgánicas de variada estructura, sin valor energético propio, necesarias en pequeñas cantidades que el organismo humano es incapaz de sintetizar”. En algunas ocasiones el cuerpo sí sintetiza algunas de ellas, pero en cantidades insuficientes, por lo que es necesario el aporte externo de estas. La ausencia de vitaminas causa problemas en procesos básicos del metabolismo celular. Se clasifican trece familias de sustancias con naturaleza vitamínica, y se dividen dos grupos de vitaminas en función de su solubilidad. Entre las vitaminas liposolubles se encuentran: Vitamina A, E, K y D. Entre las vitaminas hidrosolubles se encuentran las Vitaminas B1, B2, B5, B6, B8, B9, B12, y C. (De Cos, Vásquez Martínez, & López Nomdedeu, 2005)

1. Sensibilidad de las vitaminas. Las vitaminas son sensibles a diferentes agentes químicos y físicos como el calor, la luz, la humedad, la oxidación, entre otros. Cada vitamina tiene sus propias características de estabilidad durante los procesos. En la siguiente tabla se ilustra la sensibilidad de algunas vitaminas:

Ilustración No. 5 Sensibilidad de las vitaminas a los tratamientos tecnológicos.

Vitaminas	Solubilidad	Oxidación	Reducción	Calor	Luz	Ácidos	Bases
C	+++	+++	o	+	i	o	+++
B ₁	+++	+	o	+++	o	o	+++
B ₂	+	o	+	+	+++	o	+++
B ₅	+++	o	o	+	+	+	+
B ₁₂	+	o	+	+	+	o	+++
PP	+	o	+	+	o	o	o
Ácido fólico	+	+++	o	+	i	+	o
Ácido pantoténico	+	o	o	+	o	+++	+
A	o	+	o	+	+	+	o
D	o	+	o	o	+	o	o
E	o	+++	o	o	+	o	o

+++; Importante; +; Moderado; o; No efecto; i; Efecto indirecto.

(De Cos, Vásquez Martínez, & López Nomdedeu, 2005)

Por la estructura hidrocarbonada de la vitamina A, usualmente está asociada a la fase lipídica de los alimentos. Por lo mismo, la pérdida de su actividad por oxidación es función de temperatura, presencia de

oxígeno y es catalizada por la luz y los metales. Por lo tanto, se ve afectada en procesos de secado, especialmente secado al sol. También la cocción y el freído por largo tiempo, en contacto con aire disminuye su cantidad (FAO, 2010). La vitamina A, por ser liposoluble, generalmente es estable durante la extrusión. Usualmente es afectada por los niveles de humedad durante el proceso; cuanto mayor sea la humedad, mayor cantidad de vitaminas retenidas. (King & de Pablo, 1987)

El ácido fólico es muy sensible a la luz y el calor. Por lo tanto, se puede perder hasta 40% de esta vitamina durante la cocción de los alimentos. Durante la extrusión las vitaminas del grupo B, de la que es parte el ácido fólico, pueden perder estabilidad, especialmente en la extrusión húmeda. El ácido fólico también se degrada durante el almacenamiento de productos. (Jackson, 2009) (Valls Porta, 1993)

La vitamina C, por el otro lado, es afectada por muchos procesos. Además de los antes mencionados que afectan al ácido fólico y a la vitamina A, también es afectada por el enlatado y el recalentado. (FAO, 2010)

2. **Ácido fólico.** Se le llama ácido fólico a la vitamina B9, llamada también folato. El folato forma parte de las coenzimas que controlan el metabolismo de aminoácidos en el cuerpo. Cuando hay deficiencia de este, se inhibe el crecimiento de células, en especial las de vida corta. Las fuentes de ácido fólico son las verduras frescas de hojas verdes, las legumbres y la yema de huevo. Sin embargo, cuando los alimentos son procesados, pueden perder hasta la mitad de su ácido fólico. (Colgan, 2004)

El ácido fólico tiene diversas funciones en el organismo. Es necesaria para la formación de proteínas estructurales, glóbulos rojos y blancos. Además, protege células sanas, previene un tipo de anemia llamada anemia megaloblástica, contribuye al control de la hipertensión, es parte de la formación del sistema nervioso. El ácido fólico también es utilizado para tratamientos de los síntomas de la menopausia, así como también se conoce que reduce las probabilidades de padecer de cáncer de colon y de cuello uterino. El ácido fólico tiene especial importancia en las mujeres embarazadas, por sus funciones en la formación del sistema nervioso. Este previene malformaciones en el cerebro, y problemas del sistema nervioso, así como también disminuye las probabilidades de un parto prematuro. (Jackson, 2009)

a. **Determinación de ácido fólico en muestras.** El ácido fólico, como muchas otras vitaminas, puede ser determinado mediante cromatografía líquida de alta eficiencia, llamada HPLC por sus siglas en inglés *high performance liquid chromatography*. Este es un tipo de cromatografía en columna, la cual es utilizada para separar los componentes de una mezcla. Se basa en las interacciones químicas entre las sustancias analizadas y la columna cromatográfica. El compuesto pasa por la columna cromatografía a través de la fase estacionaria, mediante el bombeo de la fase móvil a alta presión. El grado de retención de los componentes de la muestra depende de la naturaleza del compuesto, así como de la composición de la fase

estacionara y la fase móvil. Para el análisis cuantitativo de las muestras se utiliza una columna de diámetro interno de 4 a 5 milímetros. Se caracteriza por el aumento de sensibilidad y por utilizar una menor cantidad de disolventes. Normalmente están asociadas con un detector UV-VIS. (Pública, 2008)

Otra forma de cuantificar ácido fólico en muestras es mediante la técnica ELISA. Esta técnica se basa en la adhesión del ácido fólico al anticuerpo específico, el cual se encuentra en los micropocillos utilizados en esta técnica. Por lo tanto, a los micropocillos se agrega los estándares o muestras, y una encima. Luego la enzima y la vitamina se adhieren al anticuerpo. Seguidamente, se remueve cualquier enzima que no se adhirió, durante el proceso de lavado. Se agrega un cromógeno, el cual provoca el cambio de coloración de la enzima adherida al complejo. Esta coloración es luego cuantificada, al realizar la medición utilizando espectrofotometría a 450 nm. Los resultados son inversamente proporcional a la concentración de ácido fólico en la muestra, y se cuantifica mediante la curva de calibración hecha con los estándares. (Folsäure, 2010)

D. Cinética de degradación en alimentos

La velocidad de cambios en la calidad de los alimentos, se expresa, generalmente, como función de los factores de composición o intrínsecos, así como los ambientales utilizando la siguiente ecuación:

$$\frac{dQ}{dT} = F(C_i, E_j)$$

Donde C_i son los factores de composición, como la concentración de los reactivos, catalizadores inorgánicos, pH, inhibidores. Y E_j son los factores ambientales, como la humedad, temperatura, presión, luz. (Valentas, Rotstein, & Singh, 1997)

A continuación, se muestran las reacciones que más afectan la calidad de los alimentos. Estas siguen una cinética de reacción de orden cero y de primer orden.

Cuadro No. 1 Reacciones de pérdida de calidad en alimentos

Reacción	Orden de reacción
Calidad de alimentos congelados (general)	Orden cero
Pardeamiento no enzimático	Orden cero
Pérdida de vitaminas	Prime orden
Crecimiento/pérdida microbiana	Primero orden
Pérdida de color por oxidación	Primer orden
Pérdida de textura por procesamientos térmicos	Primer orden

(Valentas, Rotstein, & Singh, 1997)

Además de los factores antes mencionados, la velocidad de reacción se ve afectada por la interacción de todas las vitaminas presentes en un alimento o sustancia, así como con la presencia de otros micronutrientes.

1. Cinética de degradación de ácido fólico. En general, el ácido fólico, como la mayoría de vitaminas sigue una degradación con un comportamiento cinético de primer orden. No obstante, la constante cinética de degradación debe ser determinada experimentalmente para cada caso, ya que, los factores a los que la vitamina es expuesta afectan de distinta manera su velocidad de degradación. En la Universidad de La Plata, Argentina, se llevó a cabo una serie de experimentos de degradación del ácido fólico a distintos pH, y se calculó la constante aparente en todos los casos. Se comprobó para todos los casos, una degradación con un comportamiento cinético de primer orden, y se determinó que, sin importar la longitud de onda a la que se expuso la vitamina, se obtuvo el mismo comportamiento de degradación. En la siguiente tabla se muestra la constante cinética aparente. La reacción se acelera sensiblemente al aumentar el pH. (UNLP, 2010)

Cuadro No. 2 Constantes cinéticas obtenidas en experimentos realizados a distintos pH. Cada valor es el resultado de promediar, al menos, 10 constantes correspondientes a distintas longitudes de onda.

pH	[OH ⁻] (M)	k' (min ⁻¹)
10,60	3,981x10 ⁻⁴	0,0253
10,90	7,943x10 ⁻⁴	0,0531
11,25	1,778x10 ⁻³	0,0993
11,60	3,981x10 ⁻³	0,275
11,80	6,310x10 ⁻³	0,406
11,94	8,710x10 ⁻³	0,582
12,10	1,26x10 ⁻²	0,776
12,75	5,62x10 ⁻²	2,819

(UNLP, 2010)

E. Aceleración de vida de anaquel: Modelo de Arrhenius

La cinética de degradación de la mayoría de vitaminas sigue una reacción de primer orden. El orden de reacción es el factor exponencial que acompaña a la propiedad que se está midiendo en la ecuación de velocidad, que en este caso es la concentración. La cinética de degradación se expresa entonces de la siguiente manera:

$$\frac{dA}{dt} = -k * A^n$$

Ecuación No. 1

Donde A es un factor físico, químico, microbiológico o sensorial de la calidad, *n* es el orden de la reacción, *k*, es la constante de velocidad, la cual representa la pendiente que se genera al graficar A contra tiempo *t*. Debido a que las vitaminas se degradan siguiendo una reacción de primer orden, es posible aplicar el modelo de Arrhenius. (Ocampo, 2010)

Las pruebas de aceleración de vida de anaquel consisten en una serie de métodos para acortar la vida de un producto, o para alargar su degradación. El objetivo de estas pruebas es la obtención rápida de datos, los cuales modelados y analizados adecuadamente, proporcionan información deseada sobre la vida de un alimento. En estas pruebas, el alimento es sometido a condiciones ambientales mayores a las ambientales. Una de las pruebas más utilizadas es la del Modelo e Arrhenius. En esta prueba, la vida del producto se describe por medio de una distribución lognormal. De acuerdo con la ley de Arrhenius, la razón de una reacción química (R) depende de la temperatura de acuerdo a la siguiente ecuación: (Jiménez Hernández, Alamilla López, & López Cerino, 2009)

$$R(T) = A \times \exp\left(-\frac{E_a}{k_b \times T}\right)$$

Ecuación No. 2

En donde E_a es la energía de activación de la reacción, usualmente expresada en volts; k_b es la constante de Boltzmann, 8.6171×10^5 , en electrón volts por °C; T es la temperatura expresada en Kelvin; A es una característica de falla del producto en condiciones de prueba. Tanto A como E_a son parámetros del modelo que deben ser estimados. El modelo hace supuestos para su interpretación: la vida del producto tiene una distribución lognormal, lo que significa que el logaritmo de esta tiene una distribución normal; la desviación estándar del logaritmo de la vida es constante, independientemente de la temperatura; y el logaritmo de la vida media ($\tau_{0.5}(T)$) es una función lineal del inverso de la temperatura absoluta. Eso se describe como: (Jiménez Hernández, Alamilla López, & López Cerino, 2009)

$$\log[\tau_{0.5}(T)] = \beta_1 + \left(\frac{\beta'_2}{T}\right)$$

Ecuación No. 2

Esta es llamada *relación de Arrhenius*. Los parámetros β_1 y β'_2 , así como la desviación estándar, son características del producto y del método de prueba, los cuales son estimados de los datos. (Jiménez Hernández, Alamilla López, & López Cerino, 2009)

La media $\mu(x)$ del logaritmo de la vida es una función lineal de $x = \frac{1000}{T}$, es decir,

$$\mu(x) = \beta_1 + \beta_2 x$$

Ecuación No. 3

Y aquí 1000 se utiliza como una escala de temperatura. De esta manera, a una temperatura absoluta T , la función de distribución acumulada al tiempo t es

$$F(t) = \Phi\left[\frac{\log(t) - \mu(x)}{\sigma}\right]$$

Ecuación No. 4

Donde $\Phi []$ es la función de distribución acumulada de una normal estándar. (Jiménez Hernández, Alamilla López, & López Cerino, 2009)

V. ANTECEDENTES

En la historia de los alimentos se ha visto la necesidad de estimar el tiempo de vida de anaquel de los productos con el objetivo de aumentar la calidad de los alimentos en el mercado, así como también cumplir con lo establecido en las etiquetas nutricionales. Por esta razón, se han tenido que llevar a cabo diversos estudios para observar el comportamiento de los distintos alimentos y los nutrientes en ellos. Algunas vitaminas sufren cierta degradación a lo largo del tiempo, así como su cantidad también se ve afectada debido a procesos térmicos comunes en la industria. Se han llevado a cabo diversos estudios de la degradación de las vitaminas y los nutrientes en los alimentos, ya que no todos sufren de la misma sensibilidad, además de que pasan por distintos procesos, dependiendo el alimento. Algunos de los estudios realizados en el tema se describen a continuación.

En un estudio no muy reciente, del año 1988, Alfredo Peguri de la Universidad Autónoma de Barcelona, realizó un estudio titulado “Los efectos de la temperatura sobre las premezclas”, el cual fue publicado por el Dekalb Management Newsletter. El artículo trata de premezclas de alimentos para aves. En este artículo se habla sobre cómo las secas y cálidas temperaturas que se experimentaron en el verano anterior a la publicación pudieron afectar, entre otras cosas, a la estabilidad de las premezclas vitamínicas. De esta forma las cantidades reales de vitaminas que recibieron las aves pueden haber sido mucho menores que las calculadas. En el estudio se establece que los cuatro factores más importantes que afectan a las cantidades reales de vitaminas que se hallan en una premezcla son: la temperatura, la presencia de minerales, el tiempo de almacenaje y el tipo de excipiente utilizado. (Peguri, 1988) Este estudio permitió un acercamiento al estudio de la degradación de las vitaminas en los alimentos.

Más recientemente, en abril del 2007, se llevó a cabo en la Universidad Nacional Agraria a Molina (UNALM) de Perú, un estudio similar al presentado en este trabajo, sin embargo, enfocado al aceite de oliva. En este se determinó el tiempo de vida en anaquel al aceite de oliva virgen extra mediante pruebas aceleradas. El aceite se almacenó a temperaturas de 50 °C, 60 °C y 70 °C, y a intervalos de tiempo establecidos se midió el índice de peróxido y la acidez libre, y se evaluó las características sensoriales de sabor y olor. Los datos experimentales fueron relacionados con el modelo matemático de Labuza de primer orden de reacción de deterioro, determinándose así los valores de las constantes de velocidad de reacción (k) para los índices físico-químicos. Para establecer la influencia de la temperatura en la velocidad de reacción, se probaron los modelos de Arrhenius, Lineal, Exponencial e Hiperbólico, propuestos por Kwolek y Bookwalter (1971) y Saguy y Karel (1980), seleccionándose los que mejor describían la influencia de la temperatura. Los modelos seleccionados fueron el Modelo Exponencial para el índice de peróxido y el Modelo de Arrhenius para la acidez libre. En base a los modelos indicados, se determinó a 20 °C un tiempo de vida de 12,45 meses (373 días) en función del índice de peróxido, y de 13,14 meses (394 días) en función de la acidez libre. En el estudio se concluyó que el modelo

exponencial y el modelo de Arrhenius establecieron mejor la influencia de la temperatura en la velocidad de deterioro para las reacciones de oxidación (medida por el índice de peróxido) y la formación de ácidos grasos libres (medida por la acidez libre), respectivamente. Mediante las pruebas aceleradas de vida en anaquel aplicadas al aceite de oliva virgen extra, se puede estimar el tiempo de vida en anaquel del aceite de oliva virgen a diferentes temperaturas de almacenamiento y a diferentes niveles iniciales de calidad (medida como grado de oxidación o contenido en ácidos grasos libres). En las condiciones en que se llevó a cabo este estudio, los índices de calidad físico – químicos (Índice de Peróxido y Ácidos Grasos Libres) permitieron detectar incremento en el deterioro del aceite de oliva, con respecto al tiempo y a la temperatura, mientras, que mediante la evaluación sensorial no se pudo establecer aumento de deterioro. No hubo coincidencia entre la aparición de la rancidez química y organoléptica. (Briceño B., Salas V., & Torres O., 2008)

En agosto de 2008, se llevó a cabo en Texcoco, México un estudio sobre el efecto de empaques y temperaturas en el almacenamiento de chile manzano. Sin embargo, en este estudio solamente se observó el comportamiento de la vitamina C. Se estudió el efecto de tres empaques y tres temperaturas de almacenamiento en frutos de chile manzano variedad Puebla cultivados en invernadero, sobre su calidad y vida de anaquel. Se emplearon 324 frutos en un diseño factorial 3x3 con tres repeticiones; la unidad experimental fue el empaque con tres frutos y se realizaron seis evaluaciones en un periodo de siete semanas después de la cosecha. Los resultados mostraron que el tipo de empaque (charola de unicel más pliofilm y charola rígida plastificada) tuvo efecto positivo sobre la calidad postcosecha de los frutos y que el almacenamiento a bajas temperaturas prolongó la vida de anaquel. La combinación de empaque con película plástica y temperaturas de almacenamiento a 12 y 5 °C mantuvo la calidad de los frutos al retrasar el cambio de color de verde a amarillo y presentar la menor pérdida de peso, firmeza y contenido de ácido cítrico. La concentración de vitamina C en frutos no se vio afectada por el tipo de empaque ni por las bajas temperaturas; sin embargo, se observó que el almacenamiento por más de 30 días provocó pérdidas de hasta un 40 %. (Espinosa-Torres, Pérez-Grajales, Martínez-Damián, Castro-Brindis, & Barrios-Puente, 2010)

Recientemente, en la Universidad San Carlos de Guatemala, Romilio Bladimiro Vallejo Alvarado (Vallejo Alvarado, 2012), realizó un estudio titulado: “Determinación del nivel de degradación de la vitamina “A” del azúcar blanco comercializado en Cuyotenango, Suchitepéquez, bajo diferentes tiempos y temperaturas de almacenamiento”. Este trabajo trata sobre la determinación del nivel de degradación de Vitamina “A” en azúcar blanco almacenado a temperaturas controladas, para ello se establecieron los tratamientos de acuerdo a los registros de temperaturas según el Instituto Nacional de Sismología, Vulcanología, Meteorología e Hidrología -INSIVUMEH en el municipio de Cuyotenango, Suchitepéquez, lugar donde se realizó la investigación, considerando las características termolábiles del azúcar que son afectados por la temperatura. Se realizaron mediciones de contenido de vitamina “A” en las muestras a distintos tratamientos de temperatura, en una empacadora comercializadora del suroccidente, durante el segundo semestre del año 2011. En la evaluación del contenido de vitamina “A” en el azúcar blanco, se estableció que temperaturas inferiores a 23° C son favorables para un almacenamiento en bodega durante sesenta y tres días como máximo, y la de 38° C un tiempo máximo

de almacenaje de treinta días, porque alcanzó valores mayores de cinco ppm de vitamina “A”, siendo este el valor mínimo determinado por la legislación guatemalteca en el azúcar fortificado para comercializar en el mercado nacional. La duración de la investigación estuvo determinada por el tiempo de vida de la premezcla (60 días), sabiendo que ésta constituye la unidad concentrada de vitamina “A” para diluir en el proceso de fortificación de azúcar con vitamina “A”, que se dosifica en un flujo constante de azúcar para lograr una fortificación homogénea. La muestra almacenada durante sesenta y tres días a una temperatura de 23° C mostró un deterioro total en el contenido de la vitamina “A” de 5.3 ppm, partiendo de 11.26 y finalizando en 5.94; y la muestra a 38° C un 14.9 ppm, ya que inicio con un valor de 15.96 y alcanzo 1.02 ppm, siendo notoria la incidencia de la temperatura en el tiempo de almacenamiento, estando de manifiesto la termolabilidad de la vitamina “A”. (Vallejo Alvarado, 2012)

En la empresa productora de alimentos en la que se realizó el estudio, años atrás, se tuvo problema con la adherencia del jarabe de recubrimiento a la hojuela. En la empresa se trabajó en la formulación del jarabe, y llevaron a cabo ciertas modificaciones, para mejorar su adherencia. Esto es importante, debido a que, con el cambio en el proceso llevado a cabo en este experimento, la premezcla vitamínica se agregó al jarabe, por lo que una mala adherencia de este provocaría, directamente, la pérdida de vitaminas y micronutrientes.

Debido a que no se tiene una proyección concluyente general para alimentos, es necesario llevar a cabo estudios específicos para cada tipo de alimento y premezcla vitamínica. Es decir, no es posible generalizar la degradación de las vitaminas para distintos alimentos, ya que, para su producción, estos pasan por distintos procesos que modifican y degradan en diferente grado la cantidad de vitamina presente en ellos. En el presente trabajo se evaluó la degradación de las vitaminas y nutrientes que se encuentran en cereales hojuelados listos para comer, y el estudio se realizó utilizando tanto una vitamina termosensible, como un nutriente que no sufre de una degradación significativa.

VI. METODOLOGÍA

- A. Para llevar a cabo el cambio en el proceso de adición de premezcla vitamínica al cereal hojuelado, se tomó la misma cantidad de premezcla vitamínica que la empresa agrega en el proceso usual, en las harinas a extruir para producir el cereal, y se agregó a la olla de cocimiento del jarabe de recubrimiento. La premezcla vitamínica se debe mantener en un contenedor oscuro que evite el paso de luz, para evitar la degradación de las vitaminas. En este caso se mantuvo en una bolsa de plástico color negro opaco, cerrada.
- B. La mezcla del jarabe de recubrimiento y la premezcla vitamínica se mantuvo en agitación por 10 minutos. Luego fue aplicada de forma de aspersión al cereal, como se aplica normalmente el jarabe en el proceso.
- C. Se tomó 10 muestras en dos lotes de cereal azucarado (20 muestras de cereal azucarado) y 10 muestras en dos lotes de cereal chocolatado (20 muestras de cereal chocolatado). Las muestras fueron tomadas en la etapa de secado final del proceso; en la banda transportadora que lleva las hojuelas hacia las empacadoras.
- D. Se determinó el hierro presente en las muestras usando el Método UV/VIS 14.011 de la AOAC descrito a continuación. Esta fue la concentración de hierro en el día cero de almacenamiento. Se realizó para seis muestras (se excluyó las primeras y últimas dos muestras recolectadas).
 1. Digestión Seca
 - a. Se limpió las cápsulas de porcelana y se identificó cada una con marcador resistente a altas temperaturas.
 - b. Se secó las cápsulas de porcelana a 110°C por 2 horas y se dejó enfriar en desecadora.
 - c. Se molió aproximadamente 100 g de cereal en licuadora.
 - d. Se pesó por duplicado 1 g de cereal molido. Se registró los pesos con precisión de 3 decimales (0.001 g).
 - e. Se colocó los crisoles en mufla y se calentó a 600°C durante 8 horas.
 - f. Se apagó la mufla y se esperó a que la temperatura descendiera.
 - g. Se comprobó que la digestión fuera completa al obtener una ceniza de color blanco o grisáceo. De no ser así, se debe continuar el calentamiento hasta que se obtenga una ceniza con esas características.
 2. Preparación de las soluciones de ceniza
 - a. Se agregó 5 mL de HCl concentrado a los crisoles. Se vertió el ácido permitiendo que esté en contacto con las paredes del crisol.
 - b. Se evaporó el ácido calentando los crisoles en una estufa a baja temperatura (aprox. 180°C), evitando que la solución hirviera.

- c. Se disolvió el residuo restante agregando 2 mL de HCl concentrado y se calentó por varios minutos (aproximadamente 12).
 - d. Se dejó enfriar el crisol y se transfirió cuantitativamente en un balón aforado de 50 mL. Se realizó lavados de crisol con agua destilada y se aforó el balón con agua destilada.
3. Determinación de Hierro en las soluciones estándares y las muestras.
- a. Se agregó 20.0 mL (con pipeta volumétrica) de las muestras en un balón aforado de 50 mL y se agregó 4.0 mL de Cloruro de Hidroxilamonio, se agitó bien y se dejó reposar por 5 minutos. Se preparó un blanco utilizando agua desmineralizada en lugar de muestra.
 - b. Se agregó 5.0 mL de Buffer de Acetatos y 4.0 mL de 1,10-fenantrolina a cada balón. Se agitó bien y el color se empezó a desarrollar.
 - c. Se dejó reposar por 30 minutos y luego se aforó utilizando agua desionizada. Se encendió el espectrofotómetro UV/VIS al menos 20 minutos antes de utilizarlo.
 - d. Se ajustó la longitud de onda a 500 nm y se colocó en modo de *Absorbancia*.
 - e. Previo a medir la absorbancia de las muestras, se realizó 3 lavados a la cubeta o vial al que se le introduce la muestra, utilizando agua desmineralizada. Los lavados consisten en llenar la cubeta o vial con agua desmineralizada, utilizando una piseta, mojando las paredes de este mientras se llena, y luego se vacía. Estos lavados se realizaron antes de la lectura de cada una de las muestras.
 - f. Para la lectura de la absorbancia de las muestras, la cubeta o vial se llenó hasta $\frac{3}{4}$ de su capacidad y luego se introdujo al espectrofotómetro.
 - g. Se leyó la absorbancia para el agua desmineralizada, y se registró.
 - h. Se leyó la absorbancia para el blanco preparado anteriormente y se registró.
 - i. Se leyó las absorbancias de las soluciones estándar y de las muestras. (Se realizó 3 lecturas por cada muestra y se obtuvo el promedio).
 - j. A las absorbancias de las muestras y estándares se les restó la absorbancia obtenido para el blanco realizado.
4. Interpretación de resultados
- a. Se tabuló los resultados obtenidos por los estándares en el sistema de cómputo, de donde se obtuvo una curva, la cual tiene en el eje “x” la concentración y en el “y” la absorbancia.
 - b. Se utilizó la ecuación de la recta obtenida, y se determinó las concentraciones de hierro soluble en las muestras.
La concentración de hierro soluble en las muestras de cereal se determinó utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Hierro} \left(\frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right) = \frac{[\text{Fe}] \times 5}{m}$$

E. Se determinó el ácido fólico a esas mismas muestras usando el Método ELISA de RIDASCREEN® FAST Foläsure, descrito a continuación. (Esta fue la concentración de ácido fólico en el día cero de almacenamiento; para aumentar la confiabilidad del resultado, se realizó en duplicado):

1. Se molió aproximadamente 100 g de cereal en licuadora.
2. Se pesó 5 g de muestra molida en balanza analítica y se agregó a un contenedor adecuado. Se diluyó con aproximadamente 50 mL de agua destilada y se llevó a 100 mL con agua aforada.
3. Se agitó hasta obtener una disolución completa.
4. Se calentó la muestra durante 3 minutos a 100°C.
5. Se enfrió la muestra con hielo, hasta alcanzar temperatura ambiental (20-25°C), mientras se agitó.
6. Se centrifugó 4000 g por 10 minutos a 15°C. Alternativamente, se puede filtrar.
7. Se removió el sobrenadante. Si el sobrenadante se encontrara turbio, se debe filtrar con papel filtro. En la experimentación realizada para este proyecto no fue necesario.
8. Se diluyó el sobrenadante o filtrado con una relación 1:5 con la solución buffer de muestra. (Por ejemplo, por 0.1 mL de sobrenadante, 0.4 mL de solución buffer de muestra).
9. Se insertó suficientes pocillos en el soporte de pocillos para todos los estándares y muestras a determinar. Se anotó las posiciones de estándares y muestras.
10. Se agregó 50 µl de cada estándar o solución muestra en pocillos separados. Se utilizó pipetas distintas para cada muestra.
11. Se agregó 50 µl de solución de enzima conjugada del kit a cada pocillo. Se mezcló suavemente moviendo el recipiente. Se incubó por 15 min a temperatura ambiente en un gabinete que no tenía acceso a luz.
12. Se vertió el líquido de los pocillos, se volteó el soporte y se sacudió tres veces contra papel absorbente, para asegurar la remoción del líquido.
13. Utilizando una pipeta multicanal, se llenó los pocillos con agua destilada (aprox. 250 µl por pocillo).
14. Se vació los pocillos nuevamente, y se removió el líquido remanente. Se repitió el lavado dos veces más.
15. Se agregó 100 µl de solución sustrato del kit a cada pocillo. Se mezcló suavemente moviendo manualmente el soporte y se incubó por 10 minutos a temperatura ambiente, en un gabinete, en ausencia de luz.
16. Se agregó 100 µl de solución *stop* del kit a cada pocillo. Se mezcló manualmente.

17. Se midió la absorbancia a 450 nm luego de 10 minutos.
18. Se determinó el porcentaje de absorbancia de la siguiente manera:

$$\frac{\textit{absorbancia de muestra}}{\textit{absorbancia cero estándar}} \times 100 = \% \textit{ de absorbancia}$$

- F. Se calculó el coeficiente de variación de la concentración en los cereales hojuelados estudiados para determinar si el mezclado de la premezcla en el jarabe de recubrimiento era efectivo.
- G. Las muestras se almacenaron en bolsas de plásticas de polietileno de alta densidad (HDPE) de la siguiente manera: 8 bolsas con hojuela chocolatada, y 8 bolas con hojuela azucarada; en cada bolsa se pesó en la balanza 300 gramos de producto, simulando el producto terminado. Las bolsas fueron selladas manualmente con una selladora al calor. Se identificó cada bolsa para colocarlas en las cabinas de temperatura controlada.
- H. Se colocó las muestras en bolsas selladas dentro de cuatro cabinas con temperatura controlada a 23°C, 34°C, 37°C y 44°C, para poder realizar el estudio de aceleración de vida de anaquel con el Modelo de Arrhenius. En cada cabina se colocó dos bolsas con muestras de cada tipo de recubrimiento (dos azucarado, y dos chocolatado). Las cabinas de 23°C y 34°C están ubicadas dentro de las instalaciones de la empresa, mientras que las de 37°C y 44°C son incubadoras ubicadas en las instalaciones de la Universidad del Valle de Guatemala.
- I. Luego de un tiempo aproximado de 20 días, se retiraron las muestras de las cabinas y se abrió una de las bolsas de cada cabina, se tomó y se pesó 2 gramos de muestra. Con estos 2 gramos de muestra, se determinó nuevamente el hierro siguiendo el procedimiento descrito en el Método UV/VIS 14.011 de la AOAC en las muestras. Para simular la vida de anaquel del cereal hojuelado, las bolsas fueron nuevamente selladas con una selladora al calor, y se colocó cada una en su cabina correspondiente. Se realizó esta determinación cada 20 días durante dos meses. (Hasta haber llevado a cabo en total 4 determinaciones de hierro y ácido fólico).
- J. Con los datos, se aplicó el modelo de Arrhenius para determinar la cinética de degradación y proyectar la cantidad de hierro y ácido fólico en los cereales al cabo de su tiempo de vida de anaquel.
- K. Se determinó si al llevar a cabo el cambio en el proceso de aplicación de premezcla vitamínica se encontraba una mayor cantidad de vitamina presente en el cereal al cabo de su vida de anaquel, en comparación con los datos registrados en la empresa respecto a la cantidad de vitamina que contienen sus cereales al cabo de su vida de anaquel con el proceso de aplicación de premezcla vitamínica convencional.

L. Equipo utilizado

Cuadro No. 3 Listado del equipo utilizado para el análisis de hierro y ácido fólico en muestras de cereal hojuelado

Equipo	Marca
Balanza analítica	Mettler Toledo AG204
Estufa	Thermo Scientific
Espectrofotómetro	Spectroquant® Nova 60
Espectrofotómetro (Análisis ácido fólico)	BioTek Elx800
Mufla	Blue M
Incubadoras	Lab-Line
Agitador	Yamato SOU-300
Centrífuga	Clay Adams
Licuadaora	Oster

Ilustración No. 6 Espectrofotómetro Spectroquant® Nova 60



Ilustración No. 7 Espectrofotómetro BioTek Elx800



Ilustración No. 8 Incubadoras Lab-Line



M. Reactivos utilizados

Cuadro No. 4 Listado de reactivos utilizados para análisis de ácido fólico y hierro

Análisis	Reactivo	Marca
Hierro	Ácido clorhídrico 37%	Merck
	1,10-fenantrolina ·H ₂ O	Merck
	Acetato de Sodio · 3 H ₂ O	Merck
	Ácido acético glacial	Merck
	Cloruro de hidroxilamonio	Merck
	Sulfato de hierro (II) y amonio hexahidratado	Merck
Ácido Fólico	Estándares ácido fólico	Ridascreen ® FAST
	Enzima conjugada	Ridascreen ® FAST
	Buffer de lavado	Ridascreen ® FAST
	Substrato	Ridascreen ® FAST
	Solución <i>stop</i>	Ridascreen ® FAST
	Buffer	Ridascreen ® FAST

VII. RESULTADOS

Cuadro No. 5 Concentración de hierro inicial, promedio de seis muestras obtenidas luego de aplicación de premezcla vitamínica en etapa de recubrimiento

Muestra	Concentración media (mg/100 g)	Desviación estándar	Coficiente de variación
Hojuela azucarada	18.00	± 1.53	8.50%
Hojuela chocolatada	25.12	± 3.28	13.04%

Notas: Concentración promedio de seis muestras de la prueba de aplicación de premezcla vitamínica en etapa de recubrimiento; tomadas en banda transportadora, antes de empaque, a temperatura ambiente. Corresponde al día 0 de experimentación.

Cuadro No. 6 Concentración de ácido fólico inicial promedio de seis muestras obtenidas luego de aplicación de premezcla vitamínica en etapa de recubrimiento

Muestra	Concentración media (µg/kg)	Desviación estándar	Coficiente de variación
Hojuela azucarada	4875	± 78	1.60%
Hojuela chocolatada	4560	± 240	5.25%

Notas: Concentración promedio de seis muestras de la prueba de aplicación de premezcla vitamínica en etapa de recubrimiento; tomadas en banda transportadora, antes de empaque, a temperatura ambiente. Corresponde al día 0 de experimentación.

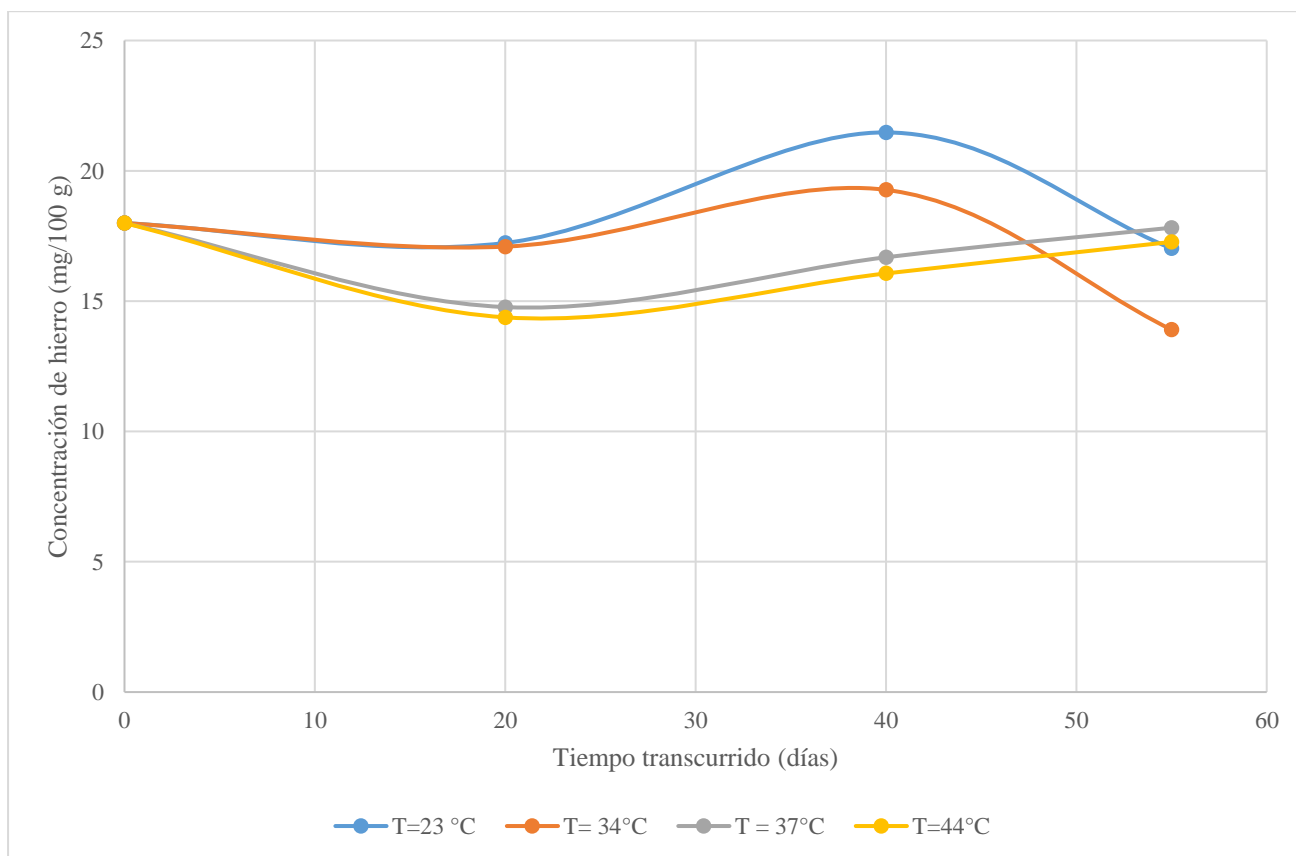
Cuadro No. 7 Concentración de hierro promedio en hojuela azucarada obtenida luego de aplicación de premezcla vitamínica en etapa de recubrimiento, a través del tiempo, almacenada a diferentes temperaturas, expresada en mg/100g

Días de almacenamiento	Temperatura (°C)			
	23°C	34°C	37°C	44°C
0	18.00 ± 1.53	18.00 ± 1.53	18.00 ± 1.53	18.00 ± 1.53
20	17.23 ± 1.75	17.09 ± 0.23	14.77 ± 0.55	14.38 ± 0.30
40	21.47 ± 1.21	19.27 ± 0.32	16.68 ± 1.74	16.06 ± 2.01
55	17.02 ± 1.41	13.90 ± 0.86	17.82 ± 3.01	17.27 ± 4.20

Notas: La determinación de hierro se realizó en duplicado. Las muestras fueron almacenadas en bolsas de plástico HDPE selladas, simulando producto terminado, dentro de dos cabinas a 23°C y 34°C ubicadas en la empresa productora de alimentos, y en dos a 37°C y 44°C ubicadas en la Universidad del Valle de Guatemala.

Gráfica No. 1 Concentración de hierro promedio en muestra de cereal hojuelado azucarado luego de la aplicación de la premezcla vitamínica en la etapa de recubrimiento. Datos correspondientes al Cuadro

No. 7

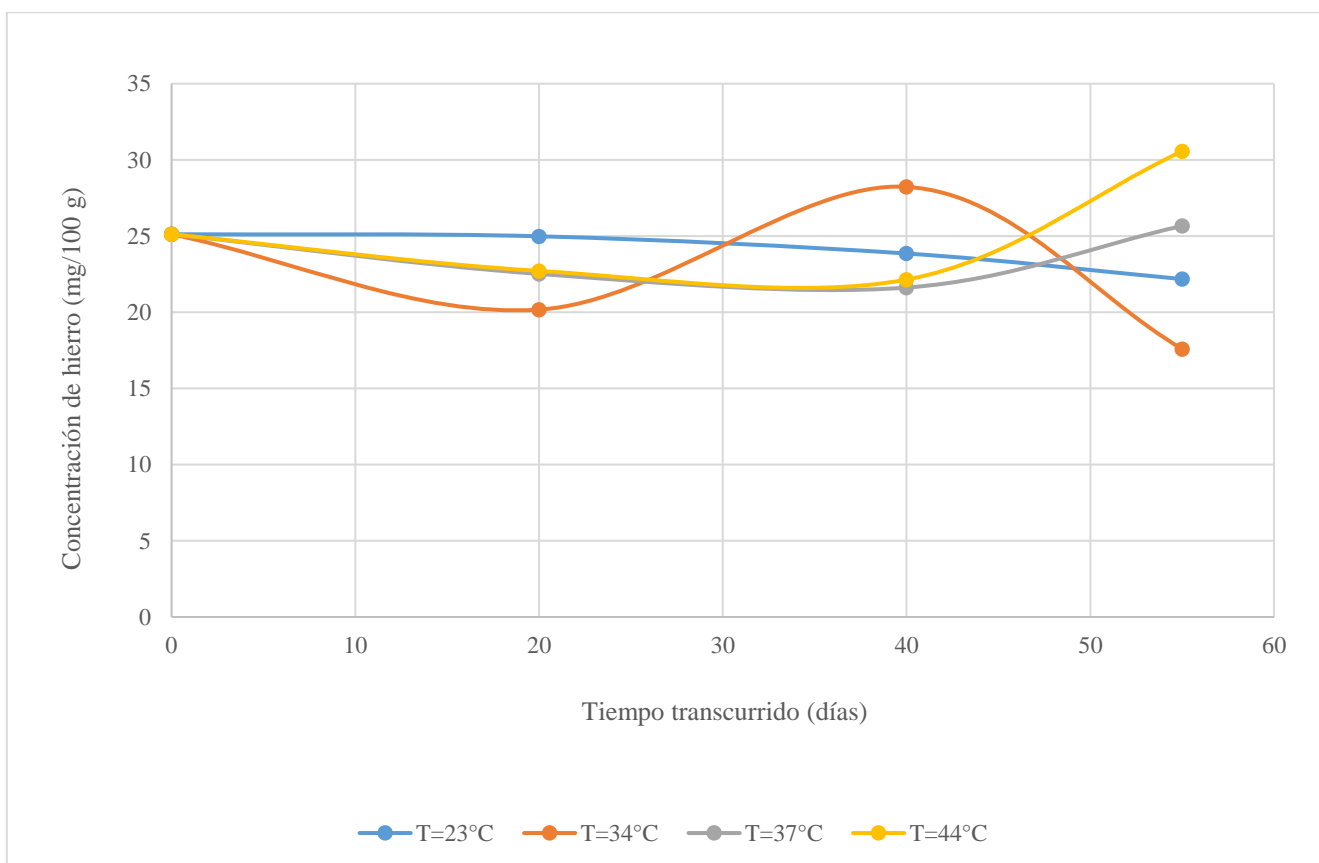


Cuadro No. 8 Concentración de hierro promedio en hojuela chocolatada obtenida luego de aplicación de premezcla vitamínica en etapa de recubrimiento, a través del tiempo, almacenada a diferentes temperaturas, expresada en mg/100g

Días de almacenamiento	Temperatura (°C)			
	23°C	34°C	37°C	44°C
0	25.12 ± 3.28	25.12 ± 3.28	25.12 ± 3.28	25.12 ± 3.28
20	24.99 ± 2.71	20.17 ± 0.10	22.52 ± 0.37	22.71 ± 0.24
40	23.86 ± 4.28	28.23 ± 0.25	21.62 ± 0.73	22.14 ± 5.94
55	22.18 ± 1.97	17.59 ± 3.26	25.67 ± 0.80	30.57 ± 1.44

Notas: La determinación de hierro se realizó en duplicado. Las muestras fueron almacenadas en bolsas de plástico selladas, simulando producto terminado, dentro de dos cabinas a 23°C y 34°C ubicadas en la empresa productora de alimentos, y en dos a 37°C y 44°C ubicadas en la Universidad del Valle de Guatemala.

Gráfica No. 2 Concentración de hierro promedio en muestra de cereal hojuelado chocolatado luego de la aplicación de la premezcla vitamínica en la etapa de recubrimiento. Datos correspondientes a Cuadro No. 8

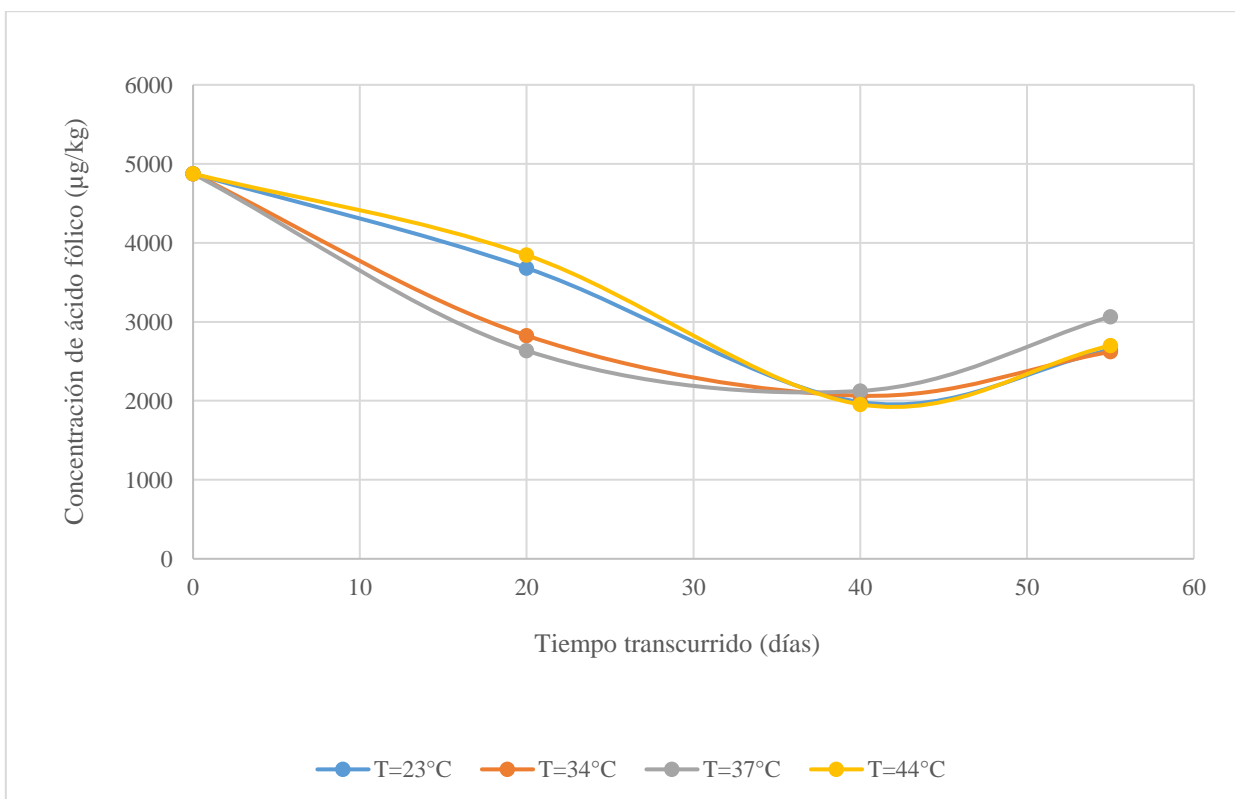


Cuadro No. 9 Concentración de ácido fólico promedio en hojuela azucarada obtenida luego de aplicación de premezcla vitamínica en etapa de recubrimiento, a través del tiempo, almacenada a diferentes temperaturas, expresada en $\mu\text{g}/\text{kg}$

Días de almacenamiento	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)			
	23 $^{\circ}\text{C}$	34 $^{\circ}\text{C}$	37 $^{\circ}\text{C}$	44 $^{\circ}\text{C}$
0	4875 \pm 78	4875 \pm 78	4875 \pm 78	4875 \pm 78
20	3680 \pm 339	2825 \pm 672	2635 \pm 332	3845 \pm 643
40	1985 \pm 148	2065 \pm 106	2125 \pm 233	1955 \pm 64
55	2645 \pm 120	2620 \pm 113	3065 \pm 177	2700 \pm 424

Notas: La determinación de hierro se realizó en duplicado. Las muestras fueron almacenadas en bolsas de plástico selladas, simulando producto terminado, dentro de dos cabinas a 23 $^{\circ}\text{C}$ y 34 $^{\circ}\text{C}$ ubicadas en la empresa productora de alimentos, y en dos a 37 $^{\circ}\text{C}$ y 44 $^{\circ}\text{C}$ ubicadas en la Universidad del Valle de Guatemala.

Gráfica No. 3 Concentración de ácido fólico promedio en muestra de cereal hojuelado azucarado luego de la aplicación de la premezcla vitamínica en la etapa de recubrimiento. Datos correspondientes a Cuadro No. 9

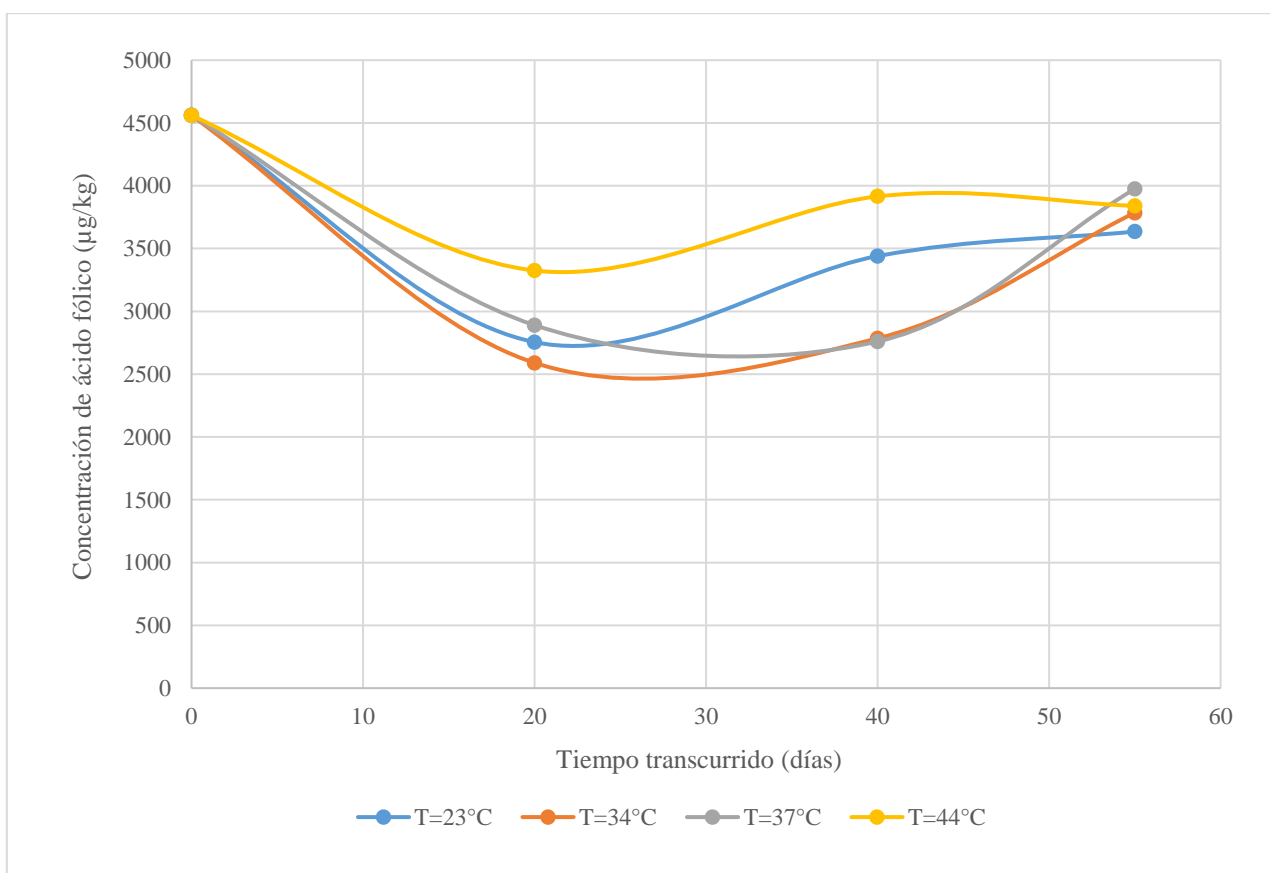


Cuadro No. 10 Concentración de ácido fólico promedio en hojuela chocolatada obtenida luego de aplicación de premezcla vitamínica en etapa de recubrimiento, a través del tiempo, almacenada a diferentes temperaturas, expresada en $\mu\text{g}/\text{kg}$

Días de almacenamiento	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)			
	23 $^{\circ}\text{C}$	34 $^{\circ}\text{C}$	37 $^{\circ}\text{C}$	44 $^{\circ}\text{C}$
0	4560 \pm 240	4560 \pm 240	4560 \pm 240	4560 \pm 240
20	2755 \pm 106	2590 \pm 269	2890 \pm 354	3325 \pm 35
40	3440 \pm 71	2785 \pm 417	2760 \pm 113	3915 \pm 389
55	3635 \pm 361	3785 \pm 643	3975 \pm 445	3840 \pm 57

Notas: La determinación de hierro se realizó en duplicado. Las muestras fueron almacenadas en bolsas de plástico selladas, simulando producto terminado, dentro de dos cabinas a 23 $^{\circ}\text{C}$ y 34 $^{\circ}\text{C}$ ubicadas en la empresa productora de alimentos, y en dos a 37 $^{\circ}\text{C}$ y 44 $^{\circ}\text{C}$ ubicadas en la Universidad del Valle de Guatemala.

Gráfica No. 4 Concentración de ácido fólico promedio en muestra de cereal hojelado chocolatado luego de la aplicación de la premezcla vitamínica en la etapa de recubrimiento. Datos correspondientes a Cuadro No. 10

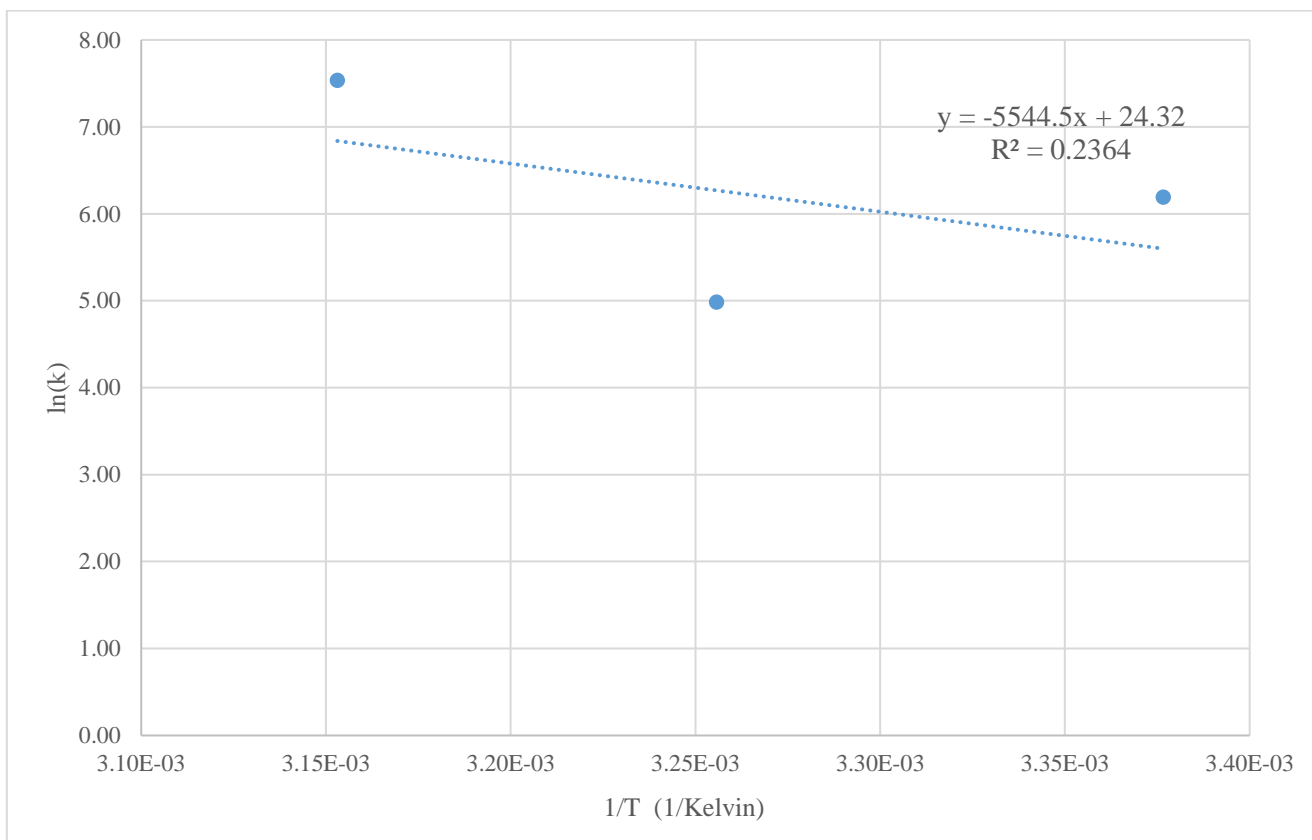


Cuadro No. 11 Cinética de degradación de hierro y ácido fólico en cereales hojuelados obtenidos luego de aplicación de premezcla vitamínica en etapa de recubrimiento, a través del tiempo, almacenada en cuatro cabinas de temperatura controlada

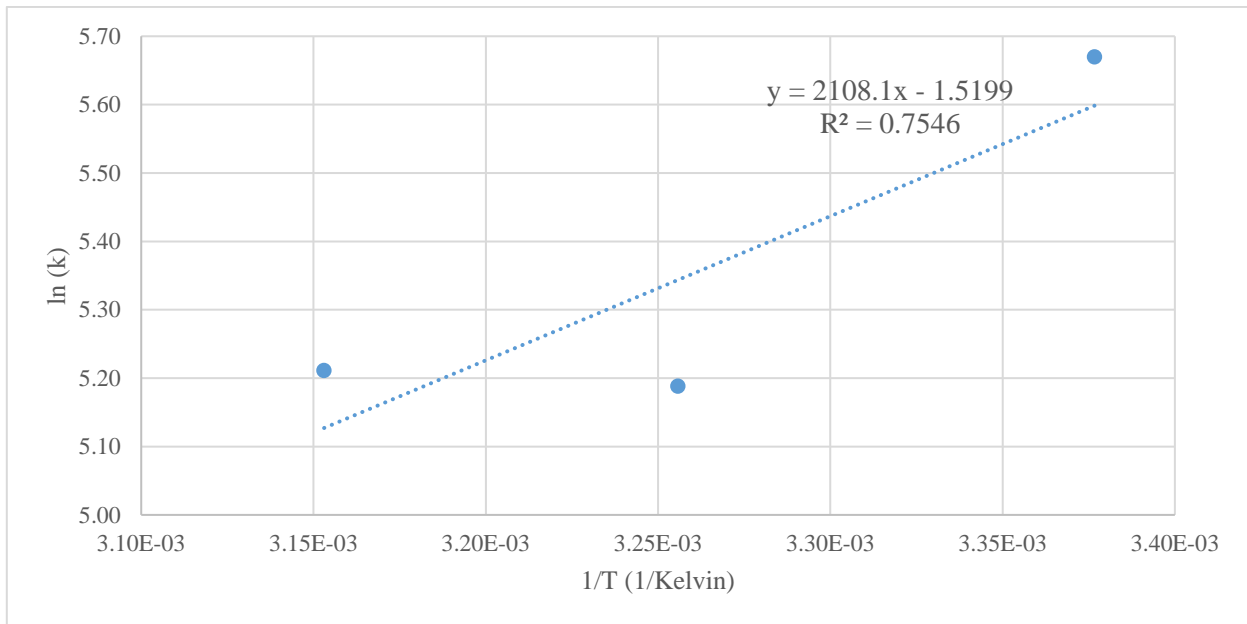
Micronutriente	Muestra	Cinética de reacción de degradación	Coefficiente de regresión lineal (R ²)
Hierro	Azucarada	$\ln(k) = -5544.5 \times \left(\frac{1}{T}\right) + 24.3$	0.236
	Chocolatada	$\ln(k) = 2108.1 \times \left(\frac{1}{T}\right) - 1.5$	0.755
Ácido fólico	Azucarada	$\ln(k) = -469.0 \times \left(\frac{1}{T}\right) - 7.2$	0.954
	Chocolatada	$\ln(k) = 402.8 \times \left(\frac{1}{T}\right) + 4.2$	0.0931

Notas: Las muestras fueron almacenadas en bolsas de plástico selladas, simulando producto terminado, dentro de dos cabinas a 23°C y 34°C ubicadas en la empresa productora de alimentos, y en dos a 37°C y 44°C ubicadas en la Universidad del Valle de Guatemala.

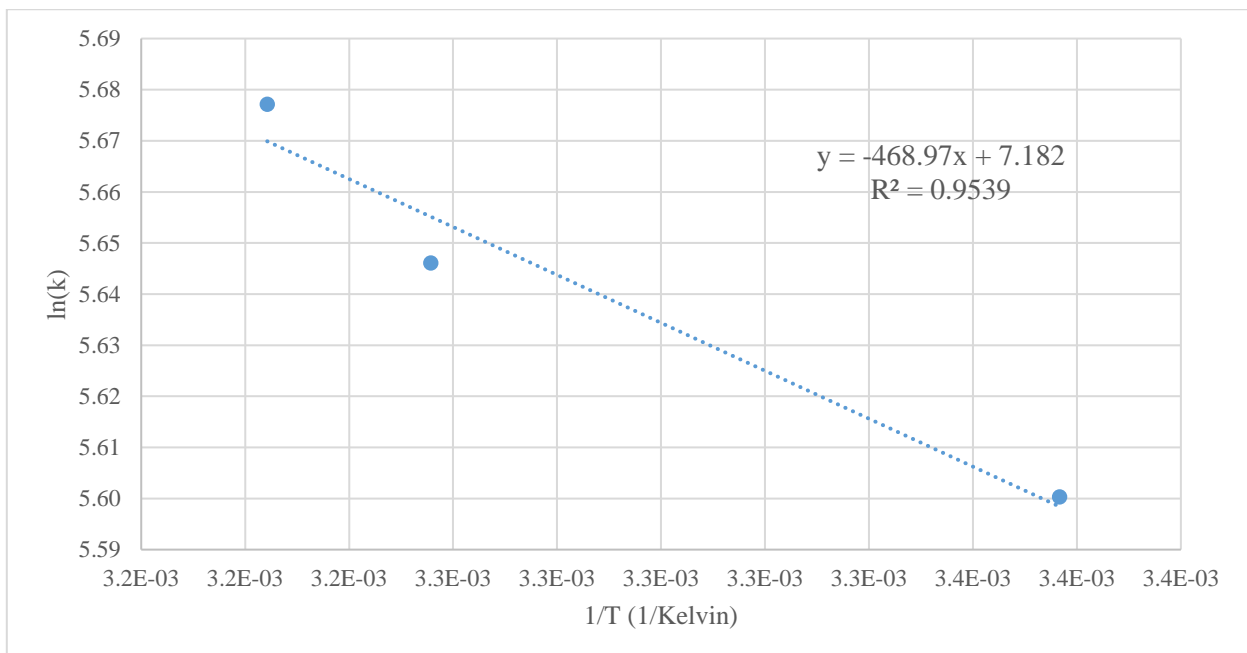
Gráfica No. 5 Modelo de Arrhenius para determinación de cinética de degradación de hierro en cereal hojuelado azucarado, luego de aplicación de premezcla vitamínica en etapa de recubrimiento



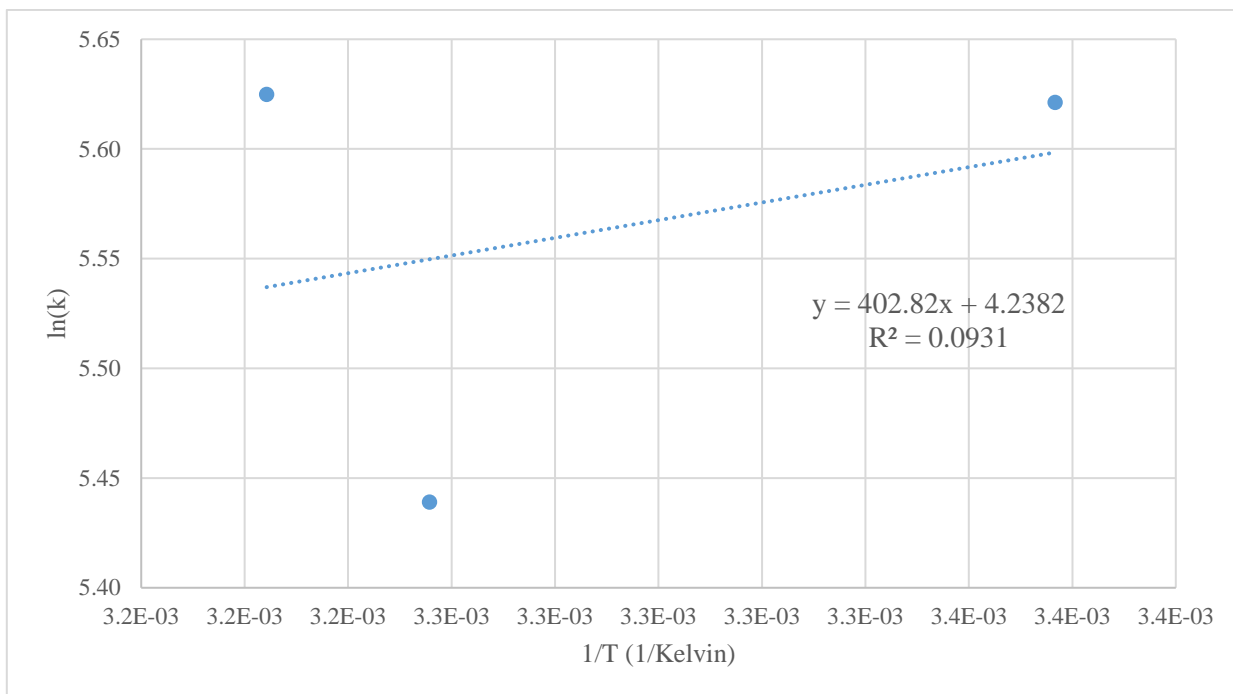
Gráfica No. 6 Modelo de Arrhenius para determinación de cinética de degradación de hierro en cereal hojuelado chocolatado, luego de aplicación de premezcla vitamínica en etapa de recubrimiento



Gráfica No. 7 Modelo de Arrhenius para determinación de cinética de degradación de ácido fólico en cereal hojuelado azucarado, luego de aplicación de premezcla vitamínica en etapa de recubrimiento



Gráfica No. 8 Modelo de Arrhenius para determinación de cinética de degradación de ácido fólico en cereal hojuelado chocolatado, luego de aplicación de premezcla vitamínica en etapa de recubrimiento



Cuadro No. 12 Comparación de la degradación de hierro en cereal hojuelado azucarado

	Aplicando la premezcla vitamínica antes de extrusión	Aplicando la premezcla vitamínica en etapa de recubrimiento
Concentración inicial (mg/100 g)	25.77	18.00 ± 1.53
Concentración al cabo de su tiempo de vida (nueve meses) (mg/100 g)	21.70	11.21 ± 1.58
Porcentaje de degradación (%)	15.78	37.72 ± 6.20

Notas: Utilizando modelo cinético determinado para las condiciones de este experimento. La concentración de hierro reportada en el etiquetado de los cereales hojuelados estudiados es de 14.00 mg/100 g. Experimentación realizada al agregar premezcla vitamínica en el área de *Tanque de recubrimiento* (Ver Ilustración No. 2.)

Cuadro No. 13 Comparación de la degradación de hierro en cereal hojuelado chocolatado

	Aplicando la premezcla vitamínica antes de extrusión	Aplicando la premezcla vitamínica en etapa de recubrimiento
Concentración inicial (mg/100 g)	25.77	25.12 ± 3.28
Concentración al cabo de su tiempo de vida (nueve meses) (mg/100 g)	22.00	12.96 ± 0.19
Porcentaje de degradación (%)	14.62	48.41 ± 6.35

Notas: Utilizando modelo cinético determinado para las condiciones de este experimento. La concentración de hierro reportada en el etiquetado de los cereales hojuelados estudiados es de 14.00 mg/100 g. Experimentación realizada al agregar premezcla vitamínica en el área de *Tanque de recubrimiento* (Ver Ilustración No. 2.)

Cuadro No. 14 Comparación de la degradación de ácido fólico en cereal hojuelado azucarado

	Aplicando la premezcla vitamínica antes de extrusión	Aplicando la premezcla vitamínica en etapa de recubrimiento
Concentración inicial ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	3636.0	4875 \pm 78
Concentración al cabo de su tiempo de vida (nueve meses) ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	2910.0	11.1 \pm 0.01
Porcentaje de degradación	19.97	99.77 \pm 1.60

Notas: Utilizando modelo cinético determinado para las condiciones de este experimento. La concentración de ácido fólico reportada en el etiquetado de los cereales hojuelados estudiados es de 2000 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Experimentación realizada al agregar premezcla vitamínica en el área de *Tanque de recubrimiento* (Ver Ilustración No. 2.)

Cuadro No. 15 Comparación de la degradación de ácido fólico en cereal hojuelado chocolatado

	Aplicando la premezcla vitamínica antes de extrusión	Aplicando la premezcla vitamínica en etapa de recubrimiento
Concentración inicial ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	3636.0	4560 \pm 240
Concentración al cabo de su tiempo de vida (nueve meses) ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	2580.0	140.10 \pm 0.14
Porcentaje de degradación	29.04	96.93 \pm 5.11

Notas: Utilizando modelo cinético determinado para las condiciones de este experimento. La concentración de ácido fólico reportada en el etiquetado de los cereales hojuelados estudiados es de 2000 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Experimentación realizada al agregar premezcla vitamínica en el área de *Tanque de recubrimiento* (Ver Ilustración No. 2.)

VIII. DISCUSIÓN

El objetivo general del trabajo de graduación fue comparar la degradación de la vitamina B9 y el micronutriente hierro en dos alternativas al proceso de aplicación de premezcla vitamínica durante la fabricación de cereales hojuelados con recubrimiento: antes de extrusión y en etapa de recubrimiento, de una empresa productora de alimentos. La determinación se realizó por medio del análisis cuantitativo de la vitamina y el micronutriente presentes en cereal luego de realizar el cambio en el proceso, y aplicar la premezcla vitamínica luego de la extrusión: en la etapa de recubrimiento. Se llevó a cabo las determinaciones a través del tiempo, a cuatro diferentes temperaturas: 23°C, 34°C, 37°C y 44°C. Se utilizaron estas temperaturas debido a que representan las temperaturas máximas y mínimas que se tienen en las zonas climáticas en las que se comercializa el producto. La temperatura promedio en la ciudad de Guatemala es de 26.1°C. Estas temperaturas permiten que el modelo de la cinética de degradación se realice acorde a las condiciones de temperatura del país. Esto se hizo con el objetivo de acelerar la degradación de la vitamina y el micronutriente, y así utilizar el modelo matemático de Arrhenius para estimar la concentración de estos al cabo del tiempo de vida comercial de los cereales. Este resultado se comparó con los datos de degradación de la vitamina y el micronutriente en el proceso normal de producción, los cuales tiene registrados la empresa productora de alimentos. El análisis cuantitativo del hierro se llevó a cabo por medio del método UV/VIS 14.011 de la AOAC, mientras que la vitamina B9, llamada comúnmente como ácido fólico, se determinó mediante el Método ELISA de RIDASCREEN® FAST Foläsure.

El cambio en el proceso se llevó a cabo en la planta productora de alimentos, tanto para el cereal hojuelado azucarado, como para el chocolatado. La premezcla vitamínica se agregó a la olla de cocción del jarabe de recubrimiento, permitiendo que la mezcla se homogenizara por 10 minutos. En el cereal hojuelado con recubrimiento azucarado se observó un color verdoso al final del proceso, producto de la premezcla vitamínica. La hojuela se observaba más brillante, que, en el proceso usual, sin embargo, la diferencia en el color fue evidente. Para el cereal chocolatado el cambio en el color no fue tan notorio, ya que el color oscuro de la cocoa ayudó a disimular el color verdoso proveniente de la premezcla vitamínica; en esta hojuela también se notó más brillo. Se llevó a cabo un análisis sensorial, por panelistas entrenados, en el cual se determinó que sí existía un cambio significativo en el sabor de ambos cereales. No obstante, la diferencia en la hojuela fue más evidente para el cereal con recubrimiento azucarado.

Luego de obtener las muestras provenientes del cambio en el proceso, se evaluó la cantidad de hierro y vitamina B9 presente en ellas antes de ingresarlas a las cabinas de temperatura controlada; estos valores representan la concentración en el día 0 para cada tipo de hojuela. Se calculó el coeficiente de variación de los valores de la concentración en cada hojuela. El coeficiente de variación es una medida de dispersión relativa que permite comparar la variabilidad de los datos, que en este caso eran siete para cada tipo de hojuela; un

coeficiente de variación bajo muestra una alta concentración de datos similares. Para la hojuela azucarada se determinó un coeficiente de variación en la concentración de hierro del 8.50%, mientras que para la hojuela chocolatada se obtuvo un 13.04%. Para la concentración del ácido fólico en la hojuela azucarada se obtuvo un coeficiente de variación de 1.60% y para la chocolatada, 5.25%. En ambos casos se obtuvo más dispersión en la concentración presente en la hojuela chocolatada que en la azucarada. Esto indica que la vitamina no se distribuyó uniformemente en el jarabe de chocolate, haciendo así que la mezcla no fuera homogénea. La cocoa es conocida por tener una solubilidad baja, ya que posee grasas posicionadas en la superficie de su molécula (Benkovic & Bauman, 2011). Esto pudo haber provocado la mala distribución de la vitamina en la mezcla. Por el otro lado, al jarabe de recubrimiento azucarado se le agrega aceite, mientras que al chocolatado no. El aceite permite una mejor adherencia a la hojuela y evita que el recubrimiento se caiga. Adicionalmente, en la metodología seguida en este proyecto, se tomó una pequeña porción de muestra de la bolsa de cereal para evaluar su concentración. Luego esta bolsa era re-sellada, y se abría nuevamente para la siguiente determinación. De esta forma se realizó para todos los análisis. En el caso de que la cobertura del jarabe no sea homogénea, y solamente se muestrean dos gramos del producto cada vez, se introduce error en los resultados. Se recomienda, entonces, vaciar el contenido total de la bolsa, para que sea molido y luego, de este, tomar la cantidad a analizar. De esta forma se evita que la homogenización de la cobertura afecte los resultados.

La concentración inicial de hierro en la hojuela azucarada fue de 18.00 ± 1.53 mg/100 g, y para la hojuela chocolatada fue de 25.12 ± 3.28 mg/100 g. Para el ácido fólico la concentración inicial en la hojuela azucarada fue de 4875 ± 78 µg/kg, y en la hojuela chocolatada fue de 4560 ± 240 µg/kg. Estas concentraciones fueron las consideradas a 0 días de almacenamiento para la realización del estudio. Las hojuelas fueron analizadas a través del tiempo, y los resultados de las concentraciones se pueden observar los cuadros No. 5 al No. 8 de la sección de *Resultados*. Idealmente, las hojuelas deberían tener la misma concentración inicial, pues se agrega la misma cantidad de premezcla vitamínica a ambas. No obstante, el color oscuro de la cocoa pudo haber interferido en los análisis de hierro, ya que se realizaron por medio de método de absorbancia. Esto provoca que en las hojuelas con recubrimiento de chocolate se mida una mayor concentración. Por lo tanto, es recomendable analizar las muestras con recubrimiento de chocolate por medio de otros métodos, como cromatografía líquida o absorción atómica, para determinar el grado en que el color de la hojuela afecta a los análisis por medio de métodos de absorbancia. Alternativamente, se puede determinar esto último al analizar una hojuela con recubrimiento de chocolate, pero sin premezcla vitamínica, y utilizar este valor como un *blanco*; de esta manera, se estaría eliminando cualquier interferencia que el color oscuro de la cocoa pudiera añadir. Para el análisis de ácido fólico el color no interviene, ya que por medio del método ELISA, solamente la vitamina se adhiere a los anticuerpos específicos contenidos en los micropocillos. Como se puede observar en la sección de *Metodología*, se realizan lavados a los micropocillos, en los que se elimina todo aquello que no haya quedado adherido al anticuerpo.

Las muestras fueron almacenadas a cuatro diferentes temperaturas para acelerar su vida de anaquel, y así modelar la cinética de degradación de la vitamina y el micronutriente mediante el modelo de Arrhenius. La

empresa productora de alimentos cuenta con dos cabinas con control de temperatura dentro de sus instalaciones, las cuales fueron utilizadas para almacenar las muestras a 23°C y a 34°C. Las otras muestras se almacenaron en incubadoras ubicadas en la Universidad del Valle de Guatemala a 37°C y 44°C. Debido a que los análisis se llevaron a cabo en las instalaciones de la empresa productora de alimentos, las muestras almacenadas en la Universidad debían ser retiradas de las cabinas una noche antes, para analizarlas la mañana siguiente. Por el otro lado, las muestras almacenadas en las cabinas de la empresa productora de alimentos solamente eran retiradas mientras se llevaba a cabo el análisis. Es importante que las muestras se mantengan a temperatura constante la mayor parte del tiempo, para que de esta manera la degradación sea constante para cada una de ellas.

Con los datos obtenidos de la concentración se determinó la constante cinética de reacción de degradación de la vitamina. Para la hojuela azucarada, se puede observar que a 37°C se obtuvo un comportamiento atípico, ya que la concentración de hierro aumentó, en lugar de disminuir a través del tiempo. Es probable que esto sucediera debido a que al fondo de la bolsa que contenía las hojuelas se encontraba restos de cereal, con muchas partículas de color verdoso, las cuales eran provenientes de la premezcla vitamínica (Ver Ilustraciones 9 y 10 de la sección *Registro Gráfico de análisis de hierro y ácido fólico a muestras de Anexos*). Debido a que la premezcla vitamínica se aplicó con un sistema de aspersión, junto con el jarabe de recubrimiento, la vitamina se adhirió a la superficie de la hojuela; a diferencia de cuando la premezcla se aplica en la mezcla de harinas, que esta queda dentro de la hojuela. Con el movimiento de la bolsa, y el roce entre las hojuelas, estas pudieron haber perdido una cantidad de vitamina, la cual se depositó al fondo de la bolsa. En los cereales obtenidos a través del proceso usual (aplicando la premezcla en la mezcla de las harinas), esto se observa como partículas finas y sólidas del jarabe de recubrimiento depositada al fondo de las bolsas de cereales; no obstante, en este caso, la vitamina no se encuentra expuesta junto con el recubrimiento, sino dentro de la hojuela. Sin embargo, al tomar muestras de hojuelas de la prueba de aplicación de premezcla vitamínica para análisis, algunas de estas pudieron haber venido acompañadas de una cantidad variable de estas partículas libres de premezcla depositada al fondo de las bolsas, por lo que su concentración se vería afectada, ya que las partículas libres de vitamina aumentarían el valor de la concentración de la muestra. Este polvo verdoso fue analizado en las muestras de cereal azucarado y chocolatado. Los resultados de la concentración de hierro y ácido fólico de estos se pueden observar en los cuadros No. 74 - 77 de la sección de *Datos Calculados de Anexos*. Como se puede observar, se obtuvo una concentración entre 8 y 10 mg/100 g para las muestras almacenadas a distintas temperaturas para la hojuela azucarada. Esta es una concentración baja de hierro si se compara con los resultados de las muestras analizadas, que se encuentran entre 15 y 30 mg/100 g. Por el otro lado, se obtuvo una concentración alta de ácido fólico, donde se observa la mayor concentración de 3140 µg/ kg en la muestra almacenada a 23°C, y la menor concentración de 2238 µg/ kg en la muestra almacenada a la mayor temperatura, 44°C. Los análisis fueron realizados en el día 70 de experimentación, por lo que no se esperaba una alta concentración, ya que el ácido fólico es muy sensible a la temperatura. Esto indica que en esas partículas finas se encuentra una alta concentración de ácido fólico, ya que, después de 70 días, la concentración aún es alta. Por el otro lado, contienen una baja concentración de hierro. Esto indica que las hojuelas perdieron cantidades variables de esta

vitamina, y las concentraciones registradas no reflejan la degradación, sino también la pérdida de esta vitamina que no se adhirió a la hojuela.

Los resultados atípicos también pudieron haber ocurrido por la mala distribución de la premezcla vitamínica en el jarabe de recubrimiento, por lo que cuando se aplicó el jarabe de recubrimiento, la concentración de premezcla vitamínica que iba con este no fue constante, por la mala homogenización. Esto causa que no todas las hojuelas tuvieran la misma concentración inicial de vitamina y hierro, causando, también, datos atípicos. Un mayor tiempo de mezclado, o una agitación más turbulenta podría mejorar la distribución de la vitamina en la mezcla de jarabe. Para lograrlo se puede utilizar un agitador de tipo propulsor de tres hojas, el cual se utiliza para la dispersión en fluidos viscosos. Actualmente se utiliza un agitador tipo hélice, sin embargo, este es más recomendable para fluidos poco viscosos. También se podrían agregar deflectores al tanque de agitación del jarabe de recubrimiento, para propiciar un mejor mezclado. Por otra parte, también es recomendable tomar un mayor número de muestras a lo largo de la producción, y procurar que estas muestras estén compuestas por hojuelas tomadas en distintos tiempos de la producción, para tener muestras más representativas.

Para este estudio, no se consideró la interacción que existe entre las vitaminas y micronutrientes, la cual pudo haber contribuido a la velocidad de degradación estas. Otros factores como la humedad del ambiente donde se almacena la premezcla vitamínica, el tiempo de exposición a la luz cuando esta es agregada al jarabe, o manipulada, tampoco fueron controlados. La suma de todos estos factores contribuyen a la pérdida y degradación de las vitaminas y micronutrientes presentes en la premezcla, y en futuras experimentaciones se podría llevar un mejor control de las variables y tener un ambiente controlado.

Para fines del estudio y cálculos se omitió los datos obtenidos de las hojuelas azucaradas almacenadas a 37°C, debido a que no presentaron un comportamiento de degradación, lo que se observa como una pendiente positiva al trazar la concentración contra el tiempo. Se analizó de la misma manera los datos de las concentraciones de ácido fólico para los dos tipos de hojuela. Se observó, nuevamente, otros casos en los que el comportamiento era atípico, y se observaba un incremento en la concentración. Para ambas hojuelas, chocolatada y azucarada, se observó en el análisis de ácido fólico que la concentración de las muestras almacenadas a 44°C fue mayor que para el resto de muestras. Por lo mismo, estos datos no se adaptaron al modelo de Arrhenius, por lo que fueron omitidos para efecto de los cálculos. En las gráficas No. 1, No. 2, No. 3 y No. 4 de la sección *Datos* calculados de *Anexos*, se puede observar el comportamiento de la concentración de hierro y ácido fólico en los días analizados. Como se puede observar en las gráficas No. 1 y No. 2, la degradación del hierro es menor, si se compara con la degradación que sufre el ácido fólico, en las gráficas No. 3 y No. 4. Esto es debido a que el ácido fólico es más sensible a la temperatura, por lo que su degradación ocurre más rápido. Por el otro lado, el hierro es más estable, y al no estar expuesto, no sufre una gran degradación. Para evitar la degradación de hierro por oxidación, es importante sellar correctamente las bolsas en las que se almacenan las muestras, y solamente abrirlas cuando se va a tomar muestra para análisis. Debido a que el ácido fólico es más sensible a la temperatura que el hierro, se cree que la razón de haber obtenido una mayor

concentración de las muestras almacenadas en la cabina de mayor temperatura, fue a causa de que la incubadora no mantuviera temperatura constante, haciendo la degradación más lenta. En dos ocasiones se necesitó ajustar la temperatura de la incubadora, ya que al realizar monitoreo de la temperatura utilizando un termómetro de bulbo, esta se encontraba por debajo de los 44°C. A diferencia del hierro que es más estable, la variación en la temperatura no incidió evidentemente en su concentración. Con ese conocimiento, los datos fueron analizados, y se realizaron los cálculos necesarios para evaluar la degradación del hierro y el ácido fólico en las hojuelas a través del modelo de Arrhenius.

El modelo de la cinética de degradación obtenida utilizando el modelo matemático de Arrhenius para la evaluación de la degradación de hierro en la hojuela azucarada tuvo un coeficiente de regresión lineal, (R^2), de 0.236, lo cual muestra que los datos evaluados no fueron suficientes para mostrar la degradación expresada con una cinética química de primer orden, como era esperado. En el caso de la hojuela chocolatada, para la evaluación del hierro, se obtuvo un mejor ajuste, con un R^2 de 0.755. No obstante, la pendiente obtenida muestra una degradación más rápida de la esperada. Esto se atribuye a la pérdida de vitamina debido a la mala adhesión de esta a la hojuela, la cual se observó como las partículas de color verde al fondo de la bolsa, como se mencionó anteriormente, y a la mala distribución de la premezcla vitamínica en el jarabe. Con el modelo cinético se proyectó la cantidad de hierro que habría presente al cabo de la fecha de caducidad del cereal (nueve meses), la cual fue de 11.21 ± 1.58 mg/100 g, para el cereal hojuelado azucarado. Esta es una degradación del 37.72%, mayor que el doble de la degradación que se obtiene con el proceso de aplicación de premezcla usual, la cual se determinó por medio de los registros que la empresa productora de alimentos tiene sobre la concentración de vitamina agregada y vitamina remanente en los cereales al alcanzar su tiempo de caducidad. Para el cereal hojuelado chocolatado se proyectó una concentración de 12.96 ± 0.19 mg/100 g, lo cual representa una degradación del 48.41% respecto a su concentración inicial. Las evaluaciones del cereal con el proceso usual indican una degradación del 14.62% para las hojuelas chocolatadas, y del 15.78% para las azucaradas. La diferencia es muy grande, sin embargo, los modelos matemáticos obtenidos no son del todo representativos, por los factores ya mencionados. En ambos casos, la concentración de hierro final no cumple con lo establecido por la etiqueta nutricional de los cereales, la cual es de 14 mg/100 g.

Se llevó a cabo el mismo análisis para modelar los datos de las concentraciones de ácido fólico utilizando el modelo de Arrhenius para determinar la cinética de degradación de este. Para la hojuela azucarada se obtuvo un modelo con R^2 de 0.954, mientras que para la chocolatada los datos no se adaptaron al modelo, presentando un R^2 de 0.0931. A pesar de que el R^2 para la hojuela azucarada es muy bueno, los resultados presentan la misma situación que en el hierro; una pendiente muy pronunciada, por lo que la predicción de la concentración de ácido fólico al cabo del tiempo de vida del cereal es 99.77% más baja que la inicial. A pesar de que el modelo no se adaptara, se realizó el cálculo representativo de la concentración final para la hojuela chocolatada, con lo que se determinó una degradación del 96.93%. Con esta metodología no es posible asegurar la cantidad de vitamina presente al cabo de la vida útil del cereal, debido a que hubo variables que no se contemplaron en el experimento, y afectaron en el resultado final; sin embargo, se muestran los resultados obtenidos a través de los

modelos cinéticos determinados con este estudio (ver en cuadro No. 12 y 13 de la sección *Resultados*). Estos resultados no muestran la degradación real de la vitamina, ya que tanto los registros que la empresa productora de alimentos tiene sobre la degradación de las vitaminas, como la teoría, no muestran una degradación tan rápida como la proyectada por los modelos. Por el otro lado, los resultados sí representan una aplicación de la vitamina ineficaz, ya que esta no fue homogénea, y no quedó adherida a la hojuela, afectando así en la toma de muestras; en algunos casos se tomó más partículas libres junto con las hojuelas, mientras que en otros las hojuelas iban con pérdida de vitaminas que se depositaron en la bolsa, por lo que se obtuvo una concentración mayor que la esperada, en algunos casos, y en otros, menor. Esto afecta directamente en el procesamiento de datos para la obtención del modelo cinético utilizando el modelo de Arrhenius.

Para el estudio de ambos micronutrientes estudiados, los modelos cinéticos no mostraron la degradación real de la vitamina. Debido a que la aplicación de la vitamina fue por medio de aspersión en la etapa de recubrimiento, es posible que esta no haya quedado adherida completamente a la hojuela; a diferencia de cuando la vitamina se agrega en la mezcla de harinas, en donde la vitamina se encuentra contenida dentro de la hojuela. Al aplicarla por medio de aspersión junto con el jarabe de recubrimiento, la vitamina queda más vulnerable al estar más expuesta, y por lo mismo, fue más propensa a perderse. Es importante que se evalúe si la adhesión del jarabe de recubrimiento a la hojuela, y si al agregar la premezcla vitamínica en este, la adhesión a la hojuela se ve afectada. También es importante controlar la mayor cantidad de variables involucradas en el proceso, como la exposición a la luz, la humedad del ambiente, la manipulación de la premezcla, la interacción de las vitaminas y micronutrientes en el jarabe. De esta manera se tendría un mejor control de la vitamina agregada a la hojuela, una mejor homogenización de la vitamina y una mejor adhesión de esta, además de que, al controlar las demás variables, se podrá determinar el efecto directo del cambio en el proceso de aplicación de la vitamina, sin que las otras variables influyan significativamente en el resultado.

A través de esta experimentación se hizo un primer acercamiento al cambio de aplicación de la vitamina en los cereales hojuelados de la empresa productora de alimentos. El objetivo era determinar si se obtenía una menor degradación de la vitamina al agregar la premezcla vitamínica en el recubrimiento, en lugar de en la mezcla de harinas, antes de extrusión. El método no fue efectivo, por las razones mencionadas anteriormente, por lo que, en la sección de *Anexos*, se propone una nueva metodología, en la que se toman en cuenta los factores que afectaron en esta experimentación. En la metodología propuesta se propone tener un mayor control de las variables involucradas en el proceso, así como también analizar las hojuelas provenientes del proceso de fabricación usual (sin modificaciones), utilizando los mismos métodos que se utilizaron para analizar las muestras de la prueba de aplicación de la premezcla vitamínica en la cobertura, para comparar su cinética de degradación. También se considera recomendable analizar las muestras mediante otro método, como la cromatografía líquida (HPLC), para el análisis de vitaminas, y por método gravimétrico y absorción atómica para el hierro, ya que estos métodos introducen menor error que los utilizados para este estudio. No obstante, estos métodos tienen un costo elevado, superior a los métodos utilizados para este estudio, y la empresa productora de alimentos no tiene a su disposición estos equipos. Debido a que a través de este estudio se llevó

a cabo la primera prueba del cambio de proceso de aplicación de la premezcla vitamínica, los métodos utilizados fueron adecuados para la evaluación de las concentraciones de vitaminas presentes, sin embargo, estos pueden ser validados para futuras experimentaciones.

IX. CONCLUSIONES

1. Se determinó una concentración de hierro promedio de seis muestras, correspondiente al día 0 de almacenamiento, en la hojuela azucarada de 18.00 ± 1.53 mg/100 g con un coeficiente de variación del 8.50%, y para la hojuela chocolatada de 25.12 ± 3.28 mg/100 g, con un coeficiente de variación del 13.04%, utilizando el método descrito por la AOAC UV/VIS 14.011.
2. Se determinó una concentración de ácido fólico promedio, correspondiente al día 0 de almacenamiento, de 4875 ± 78 µg/kg para la hojuela azucarada, con un coeficiente de variación del 1.60%, mientras que para la hojuela chocolatada se midió una concentración inicial de 4560 ± 240 µg/kg, con un coeficiente de variación del 5.25%, utilizando el método ELISA de RIDASCREEN® FAST Foläsure, para las muestras, en duplicado.
3. Con el modelo matemático de Arrhenius se determinó el modelo cinético de degradación del hierro y ácido fólico en las condiciones estudiadas. Con este se proyectó una concentración de hierro de 11.21 ± 1.58 mg/100 g en la hojuela azucarada, y de 12.96 ± 0.19 mg/100 g en la hojuela chocolatada; para el ácido fólico, de 11.1 ± 0.01 µg/kg en la hojuela azucarada, y de 140.10 ± 0.14 µg/kg en la hojuela chocolatada, al cabo de la vida útil del producto (nueve meses).
4. Con la metodología propuesta en este proyecto, no se logró una buena homogenización de la premezcla en el jarabe de recubrimiento (expresado como coeficientes de variación mayores al 5%), y se perdió vitamina que no se adhirió a la hojuela, lo cual se observó como variaciones bruscas en la concentración de vitamina en las hojuelas a lo largo del tiempo (disminuciones e incrementos de aproximadamente 2 mg de hierro por 100 g de producto, y de aproximadamente 1000 µg de ácido fólico por kg de producto). Por lo tanto, es necesario controlar la mayor cantidad de variables al llevar a cabo la prueba de aplicación de la vitamina en la etapa de recubrimiento, como el tiempo de mezclado, el manejo de la premezcla vitamínica y su exposición al ambiente, el almacenaje de la premezcla vitamínica, y la adherencia del recubrimiento a la hojuela.
5. Se comprobó que al fondo de las bolsas en donde se almacenaron las muestras, se encontraban polvos finos con una alta concentración promedio de ácido fólico de 2771 ± 2 µg/kg; y una concentración promedio de hierro de 8.97 ± 0.21 mg/100 g, para las muestras de hojuela azucarada almacenadas en cabinas de temperatura controlada a 23°C, 34°C, 37°C y 44°C. En la hojuela chocolatada se determinó una concentración promedio de ácido fólico en los finos de 3485 ± 2 µg/kg; y una concentración promedio de hierro de 16.46 ± 0.18 mg/100 g, para las muestras almacenadas a 23°C, 34°C, 37°C y

44°C. Lo que confirma que la adherencia de la cobertura no es óptima, ya que la vitamina no quedó adherida a la hojuela.

6. La ecuación de cinética de degradación de hierro obtenida por medio del modelo de Arrhenius para la hojuela azucarada es $\ln(k) = -5544.5 \times \left(\frac{1}{T}\right) + 24.3$, y para la chocolatada, $\ln(k) = 2108.1 \times \left(\frac{1}{T}\right) - 1.5$, con un R^2 de 0.236 y 0.755, respectivamente, para las condiciones establecidas en esta experimentación.
7. La ecuación de cinética de degradación de ácido fólico obtenida por medio del modelo de Arrhenius para la hojuela azucarada es $\ln(k) = -469.0 \times \left(\frac{1}{T}\right) - 7.2$, y para la hojuela chocolatada, $\ln(k) = 402.8 \times \left(\frac{1}{T}\right) + 4.2$, con un R^2 de 0.954 y 0.0931, respectivamente, para las condiciones establecidas en esta experimentación.
8. Por el método de análisis realizado en este estudio no es posible proyectar la degradación de hierro y ácido fólico que tendrían las muestras al cabo de su tiempo de vida útil, ya que agregar la premezcla vitamínica en los tanques de recubrimiento dio como resultado una mala homogenización de la vitamina, y la pérdida de vitamina debido a la mala adherencia de esta a la hojuela. Por lo tanto, las proyecciones del Modelo de Arrhenius no reflejan solamente la degradación de la vitamina, sino también la pérdida de esta debido a la mala adherencia.

X. RECOMENDACIONES

1. Determinar el tiempo de mezclado y las condiciones de operación necesarias para que la premezcla vitamínica se suspenda de manera homogénea en el jarabe de recubrimiento azucarado y chocolataado.
2. Verificar la calidad de adherencia del recubrimiento a la hojuela, y determinar si la adición de la premezcla vitamínica al jarabe de recubrimiento provoca una menor adherencia.
3. Controlar las condiciones de operación de las cabinas para las muestras, de manera que mantengan las mismas condiciones a lo largo de todo el estudio.
4. Almacenar las muestras en bolsas selladas para cada determinación de vitamina o micronutriente; es decir, en lugar de extraer la cantidad de muestra a evaluar de la misma bolsa y volverla a sellar, preparar suficientes bolsas como análisis se deseen realizar, para analizar todo el contenido de cada bolsa.
5. Almacenar las muestras compuestas por hojuelas tomadas en diferentes tiempos de la producción, con el fin de tener una muestra más representativa.
6. Validar los resultados de la concentración de ácido fólico y hierro que tiene la empresa con el proceso de aplicación de vitamina actual, utilizando los mismos métodos que se utilizaron en esta experimentación para la prueba de aplicación de premezcla vitamínica en la etapa de recubrimiento. Y de esa forma poder comparar los resultados obtenidos.
7. Realizar el análisis de hierro en triplicado para que los datos tengan una mayor validez estadística.
8. Definir una metodología para la aplicación de la vitamina en la etapa de recubrimiento, teniendo un ambiente controlado.

9. Analizar las muestras mediante otro método, como la cromatografía líquida (HPLC) para el análisis de vitaminas, y por método gravimétrico y absorción atómica para el hierro, para validar los métodos utilizados en esta experimentación.

XI. BIBLIOGRAFÍA

- Benkovic, M., & Bauman, I. (2011). *AGGLOMERATION OF COCOA POWDER MIXTURES – INFLUENCE OF PROCESS CONDITIONS ON PHYSICAL PROPERTIES OF THE AGGLOMERATES*. Zagreb: Facultad de Tecnología de los Alimentos y Biotecnología. Universidad de Zagreb.
- Briceño B., L., Salas V., W., & Torres O., S. (2008). Determinación del tiempo de vida en anaquel del aceite de oliva virgen extra mediante pruebas aceleradas. *Anales Científicos*, 69(4), 82-89. Recuperado el 20 de junio de 2016, de <http://www.revistascientificasunalm.org/index.php/cientificos/article/view/254>
- Castro, M. L., Litter, M. I., Wong, M., & Mori, V. (2003). *Métodos espectrofotométricos Uv-Vis*. México D.F.: BVSDE.
- Clydesdale, F., & Wiemer, K. (2012). *Iron fortification of foods*. Minnesota: University of Massachussets.
- Colgan, M. (2004). *La Nueva nutrición: una medicina para el próximo milenio*. España: Editorial Sirio, S.A.
- De Cos, A. I., Vázquez Martínez, C., & López Nomdedeu, C. (2005). *Alimentación y nutrición: manual teórico-práctico* (2a ed.). Madrid: Ediciones Díaz de Santos.
- Escribano León, D., Vaqueiro, E. M., & Pino Pérez, D. (2008). *Química y Análisis de los Alimentos*. Madrid, España. Recuperado el 09 de junio de 2016, de <http://www.escet.urjc.es/~isierra/cereales.pdf>
- Espinosa-Torres, L., Pérez-Grajales, M., Martínez-Damián, M., Castro-Brindis, R., & Barrios-Puente, G. (2010). Efecto de empaques y temperaturas en el almacenamiento de chile manzano (*Capsicum pubescens* Ruíz y Pavón). *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 16(2), 115-121. Recuperado el 20 de junio de 2016, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027-152X2010000200007&lng=es&tlng=pt.
- FAO. (2010). *Depósito de documentos de la FAO*. Recuperado el 09 de junio de 2016, de Procesamiento y fortificación de los alimentos: <http://www.fao.org/docrep/006/w0073s/w0073s10.htm>
- FLSmidth. (2011). *FT Series Grinding Mills*. United States: Minerals Processing Technology Center. Recuperado el 15 de marzo de 2015, de http://www.flsmidth.com/~media/PDF%20Files/Grinding/FTGrindingMills_brochure.ashx
- Folsäure, R. F. (2010). *Enzyme immunoassay for the quantitative analysis of folic acid*. Darmstadt, Deutschland: Biopharm.

- FortiTech. (2016). *Fortitech Premezclas: Nutrición estratégica*. Recuperado el 09 de junio de 2016, de Mezcla y procesamiento de premezclas de nutrientes: <https://www.fortitechpremixes.com/es/sin-categorizar/mezcla-y-procesamiento-de-premezclas-de-nutrientes/>
- García Román, M. (2006). *Tecnología de Cereales*. Granada: Facultad de Ciencias. Universidad de Granada. Recuperado el 20 de junio de 2016, de <http://www.ugr.es/~mgroman/archivos/TC/mat.pdf>
- Garrido D., J. (mayo de 1994). *Fabricación y uso de premezclas vitamínicas en alimentos para peces*. Recuperado el 14 de marzo de 2016, de FAO: <http://www.fao.org/docrep/field/003/ab482s/ab482s24.htm>
- Guy, R. (2001). *Extrusion cooking. Technologies and applications*. Cambridge: Woodhead Publishing Limited.
- Hernández Posadas, M. N. (2006). *DETERMINACIÓN DE NIVELES SÉRICOS DE ZINC EN ESCOLARES DEL ÁREA RURAL DE GUATEMALA, DESPARASITADOS Y NO DESPARASITADOS, PREVIO Y POSTERIOR AL CONSUMO DE AZÚCAR FORTIFICADA CON VITAMINA "A", Y HIERRO Y ZINC AMINOQUELADOS*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. Recuperado el 11 de junio de 2016, de http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2482.pdf
- Jackson, L. (2009). *El ácido fólico: Una Vitamina esencial para la salud*. Recuperado el 17 de febrero de 2016, de Fundación Bengoa: http://www.fundacionbengoa.org/informacion_nutricion/acido-folico.asp
- Jiménez Hernández, J., Alamilla López, N., & López Cerino, M. (2009). *Pruebas de vida acelerada en confiabilidad*. Oaxaca: Universidad Tecnológica de la Mixteca. Recuperado el 05 de 07 de 2016, de http://www.utm.mx/edi_antteriores/Temas38/2NOTAS%2038-2%20PDF.pdf
- King, J., & de Pablo, S. (1987). PÉRDIDAS DE VITAMINAS DURANTE EL PROCESAMIENTO DE LOS ALIMENTOS. *Revista chilena de nutrición*, 15(3), 143-152.
- Maya Cerón, D. F., & Ricaurte Farfán, S. C. (2006). *DISEÑO DE UN MODELO ALTERNATIVO PARA LA CADENA DE ABASTECIMIENTO DE CEREALES PREPARADOS DIRIGIDO A LA POBLACIÓN DE ESCASOS RECURSOS*. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ingeniería. Recuperado el 08 de junio de 2016, de <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ingenieria/Tesis218.pdf>
- Micronutrient Initiative. (2015). *Micronutrient Initiative*. Recuperado el 11 de junio de 2016, de Why Iron: <http://www.micronutrient.org/what-we-do/by-micronutrient/iron/>
- Ministerio de Economía, M. (2012). *Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA)*. Guatemala: MINECO. Recuperado el 1 de julio de 2016, de http://www.mineco.gob.gt/sites/default/files/pdfs/res_280-2012_rtca_etiquetado_preenvasados.pdf

- Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. (2013). *HARINA DE MAIZ FORTIFICADA CON MICRONUTRIENTES. ESPECIFICACIONES*. Ministerio de Economía, MINECO. Obtenido de <http://pp.centramerica.com/pp/bancofotos/315-15249.pdf>
- Navas, P. B., & Carrasquero-Duran, A. (2008). Introducción a la cinética química: efecto de un extracto vegetal sobre el mecanismo de oxidación del Fe (II). *Paradigma [online]*, 29(2), 81-96. Recuperado el 24 de noviembre de 2016, de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1011-22512008000200005&lng=es&nrm=iso
- Ocampo, J. (2010). *Determinación de la vida de anaquel del café soluble elaborado por la empresa Decafé S.A. y evaluación del tipo de empaque en la conservación del producto*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.
- Organización Panamericana de la Salud. (2002). *Compuestos de hierro para la fortificación de alimentos: Guías para América Latina y el Caribe*. Washington D.C.: OPS, OMS, USAID, INACG. Recuperado el 11 de junio de 2016, de <http://www.paho.org/hq/dmdocuments/2009/Compuestos-hierro-Esp.pdf>
- Peguri, A. (1988). Los efectos de la temperatura sobre las premezclas. *Dekalb Management Newsletter*, págs. 114-116. Recuperado el 11 de junio de 2016, de http://ddd.uab.cat/pub/selavi/selavi_a1989m4v31n4/selavi_a1989m4v31n4p114.pdf
- Pública, I. d. (2008). *PROCEDIMIENTO PARA DETERMINAR ÁCIDO FÓLICO EN HARINA DE TRIGO. Método UV-HPLC*. Chile: Gobierno de Chile. Obtenido de http://www.ispch.cl/lab_amb/doc/microbiologia_alimentos/PRT-711.02-063.pdf
- Razmilic, B. (1994). *ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA*. México D.F.: FAO.
- Serna Saldivar, S. O. (2011). *Producción de Cereales de Desayuno Mediante Procesos Tradicionales y Extrusión Termoplástica*. Montevideo: Instituto Tecnológico y Estudios Superiores de Monterrey. Recuperado el 08 de junio de 2016, de <http://www.innova-uy.info/docs/presentaciones/20111011/SergioSerna.pdf>
- Sicajá Aldi, D. A. (2010). *Rediseño del sistema de control para mejorar la productividad y la eficiencia de la producción de cereal de arroz recubierto con chocolate*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. Recuperado el 20 de junio de 2016, de http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_2177_IN.pdf
- UNAD. (2011). Premezclas. Bogotá, Colombia. Recuperado el 09 de junio de 2016, de http://datateca.unad.edu.co/contenidos/201111/EXE%20NUTRIANIMAL%20MODULO/406_premezclas.html

- UNICEF. (2010). *Micronutrientes*. Obtenido de UNICEF Guatemala:
http://www.unicef.org/guatemala/spanish/primer_infancia_18489.htm
- UNICEF. (2015). *UNICEF Nutrición*. Recuperado el 11 de junio de 2016, de Micronutrientes:
http://www.unicef.org/spanish/nutrition/index_iodine.html#3
- UNLP. (2010). *Estudio cinético de la reacción térmica presente en las soluciones irradiadas de ácido fólico*. .
La Plata, Argentina: SEDICI.
- Valentas, K., Rotstein, E., & Singh, R. (1997). *Handbook of Food Engineering Practice*. Nueva York: CRC Press.
- Vallejo Alvarado, R. B. (2012). *Determinación del nivel de degradación de la vitamina "A" del azúcar blanco comercializado en Cuyotenango, Suchitepéquez, bajo diferentes tiempos y temperaturas de almacenamiento*. Mazatenango: Universidad de San Carlos de Guatemala. Recuperado el 11 de junio de 2016, de http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/22/22_0185.pdf
- Valls Porta, A. (1993). *EL PROCESO DE EXTRUSIÓN EN CEREALES Y HABAS DE SOJA. I. UTILIZACIÓN DE NUTRIENTES*. Barcelona: FEDNA. Obtenido de
http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_agronomia/Extrusi%C3%B3n_y_su_efecto.pdf

XII. ANEXOS

A. Mediciones realizadas

Cuadro No. 16 Absorbancia en muestras de cereal hojuelado azucarado al inicio de la experimentación para determinación de hierro

Peso muestra \pm 0.0001 g	Absorbancia_{500nm} \pm 0.001		
1.0544	0.299	0.301	0.300
1.0524	0.299	0.299	0.299
1.0127	0.260	0.263	0.260
1.0209	0.295	0.296	0.296
1.0305	0.308	0.309	0.310
1.0295	0.329	0.330	0.331
1.0312	0.308	0.309	0.309

Cuadro No. 17 Absorbancia en muestra de cereal hojuelado azucarado al cabo de 20 días en incubación para determinación de hierro

Temperatura (°C)	Peso muestra \pm 0.0001 g	Absorbancia_{500nm} \pm 0.001		
23	1.0082	0.274	0.273	0.273
	1.0071	0.236	0.235	0.235
34	1.0096	0.274	0.274	0.274
	1.0013	0.267	0.267	0.267
37	1.0107	0.225	0.224	0.224
	1.0112	0.237	0.236	0.236
40	1.0099	0.228	0.227	0.227
	1.0184	0.223	0.223	0.222

Cuadro No. 18 Absorbancia en muestra de cereal hojuelado azucarado al cabo de 40 días en incubación para determinación de hierro

Temperatura (°C)	Peso muestra ± 0.0001 g	Absorbancia _{500nm} ± 0.001		
23	1.0045	0.325	0.325	0.325
	1.0020	0.350	0.350	0.351
34	1.0019	0.307	0.307	0.307
	1.0049	0.301	0.301	0.301
37	1.0033	0.285	0.285	0.285
	1.0060	0.248	0.247	0.247
40	1.0035	0.279	0.278	0.278
	1.0072	0.235	0.235	0.235

Cuadro No. 19 Absorbancia en muestra de cereal hojuelado azucarado al cabo de 55 días en incubación para determinación de hierro

Temperatura (°C)	Peso muestra ± 0.0001 g	Absorbancia _{500nm} ± 0.001		
23	1.0017	0.253	0.253	0.254
	1.0039	0.285	0.286	0.285
34	1.0053	0.230	0.230	0.231
	1.0095	0.212	0.212	0.212
37	1.0035	0.354	0.354	0.355
	1.0047	0.373	0.373	0.373
40	1.0017	0.286	0.285	0.286
	1.0043	0.277	0.278	0.278

Cuadro No. 20 Absorbancia en muestras de cereal hojuelado chocolatado al inicio de la experimentación para determinación de hierro

Peso muestra ± 0.0001 g	Absorbancia_{500nm} ± 0.001		
1.0023	0.367	0.367	0.367
1.0089	0.382	0.382	0.382
1.0075	0.357	0.356	0.356
1.013	0.319	0.319	0.320
1.0108	0.358	0.359	0.359
1.0092	0.341	0.340	0.340
1.002	0.394	0.395	0.395

Cuadro No. 21 Absorbancia en muestra de cereal hojuelado chocolatado al cabo de 20 días en incubación para determinación de hierro

Temperatura (°C)	Peso muestra ± 0.0001 g	Absorbancia_{500nm} ± 0.001		
23	1.0088	0.421	0.420	0.422
	1.0063	0.362	0.362	0.361
34	1.0034	0.315	0.316	0.316
	1.0053	0.319	0.318	0.318
37	1.0025	0.350	0.350	0.349
	1.0042	0.342	0.343	0.342
40	1.0056	0.353	0.352	0.352
	1.0012	0.346	0.345	0.346

Cuadro No. 22 Absorbancia en muestra de cereal hojuelado chocolatado al cabo de 40 días en incubación para determinación de hierro

Temperatura (°C)	Peso muestra ± 0.0001 g	Absorbancia _{500nm} ± 0.001		
23	1.0047	0.421	0.421	0.421
	1.0049	0.328	0.328	0.329
34	1.0085	0.446	0.446	0.446
	1.0010	0.437	0.437	0.438
37	1.0040	0.335	0.335	0.335
	1.0030	0.351	0.351	0.350
40	1.0050	0.417	0.417	0.417
	1.0098	0.287	0.288	0.287

Cuadro No. 23 Absorbancia en muestra de cereal hojuelado chocolatado al cabo de 55 días en incubación para determinación de hierro

Temperatura (°C)	Peso muestra ± 0.0001 g	Absorbancia _{500nm} ± 0.001		
23	1.0038	0.373	0.373	0.373
	1.0030	0.328	0.329	0.329
34	1.0039	0.315	0.315	0.315
	1.0043	0.242	0.242	0.243
37	1.0003	0.420	0.419	0.420
	1.0014	0.402	0.402	0.402
40	1.0080	0.509	0.509	0.509
	1.0082	0.476	0.477	0.476

Cuadro No. 24 Absorbancia de estándares para determinación inicial de hierro en muestras de cereal hojuelado chocolatado

Estándar (µg/l)	Absorbancia_{500nm} ± 0.001		
0.50	0.047	0.049	0.049
1.00	0.087	0.087	0.086
2.00	0.162	0.163	0.162
2.51	0.207	0.208	0.208
5.01	0.393	0.394	0.394
Agua	0.007	0.007	0.009
Blanco	0.010	0.010	0.010

Cuadro No. 25 Absorbancia de estándares para determinación inicial de hierro en muestras de cereal hojuelado azucarado

Estándar (µg/l)	Absorbancia_{500nm} ± 0.001		
0.50	0.069	0.07	0.069
1.00	0.107	0.106	0.104
2.00	0.184	0.182	0.181
2.51	0.230	0.230	0.229
5.01	0.414	0.412	0.414
Agua	0.021	0.021	0.021
Blanco	0.023	0.023	0.023

Cuadro No. 26 Absorbancia de estándares para determinación de hierro en muestras al cabo de 20 días de incubación a temperaturas de 23°C y 34°C

Estándar (µg/l)	Absorbancia_{500nm} ± 0.001		
0.50	0.051	0.051	0.049
1.00	0.087	0.087	0.087
2.00	0.163	0.163	0.163
2.51	0.203	0.203	0.202
5.01	0.391	0.391	0.390
Agua	0.008	0.008	0.008
Blanco	0.009	0.009	0.010

Cuadro No. 27 Absorbancia de estándares para determinación de hierro en muestras al cabo de 20 días de incubación a temperaturas de 37°C y 40°C

Estándar (µg/l)	Absorbancia_{500nm} ± 0.001		
0.50	0.04	0.039	0.041
1.00	0.082	0.082	0.082
2.00	0.158	0.158	0.158
2.51	0.202	0.201	0.202
5.01	0.382	0.382	0.381
Agua	0.001	0.001	0.001
Blanco	0.002	0.003	0.002

Cuadro No. 28 Absorbancia de estándares para determinación de hierro en muestras al cabo de 40 días de incubación a temperaturas de 23°C y 34°C

Estándar (µg/l)	Absorbancia_{500nm} ± 0.001		
0.50	0.047	0.047	0.046
1.00	0.085	0.085	0.084
2.00	0.164	0.164	0.164
2.51	0.203	0.202	0.203
5.01	0.390	0.390	0.391
Agua	0.007	0.007	0.007
Blanco	0.008	0.007	0.007

Cuadro No. 29 Absorbancia de estándares para determinación de hierro en muestras al cabo de 40 días de incubación a temperaturas de 37°C y 40°C

Estándar (µg/l)	Absorbancia_{500nm} ± 0.001		
0.50	0.045	0.046	0.046
1.00	0.084	0.083	0.083
2.00	0.162	0.161	0.161
2.51	0.200	0.200	0.201
5.01	0.395	0.396	0.395
Agua	0.004	0.005	0.005
Blanco	0.004	0.006	0.004

Cuadro No. 30 Absorbancia de estándares para determinación de hierro en muestras al cabo de 55 días de incubación a temperaturas de 23°C y 34°C

Estándar (µg/l)	Absorbancia_{500nm} ± 0.001		
0.50	0.041	0.042	0.041
1.00	0.081	0.080	0.080
2.00	0.159	0.158	0.158
2.51	0.199	0.199	0.200
5.01	0.396	0.395	0.396
Agua	0.002	0.001	0.002
Blanco	0.002	0.002	0.003

Cuadro No. 31 Absorbancia de estándares para determinación de hierro en muestras al cabo de 55 días de incubación a temperaturas de 37°C y 40°C

Estándar (µg/l)	Absorbancia_{500nm} ± 0.001		
0.50	0.043	0.044	0.043
1.00	0.084	0.084	0.083
2.00	0.159	0.158	0.158
2.51	0.202	0.202	0.202
5.01	0.403	0.403	0.404
Agua	0.003	0.003	0.003
Blanco	0.004	0.005	0.004

Cuadro No. 32 Absorbancia en muestra de cereal hojuelado azucarado al inicio de la experimentación para determinación de ácido fólico

Peso muestra ± 0.0001 g	Absorbancia_{450nm} ± 0.001
1.0052	1.040
1.0100	1.060

Cuadro No. 33 Absorbancia en muestra de cereal hojuelado azucarado al cabo de 20 días en incubación para determinación de ácido fólico

Temperatura (°C)	Peso muestra ± 0.0001 g	Absorbancia_{450nm} ± 0.001
23	1.0089	0.860
	1.0025	0.760
34	1.0053	0.530
	1.0014	0.730
37	1.0243	0.640
	1.0038	0.540
40	1.0097	0.940
	1.0038	0.750

Cuadro No. 34 Absorbancia en muestra de cereal hojuelado azucarado al cabo de 45 días en incubación para determinación de ácido fólico

Temperatura (°C)	Peso muestra ± 0.0001 g	Absorbancia_{450nm} ± 0.001
23	1.0302	1.003
	1.0255	0.926
34	1.0162	0.963
	1.0282	0.907
37	1.0183	0.857
	1.0301	0.973
40	1.0205	0.992
	1.0429	0.959

Cuadro No. 35 Absorbancia en muestra de cereal hojuelado azucarado al cabo de 55 días en incubación para determinación de ácido fólico

Temperatura (°C)	Peso muestra ± 0.0001 g	Absorbancia_{450nm} ± 0.001
23	1.0048	0.873
	1.0040	0.826
34	1.0027	0.833
	1.0085	0.878
37	1.0021	0.719
	1.0040	0.772
40	1.0034	0.760
	1.0042	0.932

Cuadro No. 36 Absorbancia en muestra de cereal hojuelado chocolatado al inicio de la experimentación para determinación de ácido fólico

Peso muestra ± 0.0001 g	Absorbancia_{450nm} ± 0.001
1.0130	0.950
1.0174	1.020

Cuadro No. 37 Absorbancia en muestra de cereal hojuelado chocolatado al cabo de 20 días en incubación para determinación de ácido fólico

Temperatura (°C)	Peso muestra ± 0.0001 g	Absorbancia_{450nm} ± 0.001
23	1.0043	0.630
	1.0081	0.600
34	1.0170	0.540
	1.0066	0.620
37	1.0026	0.700
	1.0055	0.590
40	1.0010	0.730
	1.0116	0.740

Cuadro No. 38 Absorbancia en muestra de cereal hojuelado chocolatado al cabo de 45 días en incubación para determinación de ácido fólico

Temperatura (°C)	Peso muestra ± 0.0001 g	Absorbancia_{450nm} ± 0.001
23	1.0472	0.610
	1.0308	0.623
34	1.0094	0.671
	1.0074	0.799
37	1.0289	0.752
	1.0617	0.715
40	1.0648	0.540
	1.0590	0.593

Cuadro No. 39 Absorbancia en muestra de cereal hojuelado chocolatado al cabo de 55 días en incubación para determinación de ácido fólico

Temperatura (°C)	Peso muestra ± 0.0001 g	Absorbancia_{450nm} ± 0.001
23	1.0066	0.603
	1.0029	0.684
34	1.0058	0.559
	1.0058	0.692
37	1.0051	0.553
	1.0094	0.637
40	1.0017	0.616
	1.0064	0.604

Cuadro No. 40 Absorbancia de estándares para determinación inicial de ácido fólico en muestras

Concentración (µg/l)	Absorbancia_{450nm} ± 0.001
0	1.858
0.75	1.365
1.5	0.820
3	0.451
6	0.266
12	0.156

Cuadro No. 41 Absorbancia de estándares para determinación de ácido fólico en muestras al cabo de 20 días de incubación

Concentración (µg/l)	Absorbancia_{450nm} ± 0.001
0	1.873
0.75	1.501
1.5	0.997
3	0.569
6	0.312
12	0.157

Cuadro No. 42 Absorbancia de estándares para determinación de ácido fólico en muestras al cabo de 45 días de incubación

Concentración (µg/l)	Absorbancia_{450nm} ± 0.001
0	2.371
0.75	1.611
1.5	1.176
3	0.681
6	0.435
12	0.226

Cuadro No. 43 Absorbancia de estándares para determinación de ácido fólico en muestras al cabo de 55 días de incubación

Concentración (µg/l)	Absorbancia_{450nm} ± 0.001
0	2.666
0.75	1.914
1.5	1.316
3	0.758
6	0.415
12	0.233

Cuadro No. 44 Absorbancia para determinación de hierro de partículas finas depositadas en cereal hojuelado azucarado

Temperatura (°C)	Peso muestra ± 0.0001 g	Absorbancia_{500nm} ± 0.001		
23	1.0055	0.144	0.144	0.143
34	1.0090	0.128	0.128	0.128
37	1.0065	0.152	0.152	0.150
44	1.0852	0.149	0.153	0.152

Cuadro No. 45 Absorbancia de estándares para determinación de hierro de partículas finas depositadas en cereal hojuelado azucarado

Estándar (µg/l)	Absorbancia_{500nm} ± 0.001		
0.50	0.040	0.040	0.040
1.00	0.082	0.081	0.081
2.00	0.157	0.157	0.157
2.51	0.199	0.200	0.198
5.01	0.393	0.392	0.393
Agua	0.001	0.000	0.001
Blanco	0.002	0.003	0.003

Cuadro No. 46 Absorbancia para determinación de ácido fólico en partículas finas depositadas en cereal hojuelado azucarado

Temperatura (°C)	Peso muestra ± 0.0001 g	Absorbancia_{450nm} ± 0.001
23	1.0274	0.405
34	1.0357	0.412
37	1.0275	0.545
44	1.0393	0.660

Cuadro No. 47 Absorbancia de estándares para determinación de ácido fólico de partículas finas depositadas en cereal hojuelado azucarado

Concentración (µg/l)	Absorbancia_{450nm} ± 0.001
0	1.829
0.75	1.550
1.5	0.826
3	0.460
6	0.196
12	0.154

Cuadro No. 48 Absorbancia para determinación de hierro de partículas finas depositadas en cereal hojuelado chocolatado

Temperatura (°C)	Peso muestra ± 0.0001 g	Absorbancia_{500nm} ± 0.001		
23	1.0079	0.299	0.298	0.298
34	1.0070	0.283	0.283	0.283
37	1.0045	0.250	0.251	0.251
44	1.0090	0.202	0.202	0.203

Cuadro No. 49 Absorbancia de estándares para determinación de hierro de partículas finas depositadas en cereal hojuelado chocolatado

Estándar (µg/l)	Absorbancia_{500nm} ± 0.001		
0.50	0.040	0.040	0.040
1.00	0.082	0.081	0.081
2.00	0.157	0.157	0.157
2.51	0.199	0.200	0.198
5.01	0.393	0.392	0.393
Agua	0.001	0.000	0.001
Blanco	0.002	0.003	0.003

Cuadro No. 50 Absorbancia para determinación de ácido fólico en partículas finas depositadas en cereal hojuelado chocolatado

Temperatura (°C)	Peso muestra ± 0.0001 g	Absorbancia_{450nm} ± 0.001
23	1.0144	0.488
34	1.0175	0.474
37	1.0395	0.516
44	1.0067	0.558

Cuadro No. 51 Absorbancia de estándares para determinación de ácido fólico de partículas finas depositadas en cereal hojuelado chocolatado

Concentración (µg/l)	Absorbancia_{450nm} ± 0.001
0	2.135
0.75	1.449
1.5	0.908
3	0.563
6	0.301
12	0.193

B. Cálculos de muestra

Cálculo No. 1 Determinación de concentración de hierro en muestra analizada

Luego de graficar los valores de Absorbancia contra Concentración, colocando concentración en mg/L en el eje “x”, y absorbancia en el eje “y”, se obtiene la ecuación de la recta, donde:

$$y = mx + b$$

Donde “y” es la absorbancia, y “x”, la concentración.

Para el análisis de hierro de las muestras en incubación a temperaturas de 37°C y 44°C, luego de 40 días:

$$y = 0.0755x + 0.0048$$

$$0.3497 = 0.0755x + 0.0048$$

$$x = 4.567 \text{ mg/L}$$

$$\text{Hierro} \left(\frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right) = \frac{[\text{Fe}] \times 5}{m}$$

Donde m es el peso en gramos de la muestra.

$$\text{Hierro} \left(\frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right) = \frac{4.567 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 5}{1.0025} = 22.79 \frac{\text{mg}}{100\text{g}}$$

Cálculo No. 2 Determinación de porcentaje de absorbancia en muestra en análisis de ácido fólico

$$\frac{\text{absorbancia de muestra}}{\text{absorbancia cero estándar}} \times 100 = \% \text{ de absorbancia}$$

Para porcentaje de absorbancia de muestra de cereal hojuelado chocolatado luego de 20 días almacenado a 23°C:

$$\frac{0.630}{1.873} \times 100 = 33.64\%$$

Cálculo No. 3 Determinación de concentración de ácido fólico en muestras

Luego de graficar Porcentaje de absorbancia contra Concentración en $\mu\text{g/l}$ de los estándares, se obtiene concentración según el porcentaje de absorbancia calculado por medio del Cálculo No. 2.

El factor de dilución es de 1000, por lo que:

$$\text{Concentración} \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}} \right) = \text{Concentración leída} \times \text{factor de dilución}$$

$$2.83 \times 1000 = 2830 \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}} \right)$$

Cálculo No. 4 Determinación de ecuación de cinética de reacción de degradación de la vitamina de primer orden

Para cereal hojuelado chocolatado almacenado a 23°C en lapso de cero a 20 días:

$$\frac{dC}{dt} = -kC$$

$$\int_{C_0}^C \frac{dC}{C} = -k \int_{t_0}^t dt$$

$$\ln(C) - \ln(C_0) = -kt$$

$$\ln(C) = -kt + \ln(C_0)$$

Donde C es la concentración en el tiempo t ; k es la constante cinética de reacción, y C_0 es la concentración inicial (en tiempo 0).

La constante cinética es la pendiente que resulta de la línea de tendencia obtenida al graficar el logaritmo natural de las concentraciones contra el tiempo en días. Se determinó usando hoja de cálculo.

A continuación, se presenta un ejemplo de cálculo de pendiente:

$$m = \frac{\Delta y}{\Delta x}$$

$$k = \frac{3.224 - 3.215}{0 - 20} = -0.000411$$

Se obtiene una línea de tendencia, y se utiliza su pendiente como la constante de cinética. Por lo que la ecuación de cinética de reacción sería:

$$\gamma = \frac{dC}{dt} = 2.28 \times 10^{-3} \times C$$

Cálculo No. 5 Determinación de la ecuación del modelo de Arrhenius

$$\begin{aligned} \ln(C) - \ln(C_0) &= -kt \\ 0 - 3.224 &= 2.28 \times 10^{-3} \times t \\ t &= 1413.03 \text{ días} \end{aligned}$$

Luego,

$$\ln(\gamma) = \frac{E_a}{R} \times \frac{1}{T} \approx \ln(t)$$

Por lo tanto, se grafica el logaritmo natural de los tiempos determinados anteriormente, y se grafican contra el inverso de la temperatura T , expresada en Kelvin. Se obtiene la línea de tendencia y su ecuación, en donde y es el logaritmo natural de t .

$$\begin{aligned} y &= 2108.07x + 0.06397 \\ \ln(t) &= 2108.07 \times \left(\frac{1}{T}\right) + 0.06397 \end{aligned}$$

Con ella se puede proyectar para la temperatura deseada, el tiempo hasta llegar a la concentración final C deseada. Para 23°C, hasta que la vitamina se degrade completamente, $C = 0$:

$$\begin{aligned} T &= 23^\circ\text{C} + 273.15 = 296.15 \text{ K} \\ \ln(t) &= 2108.07 \times \left(\frac{1}{296.15}\right) + 0.06397 = 7.182 \\ e^{\ln(t)} &= t \\ e^{7.182} &= 1,315.85 \text{ días} \end{aligned}$$

$$1,315.85 \text{ días} \times \frac{1 \text{ mes}}{30 \text{ días}} = 43.9 \text{ meses}$$

Cálculo No. 6 Concentración promedio de vitamina

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n}$$

$$\bar{x} = \frac{26.903 + 23.070}{2} = 24.99$$

Cálculo No. 7 Desviación estándar de los promedios de concentración

$$\sigma = \sqrt{\frac{26.903^2 + 23.070^2}{2} - 24.99^2} = \pm 2.71$$

Cálculo No. 8 Incertidumbre de multiplicación y división para porcentajes de degradación de vitamina B9 y hierro

$$dz = z \sqrt{\left(\frac{dx}{x}\right)^2 + \left(\frac{dy}{y}\right)^2} \dots$$

$$dz = 37.72 \sqrt{\left(\frac{1.53}{18.00}\right)^2 + \left(\frac{1.58}{11.21}\right)^2} = 37.72 \pm 6.20 \%$$

C. Datos calculados

Cuadro No. 52 Concentración de hierro en muestras de cereal hojuelado azucarado al inicio de la experimentación

Peso muestra ± 0.0001	Concentración (mg/100 g)	Promedio	Des. Estándar
1.0544	16.76 \pm 0.08	17.14	\pm 1.26
1.0524	16.73 \pm 0.08		
1.0127	20.94 \pm 0.10		
1.0209	17.04 \pm 0.08		
1.0305	17.72 \pm 0.08		
1.0295	19.07 \pm 0.09		
1.0312	17.69 \pm 0.08		

Cuadro No. 53 Concentración de hierro en muestra de cereal hojuelado azucarado al cabo de 20 días almacenada a distintas temperaturas

Temperatura (°C)	Peso muestra ± 0.0001 g	Concentración (mg/100 g)	Promedio (mg/100 g)	Des. Estándar
23	1.0082	17.23 \pm 0.08	17.23	\pm 1.75
	1.0071	14.75 \pm 0.07		
34	1.0096	17.25 \pm 0.08	17.09	\pm 0.23
	1.0013	16.93 \pm 0.08		
37	1.0107	14.38 \pm 0.07	14.77	\pm 0.55
	1.0112	15.16 \pm 0.07		
40	1.0099	14.59 \pm 0.07	14.38	\pm 0.30
	1.0184	14.17 \pm 0.07		

Cuadro No. 54 Concentración de hierro en muestra de cereal hojuelado azucarado al cabo de 40 días almacenada a distintas temperaturas

Temperatura (°C)	Peso muestra ± 0.0001 g	Concentración (mg/100 g)	Promedio (mg/100 g)	Des. Estándar
23	1.0045	20.62 ± 0.10	21.47	±1.21
	1.0020	22.33 ± 0.11		
34	1.0019	19.50 ± 0.09	19.27	±0.32
	1.0049	19.05 ± 0.09		
37	1.0033	17.91 ± 0.08	16.68	±1.74
	1.0060	15.45 ± 0.07		
40	1.0035	17.48 ± 0.08	16.06	±2.01
	1.0072	14.65 ± 0.07		

Cuadro No. 55 Concentración de hierro en muestra de cereal hojuelado azucarado al cabo de 55 días almacenada a distintas temperaturas

Temperatura (°C)	Peso muestra ± 0.0001 g	Concentración (mg/100 g)	Promedio (mg/100 g)	Des. Estándar
23	1.0017	16.02 ± 0.08	17.02	±1.41
	1.0039	18.02 ± 0.09		
34	1.0053	14.51 ± 0.07	13.90	±0.86
	1.0095	13.30 ± 0.06		
37	1.0035	22.07 ± 0.10	17.82	±3.01
	1.0047	17.82 ± 0.08		
40	1.0017	23.21 ± 0.11	17.27	±4.20
	1.0043	17.27 ± 0.08		

Cuadro No. 56 Concentración de hierro en muestras de cereal hojuelado chocolatado al inicio de la experimentación

Peso muestra ± 0.0001	Concentración (mg/100 g)	Promedio (mg/100 g)	Des. Estándar
1.0023	23.33 \pm 0.11	25.12	\pm 3.27
1.0089	24.15 \pm 0.11		
1.0075	22.52 \pm 0.11		
1.0138	26.20 \pm 0.12		
1.0108	22.60 \pm 0.11		
1.0109	31.90 \pm 0.15		
1.0020	25.14 \pm 0.12		

Cuadro No. 57 Concentración de hierro en muestra de cereal hojuelado chocolatado al cabo de 20 días almacenada a distintas temperaturas

Temperatura (°C)	Peso muestra ± 0.0001 g	Concentración (mg/100 g)	Promedio (mg/100 g)	Des. Estándar
23	1.0088	26.90 \pm 0.13	24.99	\pm 2.71
	1.0063	23.07 \pm 0.11		
34	1.0034	20.10 \pm 0.09	20.17	\pm 0.10
	1.0053	20.24 \pm 0.10		
37	1.0025	22.78 \pm 0.11	22.52	\pm 0.37
	1.0042	22.26 \pm 0.11		
40	1.0056	22.88 \pm 0.11	22.71	\pm 0.24
	1.0012	22.54 \pm 0.11		

Cuadro No. 58 Concentración de hierro en muestra de cereal hojuelado chocolatado o al cabo de 40 días almacenada a distintas temperaturas

Temperatura (°C)	Peso muestra ± 0.0001 g	Concentración (mg/100 g)	Promedio (mg/100 g)	Des. Estándar
23	1.0047	26.88 ± 0.13	23.86	±4.28
	1.0049	20.83 ± 0.10		
34	1.0085	28.41 ± 0.13	28.23	±0.25
	1.0010	28.05 ± 0.13		
37	1.0040	21.11 ± 0.10	21.62	±0.73
	1.0030	22.13 ± 0.10		
40	1.0050	26.34 ± 0.12	22.14	±5.93
	1.0098	17.95 ± 0.08		

Cuadro No. 59 Concentración de hierro en muestra de cereal hojuelado chocolatado al cabo de 55 días almacenada a distintas temperaturas

Temperatura (°C)	Peso muestra ± 0.0001 g	Concentración (mg/100 g)	Promedio (mg/100 g)	Des. Estándar
23	1.0038	23.57 ± 0.11	22.18	±1.97
	1.0030	20.78 ± 0.10		
34	1.0039	19.90 ± 0.09	17.59	±3.26
	1.0043	15.29 ± 0.07		
37	1.0003	26.23 ± 0.12	25.67	±0.80
	1.0014	25.10 ± 0.12		
40	1.0080	31.58 ± 0.15	30.57	±1.43
	1.0082	29.55 ± 0.14		

Cuadro No. 60 Concentración de ácido fólico en muestras de cereal hojuelado azucarado al inicio de la experimentación

Peso muestra ± 0.0001	Concentración ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Promedio ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Des. Estándar
1.0052	4820 ± 19	4875	± 78
1.0100	4930 ± 19		

Cuadro No. 61 Concentración de ácido fólico en muestra de cereal hojuelado azucarado al cabo de 20 días almacenada a distintas temperaturas

Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Peso muestra ± 0.0001 g	Concentración ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Promedio ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Des. Estándar
23	1.0089	3920 ± 15	3680	± 339
	1.0025	3440 ± 13		
34	1.0053	2350 ± 9	2825	± 672
	1.0014	3300 ± 13		
37	1.0243	2870 ± 11	2635	± 332
	1.0038	2400 ± 9		
40	1.0097	4300 ± 17	3845	± 643
	1.0038	3390 ± 13		

Cuadro No. 62 Concentración de ácido fólico en muestra de cereal hojuelado azucarado al cabo de 45 días almacenada a distintas temperaturas

Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Peso muestra ± 0.0001 g	Concentración ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Promedio ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Des. Estándar
23	1.0302	1880 ± 7	1985	± 148
	1.0255	2090 ± 8		
34	1.0162	1990 ± 8	2065	± 106
	1.0282	2140 ± 8		
37	1.0183	2290 ± 9	2125	± 233
	1.0301	1960 ± 8		
40	1.0205	1910 ± 7	1955	± 64
	1.0429	2000 ± 8		

Cuadro No. 63 Concentración de ácido fólico en muestra de cereal hojuelado azucarado al cabo de 55 días almacenada a distintas temperaturas

Temperatura (°C)	Peso muestra ± 0.0001 g	Concentración (µg/kg)	Promedio (µg/kg)	Des. Estándar
23	1.0048	2560 ± 10	2645	±120
	1.0040	2730 ± 11		
34	1.0027	2700 ± 10	2620	±113
	1.0085	2540 ± 10		
37	1.0021	3190 ± 12	3065	±177
	1.0040	2940 ± 11		
40	1.0034	3000 ± 12	2700	±424
	1.0042	2400 ± 9		

Cuadro No. 64 Concentración de ácido fólico en muestras de cereal hojuelado chocolatado al inicio de la experimentación

Peso muestra ± 0.0001	Concentración (µg/kg)	Promedio (µg/kg)	Des. Estándar
1.0130	4390 ± 17	4560	± 240
1.0174	4730 ± 18		

Cuadro No. 65 Concentración de ácido fólico en muestra de cereal hojuelado chocolatado al cabo de 20 días almacenada a distintas temperaturas

Temperatura (°C)	Peso muestra ± 0.0001 g	Concentración (µg/kg)	Promedio (µg/kg)	Des. Estándar
23	1.0043	2830 ± 11	2755	±106
	1.0081	2680 ± 10		
34	1.0170	2400 ± 9	2590	±269
	1.0066	2780 ± 11		
37	1.0026	3140 ± 12	2890	±354
	1.0055	2640 ± 10		
40	1.0010	3300 ± 13	3325	±35
	1.0116	3350 ± 13		

Cuadro No. 66 Concentración de ácido fólico en muestra de cereal hojuelado chocolatado al cabo de 45 días almacenada a distintas temperaturas

Temperatura (°C)	Peso muestra ± 0.0001 g	Concentración (µg/kg)	Promedio (µg/kg)	Des. Estándar
23	1.0472	3490 ± 13	3440	±71
	1.0308	3390 ± 13		
34	1.0094	3080 ± 12	2785	±417
	1.0074	2490 ± 10		
37	1.0289	2680 ± 10	2760	±113
	1.0617	2840 ± 11		
40	1.0648	4190 ± 16	3915	±389
	1.0590	3640 ± 14		

Cuadro No. 67 Concentración de ácido fólico en muestra de cereal hojuelado chocolatado al cabo de 55 días almacenada a distintas temperaturas

Temperatura (°C)	Peso muestra ± 0.0001 g	Concentración (µg/kg)	Promedio (µg/kg)	Des. Estándar
23	1.0066	3890 ± 15	3635	±361
	1.0029	3380 ± 13		
34	1.0058	4240 ± 16	3785	±643
	1.0058	3330 ± 13		
37	1.0051	4290 ± 17	3975	±445
	1.0094	3660 ± 14		
40	1.0017	3800 ± 15	3840	±57
	1.0064	3880 ± 15		

Cuadro No. 68 Logaritmo natural de concentración promedio de hierro en muestra de cereal hojuelado azucarado a través del tiempo, almacenada a diferentes temperaturas

Días	Temperatura °C			
	23°C	34°C	37°C	44°C
0	2.89	2.89	2.89	2.89
20	2.85	2.84	2.69	2.67
40	3.07	2.96	2.81	2.77
55	2.83	2.63	2.88	2.85

Cuadro No. 69 Logaritmo natural de concentración promedio de hierro en muestra de cereal hojuelado chocolatado a través del tiempo, almacenada a diferentes temperaturas

	Temperatura °C			
Días	23°C	34°C	37°C	44°C
0	3.22	3.22	3.22	3.22
20	3.22	3.00	3.11	3.12
40	3.16	3.34	3.07	3.08
55	3.10	2.86	3.24	3.41

Cuadro No. 70 Logaritmo natural de concentración promedio de ácido fólico en muestra de cereal hojuelado azucarado a través del tiempo, almacenada a diferentes temperaturas

	Temperatura °C			
Días	23°C	34°C	37°C	44°C
0	8.49	8.49	8.49	8.49
20	8.21	7.93	7.87	8.25
40	7.59	7.63	7.66	7.58
55	7.88	7.87	8.03	7.89

Cuadro No. 71 Logaritmo natural de concentración promedio de ácido fólico en muestra de cereal hojuelado chocolatado a través del tiempo, almacenada a diferentes temperaturas.

	Temperatura °C			
Días	23°C	34°C	37°C	44°C
0	8.43	8.43	8.43	8.43
20	7.92	7.86	7.97	8.11
40	8.14	7.82	7.92	8.20
55	8.13	8.11	8.21	8.25

Cuadro No. 72 Parámetros cinéticos de ecuación de reacción de degradación de hierro en muestras de cereal hojuelado azucarado

T(K)	1/T (1/K)	k (1/día)	t (día)	Ln(t)
296.15	3.38E-03	-9.71E-04	487.37	6.19
307.15	3.26E-03	-3.24E-03	145.85	4.98
317.15	3.15E-03	-2.53E-04	1870.22	7.53

Cuadro No. 73 Parámetros cinéticos de ecuación de reacción de degradación de hierro en muestras de cereal hojuelado chocolatado

T(K)	1/T (1/K)	k (1/día)	t (día)	Ln(t)
296.15	3.38E-03	-2.28E-03	289.94	5.67
307.15	3.26E-03	-3.69E-03	179.16	5.19
317.15	3.15E-03	-3.61E-03	183.28	5.21

Cuadro No. 74 Parámetros cinéticos de ecuación de reacción de degradación de ácido fólico en muestras de cereal hojuelado chocolatado

T(K)	1/T (1/K)	k (1/día)	t (día)	Ln(t)
296.15	3.38E-03	-2.25E-02	270.51	5.60
307.15	3.26E-03	-2.15E-02	283.17	5.65
317.15	3.15E-03	-2.08E-02	292.10	5.68

Cuadro No. 75 Parámetros cinéticos de ecuación de reacción de degradación de ácido fólico en muestras de cereal hojuelado chocolatado

T(K)	1/T (1/K)	k (1/día)	t (día)	Ln(t)
296.15	3.38E-03	-1.26E-02	276.24	5.62
307.15	3.26E-03	-1.51E-02	230.24	5.44
317.15	3.15E-03	-1.26E-02	277.21	5.62

Cuadro No. 76 Concentración de hierro en partículas finas depositadas en cereal hojuelado azucarado

Temperatura (°C)	Peso muestra ± 0.0001 g	Concentración (mg/100 g)
23	1.0055	9.16 \pm 0.11
34	1.0090	8.13 \pm 0.10
37	1.0065	9.64 \pm 0.12
44	1.0852	8.94 \pm 0.11

Cuadro No. 77 Concentración de ácido fólico en partículas finas depositas en cereal hojuelado azucarado

Temperatura (°C)	Peso muestra ± 0.0001 g	Concentración (± 1 μg/kg)
23	1.0274	3140
34	1.0357	3111
37	1.0275	2596
44	1.0393	2238

Cuadro No. 78 Concentración de hierro en partículas finas depositadas en cereal hojuelado chocolado

Temperatura (°C)	Peso muestra ± 0.0001 g	Concentración (mg/100 g)
23	1.0079	18.97 \pm 0.11
34	1.0070	18.01 \pm 0.10
37	1.0045	16.00 \pm 0.09
44	1.0090	12.86 \pm 0.07

Cuadro No. 79 Concentración de ácido fólico en partículas finas depositas en cereal hojuelado chocolado

Temperatura (°C)	Peso muestra ± 0.0001 g	Concentración (± 1 μg/kg)
23	1.0144	3710
34	1.0175	3938
37	1.0395	3341
44	1.0067	2949

D. Metodología propuesta

1. Manejo de premezcla vitamínica. La premezcla vitamínica se debe almacenar en un empaque oscuro, el cual no permita el paso de la luz a través de su superficie. También debe estar cerrado herméticamente, para evitar la interacción de las vitaminas y micronutrientes con el ambiente, y así evitar su degradación en el tiempo de almacenaje. Es recomendable que, una vez abierta la bolsa de premezcla vitamínica, esta se utilice en su totalidad. La premezcla vitamínica debe ser almacenada en un cuarto a temperatura ambiente (20-23°C).

2. Pruebas de adición de premezcla vitamínica al jarabe de recubrimiento. Se recomienda realizar pruebas previas de adición de la premezcla vitamínica al jarabe de recubrimiento, con el objetivo de determinar la metodología correcta de adición para lograr una buena homogenización de la premezcla en el jarabe. Medir factores tales como: velocidad de agitación, tiempo de agitación, modo de adición (si se agrega la totalidad de la premezcla, o se hace por partes), temperatura del jarabe, temperatura del ambiente. Una vez se determine la metodología correcta para homogenizar la premezcla en el jarabe, continuar con la aplicación del jarabe de recubrimiento por aspersión.

Se recomienda evaluar la adherencia de la cobertura a la hojuela, debido a que, si esta no fuera efectiva, las vitaminas y micronutrientes estarán propensos a perderse.

3. Pruebas de aplicación de la premezcla vitamínica en etapa de recubrimiento (para azucarado o chocolatado)

- a. Agregar la premezcla vitamínica de acuerdo a las condiciones establecidas en el paso B, para tres lotes de cereal hojuelado (a modo de llevar a cabo la experimentación en triplicado).
- b. Agregar el jarabe por aspersión a las hojuelas.
- c. Empacar el cereal en presentación de 30 gramos.
- d. Tomar 20, como mínimo, bolsas de producto terminado de presentación de 30 gramos. Posteriormente, las muestras serán almacenadas en cuatro cabinas de temperatura controlada (23°C, 34°C, 37°C y 44°C), por lo que para cada temperatura a evaluar debe haber, al menos, cinco bolsas de producto terminado, debidamente selladas. Esto es para poder observar más claramente el comportamiento de la cinética de degradación de la vitamina a través del tiempo.
- e. Realizar el paso 4 para bolsas de producto terminado de cereal hojuelado producido con el proceso usual de fabricación (cuando la premezcla se agrega en las harinas, antes de extrusión).
- f. Tomar cuatro bolsas de producto terminado de la prueba para la determinación de hierro y ácido fólico en el tiempo 0. Tomar, también, cuatro bolsas de producto terminado del proceso de fabricación usual, fabricados en el mismo día. Introducir las demás muestras, debidamente identificadas, en las cabinas de temperatura controlada. Debe haber ocho muestras, como mínimo, en cada cabina (cuatro de la prueba, y cuatro del proceso usual).

- g. Determinar el hierro presente en las muestras que no fueron introducidas en las cabinas, por medio del Método UV/VIS 14.011 de la AOAC, descrito a continuación (*paso 9*). Para cada bolsa de muestra, hacer el análisis en triplicado, para tener una mayor validez estadística.
- h. En el caso de que se analice la hojuela chocolatada, analizar, primero, la hojuela, libre de premezcla, utilizando la misma metodología. Hacerlo en triplicado, y determinar si la cocoa afecta negativamente en la lectura, mostrando valores inconsistentes. En el caso de que se obtengan valores consistentes, utilizar ese valor como *blanco*, para restarlo de la concentración de hierro que se obtenga en el análisis de hojuelas chocolatadas.
- i. A continuación, se describe el Método UV/VIS 14.011 de la AOAC. Para cada cabina de temperatura, extraer una bolsa de muestra de la prueba de aplicación, y una bolsa de muestra de cereal del proceso normal. Realizar el análisis en triplicado para cada una de las bolsas. Es un total de ocho bolsas (24 análisis en total).

1) Digestión Seca

- a) Limpiar las cápsulas de porcelana e identificarlas con marcador resistente a altas temperaturas.
- b) Secar las cápsulas de porcelana a 110°C por 2 horas y dejar enfriar e desecadora.
- c) Abrir la bolsa de la muestra, vaciar totalmente su contenido en un recipiente y moler o licuar aproximadamente 100 g de cereal en licuadora.
- d) Pesar por duplicado 1 g de cereal molido. Registrar los pesos con precisión de 3 decimales (0.001 g). Retener el resto de la muestra, sellada.
- e) Colocar los crisoles en mufla y calentar a 600°C durante 8 horas.
- f) Apagar mufla y esperar a que la temperatura haya descendido.
- g) La digestión está completa si se obtiene una ceniza de color blanco o grisáceo. De no ser así, continuar calentamiento hasta que se obtenga una ceniza con esas características.

2) Preparación de las soluciones de ceniza

- a) Agregar 5 mL de HCl concentrado a los crisoles. Verter e ácido permitiendo que esté en contacto con las paredes del crisol.
- b) Evaporar el ácido calentando los crisoles en una estufa a baja temperatura (aprox. 180°C), evitando que la solución hierva.
- c) Disolver el residuo restante agregando 2 mL de HCl concentrado y calentar por varios minutos (aproximadamente 12).
- d) Dejar enfriar el crisol y transferir cuantitativamente en un balón aforado de 50 mL. Realizar lavados de crisol con agua destilada y aforar el balón con agua destilada.

3) Determinación de Hierro en las soluciones estándares y las muestras

- a) Preparar un blanco con agua desmineralizada.

- b) Agregar 20.0 mL (con pipeta volumétrica) de las muestras en un balón aforado de 50 mL y agregar 4.0 mL de Cloruro de Hidroxilamonio, agitar bien y dejar reposar por 5 minutos.
- c) Agregar 5.0 mL de Buffer de Acetatos y 4.0 mL de 1,10-fenantrolina a cada balón. Agitar bien y el color se empezará a desarrollar.
- d) Dejar reposar por 30 minutos y luego aforar utilizando agua desionizada. Encender el espectrofotómetro UV/VIS al menos 20 minutos antes de utilizarlo.
- e) Ajustar la longitud de onda a 500 nm y colocarlo en modo de *Absorbancia*.
- f) Leer absorbancia para agua desionizada y registrarla.
- g) Leer absorbancia para el blanco y registrar la misma.
- h) Realizar 3 lavados de cubeta a cada muestra previo a medir su absorbancia.
- i) Leer las absorbancias de las soluciones estándar y de las muestras. (Realizar 3 lecturas por cada muestra y obtener promedio).
- j) A las absorbancias de las muestras y estándares restarles la absorbancia obtenido para el blanco realizado.

4) Interpretación de resultados

- a) Tabular resultados obtenidos por los estándares en el sistema de cómputo, de donde se obtiene una curva, la cual tiene en el eje “x” la concentración y en el “y” la absorbancia.
- b) Utilizando la ecuación de la recta obtenida, se determinan las concentraciones de hierro soluble en las muestras.

La concentración de hierro soluble en las muestras de cereal se determina utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Hierro} \left(\frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right) = \frac{[\text{Fe}] \times 5}{m}$$

- j. Utilizando la muestra molida restante, determinar el ácido fólico utilizando Método ELISA de RIDASCREEN® FAST Foläsure, descrito a continuación. En caso de que la muestra molida no se pueda retener, se debe tener bolsas de producto terminado independientes para el análisis de ácido fólico. Llevar a cabo el análisis en triplicado, para tener una mayor validez estadística.

- 1) Pesar 5 g de muestra molida y agregarla a un contenedor adecuado. Diluir con aproximadamente 50 mL de agua destilada y llevar a 100 mL con agua aforada.
- 2) Agitar hasta obtener una disolución completa.
- 3) Calentar muestra durante 3 minutos a 100°C.
- 4) Enfriar muestra con hielo, hasta alcanzar temperatura ambiental (20-25°C), mientras se agita.

- 5) Centrifugar 4000 g por 10 minutos a 15°C. Alternativamente, se puede filtrar.
- 6) Remover sobrenadante. Si el sobrenadante se encuentra turbio, filtrar con papel filtro.
- 7) Diluir el sobrenadante o filtrado con una relación 1:5 con la solución buffer de muestra. (Por ejemplo, por 0.1 mL de sobrenadante, 0.4 mL de solución buffer de muestra).
- 8) Insertar suficientes pocillos en el soporte de pocillos para todos los estándares y muestras a determinar. Anotar posiciones de estándares y muestras.
- 9) Agregar 50 µl de cada estándar o solución muestra en pocillos separados. Utilizar pipetas distintas para cada muestra.
- 10) Agregar 50 µl de solución de enzima conjugada del kit a cada pocillo. Mezclar suavemente moviendo el recipiente. Incubar por 15 min a temperatura ambiente.
- 11) Verter el líquido de los pocillos, voltear el soporte y sacudirlo tres veces contra papel absorbente, para asegurar la remoción del líquido.
- 12) Utilizando una pipeta multicanal, llenar los pocillos con agua destilada (aprox. 250 µl por pocillo).
- 13) Vaciar los pocillos nuevamente, y remover el líquido remanente. Repetir el lavado dos veces más.
- 14) Agregar 100 µl de solución sustrato del kit a cada pocillo. Mezclar suavemente moviendo manualmente el soporte e incubar por 10 minutos a temperatura ambiente, en ausencia de luz.
- 15) Agregar 100 µl de solución *stop* del kit a cada pocillo. Mezclar manualmente.
- 16) Medir absorbancia a 450 nm luego de 10 minutos.
- 17) Se determina el porcentaje de absorbancia de la siguiente manera:

$$\frac{\text{absorbancia de muestra}}{\text{absorbancia cero estándar}} \times 100 = \% \text{ de absorbancia}$$

- k. Calcular el coeficiente de variación de la concentración en los cereales hojuelados estudiados para determinar si el mezclado de la premezcla en el jarabe de recubrimiento es efectivo.
- l. Las otras muestras, las cuales se encuentran en las cabinas de temperatura controlada, deben permanecer almacenadas por 15 – 20 días. No debe haber variaciones de temperatura en las cabinas.
- m. Luego de un tiempo aproximado de 20 días, repetir los pasos 9 y 10, para las muestras de la prueba y las muestras del cereal obtenido por medio del proceso usual de aplicación de premezcla vitamínica.
- n. Con los datos obtenidos de la concentración, para cada vitamina/micronutriente, se aplicará el modelo de Arrhenius para determinar la cinética de degradación y proyectar la cantidad de hierro y ácido fólico en los cereales al cabo de su tiempo de vida de anaquel.

- o. Determinar si el cambio en el proceso es favorable; es decir, si mostraba una mayor cantidad de vitamina presente en el cereal al cabo del tiempo.

E. Registro gráfico de análisis de hierro y ácido fólico a muestras

Ilustración No. 9 Lectura de absorbancia en análisis de hierro



Ilustración No. 10 Análisis de absorbancia en análisis de ácido fólico



Ilustración No. 11 Partículas depositadas al fondo bolsa de almacenaje de muestra



Ilustración No. 12. Partículas finas de color verdoso encontradas en muestras

