

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades

**FORTIFICACIÓN DE HARINA DE MAÍZ  
NIXTAMALIZADA CON VITAMINAS A Y C**

Elaborado por: Ana Regina Baldizón

Guatemala, 2000



FORTIFICACIÓN DE HARINA DE MAÍZ  
NIXTAMALIZADA CON VITAMINAS A Y C

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades

**FORTIFICACIÓN DE HARINA DE MAÍZ  
NIXTAMALIZADA CON VITAMINAS A Y C**

ANA REGINA BALDIZÓN ROJAS

Trabajo de investigación presentado para optar al grado académico de  
Licenciado en Ciencia de Los Alimentos

Guatemala, 2000

Vo. Bo. :

(f) \_\_\_\_\_  
Doctor Ricardo Bressani

Tribunal:

(f) \_\_\_\_\_  
Doctor Ricardo Bressani

(f) \_\_\_\_\_  
Licenciada Patricia de Palomo

(f) \_\_\_\_\_  
Licenciada Ana Silvia Colmenares

Fecha de aprobación: 19 de enero de 2000

## ÍNDICE

	Página
PREFACIO.....	vi
LISTA DE CUADROS.....	viii
LISTA DE GRÁFICOS.....	x
RESUMEN.....	xi
Capítulos	
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	4
III. JUSTIFICACIÓN.....	22
IV. OBJETIVOS.....	23
V. HIPÓTESIS.....	24
VI. MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
VII. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	28
VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	30
IX. CONCLUSIONES.....	52
X. RECOMENDACIONES.....	53
XI. BIBLIOGRAFÍA.....	55
XII. APÉNDICE A.....	57
XIII. APÉNDICE B.....	73
XIV. APÉNDICE C.....	82

## **PREFACIO**

Este trabajo representa el esfuerzo realizado durante varios años de estudio y la satisfacción de la culminación de un período importante en mi vida.

El tiempo dedicado a esta tesis conllevó varios meses y largas horas de laboratorio que transcurrieron con el mayor entusiasmo y dedicación.

Considero que la información que en este trabajo se presenta puede ser de mucha utilidad para proyectos futuros en el enriquecimiento de los alimentos y contribuir en la mejora de la dieta de nuestros habitantes.

Quiero agradecer a Dios primero por ser la razón fundamental en mi vida, a mis padres por su apoyo, sabiduría y dirección durante mi carrera, a mis hermanos y abuelos por compartir mis logros y metas.

## LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
1. Descripción general para producción de harina de maíz.....	7
2. Regulaciones establecidas por el gobierno de México para harina de maíz....	8
3. Análisis de vitaminas en los alimentos.....	10
4. Vitaminas por 100gr. de harina de maíz.....	12
5. Recomendaciones diarias de vitaminas.....	25
6. Recuperación de vitamina C y vitamina A por gramo de harina.....	30
7. Mg de vit. C/gr de muestra en productos hechos a base de harina de maíz fortificada (0 días de almacenamiento).....	32
8. Recuperación de vitamina C en el proceso de elaboración de producto, % (0 días de almacenamiento).....	32
9. Mg de vit. C/gr de muestra en productos hechos a base de harina de maíz fortificada (45 días de almacenamiento).....	34
10. Recuperación de vitamina C en el proceso de elaboración de producto, % (0 días de almacenamiento).....	34
11. Mg de vit. C/gr de muestra en productos hechos a base de harina de maíz fortificada (90 días de almacenamiento).....	34
12. Recuperación de vitamina C en el proceso de elaboración de producto, % (90 días de almacenamiento).....	35
13. Pérdida de vitamina C durante período de almacenamiento.....	36
14. Mg de KOH para neutralizar 100g de harina seca.....	38
15. Mg de vit. C/gr de muestra en productos hechos a partir de harina de maíz extra fortificada. (0.75g vit. C/g. Muestra).....	41
16. Recuperación de vit. C en el proceso de elaboración de producto, % (extra fortificación).....	41
17. mg de vitamina C/g de harina durante período de almacenamiento.....	42
18. Recuperación de vitamina A en la harina durante el período de almacenamiento.....	44
19. Microgramos retinol/gr de muestra durante período de almacenamiento....	44
20. Recuperaciones de vitamina A debido a proceso de cocción.....	45
21. Resultados de evaluación sensorial para un nivel de significancia del 5% (0 días de almacenamiento).....	47
22. Resultados de evaluación sensorial para un nivel de significancia del 5% (45 días de almacenamiento).....	48
23. Resultados de evaluación sensorial para un nivel de significancia del 5%	

(90 días de almacenamiento).....	49
24. Resultados de evaluación sensorial de productos hechos a base de harina de maíz durante período de almacenamiento.....	50
25. Porcentaje de preferencia para productos fortificados.....	50

## LISTA DE GRÁFICOS

Figura		Página
1.	Descripción general para producción de harina de maíz.....	5
2.	Diagrama de trabajo.....	28

## RESUMEN

Este estudio tuvo como objetivo evaluar la estabilidad de las vitaminas A y C agregadas a una harina nixtamalizada de maíz de pH 5 y pH 7, que fueron almacenadas a temperatura ambiente en la ciudad de Guatemala por 90 días. Así mismo se midió la estabilidad de las dos vitaminas en tres alimentos preparados a partir de harina nixtamalizada de maíz, tortilla, tamalito y atol. Estos alimentos presentan tres métodos de cocción en su preparación: alta temperatura y corto tiempo para la tortilla, alta temperatura y tiempo prolongado para el tamalito y alta temperatura y tiempo intermedio utilizando un medio líquido para el atol.

Los resultados mostraron una recuperación de vitamina C de 64.66 % para la harina a pH 5 y de 67.84% para la harina a pH 7 durante los 3 meses de almacenamiento.

La recuperación de vitamina C después de ser sometida la harina al proceso de cocción se encuentra entre el 26-39% para el atol, entre 44-57% para los tamalitos y entre 55-64% para la tortilla.

**La recuperación de vitamina A en las harinas (pH 5 y pH 7) fue de 42.2 % a los 45 días y de 25.4% a los 90 días en base al contenido original adicionado.**

La recuperación de vitamina A luego del proceso de cocción para tamalito y tortilla fue del 78% y nula para el atol.

Posteriormente se llevó a cabo una evaluación sensorial de preferencia pareada para determinar la aceptabilidad de los productos fortificados. Se encontró que no existe desagrado por los productos hechos con harina fortificada ya que existe una preferencia algunos de estos productos con respecto a productos hechos con harina control.

## I. INTRODUCCIÓN

El maíz tiene una importancia fundamental en la cultura de Guatemala ya que fue y sigue siendo un alimento básico para sus habitantes. El desarrollo de una tecnología sofisticada y una industria relacionada con el maíz, han creado diversos productos tales como bebidas fermentadas, mantequillas, jarabes alimenticios y harinas. La región centroamericana representa aproximadamente un mercado de 30 millones de habitantes, los cuales utilizan el maíz para elaborar diferentes alimentos.

La población guatemalteca consume el maíz en forma de tortilla siendo más alto el consumo en el área rural que en el área urbana. Las tortillas contribuyen de un 39 a un 65% de las calorías ingeridas diariamente y de un 27 a un 53% de las proteínas ingeridas, especialmente en el área rural de los países de Centroamérica. También proveen alguna cantidad de calcio, vitamina B<sub>1</sub> y niacina.

La transformación del maíz en sus diferentes formas alimenticias a un nivel doméstico, trae consigo un proceso que comúnmente requiere de una ardua labor, largo tiempo de preparación y grandes cantidades de agua y energía. Por lo que actualmente la demanda de la harina de maíz industrial se ha incrementado. Según estudios hechos por “Gruma”, compañía mexicana que fabrica tortillas a base de harina de maíz, en Centro América hay un consumo de 1 millón de toneladas anuales de harina de maíz nixtamalizada, lo que equivale al 12% de los productos hechos a base de maíz. Su demanda se debe a que provee beneficios al consumidor tales como conveniencia, disponibilidad, comodidad y una calidad estable.

En un estudio realizado por “Maseca”, compañía que fabrica harina de maíz nixtamalizada, se encontró que con un kilo de maíz se obtenían hasta 1.4 kilos de tortilla por el método tradicional, mientras que con la harina se procesaron entre 1.55 y 1.65 kilos de tortilla por kilo de maíz. Es por eso que muchas empresas prefieren utilizar la harina de maíz para fabricar sus tortillas, ya que es más rápido, eficaz y económico.

En México y algunos países de Centro América, la transformación del maíz a masa y luego a productos comestibles como las tortillas, tamales, tacos y otros alimentos se consiguen mediante el cocimiento del grano en agua a la cual se le agrega cal. Esta

operación se le conoce como nixtamalización (palabra del náhuatl, derivada de nextli que significa cenizas o cenizas de cal y tamalli, masa de maíz). El proceso industrial que se practica hoy en día es una adaptación del proceso tradicional hecho comúnmente en los hogares de la población del área rural de estos países.

Sin embargo la conversión del maíz a masa y luego a tortilla, es un proceso afectado por el tipo de maíz usado, el agua que se utiliza, la nixtamalización, calor, lavado, tiempo de remojo, molienda y el cocimiento final. Todos estos factores inducen cambios en la estructura del grano, las características funcionales, la composición química y el valor nutricional.

Los cambios en tiamina, riboflavina, niacina y carotenos durante la nixtamalización son considerables. Por ejemplo, la pérdida de tiamina varía de un 48.9% a 68.8% en maíz blanco y de 54.2% a 64.9% en maíz amarillo.(9) Por consiguiente el contenido de vitaminas (Tiamina, Riboflavina y niacina) en una ración de 100 gr. de harina de maíz equivale únicamente a una ración muy pequeña que puede considerarse casi nula.

Las vitaminas son el tercer grupo de nutrientes indispensables para nuestro organismo. La mayoría de ellas son sintetizadas en las plantas o en las bacterias, pero no en el organismo animal. Generalmente actúan como catalizadores, que combinándose con proteínas, crean una actividad metabólica enzimática que producen cientos de reacciones químicas importantes a través del cuerpo. Las vitaminas del complejo B, son frágiles y solubles en agua, siendo algunas importantes para el metabolismo de carbohidratos, entre ellas están la tiamina, niacina y riboflavina. Otra vitamina hidrosoluble es la vitamina C que se encuentra en alimentos de origen vegetal, por lo que el consumo rutinario de frutas y verduras es indispensable ya que por ser hidrosoluble, el hombre la almacena escasamente. Existen otras vitaminas como la A, D, E y K que son solubles en grasas y que también son indispensables. Es por eso que es importante asegurarse que el cuerpo pueda mantener un buen funcionamiento mediante una buena alimentación.

Este proyecto tiene como objetivo fortificar la harina de maíz que llega a tantos consumidores con nutrientes básicos como son las vitaminas A y C, ya que como se mencionó anteriormente, estos nutrientes se pierden durante el proceso para hacer una tortilla. Por consiguiente es necesario agregar de nuevo estas vitaminas como se realiza

con la harina de trigo, debido a las pérdidas que se producen durante la molienda del grano.

La harina nixtamalizada de maíz es entonces un excelente vehículo para proporcionar a la población con nutrientes básicos ya que llena los requisitos para ser fortificada y tiene un consumo masivo tanto en Guatemala como en otros países.

Después de estudiados los requisitos para fortificar, se tomaron 18 libras de harina de maíz nixtamalizada la cual se fortificó con vitaminas A y C y se almacenó a temperatura ambiente por un período de tres meses, luego se realizaron análisis químicos para evaluar la estabilidad de las vitaminas cada 45 días. De igual manera se realizó una evaluación sensorial para verificar si sus propiedades organolépticas como sabor, color y textura, cambiaron durante este período. Para la evaluación sensorial se utilizaron tortillas, tamalitos y atol hechos a base de la harina de maíz nixtamalizada fortificada y sin fortificar (control). También se llevaron a cabo análisis para determinar la estabilidad química de las vitaminas al transformar la masa en tortilla, atol y tamalitos.

## II. INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 1. Maíz

El maíz se originó en el hemisferio occidental. Era el único cereal sistemáticamente cultivado por los Indios Americanos. Los principales centros donde se origina el maíz están en Centroamérica y las tierras altas del Perú (Matz, 1991:679).

De acuerdo a un estudio, existen más de 250 clases de maíz en cerca de 14 grupos. La clasificación de las clases se basó en: (1) características de la planta como la mazorca; (2) diferencias fisiológicas y genéticas; (3) diferencias citológicas; y (4) orígenes geográficos de la variedad.

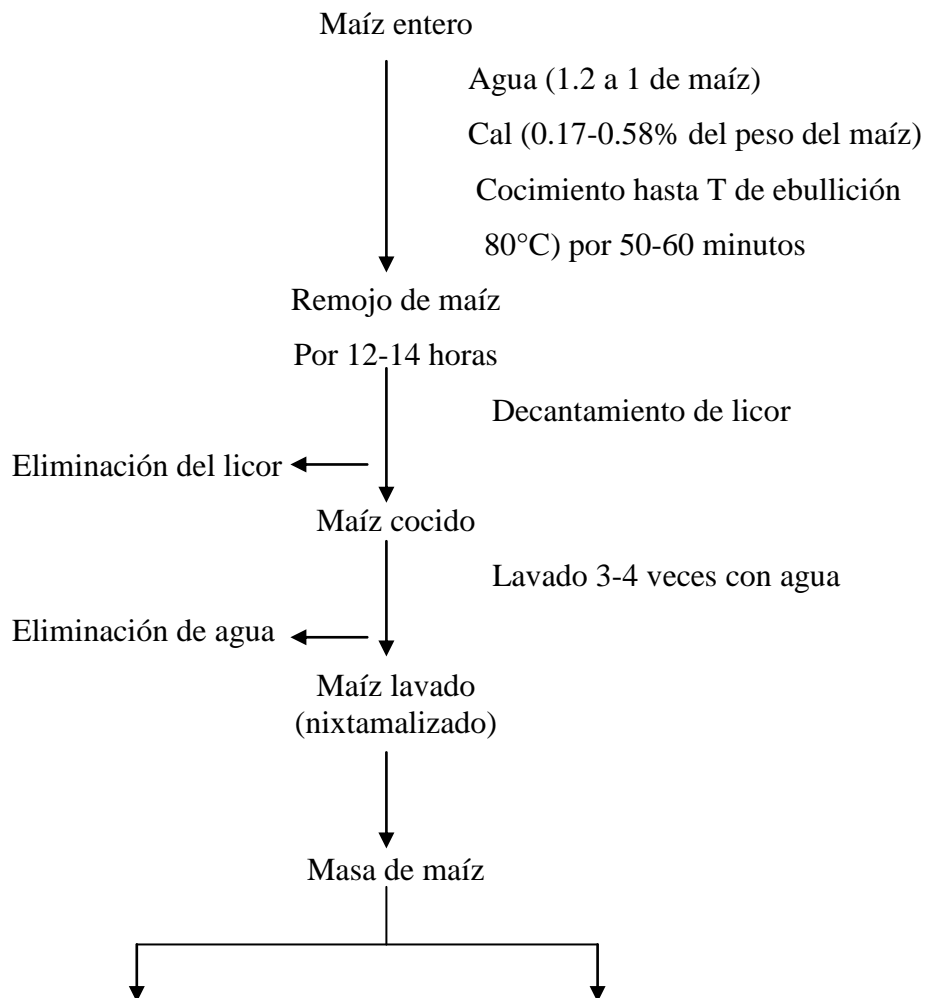
El maíz no es una buena fuente de vitaminas. Sin embargo el maíz amarillo es buena fuente de vitamina A y es importante en la alimentación de ganado. El maíz blanco tiene muy poco o casi nada de esta vitamina liposoluble. La mayoría de la vitamina A se encuentra en el aceite y por eso el germen es el principal depósito para este nutriente (Matz, 1991:679).

En algunas áreas subdesarrolladas del mundo, el maíz constituye una parte sustancial de la dieta de la mayoría de la población. Desórdenes fisiológicos se atribuyen a las deficiencias nutricionales en estas poblaciones. Por lo que se han hecho grandes esfuerzos para incrementar la suficiencia nutricional del maíz. Se ha encontrado que el factor limitante en la habilidad proteínica del maíz es el bajo contenido de lisina y en el vitamínico sería la niacina (Matz, 1991:679).

En centro y Sudamérica, el maíz es generalmente consumido en forma de tortillas. La preparación de la masa consiste en hervir el maíz en agua en una proporción de 1:3 (peso: volumen) a la cual se le añade de 1 a 3% de cal, con la cual se alcanza un pH que varía de 11 a 13. El tiempo de cocimiento varía de unos 20 a 40 minutos dependiendo del tipo de maíz. Luego se limpia para eliminar la cal y posteriormente se pasa a los molinos para producir una pasta o masa (Matz, 1991:679).

**1.1 Procedimiento para elaboración de masa de maíz.** Este procedimiento se practica básicamente en áreas rurales donde se consume en forma de tortillas. El proceso consiste en añadir dos partes de solución de cal al 1% por una parte de maíz. La mezcla se calienta hasta 80 °C de 20 a 45 minutos, y luego se deja en reposo toda la noche. Al día siguiente se decanta el líquido y el maíz que ahora ya se encuentra nixtamalizado, se lava dos a tres veces con agua removiendo la cáscara, exceso de cal o cualquier impureza en el grano. Estos desechos se tiran y luego se procede a deshacer el maíz con una piedra plana hasta que queden partículas finas; actualmente se utilizan molinos de disco, y luego se utiliza una piedra de moler para refinar la masa. Por último se elaboran las tortillas, tomando una pequeña porción de masa y aplanándola hasta tener una capa delgada redonda y posteriormente cocinándola de ambos lados en un comal caliente (Bressani, 1990:230).

**Figura # 1 Proceso de elaboración de productos a partir de maíz**



Pequeñas partes  
Cocidas al vapor  
20-30 min  
↓  
Tamalitos

partes planas  
cocidas a 180°  
5 min  
↓  
tortillas

**1.2 Industria tecnológica (harina de maíz).** Factores como la inmigración de personas del área rural a la urbana, incrementaron la demanda de tortillas “listas para hacer” y para la harina pre-cocida para realizar tortillas. Esto por consiguiente, llevó al desarrollo de equipo especial para procesar maíz en las diversas etapas de maíz nixtamalizado, masa, tortillas, etc. y estableció una producción industrial de harina para tortilla en México, siendo este el primer país en usar un equipo que consistía en pasar la masa por un metal rotativo que corta la masa plana en forma de tortilla. Ésta cae luego a una faja movable o una plancha caliente y son recibidas al final de la faja (Bressani, 1990:232).

La producción de harina de maíz está basada para uso práctico en el método usado tradicionalmente en áreas rurales. Recientemente el proceso se ha expandido a un método mecanizado para producir tortillas (Bressani, 1990:232).

La tabla # 1 muestra una breve descripción de los pasos utilizados en México y otros países en la manufactura de harina de maíz nixtamalizada, luego de que el maíz es comprado, seleccionado y limpiado. La selección de una calidad de grano es hecha después de inspeccionar por la persona a cargo de recibir el maíz. El maíz también se selecciona por su porcentaje de humedad ya que se pueden tener problemas a la hora de almacenarlo (Bressani, 1990:233).

De los silos el maíz es luego trasladado a unidades para el tratamiento con cal. Este proceso incluye el cocimiento del maíz con agua de cal para convertirlo en un proceso de nixtamalización. Posteriormente el maíz tratado es lavado con agua a presión y luego molido hasta obtener una masa que luego es transferida a un secador hasta obtener la

harina. Esta harina, que consiste de partículas de todos tamaños, es forzada a través de un tamiz. Las partículas grandes son regresadas al molino para molerlas de nuevo y las finas que constituyen el producto final son enviadas a empaque en bolsas de papel (Bressani, 1990:233).

**Tabla # 1. Descripción general para producción de harina de maíz.**

- |  |
|--|
| <ol style="list-style-type: none"><li>1. Recibir, limpiar y almacenar maíz.</li><li>2. Preparación de nixtamal mediante el control del cocimiento del maíz en agua con cal.</li><li>3. Molienda del nixtamal.</li><li>4. Secado de la molienda.</li><li>5. Cernimiento de la molienda. Partículas gruesas son regresadas al molino, las partículas finas son el producto final.</li><li>6. Empaque del producto final.</li></ol> |
|--|

(Bressani, 1990:233).

La harina de maíz es fina, seca, blanca o algo amarillenta. Esta harina al mezclarse con agua forma una masa que es usada para la preparación de tortillas, tamales, atoles y otras estructuras para comer (Bressani, 1990:234).

En México, la harina de maíz debe cumplir con ciertos requerimientos según el departamento de Estándares y regulaciones de la secretaría de industria y comercio del estado de México. Estas especificaciones están dadas en la tabla # 2 (Bressani, 1990:234).

Cuando la harina tiene un contenido de humedad arriba del 12% es atacada fácilmente por moho y fermento. El problema de un ataque bacterial es casi inexistente debido a que la mínima humedad requerida para el crecimiento de estos organismos es tan alta que si la harina la alcanza se transformaría en masa. Otro problema relacionado con la estabilidad de la harina es la rancidez, la cual no se hace presente normalmente al menos que sea empacada a altas temperaturas. El tiempo mínimo requerido para que la harina se arruine es de 4 a 6 meses durante el invierno y 3 meses durante el verano en

México. Sin embargo, la harina es usualmente vendida al consumidor 15 días después de ser vendida a los distribuidores (Bressani, 1990:234).

En Guatemala alrededor de 250 TM de maíz son procesadas para obtener harina para tortilla. Estas cantidades son pequeñas comparadas con las producidas en México debido a que hay menos población y las fábricas son menos. Alrededor del 90% de la producción es vendida en el área urbana y el 75% es usada para hacer tortillas (Bressani, 1990:234).

**Tabla # 2. Regulaciones establecidas por el gobierno de México para harina de maíz nixtamalizada.**

Especificaciones químicas	
Máxima humedad	10% (durante empaque)
Cenizas	2%
Mínima proteína	7.5%
Máxima fibra cruda	3%
Extracto de éter	5%
Lignina	reacción negativa
Especificaciones físicas	
1. Al doblarse las tortillas no se deben quebrar.	2. La finesa de la harina debe pasar un mesh de 250µm en un 85% como mínimo

(Bressani, 1990:234).

**2. Enriquecimiento de los alimentos con vitaminas.** El enriquecimiento de los alimentos con vitaminas llevó primero unos años de estudios antes de que fuera implementado. El enriquecimiento y la fortificación de cereales y productos a base de cereal con vitaminas y minerales, se empezó a realizar en 1930 en Estados Unidos y no fue hasta 1941 que las empresas lo empezaron a implementar en sus productos.(Badui,1993:357)

Hoy en día todos los cereales que usualmente compramos para nuestro desayuno vienen enriquecidos con una serie de vitaminas y minerales que nos permiten una mejor alimentación.

En nuestro cuerpo cada vitamina es responsable de varias funciones, las vitaminas del complejo B por ejemplo trabajan como coenzimas regulando importantes enzimas a lo largo del metabolismo. Las vitaminas B1 y B2, niacina y ácido pantoténico, son importantes para el metabolismo de la glucosa, ácidos grasos y proteínas. Una deficiencia mínima de estas vitaminas puede causar daños metabólicos que en consecuencia causan desórdenes funcionales en el cuerpo. Si existe la falta de alguna de las vitaminas del complejo B, se producen síntomas de pérdida del apetito, insomnio, pérdida de peso, irritabilidad y pérdida de concentración. Si esta deficiencia de vitaminas no es compensada, estos síntomas rápidamente cambian a síntomas de deficiencia clínica. Estas deficiencias extremas como el beriberi, escorbuto, raquitismo, han tomado una parte importante en los países industrializados, ya que se les da más atención para evitar deficiencias marginales. Es por eso que se debe considerar que los alimentos que se ingieren proveen todas las vitaminas necesarias para asegurar la salud.

Generalmente, una dieta balanceada es la condición esencial para suplir los niveles adecuados de vitaminas. Sin embargo personas que omiten carne, huevos, la leche y sus derivados de su dieta, han incrementado el riesgo de tener deficiencia de vitamina B12 y ácido fólico. La falta de frutas y vegetales llevan a una deficiencia de vitamina C y  $\beta$ -caroteno. Uno de los problemas actuales en nuestra sociedad es que muchas personas, por una razón u otra, tienen una sola dieta. Muchos estudios muestran que debe ponerse especial atención al consumo de vitaminas para mujeres embarazadas, niños, vegetarianos, adolescentes, deportistas y otros grupos con altos requerimientos de energía. Es por eso que las autoridades están tomando especial atención en que los alimentos que lleguen al consumidor se encuentren fortificados para suplir todos estos grupos de personas (Walter, 1994:113).

Hoy en día, más y más productos son fortificados o enriquecidos con vitaminas. En el caso de la leche, muchos países agregan vitaminas A y D a un nivel más alto de lo normal. Esta adición también compensa las pérdidas durante la elaboración del producto especialmente con respecto al proceso de calentamiento diseñado para darle una vida de anaquel más extensa. La vitamina C se agrega comúnmente a los jugos de frutas a un nivel arriba del natural de esta vitamina. Mas aún, los productos alimenticios pueden ser fortificados por medio de vitaminas adicionales que no se encontraban presentes originalmente en sus componentes (Walter, 1994:116).

Un gran número de problemas técnicos se involucran cuando las vitaminas son agregadas a los alimentos. La pérdida de vitaminas durante un proceso como resultado del calor, horneado, agitación y la influencia de la luz deben tomarse en cuenta. También deben considerarse las pérdidas que se producen durante un período de almacenamiento. La distribución uniforme de las vitaminas en el alimento y buena biodisponibilidad son también esenciales para cada enriquecimiento (Walter, 1994:116).

El análisis de vitaminas en los alimentos ha tenido mucho progreso en los recientes años. Sin embargo todavía existen algunos problemas con vitaminas que se encuentran en pequeñas concentraciones como la vitamina D3 y B12. Como se muestra en la tabla # 3, se utilizan varios procedimientos para las determinaciones (Walter, 1994:116).

**Tabla # 3. Análisis de vitaminas en los alimentos.**

Técnica	Vitamina
HPLC	A B1 B2 C D2,D3 E β-caroteno K1
Análisis químico	B2 B6 C

	K3
Análisis microbiológico	B2 (L.casei) B6 (N. Sitophila) B12 (L. Leichmanii) Niacina (L. Arabinosus) Biotina (L. Arabinosus) Ácido fólico (L. casei)

(Walter, 1994:117).

Para la mayoría de vitaminas liposolubles, la determinación por cromatografía de líquidos a alta presión es favorable. Para otras vitaminas, los métodos químicos y en algunos casos microbiológicos son también requeridos (Walter, 1994:117).

Se han hecho estudios sobre el enriquecimiento de vitaminas en otros alimentos como por ejemplo las pastas. Según un estudio realizado por Dexter, J.E. y B.C. Morgan se encontró que al agregar la mezcla de vitaminas a los espaguetis, estos cambiaron de color pero no así su calidad ni sus propiedades al cocer el espagueti. La retención de vitaminas fue la siguiente: 30% de B2, 39% B1 y 48% Niacina. Estos valores fueron encontrados en agua que se usó para cocinar los espaguetis. Del mismo modo se ha trabajado con otro tipo de pastas como los macarrones coditos, etc. (Cereal Chem, 1982:328)

**3. Efectos de procesamiento sobre estabilidad de vitaminas.** Como se mencionó anteriormente, la conversión de maíz a tortilla, consiste en un proceso de agregar agua, calor e hidróxido de calcio. Estos tres factores influyen en la composición química del maíz procesado. La pérdida de nutrientes es causada por lixiviación en el caso del agua, por el tiempo y temperatura de cocción, y por la alcalinidad proporcionada por la cal. Los cambios que se dan a lugar son causados por pérdidas físicas y químicas. Las pérdidas químicas pueden darse debido a la destrucción de algunos nutrientes y a la transformación química de otras (Brezan, 1990: 248).

Durante el procesamiento de maíz a tortilla y el cocimiento del mismo con cal, se producen pérdidas de tiamina, riboflavina, niacina y caroteno. Las pérdidas de tiamina varían de 48.9% a 68.8% de maíz a tortilla para el maíz blanco y de 54.2 a 64.9% para el maíz amarillo. La mayor de las pérdidas fue durante la nixtamalización. Las pérdidas de

riboflavina varían de un 38,5% a 49.6% en maíz blanco y de 16.7 a 18.4% en maíz amarillo de maíz a tortilla. Estas pérdidas también se dieron durante el cocimiento alcalino. Las pérdidas de niacina varían de 16.1 a 20.4% para maíz blanco y de 8.5-12.3% en maíz amarillo, todas las pérdidas se dieron durante la nixtamalización (Bressani, 1958:770)

Como se dijo anteriormente las pérdidas de tiamina, riboflavina, niacina y caroteno se producen a raíz del procesamiento de maíz a tortilla por la alcalinización. Sin embargo de todas la vitaminas la que más ha llamado la atención de investigadores es la niacina, debido a su relación con la pelagra; enfermedad producida por deficiencia vitamínica caracterizada por eritemas y trastornos digestivos y nerviosos. Un estudio hecho por Bressani, Gómez Brenes y Scrimshaw, reporta que la capa protectora de la semilla de maíz contiene 4.2 mg de niacina/100 g. Sin embargo, debido a que el endosperma es la mayor fracción del grano, cerca del 79.5% de la niacina del grano es proporcionada por este mismo, 10% por el germen y 10% por la capa de la semilla. Después de cocer el maíz con cal, el endosperma contribuye con el 68% del total de niacina y el germen alrededor del 5.5%. Del total, el 26% fue encontrado en el agua de cocimiento. También encontraron que el porcentaje de niacina extraída del agua del grano primo es del 68.5% del total; y del maíz cocinado con cal, 76%. Esta información muestra que la niacina es tiene mayor disponibilidad en el maíz tratado con cal que el maíz crudo (Bressani, 1990:227)

Con respecto al contenido mineral, la mayoría de estudios muestran un pequeño incremento de calcio en las cenizas que se retuvo durante el cocimiento. Aparte de un incremento en Calcio, hay pequeños aumentos de hierro, cobre y Cinc. Las razones de estos incrementos no es clara. Bressani et. al. (10) sugiere que el incremento puede ser resultado del uso de cal (que no es puro  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) y de los utensilios usados para moler el maíz cocido.

**Tabla # 4. Vitaminas por 100gr. de harina de maíz.**

D ( $\mu\text{g}$ )	E (mg)	Tiamin a (mg)	Ribof. (mg)	Niacina (mg)	B6 (mg)	B12 ( $\mu\text{g}$ )	C (mg)
0	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	0	0

(Ref. 7)

**Tr** = Solo existe una pequeña cantidad casi nula.  
**0** = Ninguno de los nutrientes está presente.

#### **4. Vitaminas**

**4.1 Vitamina A.** La vitamina A se encuentra fundamentalmente en el reino animal y puede presentarse en las formas de alcohol o retinol, de aldehído o retinal y de ácido. En los vegetales no existe como tal, pero sí como sus precursores llamados provitaminas, principalmente el  $\beta$ -caroteno. El hígado es la fuente principal de esta vitamina; por ejemplo, el de res contiene aproximadamente 40000 UI por cada 100g. Se encuentra en otros productos como la leche y el huevo.(Badui,1993:338)

Aunque no se conoce perfectamente su función; la deficiencia de esta vitamina en el hombre inhibe el crecimiento, produce el endurecimiento del epitelio en varias partes del cuerpo, principalmente en los sistemas respiratorio, visual, reproductivo y urinario, y afecta las estructuras ósea y dental.(Badui,1993:339)

Su acción biológica más conocida es cuando interviene como aldehído en la síntesis del pigmento visual llamado redopsina que es indispensable para llevar adecuadamente a cabo el proceso visual.(Badui,1993:339)

Hay que hacer notar que un consumo excesivo de esta vitamina proveniente de preparaciones farmacéuticas puede causar una intoxicación, lo cual no sucede con la ingestión de alimentos ya que estos contienen la vitamina en concentraciones adecuadas. Se considera que el consumo diario de 18000 a 20000 unidades internacionales durante uno o dos meses es suficiente para ocasionar toxicidad.(Badui,1993:339)

**4.2 Vitamina C.** La vitamina C es también llamada ácido ascórbico. Se encuentra principalmente en alimentos de origen vegetal, los cereales, al igual que las carnes, los pescados y sus derivados, no la contienen. Por esta razón, el consumo rutinario de frutas y verduras frescas aporta la vitamina C requerida diariamente, ya que,

al ser hidrosoluble, el hombre la almacena escasamente; por ejemplo, el jugo de 1 ó 2 naranjas contiene aproximadamente 80mg de ácido ascórbico, suficiente para satisfacer las necesidades de 50-60 mg diarios.(Badui,1993:357)

Su actividad biológica es muy variada y en este sentido es la vitamina que más controversias causa; se sabe que es necesaria para la síntesis del tejido conectivo colágeno, para la formación de huesos, de la dentrina de los dientes, de los cartílagos y de las paredes de los capilares sanguíneos; interviene en reacciones de oxidación-reducción y de hidroxilación de hormonas esteroidales y de aminoácidos aromáticos. Igualmente ayuda a la absorción de hierro (distinto al grupo hemo de la mioglobina), por lo que es fundamental en la dieta de los pueblos que basan su alimentación en granos y semillas; debido a esto, comercialmente ya se han desarrollado complejos de hierro-ácido ascórbico, estables a pH ácidos, que se adicionan a las harinas de trigo.(Badui,1993:357)

Se añade a los alimentos como ácido o como la correspondiente sal sódica, ascorbato de sodio, como nutrimento, antioxidante y preservante.(Badui,1993:358)

Para determinarla cuantitativamente se suele usar el método de titulación mediante el empleo del 2,6-diclorofenol-indofenol que se basa en la reducción del indicador por acción del ácido ascórbico. Sin embargo, en ocasiones resulta poco exacto porque este efecto reductor no es único de la vitamina C, y porque además, el punto final de la titulación no es preciso, sobre todo si están presentes otros pigmentos. Por estas razones, se han desarrollado diversas técnicas cromatográficas con buenos resultados, sobre todo la líquida de alta presión.(Badui,1993:358)

La oxidación de esta vitamina está en función de muchas variables, principalmente la temperatura, el pH, la disponibilidad de oxígeno, los metales de transición y las radiaciones electromagnéticas; además, también influyen los azúcares reductores, algunas sales, la actividad acuosa, los peróxidos, ciertas enzimas y la presencia de otras vitaminas, sobretodo la riboflavina. Debido a que en el procesamiento de un alimento se llegan a presentar condiciones en las que actúan todas estas variables, resulta difícil

estudiar el efecto que causan de manera individual; de hecho existe una sinergia y sólo en sistemas modelo se puede controlar cada variable aisladamente.(Badui,1993:360)

Por otro lado, los metales de transición, cobre, hierro y zinc, catalizan la destrucción de la vitamina C, pero esto depende de la actividad acuosa; a valores menores de 0.4 no hay alteraciones, posiblemente porque no existe movilidad de los metales y por una falta de solubilidad en el medio que les facilite el contacto con el ácido ascórbico. Cuando la actividad de agua es mayor que 0.65, la velocidad del deterioro se incrementa de dos a cuatro veces, ya que en estas condiciones el agua permite el acarreo del metal y favorece su acción. En solución, la pérdida del ácido ascórbico es proporcional a la concentración de los iones  $\text{Cu}^{+2}$  y  $\text{Fe}^{+3}$ , a través de mecanismos que implican la formación de complejos entre el escorbato, los metales y el oxígeno, y que propician la transferencia de electrones al oxígeno.(Badui,1993:360)

### **4.3 Otras vitaminas.**

**4.3.1 Tiamina.** Como todas las vitaminas B, también es soluble en agua. Esto quiere decir que necesita agua para ser absorbida por el organismo. La vitamina B1, también llamada tiamina, transforma los carbohidratos en energía, y es conocida como la “vitamina moral” por sus efectos benéficos en el sistema nervioso y por favorecer una actitud mental positiva. La vitamina B1 ayuda a la digestión y promueve el crecimiento. El cocimiento de los vegetales puede destruir la vitamina B1. También el alcohol, la cafeína y los antiácidos. (Badui,1993:347)

Su deficiencia en el hombre se manifiesta con pérdida de la memoria, dificultad para hablar e incapacidad para ciertos movimientos musculares, y en condiciones extremas puede causar la enfermedad llamada beriberi que trae consigo problemas gastrointestinales, cardiovasculares y del sistema nervioso. Este problema se observa en los países orientales donde su dieta se basa fundamentalmente en arroz pulido, es decir, arroz al que se le ha eliminado la cascarilla que contiene la mayor proporción de tiamina. (Badui,1993:347)

En muchos alimentos se encuentra naturalmente en forma libre, o como el derivado pirofosfato; abunda en las levaduras, en el pericarpio y en el germen de los cereales, en las nueces, el huevo, la leche, el hígado y el riñón. En forma comercial se puede obtener como clorhidrato o como mononitrato; ambos productos son solubles en agua y se usan para aumentar el nivel vitamínico de algunos alimentos; la recomendación para el hombre adulto es de 0.5 mg de tiamina por cada 1000 kcal consumidas. (Badui,1993:347)

Debido a su estructura química, la tiamina es junto con el ácido ascórbico, una de las vitaminas más inestables; incluso se ha sugerido emplearla como índice de retención de nutrimentos, considerando que si no se destruye durante un determinado proceso, las otras vitaminas también se conservaran. Es hidrosoluble y, por lo tanto, se pierde por lixiviación en el agua de lavado, enjuague, etc., que está en contacto con los alimentos, o bien, en el agua de descongelamiento de productos cárnicos, etc. (Badui,1993:347)

Soporta los tratamientos térmicos de esterilización cuando se encuentra a pH de 3.5 o menor, sin embargo, a pH 4.5 o mayor, y más aún en la neutralidad o en la alcalinidad se destruye. (Badui,1993:347)

**4.3.2 Riboflavina.** La riboflavina, o vitamina B2, también llamada ovoflavina o lactoflavina porque se encuentra en el huevo y en la leche, respectivamente. Es muy soluble en agua, es necesaria para una piel sana, para la reposición de tejidos y ayuda a convertir las grasas, proteínas y carbohidratos en energía utilizable. La vitamina B2 también ayuda al cuerpo a utilizar el oxígeno y contribuye a la formación de anticuerpos y de glóbulos rojos. La vitamina B2 es importante para la visión y reduce la fatiga visual. Es conocida como esencial para la nutrición humana. (GNC, 1999:18)

Su deficiencia produce queilosis, dermatitis seborreica, vascularización corneal, coloración anormal de la lengua, etc. Para el hombre adulto se recomienda una ingestión de 0.6mg por cada 1000 kcal. consumidas. (Badui,1993:349)

La flora microbiana del intestino grueso del humano la sintetiza y un cierto porcentaje es absorbido y aprovechado; una pequeña fracción de la riboflavina se almacena en el hígado; Sin embargo, es suficiente para satisfacer las necesidades diarias del hombre por períodos largos. (Badui,1993:349)

Debido a su solubilidad, esta vitamina se puede perder en el agua de remojo o en la de lavado de las frutas y hortalizas, así como durante el cocimiento. Su estabilidad a las altas temperaturas es muy buena en la mayoría de los alimentos ya que resiste temperaturas de esterilización a pH menores de 7, pero a medida que se acerca a la neutralidad, va volviéndose sensible, y en las condiciones alcalinas es definitivamente muy termolábil.(Badui,1993:349)

**4.3.3 Niacina.** Soluble en agua, la niacina es también conocida como vitamina B3; trabaja convirtiendo las grasas, proteínas y carbohidratos en energía. Es importante para las funciones cerebrales y contribuye a mantener la piel y el buen funcionamiento de los sistemas nervioso y digestivo. La niacina es una vitamina B considerada esencial para la nutrición humana (GNC, 1999:16)

Su deficiente consumo da origen a la enfermedad llamada pelagra, que ocasiona problemas de diarrea, dermatitis y demencia, por lo que también se le ha llamado la enfermedad de las 3D.(Badui,1993:355)

Abunda mucho en la naturaleza por lo que una dieta variada y balanceada suministra los requerimientos diarios para el hombre que son de 4.4 mg por cada 1000 kcal consumidas.(Badui,1993:355)

A pesar de esto, actualmente existen muchas poblaciones en el mundo, que tienen un régimen alimentario muy pobre a base de maíz, en las que se observan problemas de pelagra. Esto se debe en parte a que en este cereal la niacina (2.2 mg por 100 gr) no se encuentra biológicamente disponible en forma de niacinógeno; sin embargo la nixtamalización la vuelve disponible, así como al triptofano, precursor de esta vitamina.

En estas condiciones, el maíz nixtamalizado presenta una mejoría considerable en cuanto a la cantidad de niacina que puede ser aprovechada por el consumidor. Sin embargo en algunos lugares el grano se lava repetidas veces para lograr una harina blanca, que es más aceptada, pero este contacto con el agua provoca la lixiviación de la niacina y consecuentemente su pérdida en el lavado.(Badui,1993:355)

El organismo humano sintetiza pequeñas cantidades de esta vitamina a partir del triptofano de las proteínas; se considera que 60 mg del aminoácido sólo producen 1mg de la vitamina; la leche, los huevos y otros productos de origen animal no son fuentes importantes de niacina, pero si de triptofano.(Badui,1993:356)

**4.3.4 Ácido Fólico.** El ácido fólico es importante para la movilidad de los glóbulos rojos y ayuda a convertir las proteínas en energía. El ácido fólico es importante para el crecimiento y la división de las células corporales. El cuerpo depende del ácido fólico para los procesos de curación y ayuda al correcto funcionamiento del tracto intestinal. El ácido fólico es una vitamina B considerada esencial en la nutrición humana (GNC, 1999:15)

El ácido fólico, o folacina pertenece a un grupo de compuestos llamados folatos que se diferencian entre sí por los sustituyentes que contiene cada uno (Badui,1993:354).

Debido a que abunda sobre todo en los vegetales verdes de hojas, pocos son los casos de carencia que se presentan; sin embargo, en algunos países industrializados, como Estados Unidos, parece que es la deficiencia vitamínica más común; las necesidades diarias del hombre son de 0.5 a 1 mg. Se encuentran en diversos alimentos, por ejemplo, en el hígado (30-150µg/100g), en la carne (1-5µg/100g), en el riñón (6-30µg/100g), en los vegetales verdes y otros. Es indispensable para el crecimiento de *Lactobacillus Casei* y esto se aprovecha para su análisis cuantitativo (Badui,1993:355).

Con relación a su estabilidad, en la literatura se encuentran cifras no simbólicas ya que cada folato tiene una cinética de destrucción diferente. Sin embargo, todos se

pierden por lixiviación, es decir, las operaciones que impliquen un contacto con el agua provocan esta transformación (Badui,1993:355).

Una de las causas más comunes de destrucción es su oxidación, misma que se acelera con temperaturas más altas, como ocurre durante el cocimiento de los alimentos. En ausencia de oxígeno puede resistir la esterilización. En los vegetales verdes la degradación sigue una cinética de primer orden, que depende de la temperatura de acuerdo con la ecuación de Arrhenius, en este sentido, el pH también influye ya que a valores de 3,4,5 y 6, las energías de activación son de 22.6, 19.5, 17.8 y 16.8kcal/mol, respectivamente (Badui,1993:355).

La presencia de nitritos y de sulfitos acelera la destrucción del ácido fólico. En los productos deshidratados, la actividad acuosa y el contenido de agua influyen en la estabilidad (Badui,1993:355).

## **5. Requisitos para la suplementación de un alimento con nutrientes**

- 5.1 La ingestión del nutriente debe estar por debajo de los niveles deseables en la dieta de un número significativo de personas.
- 5.2 El alimento utilizado para proporcionar nutrientes debe ser consumido en cantidades que harán una contribución significativa a la dieta de la población con necesidad.
- 5.3 La adición del nutriente no deberá inducir un imbalance de nutrientes esenciales.
- 5.4 El nutriente adicionado debe ser estable bajo condiciones apropiadas de almacenamiento.
- 5.5 El nutriente debe ser biodisponible fisiológicamente en el alimento.
- 5.6 Debe existir una seguridad razonable en contra de toxicidad por exceso de ingestión.

## **6. Razones por la que se recomienda la fortificación de harina de maíz nixtamalizada con nutrientes**

- 6.1 Demanda del maíz en países centroamericanos.
- 6.2 Las pérdidas de nutrientes durante la nixtamalización.
- 6.3 La disponibilidad de harina de maíz nixtamalizada

## **7. Cromatografía líquida.**

La cromatografía líquida de alta presión (HPLC) es una técnica usada para separar componentes de una mezcla química. Estos componentes (o solutos) son primero disueltos en un solvente líquido, y luego forzados a fluir a través de una columna cromatográfica bajo alta presión. En esta columna, la mezcla es resuelta en sus componentes. El grado de separación de una mezcla de soluto en sus componentes individuales es importante y depende de la interacción entre los componentes del soluto y la fase estacionaria. La fase estacionaria está definida como el material de empaque inmóvil dentro de la columna. La parte móvil del sistema es la fase móvil, que es un líquido. La interacción del soluto con la fase móvil y estacionaria puede ser manipulada con diferentes opciones de solvente y columnas. Como resultado, HPLC obtiene un alto grado de versatilidad que no se encuentra en otros sistemas de cromatografía. Además, HPLC tiene la habilidad de separar fácilmente una variedad amplia de mezclas químicas (Schram, 1982:46)

**7.1 Tipos de cromatografía líquida.** La importancia de la selección de la fase móvil y estacionaria es importante ya que la variación de estos parámetros son usados para para explotar diferentes tipos de interacciones-soluto. Estas interacciones son la base de toda interacción y alcanzan los siguientes módulos de separación:

- La más simple interacción involucra la separación de las moléculas del soluto y se basa en las diferencias de tamaños y formas. Esto se llama cromatografía de

exclusión de tamaño, y es utilizada ampliamente en formulaciones muy complejas (Schram, 1982:46).

- Otra interacción basada en la fuerza de una fase sobre otra, causa que los solutos se equilibren ellos mismos entre la fase móvil y estacionaria. Esto se define como cromatografía de partición en la cual la separación es dependiente de la polaridad de la molécula. Estas interacciones pueden ser tan bien adaptadas, que una diferencia pequeña de polaridad es suficiente para la mayoría de separaciones (Schram, 1982:46)
- Otro medio de separación de moléculas se basa en su carga. Este término es referido como de intercambio iónico. Varias interacciones complejas pueden tratarse con esta técnica y es bastante sensitiva a variaciones iónicas de minutos (Schram, 1982:46).
- Finalmente se encuentra la técnica de adsorción que es una interacción sólido-líquido de los componentes con una superficie alumina polar o de gel de silica usando solventes no polares (Schram, 1982:46).

**7.2 El aparato.** El aparato consiste de un contenedor de la fase móvil, una bomba con capacidad de presiones de 4000 psi o más, una válvula para inyectar la muestra (usualmente volúmenes de 10 a 500  $\mu$ L), la columna, el detector y un sistema electrónico relacionado con el detector y un grabador de señal.

La absorbancia UV-visible es el modo más usado de detección. Dichos detectores permiten que la corriente fluya a través de una celda espectrofotométrica de 8 a 10 $\mu$ L para la detención de ciertos compuestos a una longitud de onda particular. Detectores electroquímicos y de fluorescencia usualmente se utilizan para lograr detecciones más bajas. El otro detector comúnmente usado se basa en la medición de un índice diferencial de refracción. (Swayer, 1998:344)

### **III. JUSTIFICACIÓN**

Debido a que la población guatemalteca, especialmente la de escasos recursos, sufre de problemas de salud, enfermedades debido a una mala dieta y la falta de nutrientes indispensables en sus alimentos; el presente proyecto tiene como finalidad fortificar con vitaminas A y C unos de los alimentos que más consume nuestra población, como lo es la tortilla que está hecha a partir de maíz y que actualmente también es elaborada a partir de harina de maíz. Debido a que esta harina tiene un alto rendimiento y tiene un mercado bastante amplio en nuestro país, es importante considerar la fortificación de la misma como una fuente adicional para la nutrición de nuestra población. Según estudios realizados de vitaminas en harina de maíz existe una deficiencia de estos nutrientes, por lo que se ha considerado que si la harina de trigo que se utiliza para elaborar cereales, se encuentra fortificada, porque no pensar en fortificar harina de maíz que llega a tantos hogares en todo el país, ya que nunca falta una tortilla para acompañar nuestras comidas, o un tamalito para celebrar un acontecimiento. Además se ha observado que después de desastres naturales y su consecuente pérdida de los cultivos, viviendas y toda fuente de alimentación; la harina de maíz ha llegado también a ser un recurso de ayuda para estas personas ya que solo se necesita de un poco de agua para convertir la harina en masa y un poco de calor para elaborar una tortilla, así como también otros productos alimenticios derivados del maíz. Por lo tanto, la fortificación de la harina de maíz constituirá una ayuda para el fortalecimiento de la dieta y la consecuente prevención de enfermedades relacionadas con una mala nutrición

## **IV. OBJETIVOS**

### **1. Objetivos generales**

1. Mejorar el valor nutricional de las harinas nixtamalizadas de maíz a través de la fortificación con vitaminas A y C.
2. Conocer sobre la estabilidad química de los nutrientes agregados durante el almacenamiento de la harina y su transformación en tortilla, atol y tamalitos.

### **2. Objetivos específicos**

1. Evaluar la estabilidad de las vitaminas durante el período normal de almacenamiento de las harinas nixtamalizadas de maíz.
2. Establecer la estabilidad de las vitaminas durante la transformación de harina a tortilla, atol y tamalitos.
3. Evaluar la calidad sensorial de la tortilla, atol y tamalitos con y sin vitaminas.

## **V. HIPÓTESIS**

- La fortificación de harina de maíz nixtamalizada con vitaminas A y C no afecta la aceptabilidad sensorial de la tortilla.
- El contenido de vitaminas A y C en la harina es estable bajo condiciones de almacenamiento.
- Existe poca destrucción de las vitaminas al convertir la harina de maíz en tortilla, atol y tamalitos.

## VI. MATERIALES Y MÉTODOS

Los materiales y reactivos utilizados se encuentran descritos en el apéndice C.

### 1. Metodología

**1.1 Selección y cantidad a suplementar de vitaminas.** Para el presente estudio se propuso utilizar las vitaminas A y C, que se adicionan comúnmente a un cereal hecho a base de harina de maíz como lo es “cornflakes”, en una cantidad que aporte por tortilla (20g secos, 35g húmedos) 5% de la recomendación diaria de la vitamina, de tal manera que el consumo de 6 tortillas por día aporte el 30% de las recomendaciones diarias. Las vitaminas a utilizar y la cantidad para adicionar por 120g y para 1000g de harina están en el siguiente cuadro.

**Tabla # 5. Recomendaciones diarias de vitaminas.**

Vitamina	Recomendación diaria	% RD	Cantidad por 120g harina	Cantidad por 1000g harina
<b>Vitamina A(µg )</b>	<b>3332</b>	<b>30</b>	<b>1000</b>	<b>8333</b>
<b>Vitamina C (mg)</b>	<b>200</b>	<b>30</b>	<b>60</b>	<b>500</b>
Vitamina B <sub>1</sub> (mg)	4.64	30	1.4	11.7
Vitamina B <sub>2</sub> (mg)	5.32	30	16	13.3
Niacina (mg)	60	30	1.8	15.0
Vitamina B <sub>6</sub> (mg)	6.64	30	2.0	16.7
Acido Fólico (µg)	670	100	670	6700
Vitamina B <sub>12</sub> (µg)	6.64	50	3.32	27.7
Acido Pantoténico(mg)	13.32	30	4.0	33.3

120g de harina nixtamalizada de maíz dan 6 tortillas de 35g cada una

### 1.2 Mecanismo de adición de vitaminas

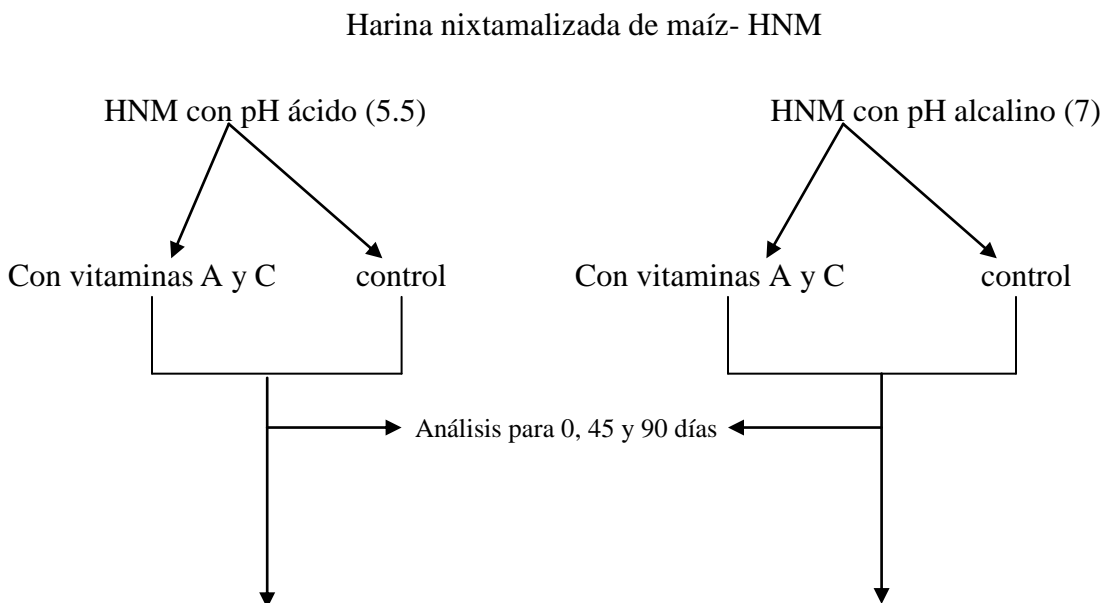
1.2.1 Se obtuvieron gracias a una donación de la compañía “Maseca”, 72 libras de harina nixtamalizada de maíz, de las cuales 36 libras fueron tomadas para modificar su pH a 7 y las otras 36 libras a un pH de 5.5. Para llevar el pH de la harina a 7 se le agregó 11.27 g de hidróxido de calcio y para llevar la harina a un pH de 5.5, se le agregó 67.92 g de ácido cítrico. A estas harinas se les hizo un análisis de

humedad y pH cada 45 días. Luego las vitaminas correspondientes a 18 libras de harina, se pesaron y agregaron a 1000 g de cada harina para fines de producir una pre mezcla. Luego se adicionaron 1000 g de harina para combinar con el pre mezclado y así sucesivamente para luego juntar toda la pre mezcla al resto de la harina. Se esperaba que con este procedimiento se logre una distribución homogénea de las vitaminas. Las 18 libras de harina restantes de diferente pH se almacenaron para control.

1.2.2 Las harinas fueron almacenadas a temperatura ambiente en bolsas iguales a las comerciales.

**1.3 Parte experimental.** Cada 45 días por un total de 90 días empezando en el día 0, se tomó 1 muestra de 6 libras de harina, tanto del control como de la harina fortificada a pH diferentes como se indica en la fig. 1. De estas 6 libras, 2 se utilizaron para hacer tortillas, 2 para tamalitos y 2 para atol con el fin de obtener productos para 30 personas. Esta es la cantidad de personas que se utilizó para llevar a cabo la evaluación sensorial de los productos y posteriormente se hizo un análisis químico para observar cambios en la cantidad de vitamina A y C después de procesada la harina. La harina también fue analizada por su contenido químico. El análisis de humedad se realizó juntamente con la determinación de vitamina C cada 45 días.

**Figura 2 Diagrama de trabajo**





## VII. DISEÑO EXPERIMENTAL

### 1. Evaluación sensorial

**1.1 Prueba de preferencia.** Las pruebas de preferencia le permiten a los consumidores seleccionar entre varias muestras, indicando si prefieren una muestra sobre la otra o si no tienen preferencia. La prueba de preferencia más sencilla es la prueba de preferencia pareada; las pruebas de ordenamiento y de categorías también se utilizan frecuentemente para determinar preferencia.

**1.2 Presentación de las muestras.** Las dos muestras (tortillas hechas a base de harina de maíz fortificada y sin fortificar) A y B se presentan en recipientes idénticos, codificados con números aleatorios de 3 dígitos. Existen dos posibles órdenes de presentación de las muestras: primero A y luego B (AB) o primero B y luego A (BA). Las muestras deben presentarse en ambos órdenes el mismo número de veces.

Las muestras se presentan simultáneamente en el orden seleccionado para cada panelista, de manera que los panelistas puedan evaluar las muestras de izquierda a derecha. En esta prueba se permite saborear la muestra varias veces, si es necesario.

**1.3 Análisis de datos.** Los resultados se analizan utilizando una prueba binomial de dos extremos. La prueba de dos extremos es apropiada pues se puede escoger cualquiera de las dos muestras, ya que la dirección de la preferencia no puede determinarse de antemano. Para el análisis, se suma el número de panelistas que prefieren cada muestra y se determina la significancia de los totales, empleando la tabla 7.2 del Apéndice. En esta tabla, X representa el número total de panelistas que prefieren una muestra y n representa el número total de panelistas que participan en la prueba. Es necesario una probabilidad de 0.05 o menos, para que el resultado se pueda considerar significativo.

**1.4 Tamaño de la muestra.** El tratamiento de las muestras se realizó en triplicado para la determinación de cada vitamina. Se utilizó alrededor de 5 gramos de cada muestra (atol, tamalito y tortilla) para los análisis; cada vez que se realizó dicho procedimiento se obtuvo el porcentaje de humedad tomando muestras entre 4 y 5 gramos.

## 2. Análisis estadísticos de los resultados

Se llevó a cabo un análisis de varianza con el programa SPSS de computación y luego un análisis de medias llamado Tukey.

Media: promedio de datos

$$\bar{X} = \frac{\sum x}{N} \quad N = \text{número de elementos de la muestra}$$

1. Mediana: mide la observación central de un conjunto de datos.(8)

$$M = \frac{(n+1)}{2} \quad n = \text{número de elementos del arreglo}$$

2. Moda: es aquel valor que más se repite en el conjunto de datos. (8)

Medidas de dispersión : Permiten juzgar la confiabilidad de nuestra medida de tendencia central.

Por lo que se usaran:

1. Varianza  $\sigma = \frac{\sum(x-\mu)^2}{N}$

X = elemento

$\mu$  = media de la población

N = número total de elementos

1. Desviación estándar: esta permite determinar con buen grado de precisión donde están localizados los valores de una distribución de frecuencias con relación a la media.(8)

$$\text{d.e.} = \sqrt{\sigma}$$

$\sigma$  = varianza

## VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el proceso de elaboración de harina de maíz nixtamalizada se pierden muchos de los nutrientes esenciales para la dieta humana debido a factores de cocción (temperatura y tiempo), medio alcalino (pH 8-19), lavado, molienda y secado. A raíz de esto se fortificó harina de maíz nixtamalizada con dos vitaminas (vitamina A y C) para aumentar la biodisponibilidad de estos nutrientes en un producto alimenticio de tan grande demanda en nuestro país.

### 1. Recuperación de vitaminas en harina nixtamalizada de maíz

Tomando en cuenta los factores para fortificar un producto alimenticio, luego la fortificación del producto a estudiar (harina nixtamalizada de maíz), se llevaron a cabo los análisis cuantitativos correspondientes para calcular la recuperación de dichas vitaminas en el período de almacenamiento.

**Tabla # 6. Recuperación de vitamina C y vitamina A por gramo de harina.**

Tiempo	Ph		Mg de vitamina C recuperados	µg de vitamina A recuperados
0	5		0.482	6.130
			0.455	6.990
			0.455	
		Promedio	0.464	6.560
		D.S.	0.009	0.176
		Recuperación %	<b>92.80</b>	<b>90.36</b>
0	7		0.482	6.880
			0.482	5.380
			0.482	
		Promedio	0.482	6.360
		D.S.	0	0.608
		Recuperación %	<b>96.40</b>	<b>87.60</b>

45	5		0.453 0.453 0.438	3.920 2.780
		Promedio D.S. Recuperación %	0.448 0.009 <b>89.60</b>	3.350 0.806 <b>46.14</b>
45	7		0.394 0.394 0.394	1.980 2.790
		Promedio D.S. Recuperación %	0.394 0 <b>78.80</b>	2.385 0.573 <b>32.78</b>
90	5		0.305 0.290 0.305	2.020 1.920
		Promedio D.S. Recuperación %	0.300 0.009 <b>60.00</b>	1.970 0.071 <b>27.13</b>
90	7		0.327 0.327 0.327	0.890 2.020
		Promedio D.S. Recuperación %	0.327 0 <b>64.00</b>	1.455 0.799 <b>20.04</b>

Como se puede observar en la tabla # 6 la recuperación de vitamina C es bastante aceptable, sin embargo la recuperación de vitamina A no fue tan buena, las razones de esto se explican a continuación para cada vitamina.

Los valores de recuperación fueron calculados en base a 0.5 mg de vitamina C por gramo de harina y 7.26 µg de retinol por gramo de harina para la vitamina A.

## 2. Vitamina C

El análisis de vitamina C realizado para las diferentes muestras de harina y los productos hechos a base de esta harina; tamalito, atol y tortilla se realizaron con el fin de conocer si los efectos de cocción, pH y almacenamiento alteran la cantidad de vitamina C agregada. La tabla # 2 muestra que a 0 días la cantidad de vitamina C es de 0.464 mg por gramo de harina a pH 5 y de 0.482 mg por gramo de harina a pH 7. La cantidad de

vitamina C que se agregó para fortificar 1 gramo de harina fue de 0.5 mg originalmente, por lo que hubo una recuperación del 92.8% y 96.4% respectivamente. Se considera que estas recuperaciones en la vitamina C adicionadas son aceptables. Sin embargo puede considerarse que la falta de homogenización al momento de mezclar las vitaminas con la harina es un factor que puede influir en la variabilidad de los valores de contenido y su recuperación.

**Tabla # 7. mg de Vit. C/gr de muestra en productos hechos a base de harina de maíz fortificada (0 días de almacenamiento).**

Muestra	pH 5	PH 7	mg A.C/g muestra
Tamalito	X		0.209
Tamalito		X	0.257
Tortilla	X		0.249
Tortilla		X	0.303
Atol	X		0.161
Atol		X	0.167
Harina	X		0.464
Harina		X	0.482

Se puede observar también en la tabla # 7 que las pérdidas de vitamina C después de procesada la harina por cocción en atol, tamalito y tortilla fueron considerables tomando los valores de concentración real de vitamina C para la harina, lo que confirma que la cocción degrada la vitamina C. La tabla # 8 muestra los porcentajes recuperados de vitamina C en los tres productos de las harinas a diferente pH.

**Tabla # 8. Recuperación de vitamina C en el proceso de elaboración de producto, % (0 días de almacenamiento).**

Producto	PH 5	PH 7	% real recuperado de vitamina C	% teórico (0.5mg de vit.C/g harina)
Tamalito	X		45.0	41.8
Tamalito		X	53.3	51.4
Tortilla	X		54.5	49.8
Tortilla		X	62.9	60.6
Atol	X		34.7	32.2
Atol		X	34.7	33.4
Harina	X		-----	92.8
Harina		X	-----	96.4

Como se puede ver en la tabla # 8 se presentan dos porcentajes de recuperación, el porcentaje real, que consiste en el cálculo hecho basándose en el valor encontrado de vitamina C en el producto hecho a partir de la harina fortificada correspondiente a 0 días de almacenamiento, mientras que el porcentaje teórico corresponde a los gramos de vitamina C añadidos a la harina originalmente. Cabe aclarar que en las siguientes tablas el valor de porcentaje real se basa en la cantidad de vitamina que se encontró en la harina en el período de almacenamiento correspondiente.

Como se puede ver en la tabla # 8 el porcentaje perdido de vitamina C fue más alto para el atol que los demás productos. Esto se debe a que para su elaboración es necesario dejar hervir el agua con la masa por alrededor de 10 minutos y esto crea una degradación de la vitamina por el calor y alta temperatura. Luego siguen los tamalitos que se preparan con masa, sal y manteca envueltos en tusa y se cocinan en una hoyo con un poco de agua alrededor de 20 minutos. La temperatura alcanzada por los tamalitos no llega a ser la misma que la del vapor de agua que se utiliza para cocinar los tamalitos por lo que la vitamina C no se degrada de la misma manera que en el atol. Las menores pérdidas de vitamina C se encuentran en las tortillas porque solo requiere de alrededor de 1 a 2 minutos para cocinarlas. También se puede observar que tanto el tamalito como la tortilla, el porcentaje de recuperación de vitamina C es mayor para pH 7 que a pH 5, a diferencial del atol que presenta valores muy similares de recuperación para los diferentes valores de pH.

La tabla # 9 resume el contenido de vitamina C en la harina de maíz nixtamalizada, en el atol, tamalito y tortilla después de 45 días de almacenamiento, y la tabla # 10 las recuperaciones. Como se puede observar, las recuperaciones son menores a 45 días que a 0 días de almacenamiento. Finalmente las tablas 11 y 12 resumen la información para las muestras cuadradas a los 90 días. En este caso la recuperación de vitamina C fue menor en relación con los 45 días.

**Tabla # 9. mg de vit. C/gr de muestra en productos hechos a base de harina de maíz fortificada (45 días de almacenamiento).**

Muestra	pH 5	pH 7	mg A.C/g muestra
Tamalito	X		0.175
Tamalito		X	0.190
Tortilla	X		0.191
Tortilla		X	0.212
Atol	X		0.095
Atol		X	0.119
Harina	X		0.317
Harina		X	0.336

La cantidad de vitamina C en la harina en este período bajó alrededor del 30% debido al factor almacenamiento.

**Tabla # 10. Recuperación de vit. C en el proceso de elaboración de producto, % (45 días de almacenamiento).**

Producto	PH 5	PH 7	% real recuperado de vitamina C	% teórico recuperado (0.5 mg vit.C/g harina)
Tamalito	X		55.2	35.0
Tamalito		X	56.6	38.0
Tortilla	X		60.3	38.2
Tortilla		X	63.1	42.4
Atol	X		30.0	19.0
Atol		X	35.4	23.8
Harina	X		-----	89.6
Harina		X	-----	78.8

De nuevo se observa máximas pérdidas en el atol.

**Tabla # 11. Mg de vit. C/gr de muestra en el proceso de elaboración de productos (90 días de almacenamiento).**

Muestra	PH 5	PH 7	Mg A.C/g muestra
Tamalito	X		0.137
Tamalito		X	0.141
Tortilla	X		0.173
Tortilla		X	0.207
Atol	X		0.116
Atol		X	0.084
Harina	X		0.300
Harina		X	0.327

**Tabla # 12. Recuperación de vit. C en el proceso de elaboración de producto, % (90 días de almacenamiento).**

<b>Producto</b>	<b>PH 5</b>	<b>PH 7</b>	<b>% real recuperado de vitamina C</b>	<b>% teórico recuperado (0.5 mg de vit.C/g harina)</b>
Tamalito	X		45.7	27.4
Tamalito		X	43.1	28.2
Tortilla	X		57.7	34.6
Tortilla		X	63.3	41.4
Atol	X		38.7	23.2
Atol		X	25.7	16.8
Harina	X		-----	60.0
Harina		X	-----	65.4

Para el análisis estadístico correspondiente a los datos de concentración de vitamina C con respecto al proceso de cocción (Apéndice B) Tabla A, se puede observar que el valor de probabilidad se encuentra en 0.01%, esto significa que la cantidad de vitamina C resulta afectada por el proceso de cocción y que su contenido es diferente en cada uno debido a que cada uno conlleva distinto proceso térmico. El cálculo de medias (tabla A<sub>3</sub>) muestra que la harina posee el valor más alto de vitamina C, ya que no está procesada, seguido de la tortilla, debido a su proceso de cocción y menor tiempo de exposición al calor.

Según los valores de probabilidad para las muestras de tamalito, atol y tortilla (Apéndice B tabla C, D y E), la concentración de vitamina C en el tamalito se ve afectada por los días de almacenamiento, el pH y por lo tanto la interacción pH y días. El análisis de medias muestra que la mayor concentración de vitamina se encuentra a los 0 días y a pH 7. En lo que respecta al atol, la concentración de vitamina C se ve afectada por los días y el pH pero no por la interacción de estas dos, esto quiere decir que cada factor afecta independientemente la cantidad de vitamina C, sin embargo se puede atribuir este resultados a que las muestras que se tomaron de atol eran muy pequeñas y no son significativas para el análisis. El análisis muestra de nuevo que a 0 días y a pH 7 hay más concentración de vitamina C. Finalmente está la tortilla donde la concentración de vitamina C se ve afectada por el pH y los días independientemente pero no por la

interacción de estas dos. Al igual que el atol esto significa que cada variable afecta por su cuenta a la vitamina C y su efecto no depende del otro o viceversa para que haya una degradación de la vitamina. El cálculo de medias muestra que hay más concentración de vitamina a 0 días y pH 7.

La razón por la que se encuentra más vitamina a 0 días es porque fue en el momento que se fortificó y a la razón por la que se encuentra más vitamina a pH 7 que a pH 5 se explica más adelante.

La tabla # 13 muestra las pérdidas de vitamina C debido a un período de almacenamiento de 90 días.

**Tabla # 13. Pérdida de vitamina C durante período de almacenamiento.**

Muestra	Ph 5	Ph 7	Mg. Vit.C/g muestra			% perdido entre 0 y 45 días	% perdido entre 45 y 90 días	% total perdido	% total perdido con respecto a 0.5mg
			0 días	45 días	90 días				
Harina	X		0.464	0.317	0.300	31.68	5.36	35.34	40.0
Harina		X	0.482	0.336	0.327	30.29	2.68	32.16	34.6

Según estos resultados podemos observar que la pérdida más drástica fue de 0 a 45 días y luego se logró mantener los 45 días restantes ya que la pérdida fue tan solo entre el 2 y 6%. Esto demuestra que la degradación de la vitamina C con respecto a los días no es lineal. La razón de esto se debe a varios factores: El maíz contiene un porcentaje de grasa en el cual se encuentran ácidos grasos insaturados. Esta grasa insaturada es muy propensa a transformaciones oxidativas. Al realizar un análisis de acidez de grasas (tabla # 14), se encontró que en efecto la acidez aumentó por lo que puede existir un grado de rancidez en la harina favoreciendo la pérdida de vitamina C, ya que ésta, siendo un agente reductor se oxida. Es por eso que se observa una pérdida de vitamina C considerable en los primeros 45 días ya que la grasa empieza a descomponerse debido a que ya transcurrió un buen tiempo desde que salió de la fábrica. Otro factor importante es que minerales como el hierro y el cobre a concentraciones menores de 1ppm catalizan la

oxidación de las grasas. Los ácidos grasos libres solubilizan estos iones y facilitan su acción catalizadora ya que provocan un mayor contacto con el lípido. Debido a que para elaborar la harina, el maíz es por lo general expuesto a equipo elaborado con estos metales, es muy probable entonces que estos iones hayan contribuido en la degradación inicial de la vitamina C.

Por último se puede mencionar la actividad acuosa, que desempeña un papel importante en la velocidad de oxidación, a valores entre 0.4 y 0.8 favorece la oxidación debido a que incrementa la movilidad de los reactivos y se solubilizan los metales catalizadores. Los alimentos deshidratados tienen una actividad acuosa aproximadamente entre 0.4 y 0.6. La harina de maíz es un producto deshidratado por lo que se puede considerar que tenga una actividad acuosa en este rango y que haya favorecido la oxidación inicial de la vitamina C porque permitió la movilidad de los metales y la solubilidad en el medio que les facilitó el contacto con el ácido ascórbico.

Es importante mencionar que la vitamina C es afectada también por su exposición al aire, ya que el oxígeno transforma la vitamina C en ácido dehidroascórbico por la transferencia de electrones al oxígeno. Cabe mencionar que el empaque donde se encontraba la harina no es del todo permeable al aire, por lo que pudo haber oxidación de la vitamina C debido al contacto con oxígeno que haya entrado a la bolsa.

Para el análisis estadístico, (análisis de varianza) correspondientes a los datos de concentración de vitamina C con respecto al período de almacenamiento (Apéndice B, tabla A) se puede observar que el valor de probabilidad es de 0.01% lo cual nos indica que los datos son significativamente diferentes (rango entre 0 y 5% indica que las muestras son significativamente diferentes) para 0, 45 y 90 días, esto significa que los días sí afectaron la concentración de vitamina C en la harina, como ya se mencionó. Esto se puede deber a que la vitamina C se oxida si su exposición al aire es grande y esta harina estuvo alrededor de tres meses almacenada a una temperatura ambiente aproximadamente de 25 °C. El hecho de estar empacada en bolsas de papel por un período de 90 días y a una temperatura que no es de refrigeración precisamente, y todos

los factores mencionados anteriormente, no ayudó a una mejor preservación de la vitamina. Según el cálculo de medias, el valor de concentración de vitamina C más alto fue a 0 días, lógicamente ya que fue cuando se fortificó. Los valores para 45 y 90 días son parecidos, es decir, la pérdida de vitamina C no fue tan drástica como los primeros 45 días, por las razones expuestas con anterioridad.

Los análisis estadísticos para la harina como variable independiente, muestran que la concentración de vitamina C en la harina se ve afectada por los días de almacenamiento, el pH y la interacción de estas dos, comprobando así los resultados expuestos anteriormente y que haya más concentración de vitamina C a 0 días y pH 7 en todas las muestras.

Ya se explicó por qué hay pérdidas por almacenamiento, pero según los resultados el pH también influye en las pérdidas, ya que se encontró mayores concentraciones de vitamina C a pH 7 que a pH 5, teóricamente la vitamina C es más estable a pH ácidos que a pH neutro por lo que se realizó un análisis de acidez de grasas para justificar estos resultados.

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla # 14.

**Tabla # 14. Mg de KOH para neutralizar 100g de harina seca.**

<b>Harina</b>	<b>PH</b>	<b>Mg KOH (harina a 0 días)</b>	<b>Mg KOH (harina a 90 días)</b>
Control	5	10.21	70.92
Control	7	8.60	68.77
Fortificada	5	-----	85.96
Fortificada	7	-----	72.00

Este valor de acidez se lee como miligramos de KOH requeridos para neutralizar ácidos grasos libres en 100 gramos de harina en base seca. Como se puede ver en la tabla # 14, sí existe una degradación de las grasas ya que hubo un incremento del grado de acidez en un período de 90 días. Los valores para 0 días de la harina fortificada no se realizaron ya que las vitaminas no causan ningún efecto en el grado de acidez en la harina

en este período, ya que se acaban de agregar. Por lo que los valores del control serían iguales a estas.

El incremento del nivel de acidez se debe a que el maíz contiene una fuerte actividad lipásica producida por enzimas llamadas lipasas cuya función biológica es aprovechar los lípidos que sirven para suministrar nutrimentos y así fortalecer la germinación. Durante la trituración del grano se favorece la acción de estas enzimas; se hidroliza el enlace éster de los triacilglicéridos y de los fosfolípidos, produciéndose grasos libres e incrementándose el índice de acidez, dichos ácidos grasos libres no se eliminan del todo en la nixtamalización, es por eso que después de un tiempo se empiezan a observar características de rancidez en la harina. Según los resultados de la tabla anterior el grado de acidez para la harina a pH 5 tanto para el control como para la fortificada fue más alto que para las de pH 7 ya que se necesitaron más miligramos de KOH para neutralizar los ácidos.

Esto, por lo tanto, provocó una pérdida mayor de vitamina C a pH 5 que a pH 7 ya que existían más ácidos grasos libres que se oxidaron a este pH y que degradaron la vitamina. Estas grasas insaturadas contienen radicales libres que al juntarse con oxígeno producen peróxidos, que son los responsables del mal olor y sabor de los alimentos, características de rancidez. Estos peróxidos también degradan la vitamina C. Es posible que la harina que se encuentra a pH 7 contenga menor grado de acidez ya que para llevar a pH 7 la harina se agregó hidróxido de calcio, que con el tiempo llegan a formar jabones debido a un intercambio de los iones de  $\text{Ca}^+$  como sucede en la saponificación, dejando expuestos una menor cantidad de ácidos grasos a la oxidación. En cambio para llevar la harina a pH 5 se agregó ácido cítrico, que también es un antioxidante del mismo tipo que la vitamina C, pero ya que no interactúa directamente con los ácidos grasos sino que con el oxígeno y los metales, su efecto no evitó la degradación de las grasas en un mismo grado que el hidróxido de calcio.

Según los análisis estadísticos realizados (Tabla A), el pH sí afecta la concentración de vitamina C en la misma (razón explicada anteriormente), pero no es un factor que en

conjunto con los días de almacenamiento afecte la concentración de ácido ascórbico ya que el pH hizo su efecto a un tiempo desconocido y no depende de los días para actuar, probablemente haya sido en los primeros días de almacenamiento debido a los ácidos grasos libres.

Por otra parte la concentración de vitamina C puede ser afectada también por cocción y almacenamiento. La interacción de estos factores solamente se puede llevar a cabo para los productos elaborados (tamalitos, atol y tortilla). Se encontró que la interacción cocción con días de almacenamiento fue de 0.01% de probabilidad, esto indica que las dos variables juntas afectan la concentración de vitamina C, ya que ésta se pierde debido a un proceso térmico, que es un factor bastante importante para la degradación del ácido ascórbico al igual que forma el almacenamiento como mencionamos anteriormente. Estos dos factores juntos, por consiguiente, crean una pérdida considerable de la vitamina C para los productos, considerando que cada uno de ellos lleva diferente proceso de cocción, que pero siempre llega a ser significativo con respecto a la cantidad de vitamina C, encontrada originalmente en la harina.

La interacción pH y cocción sí es un factor considerable para la pérdida de vitamina C, ya que su valor de probabilidad se encuentra en el 0.1%. Esto indica que el proceso de cocción degrada la vitamina C conjuntamente con el pH y existe un sinergismo entre estos dos factores para oxidar esta vitamina. De acuerdo al análisis estadístico, la interacción pH y días de almacenamiento actúan independientemente ya que una no depende de la otra para degradar la vitamina.

Por último se encuentra la interacción pH, cocción y días de almacenamiento, la cual da un valor de probabilidad del 0.01%. Esto indica que son significativamente diferentes ya que cada una independientemente tiene también una probabilidad del 0.1%, que en conjunto afectan fuertemente la oxidación de la vitamina C. Según el cálculo de medias correspondiente, la concentración de vitamina C se ve más afectada a 90 días de almacenamiento, a pH 5 y en el proceso de cocción que lleva el atol. Esto se debe a que la harina para 90 días tuvo una pérdida total del 35.34% a un pH de 5 contra 32.16% a un

pH de 7 (ver tabla #13), y a que el producto más afectado, como se puede observar en las tablas anteriores, fue el atol, debido a su tratamiento térmico. Cabe mencionar que la pérdida de vitamina C no es tan diferente entre valores de pH, hay una variación apenas del 3.2% por lo que su interacción con las otras variables por separado no causa un efecto significativo en la concentración de vitamina C.

Debido a que se perdió una cantidad considerable de vitamina C, se agregó una cantidad extra de vitamina C (0.25mg/g de harina) con el fin de comprobar si existe una mayor recuperación de la misma agregando más cantidad. Los resultados encontrados fueron los siguientes:

**Tabla # 15 mg de Vit. C/gr de muestra en productos hechos a partir de harina de maíz extra fortificada. (0.75g vit. C/g. Muestra)**

Muestra	PH 5	PH 7	Mg. vit C/gr. Muestra
Tamalito	X		0.415
Tamalito		X	0.471
Tortilla	X		0.525
Tortilla		X	0.654
Atol	X		0.287
Atol		X	0.316
Harina	X		0.692
Harina		X	0.709

**Tabla # 16 Recuperación de vit. C en el proceso de elaboración de producto, % (extra fortificación).**

Producto	PH 5	PH 7	% recuperado	% recuperado con respecto a 0.75mg
Tamalito	X		59.97	55.33
Tamalito		X	66.77	62.80
Tortilla	X		76.10	70.00
Tortilla		X	92.24	87.20
Atol	X		41.47	38.27
Atol		X	44.51	42.13
Harina	X		---	92.27
Harina		X	---	94.53

Como se puede observar en la tabla # 15, las recuperaciones fueron un poco mayores que en las tablas anteriores por lo que se podría considerar agregar un poco más de vitamina C para obtener más de este nutriente. Las pérdidas son de nuevo más altas para el atol, luego los tamalitos y de último las tortillas. Es interesante observar que la recuperación de vitamina C para la tortilla es muy buena y podría ser una fuente de vitamina C a una concentración de fortificación de 0.75mg de ácido ascórbico por gramo de harina. Sin embargo sabemos que se perdería una cantidad considerable en un período de 45 días debido a los ácidos grasos pero se lograría retener un poco más que la harina que fue fortificada con 0.5mg de ácido ascórbico.

Para la determinación cuantitativa de la vitamina C, se utilizó el método de titulación descrito en el Apéndice C, que utiliza el reactivo 2-6dicloroindofenol y que se basa en la reducción de este indicador por acción del ácido ascórbico. Sin embargo este método no es tan exacto ya que podrían existir otros agentes reductores en la harina y además el punto final de la titulación es muy subjetivo. Una alternativa para sustituir este método y obtener resultados más precisos sería una técnica de cromatografía líquida de alta presión.

Un factor importante que se debe mencionar es que los análisis hechos de vitamina C a una harina sin fortificar fueron negativos.

**Tabla # 17 mg de vitamina C/g de harina durante período de almacenamiento.**

Días	pH	harina	Productos		
			tamalito	Tortilla	Atol
0	5	0.464	0.204	0.249	0.161
45	5	0.317	0.175	0.241	0.045
90	5	0.300	0.137	0.173	0.116
0	7	0.482	0.257	0.303	0.167
45	7	0.336	0.190	0.212	0.119
90	7	0.327	0.141	0.207	0.084

La tabla # 17 presenta en resumen los valores promedio de vitamina C encontrados, tanto en la harina como en los productos a los 90 días de almacenamiento. Los datos concuerdan con lo discutido con anterioridad observándose una tendencia de los valores a

disminuir por los factores de cocción y días de almacenamiento, existiendo una mayor presencia de vitamina C a pH 7 que a pH 5.

### **3. Vitamina A**

La vitamina A puede presentarse en forma de retinol, es por eso que los valores de las tablas en esta sección y tabla # 6 de la sección de resultados están basados en 7.26 $\mu$ g de retinol agregados a la harina que corresponden a 8.33 $\mu$ g de vitamina A-Acetato (compuesto que se utilizó para fortificar).

En la tabla #6 se muestra como se comportó la vitamina A en la harina durante 3 meses de almacenamiento y la tabla # 18 muestra las recuperaciones entre cada período. Se puede observar que la recuperación de vitamina A a los 0 días fue del 93.67%. Estos valores son bastante aceptables en cuanto a homogeneidad de los nutrientes en la harina. Las pérdidas más drásticas fueron de 0 a 45 días, ya que la recuperación fue solamente del 42.21%. La razón de esto radica en que la vitamina A también es sensible a la oxidación en presencia de catalizadores como enzimas, actividad acuosa baja y metales de transición; es decir, se ve afectada por los mismos factores que ocasionan la degradación de las grasas y debido a que se comprobó que existe un grado de acidez en la harina, es positivo afirmar que la vitamina A fue afectada de igual manera que la vitamina C. Sin embargo después de los 45 días el contenido de esta vitamina bajó otro 40.42%, lo que implica que la vitamina A se sigue degradando considerablemente con el tiempo. Cabe mencionar que el tamaño de la partícula de la vitamina A era mucho más grande que la de la vitamina C, esta se encontraba en forma de cristales amarillos mientras que la vitamina C tenía aspecto de un polvo fino de color blanco. Esta diferencia de tamaños influye en la toma de la muestra a analizar. Si a esto se agrega el hecho de que la vitamina A es liposoluble y de que la harina tiene un porcentaje de humedad alrededor del 7% es más fácil que se distribuyan las partículas de vitamina C que las de vitamina A en la harina, no sólo por su tamaño sino por sus características químicas. Por ejemplo, es posible que se haya dado una sedimentación de las partículas de vitamina A durante el período de almacenamiento. De acuerdo a lo anterior, es probable que los valores de vitamina A varíen en su concentración con respecto a los de vitamina C, ya

que la toma de la muestra no es tan representativa como se podría esperar. Además, debe agregarse el hecho de que el análisis químico para su cuantificación, está más susceptible a pérdidas que el de la vitamina C.

**Tabla # 18. Recuperación de vitamina A en la harina durante el período de almacenamiento.**

<b>Período de almacenamiento</b>	<b>μ retinol/gr. Harina</b>	<b>% recuperado entre períodos</b>	<b>% recuperado con respecto a 7.26μgretinol/g harina</b>
0 días	6.80	-----	93.67
0 a 45 días	2.87	42.21	39.53
45 a 90 días	1.71	59.58	23.56

Es necesario aclarar que los valores de recuperación de vitamina A entre réplicas para cada pH fueron muy distintos por lo que se promedió el valor de las cuatro réplicas, eliminando el factor de pH. Los resultados de vitamina A para los productos elaborados (tortilla, atol y tamalito) para 0 y 45 días se muestran a continuación.

**Tabla # 19. Microgramos retinol/gr de muestra durante período de almacenamiento.**

<b>Muestra</b>	<b>Concentración de retinol 0 Días</b>	<b>Concentración de retinol 45 Días</b>
Tamalito	6.47	2.21
Tortilla	6.59	2.25
Atol	1.48	-----

Como se puede ver en la tabla anterior, solamente se practicaron análisis para 0 y 45 días, la razón de esto radica en que las pérdidas de vitamina A fueron tan drásticas después de procesada la harina a 45 días, que al realizar los análisis de vitamina para los productos a 90 días la recuperación de ésta fue prácticamente nula debido a la pequeña concentración de vitamina en la harina para ese período.

La razón por la que se observa una pérdida de vitamina A tan fuerte después de procesada la harina para la elaboración de estos 3 productos, se debe a que esta vitamina es muy sensible a altas temperaturas. Es por eso que el atol tiene la mayor pérdida ya que su exposición al calor es más prolongada que la de los demás.

**Tabla # 20 recuperaciones de vitamina A debido a proceso de cocción.**

<b>Muestra</b>	<b>Día</b>	<b>Microg.retinol/gr.</b>	<b>Recuperación real de vitamina A, %</b>	<b>Recuperación teórica de vitamina A, % (7.26 µg retinol)</b>
Tamalito	0	6.29	92.5	86.6
	45	2.21	77.0	30.4
Tortilla	0	6.59	96.9	90.8
	45	2.25	78.4	31.0
Atol	0	4.74	69.7	65.3
	45	-----	-----	----

Según la tabla # 20 se puede observar pérdidas no solo por cocción sino también por almacenamiento, por lo que se encontró recuperaciones de hasta el 30%, siendo estas más pequeñas que las recuperaciones de C, que es menos sensible al calor.

El método utilizado para el análisis cuantitativo de la vitamina A fue la técnica de cromatografía líquida de alta presión. Este método permite la determinación de este compuesto en valores bastantes exactos, sin embargo el método de extracción utilizado para cuantificar esta vitamina no es tan confiable, ya que primero se debe someter la muestra a 1 hora de saponificación y si la temperatura o tiempo se excede al recomendado pueden haber pérdidas por degradación, es necesario por consiguiente agregar un antioxidante (hidroquinona) para evitar la oxidación de la vitamina. Posteriormente es extraída la muestra con éter en una ampolla de decantación, aquí puede existir pérdida si no se extrae con las mismas cantidades de éter en cada decantación. Por último se lava y se evapora el éter. En este paso es recomendable utilizar nitrógeno, ya que siendo un gas inerte, evapora el éter trabajando en frío y las posibilidades que se pierda la vitamina son mínimas. Si se utiliza un rotavapor se debe tener cuidado que el agua utilizada para evaporar el éter no esté muy caliente. Todos estos pasos no permiten una extracción completa y exacta de la vitamina.

Para el análisis de la vitamina A se trabajó en duplicado esperando obtener valores con una diferencia no significativa, sin embargo debido a que la muestra no se encontraba distribuida uniformemente en la harina (debido a sedimentación) y que

además existen pérdidas durante la extracción de la vitamina, los valores de las réplicas no quedaron similares y tampoco se pudo observar una diferencia por pH.

Para obtener los valores correspondientes a concentración de vitamina A, se utilizó un programa de computación (Kemp Station), que opera el aparato de cromatografía líquida, el cual consiste en registrar por medio de un detector el pico correspondiente a la muestra que se está trabajando e integrar dicho pico para dar valores de área que corresponden a una concentración de retinol. Estos picos se pueden ver en un cromatograma diseñado por el programa que se muestra en la sección del apéndice. Los valores de concentración se establecieron con una curva de calibración ( $\mu\text{g}$  retinol vrs. área) que se llevó a cabo con palmitato de retinol, el cual se trató como muestra a diferentes concentraciones (saponificación, extracción, lavado, evaporado) para obtener 4 valores de concentración de retinol (muestras patrón), que posteriormente se leyeron en el aparato para encontrar sus valores de área correspondientes (Ver Apéndice C).

Los análisis estadísticos correspondientes se realizaron basándose en dos factores, cocción y días de almacenamiento, ya que no hubo diferencia significativa entre pHs y no se tomaron en cuenta los valores para el atol, debido a que el cromatógrafo no detectó ningún pico correspondiente a la vitamina para esas muestras.

El valor de probabilidad para los días de almacenamiento fue del 0%, por lo que la interpretación correspondiente indica que la concentración de vitamina A en la harina es afectada por los días de almacenamiento, ya que hubo una pérdida bastante fuerte de 0 a 90 días debido a las condiciones en las que se almacenó y en especial por la degradación de las grasas. Es de esperarse entonces que los productos hechos a base de esta harina también varíen con respecto al almacenamiento por lo que su valor de probabilidad se encuentra en 0% como muestra las tablas H, I del apéndice. El análisis de media correspondiente muestra que a 0 días existe la concentración más alta de vitamina A.

Es necesario aclarar, que debido a la degradación total de la vitamina A en el atol a los 45 días, no se incluyó este producto para la realización de los datos estadísticos.

A diferencia de la vitamina C, de acuerdo a los análisis estadísticos, no existe diferencia significativa entre los resultados obtenidos de concentración de vitamina A en los productos tortilla y tamalito, por lo que no se puede concluir que el tiempo o temperatura de cocción sean variables determinantes en la pérdida de vitamina A.

La tabla F muestra que el valor de probabilidad para concentración de vitamina A debido a factor cocción es de 80%, esto indica que las muestras no son significativamente diferentes y por lo tanto se comprueba que el proceso de cocción no afecta la cantidad de vitamina A en la muestra.

#### 4. Evaluación sensorial

Se realizó durante el período de almacenamiento una evaluación sensorial de preferencia pareada para los diferentes productos hechos a partir de harina fortificada. Los resultados de significancia se obtuvieron mediante la tabla 7.2 del apéndice C.

A continuación se muestran los resultados:

**Tabla # 21. Resultados de evaluación sensorial para un nivel de significancia del 5% (0 días de almacenamiento).**

Producto	Número de muestra	Número de panelistas que prefirieron la muestra	Nivel de significancia
Tamalito	Fortificada 391	21	0.043
	Ph 5 Control 002	9	
Tortilla	Fortificada 515	24	0.001
	Ph 5 Control 936	6	
Atol	Fortificada 289	7	0.005
	Ph 5 Control 491	23	
Tamalito	Fortificada 273	15	————
	Ph 7 Control 474	15	
Tortilla	Fortificada 667	6	0.001
	Ph 7 Control 368	24	
Atol	Fortificada 352	10	0.099
	Ph 7 Control 233	20	

Para que el resultado se pueda considerar significativo, el valor de probabilidad debe ser menor de 0.05. Se encontró que el panel prefirió el tamalito hecho con harina fortificada a pH 5 que uno sin fortificar. De igual manera sucedió con la tortilla fortificada a pH 5. Sin embargo el panel prefirió el atol hecho con harina sin fortificar.

Para los productos hechos con harina a pH 7 no hubo una diferencia significativa entre los productos fortificados y los de control por lo que no se puede concluir acerca de ellos.

En las evaluaciones correspondientes a los períodos de 45 y 90 días se obtuvieron los siguientes resultados:

**Tabla # 22. Resultados de evaluación sensorial para un nivel de significancia del 5% (45 días de almacenamiento).**

Producto	Número de muestra	Número de panelistas que prefirieron la muestra	Nivel de significancia
Tamalito Ph 5	Fortificada 391	12	0.043
	Control 002	18	
Tortilla Ph 5	Fortificada 515	17	0.585
	Control 936	13	
Atol Ph 5	Fortificada 289	21	0.043
	Control 491	9	
Tamalito Ph 7	Fortificada 273	23	<b>0.005</b>
	Control 474	7	
Tortilla Ph 7	Fortificada 667	16	0.858
	Control 368	14	
Atol Ph 7	Fortificada 352	21	0.043
	Control 233	9	

Para esta evaluación, existió una preferencia del panel para los productos de tamalito y atol, donde hay una preferencia por el tamalito control y el atol fortificado. A pH 7 se prefirió tanto el atol como el tamalito fortificado. Esto permite comprobar que ya existe un grado de rancidez en este período debido a la degradación de las grasas, es probable

que el panel tenga preferencia por los productos hechos con harina a pH 7 y que las vitaminas hayan contribuido a mejorar el sabor de los productos ya que hubo mejor aceptación que los productos control. Con respecto a la tortilla no hubo diferencia significativa, esto quiere decir que el panel no encontró diferencias que les permitieran preferir una muestra de otra.

**Tabla # 23. Resultados de evaluación sensorial para un nivel de significancia del 5% (90 días de almacenamiento).**

Producto	Número de muestra	Número de panelistas que prefirieron la muestra	Nivel de significancia
Tamalito	Fortificada 391	15	-----
Ph 5	Control 002	15	
Tortilla	Fortificada 515	16	0.856
Ph 5	Control 936	14	
Atol	Fortificada 289	20	0.099
Ph 5	Control 491	10	
Tamalito	Fortificada 273	23	<b>0.005</b>
Ph 7	Control 474	7	
Tortilla	Fortificada 667	15	-----
Ph 7	Control 368	15	
Atol	Fortificada 352	22	0.016
Ph 7	Control 233	8	

En la tabla # 23 existió una preferencia por los productos fortificados para pH 7 a excepción de la tortilla, lo cual indica que las personas aceptan los productos fortificados y no encuentran un rechazo en sus propiedades organolépticas. Esto permite confirmar al estudio, que la harina de maíz nixtamalizada fortificada con vitaminas A y C tiene una buena aceptación del consumidor, ya que durante los 3 meses de almacenamiento hay una preferencia por esta harina contra la de control. Así mismo se comprueba, que el haber agregado estas vitaminas a la harina, no cambió el color ni la presentación original de esta.

En la tabla # 24 se listan todos los resultados de la evaluación sensorial para los 3 períodos de almacenamiento a pH 5 y pH 7. Para cada uno de estos períodos se encuestó un total de 30 personas, expresando cada una de estas su preferencia entre el grupo fortificado y el grupo control, para cada uno de los productos estudiados. En la tabla # 25 se indican los porcentajes de preferencia para los productos fortificados.

**Tabla # 24. Resultados de evaluación sensorial de productos hechos a base de harina de maíz durante período de almacenamiento.**

PH	Producto	0 días		45 días		90 días		total	
		F	C	F	C	F	C	F	C
5	Tamalito	21	9	12	18	15	15	48	42
	Tortilla	24	6	17	13	16	14	57	33
	Atol	7	23	21	9	20	10	48	42
7	Tamalito	15	15	23	7	23	7	61	29
	Tortilla	6	24	16	14	15	15	37	53
	Atol	10	20	21	9	22	8	53	37

F= fortificada

C= Control

**Tabla # 25. Porcentaje de preferencia para productos fortificados.**

PH	Producto	0 días	45 días	90 días
		Pref. Por prod. fortificados (%)	Pref. Por prod. fortificados (%)	Pref. Por prod. fortificados (%)
5	Tamalito	70	40	50
	Tortilla	80	57	53
	Atol	23	70	67
7	Tamalito	50	77	77
	Tortilla	20	53	50
	Atol	33	70	73

Las tablas # 24 y 25 presentan un resumen de las preferencias del panel. Como se puede ver en la tabla # 25 existe una preferencia considerable para los productos tamalito y tortilla a 0 días de almacenamiento hechos con harina a pH 5, pero a medida que pasaron los días no existió una preferencia significativa para ninguno de ellos. Esto se puede deber a que la harina empezó a perder sus características de sabor debido a un grado de rancidez. Luego se puede observar que los productos fortificados con harina a

pH 7, fueron preferidos significativamente ante el control para el tamalito y el atol a 45 y 90 días. Para la tortilla no hubo preferencia por ninguno de los dos períodos ni pH.

Para concluir se puede observar que los resultados de 0 días son distintos que a 45 y 90 días, sin embargo entre estos dos últimos períodos existe una similitud, por lo que se comprueba que el cambio de las propiedades organolépticas de los productos se encuentra entre los 0 y 45 días de almacenamiento.

## **IX. CONCLUSIONES**

### **Vitamina C**

1. El almacenamiento de 0 a 90 días, reduce la concentración de Vitamina C agregada a la harina, con recuperaciones del 64.7 y 67.8 % a pH 5 y pH 7 respectivamente.
2. El tipo de cocción afecta la retención de vitamina C, siendo el proceso de preparación de tortilla el que presenta la mayor retención, seguido del tamalito y por último el atol a los diferentes tiempos de almacenamiento.
3. Parece ser que la retención de vitamina C es mayor en harinas a pH 7 que en harinas a pH 5.
4. La mayor pérdida de vitamina C en la harina ocurre en el período de 0 a 45 días de almacenamiento.

### **Vitamina A**

1. El almacenamiento de 0 a 90 días actúa significativamente en la concentración de vitamina A en la harina, con recuperaciones de 20 - 27 %.
2. El contenido de vitamina A en los alimentos (tortilla, tamalito, atol) fue similar al contenido en la harina con la excepción del atol en donde el valor fue bajo.
3. Las pérdidas de vitamina A aumentaron en los alimentos a los 45 días y no se encontró vitamina A en los productos de harina con 90 días de almacenamiento.
4. El pH de las harinas no afecta el contenido de vitamina A.

### **Aceptabilidad**

1. El tamalito y la tortilla de la harina fortificada (pH 5) mostraron una alta preferencia a los 0 días, no así el atol. Sin embargo la preferencia por el tamalito y la tortilla disminuyó a los 45-90 días, la del atol aumento.
2. Con los productos elaborados a base de harina a pH 7, se observó un aumento en la preferencia del tamalito y tortilla a los 45-90 días, así como en el atol.

## **X. RECOMENDACIONES**

Para obtener resultados más precisos es aconsejable seguir las siguientes recomendaciones:

1. Debido a que el proceso de mezcla de vitaminas en la harina es complicado como consecuencia del tamaño de la partícula y a que se trabajó con cantidades muy grandes de harina, es recomendable que se hagan premezclas en cantidades pequeñas, así como el asegurarse de que el tiempo de mezclado sea al menos de unos 45 minutos para cada premezcla. Podría considerarse utilizar alrededor de una libra debidamente fortificada, separada del grupo, para realizar los análisis químicos respectivos de cada mes y así asegurarse de que toda la vitamina esté homogéneamente distribuida.
2. Durante la extracción de vitamina A de la muestra, es necesario tomar precauciones de que ésta no esté expuesta a la luz ya que es muy sensible a la misma. Además se debe cuidar de que los pasos a seguir en el método sean practicados en los mismos tiempos para los duplicados, ya que es fácil perder muestra en cualquiera de éstos.
3. Debido a que la vitamina A es liposoluble, es difícil que ésta se distribuya en la harina homogéneamente por lo que se debe tener cuidado que la temperatura de almacenamiento no sea muy alta ya que puede provocar sedimentación de los cristales, además se debe tratar de que el tamaño del cristal con el que se trabaje sea lo más pequeño posible para una mejor distribución.
4. Ya que existen pérdidas considerables de vitamina C después de un proceso de cocción, es recomendable aumentar la cantidad de vitamina agregada a la harina para que se pueda obtener una mayor disponibilidad de la misma, especialmente en la tortilla ya que es la forma en que más se consume esta harina y según los estudios realizados fue donde menos pérdidas de vitamina existen.

5. Ya que la vitamina C ayuda a aumentar la biodisponibilidad del hierro no hemínico, se recomienda establecer estudios in vivo acerca de esto.
6. Para llevar acabo la evaluación sensorial, es importante que los productos tengan un tamaño adecuado y que sean elaborados de la misma manera que comúnmente se realizan en los hogares del consumidor. La prueba debe ser individual.
1. Las pérdidas mayores de vitamina C ocurrieron en los primeros 45 días de almacenamiento. Se considera necesario estudiar la estabilidad de las harinas nixtamalizadas fortificadas con esta vitamina en diferentes tipos de empaques que favorezcan una mayor estabilidad.

## XI. BIBLIOGRAFÍA

1. (AOAC).1984.*Official Methods of Analysis*. Association of official analytical chemists. Centennial. Edition 14th . 844-845.
2. Badui, Salvador. 1993. *Química de los alimentos*. Tercera Edición. México, D.F. Longman de México Editores S.A. 648pp.
3. Bressani,Ricardo. 1990 *Chemestry, technology, and nutritive value of maize tortillas, Food Reviews International*. 6 (2) 225-264.
4. Bressani, Ricardo, R. Paz y Paz & N. S. Scrimshaw. 1958. *Corn nutrient losses*. Chemical changes in corn during preparation of tortillas. J. Agr. Food Chem. 6: 770-774.
5. Bressani, Ricardo. 1997. Sustain document. *Nutricional quality of nixtamalized corn masa flour. Achievement trough fortification with micronutrientes*. Instituto de investigación, Universidad del Valle, Guatemala, C.A. 85pp.
6. Holland, B. *Cereals and cereal products I.D> Unwin & D.H. Buss*. The royal society of chemistry and Ministry of Agriculture, Fishiers and Food. Unwin Brothers Limited. UK.147pp.
7. Levin R. 1996. *Estadística para administradores*. Prentice-Hall Hispanoamericana, S.A. Sexta edición. México. 1018pp.
8. Matz. S. A. 1991. *Bakery Technology and Engineering*. Van Nostrand Reinhold publishing. Third Edition. New York, USA. 853pp.
9. Revista GNC (General nutrition centers).1999. *Vitaminas y minerales, Mini libro*. Guía para una vida saludable a través de la nutrición. 19pp.
10. Schram, S.B. 1982. *The LDC Basic Book on liquid chromatograpy*. Milton Roy Company St. Peterburg, Florida. 114pp.
11. Swayer et. Al. 1998. *High Performance Liquid Cromatography (HPLC)*. Chapter 13, pages 344-347.
12. Walter, Paul. 1994. *Vitamin requirements and vitamin enrichment of foods*. Revista Food Chemistry 49: 113-117.
13. 1982. *Effects of prassing conditions and cooking time on Riboflavina, thiamine and Niacin levels in enriched spaghetti*. Revista Cereal Chem. 59: 328-332pp.

14. 1968. *Enrichment and fortification of cereal and cereal products with vitamins and minerals*. Revista J.Agric. of food Chem. 16:163-167pp.
15. 1985. *Retention o selected B vitamins in cooked pasta products*. Revista Cereal Chem. 62: 476-477pp.

## APÉNDICE A

### DATOS Y CÁLCULOS

#### PARA VITAMINA C

**Tabla # 1 Mg de vitamina C en muestras para 0 días**

Muestra	V	Y	E	X	mg A.C/g muestra húmeda	mg A.C/g muestra seca	promedio
Tamalito ph 7	15	7	5	1.75	0.094	0.235	0.257
Tamalito ph 7	15	7	5	2	0.107	0.269	
Tamalito ph 7	15	7	5	2	0.107	0.269	
Tortilla ph 7	15	7	5	2.5	0.134	0.284	0.303
Tortilla ph 7	15	7	5	3	0.161	0.340	
Tortilla ph 7	15	7	5	2.5	0.134	0.284	
atol ph 7	15	7	10	0.7	0.019	0.167	0.167
atol ph 7	15	7	10	0.7	0.019	0.167	
atol ph 7	15	7	10	0.7	0.019	0.167	
Tamalito ph 5	15	7	5	1.3	0.070	0.220	0.209
Tamalito pH5	15	7	5	1.2	0.064	0.203	
Tamalito pH5	15	7	5	1.2	0.064	0.203	
Tortilla pH 5	15	7	5	1.8	0.096	0.224	0.249
Tortilla pH 5	15	7	5	2	0.107	0.249	
Tortilla pH 5	15	7	5	2.2	0.118	0.273	
atol pH 5	15	7	10	0.55	0.015	0.161	0.161
atol pH 5	15	7	10	0.55	0.015	0.161	
atol pH 5	15	7	10	0.55	0.015	0.161	
Harina pH 7	15	7	5	9		0.482	0.482
Harina pH 7	15	7	5	9		0.482	
Harina pH 7	15	7	5	9		0.482	
Harina pH 5	15	7	5	9		0.482	0.464
Harina pH 5	15	7	5	8.5		0.455	
Harina pH 5	15	7	5	8.5		0.455	

**Tabla # 2 % de humedad en muestras para 0 días**

Muestra	% de humedad
Harina pH 7	7.2
Harina pH 5	7.6
Tortilla pH 7	52.8
Tortilla pH 5	56.9
Tamalito pH 7	60.1
Tamalito pH 5	68.6
Atol pH 7	88.8
Atol pH 5	90.87

V= ml de ácido para extraer

Y = ml de solución a titular

X = ml de indofenol utilizados para titular

E = gramos de muestra

### Cálculos

$$1. \text{ mg de ácido ascórbico/g muestra húmeda} = X \cdot (0.125/E) \cdot (V/Y)$$

$$\text{mg a.a/g muestra húmeda} = 1.75 \cdot (0.125/5) \cdot (1.75/7)$$

$$\text{mg a.a/g muestra húmeda} = 0.094$$

$$2. \text{ mg de a.ac/g muestra seca} = \text{mg a.a/g muestra húmeda} / \% \text{ muestra seca}$$

$$\text{mg de a.ac/g muestra seca} = 0.094/0.399$$

$$\text{mg de a.ac/g muestra seca} = 0.235$$

**NOTA:** Estos cálculos son los mismos para 45 y 90 días con la excepción de la humedad que cambia en cada período.

**Tabla # 3 mg de vitamina C en productos para 45 días**

Muestra	V	Y	E	X	mg A.C/g muestra húmeda	Mg A.C/g muestra seca	promedio
Tortilla ph 5	15	7	5	1.5	0.080	0.186	0.191
Tortilla ph 5	15	7	5	1.55	0.083	0.193	
Tortilla pH 5	15	7	5	1.55	0.083	0.193	
Tortilla ph 7	15	7	5	2	0.107	0.227	0.212
tortilla ph 7	15	7	5	1.8	0.096	0.204	
tortilla pH 7	15	7	5	1.8	0.096	0.204	
tamalito ph 5	15	7	5	1.1	0.059	0.173	0.175
tamalito ph 5	15	7	5	1.15	0.062	0.177	
tamalito ph 5	15	7	5	1.15	0.062	0.177	
Tamalito ph 7	15	7	5	1.3	0.070	0.201	0.190
Tamalito ph 7	15	7	5	1.2	0.064	0.185	
Tamalito ph 7	15	7	5	1.2	0.064	0.185	
atol ph 7	10	7	10	0.55	0.010	0.119	0.119
atol ph 7	10	7	10	0.55	0.010	0.119	
atol ph 7	10	7	10	0.55	0.010	0.119	
atol ph 5	10	7	10	0.4	0.007	0.088	0.095
atol ph 5	10	7	10	0.45	0.008	0.099	
atol ph 5	10	7	10	0.45	0.008	0.099	
Harina ph 5	15	7	5	3		0.453	0.448
Harina ph 5	15	7	5	3		0.453	
Harina ph 5	15	7	5	2.9		0.438	
Harina ph 7	15	7	5	2.7		0.394	0.394
Harina ph 7	15	7	5	2.7		0.394	
Harina pH 7	15	7	5	2.7		0.394	

**Tabla # 4 Porcentaje de humedad en muestras para 45 días**

Muestra	% de humedad
Harina pH 7	7.0
Harina pH 5	7.2
Tortilla pH 7	56.9
Tortilla pH 5	52.8
Tamalito pH 7	65.9
Tamalito pH 5	65.27
Atol pH 7	91.85
Atol pH 5	91.77

**Tabla # 5 Mg de vitamina C en muestras para 90 días**

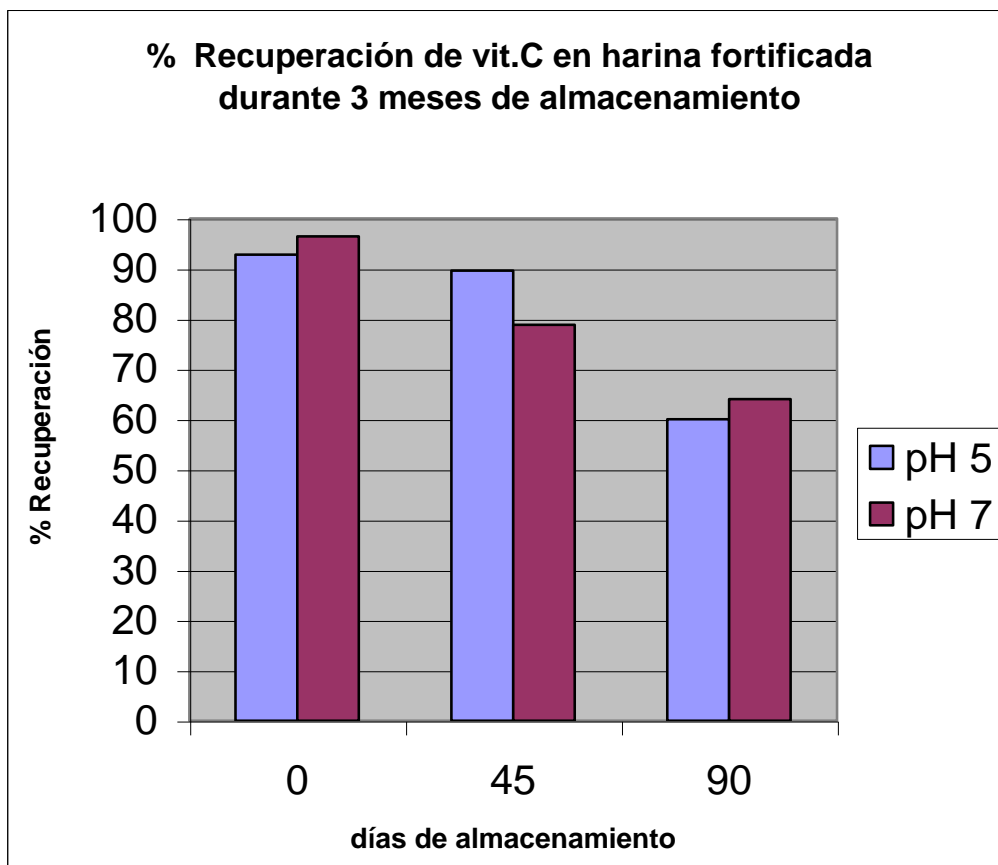
Muestra	V	Y	E	X	mg A.C/g muestra humeda	mg A.C/g muestra seca	promedio
tortilla ph 5	20	7	5	1.5	0.104	0.173	0.173
tortilla ph 5	20	7	5	1.5	0.104	0.173	
tortilla pH 5	20	7	5	1.5	0.104	0.173	
tortilla ph 7	20	7	5	1.7	0.119	0.216	0.207
tortilla ph 7	20	7	5	1.6	0.111	0.203	
tortilla pH 7	20	7	5	1.6	0.111	0.203	
tamalito ph 5	20	7	5	0.7	0.045	0.154	0.137
tamalito ph 5	20	7	5	0.6	0.037	0.128	
tamalito ph 5	20	7	5	0.6	0.037	0.128	
tamalito ph 7	20	7	5	0.6	0.037	0.133	0.141
tamalito ph 7	20	7	5	0.6	0.037	0.133	
tamalito ph 7	20	7	5	0.7	0.045	0.159	
atol ph 7	20	7	5	0.2	0.007	0.087	0.116
atol ph 7	20	7	5	0.25	0.011	0.131	
atol ph 7	20	7	5	0.25	0.011	0.131	
atol ph 5	20	7	5	0.2	0.007	0.084	0.084
atol ph 5	20	7	5	0.2	0.007	0.084	
atol ph 5	20	7	5	0.2	0.007	0.084	
harina ph 5	20	7	5	4.2	0.305	0.305	0.300
harina ph 5	20	7	5	4.2	0.305	0.305	
harina ph 5	20	7	5	4	0.290	0.290	
harina ph 7	20	7	5	4.5	0.327	0.327	0.327
harina ph 7	20	7	5	4.5	0.327	0.327	
harina ph 7	20	7	5	4.5	0.327	0.327	

**Tabla # 6 Porcentaje de humedad en muestras para 90 días**

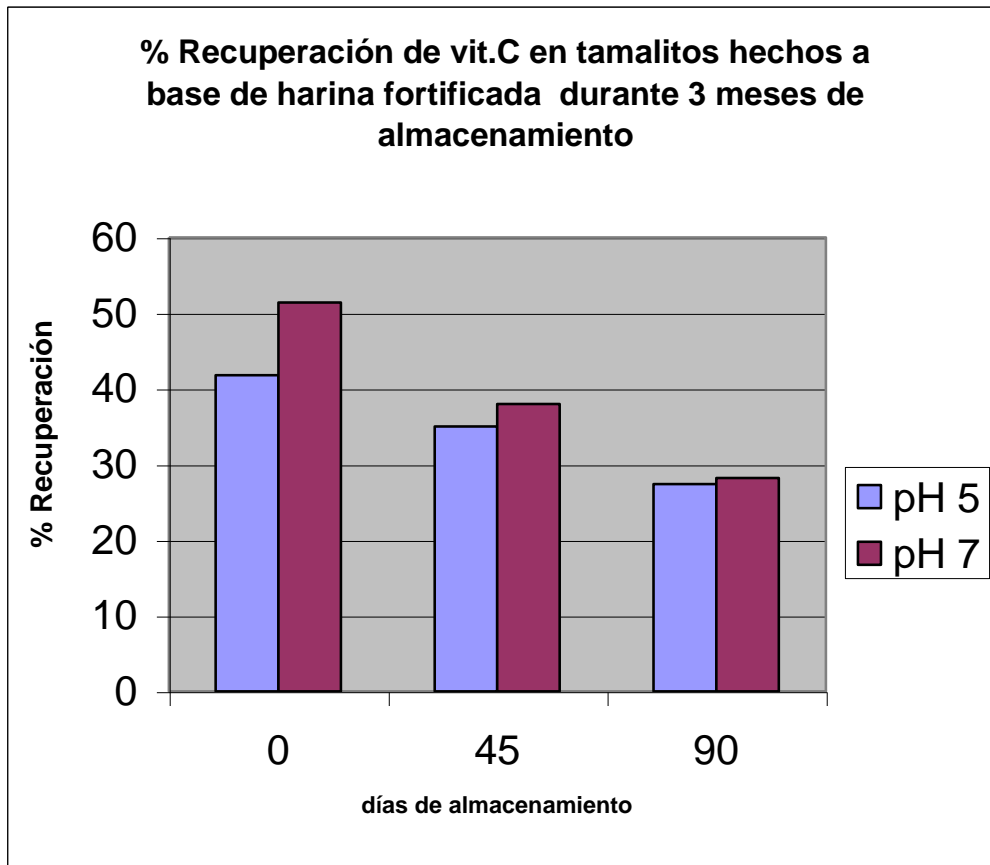
<b>Muestra</b>	<b>% de humedad</b>
Harina pH 7	7.0
Harina pH 5	7.1
Tortilla pH 7	40.0
Tortilla pH 5	56.1
Tamalito pH 7	71.0
Tamalito pH 5	72.0
Atol pH 7	91.2
Atol pH 5	91.5

**GRÁFICAS PARA VITAMINA C  
DURANTE PERÍODO DE ALMACENAMIENTO**

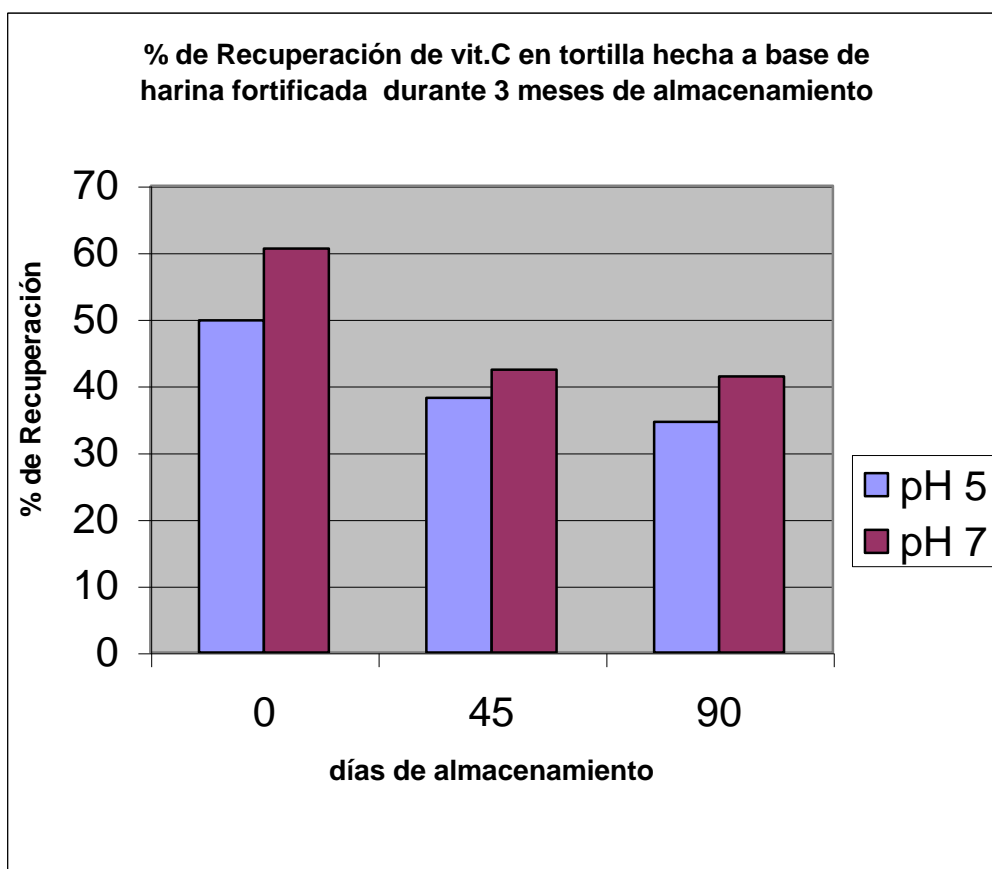
**Gráfica # 1**



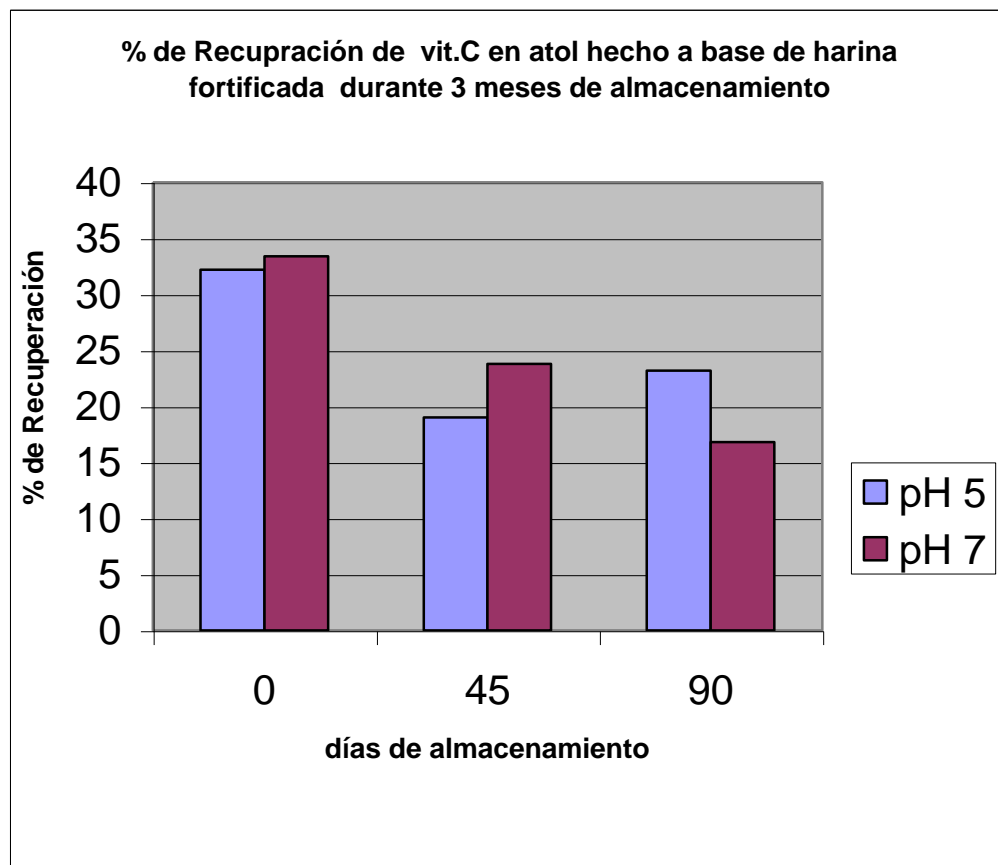
Gráfica # 2



**Gráfica 3**



**Gráfica # 4**



**DATOS Y CÁLCULOS  
PARA VITAMINA A**

**Tabla # 7  $\mu\text{g}$  de retinol/gr de harina en período de almacenamiento**

Muestra	Día	PH	Area	Promedio de areas	Microg. Retinol/ml	Microg.retinol/gr Harina
harina ph 7	0	5	121.1	99.35	1.36	6.80
		7	84.87			
harina ph 5	5	89.30				
	7	102.2				
harina ph 7	45	5	27.09	40.29	0.57	2.87
		7	39.16			
harina ph 5	5	55.92				
	7	38.98				
harina ph 7	90	5	11.17	23.47	0.34	1.71
		7	28.06			
harina ph 5	5	28.06				
	7	26.60				

**Tabla # 8 Datos de curva de calibración para obtener valores de vitamina A en harina a 0 y 45 días**

Concentración $\mu\text{g}$ retinol/ml	Área
0	0
0.53	39.30
1.06	76.31
2.12	146.48
3.18	241.10

**Tabla # 9 Características de la curva**

Pendiente	74.5076
Fact. Correlación	0.9981
Intersección eje	-2.0335
Ecuación	$Y = 74.51X - 2.03$

### Cálculos

1. microgramos de retinol/ml =  $(\text{Promedio} + 2.03)/74.51$   
 $= (99.35 + 2.03)/74.51$   
 $= 1.36$
2. microg. retinol/gr harina =  $\frac{(\text{microg. Retinol/ml}) * (\text{ml a los que se aforó})}{\text{gr de muestra}}$   
 $= (1.36 * 25)/5 = 6.80$

**Tabla # 10 Datos de curva de calibración para obtener valores de vitamina A en productos para 45 días de almacenamiento.**

Concentración µg retinol/ml	Área
0	0
0.53	38.4
1.06	76.0
2.12	145.6
3.18	240.3

**Tabla # 11 Características de la curva**

Pendiente	74.3146
Fact. Correlación	0.9981
Intersección eje	-2.3395
Ecuación	$Y = 74.31X - 2.34$

**Tabla # 12 Datos de curva de calibración para obtener valores de vitamina A en productos y harina para 90 días de almacenamiento.**

Concentración µg retinol/ml	Área
0	0
0.53	37.96
1.06	77.14
2.12	147.25
3.18	245.59

**Tabla # 13 Características de la curva**

Pendiente	74.3146
Fact. Correlación	0.9981
Intersección eje	-2.3395
Ecuación	$Y = 74.31X - 2.34$

**Tabla # 14 Microgramos retinol/gr.muestra durante período de almacenamiento (tamalito hecho a base de harina fortificada)**

Muestra	Día	PH	Área	Promedio	Microg.retinol/ml	microg.retinol/gr muestra seca
tamalito pH 7	0	5	22.7	30.33	0.44	6.29
		7	32.03			
tamalito pH 5		5	35.5			
		7	31.1			
tamalito ph 7	45	5	7	9.68	0.15	2.21
		7	1.2			
tamalito ph5		5	23.4			
		7	7.1			

**Tabla # 15 Microgramos retinol/gr.muestra durante período de almacenamiento (tortilla hecha a base de harina fortificada)**

Muestra	Día	Ph	Área	Promedio	microg.retinol/ml	microg.retinol/gr muestra seca
tortilla ph 7	0	5	40.3	41.95	0.59	6.59
		7	43.1			
tortilla ph 5		5	39.9			
		7	44.5			
tortilla ph 7	45	5	22.3	13.20	0.20	2.25
		7	7			
tortilla ph 5		5	8.2			
		7	15.3			

**Tabla # 16 Microgramos retinol/gr.muestra durante período de almacenamiento  
(atol hecho a base de harina fortificada)**

<b>Muestra</b>	<b>Día</b>	<b>PH</b>	<b>Área B</b>	<b>Promedio</b>	<b>microg.ret inol/ml</b>	<b>microg.ret inol/gr.mu estra seca</b>
atol ph 7	0	5	2.2	3.38	0.09	4.74
		7	3.1			
atol ph 5		5	3.5			
		7	4.7			
atol ph 7	45	5	-----	-----	-----	-----
		7	-----			
atol ph 5		5	-----			
		7	-----			

# GRÁFICAS PARA VITAMINA A

## CURVAS DE CALIBRACIÓN

Gráfica # 5

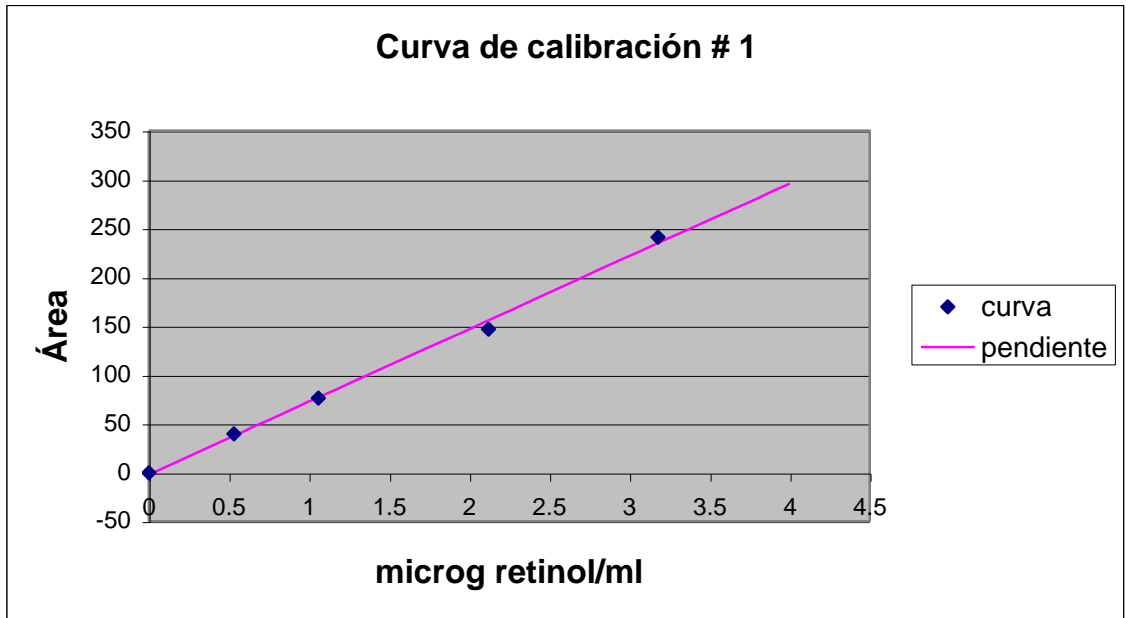
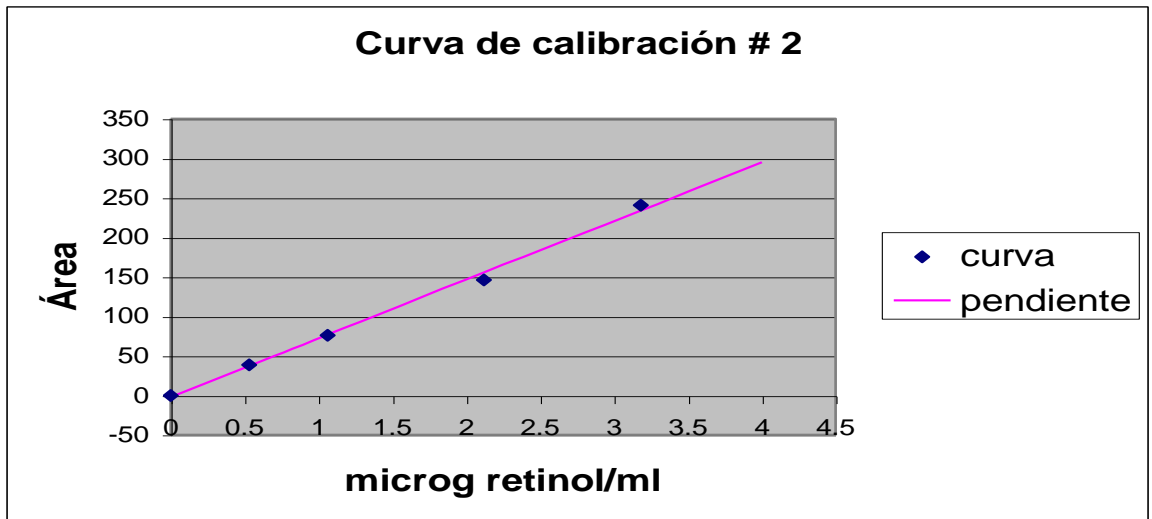
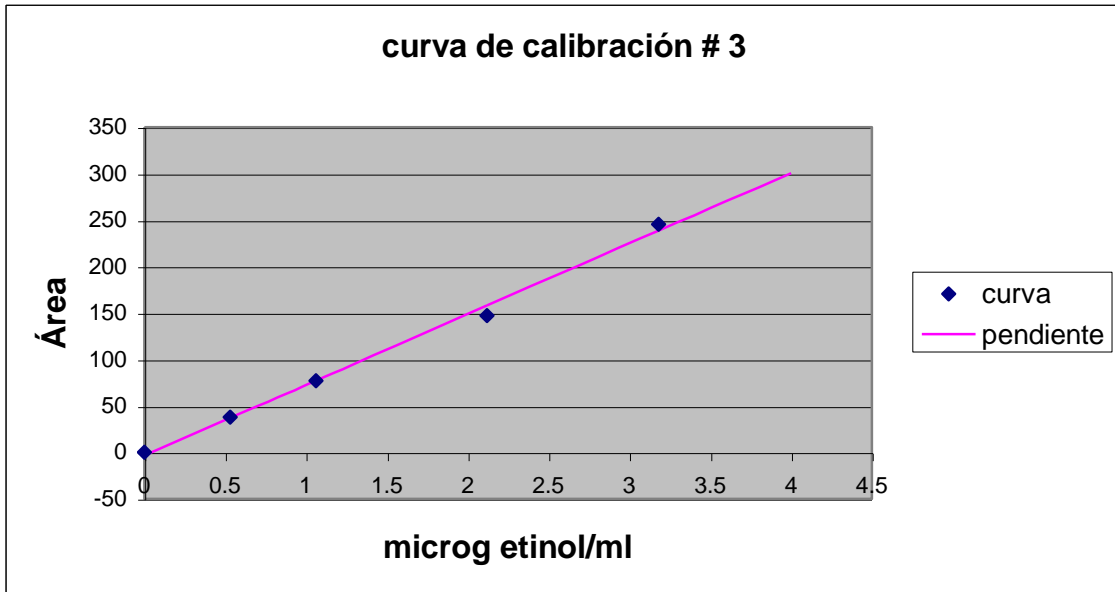


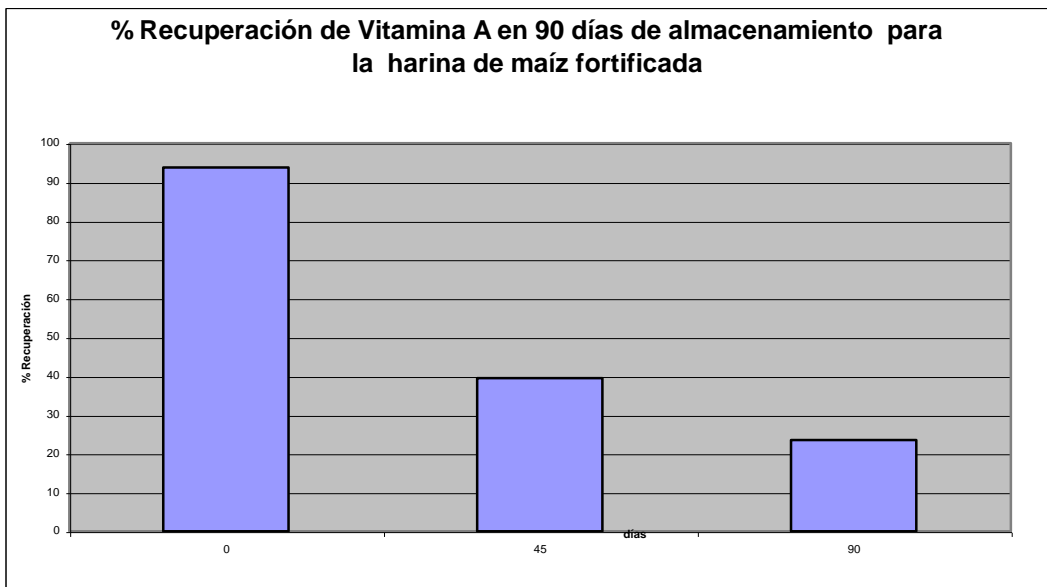
Gráfico # 6



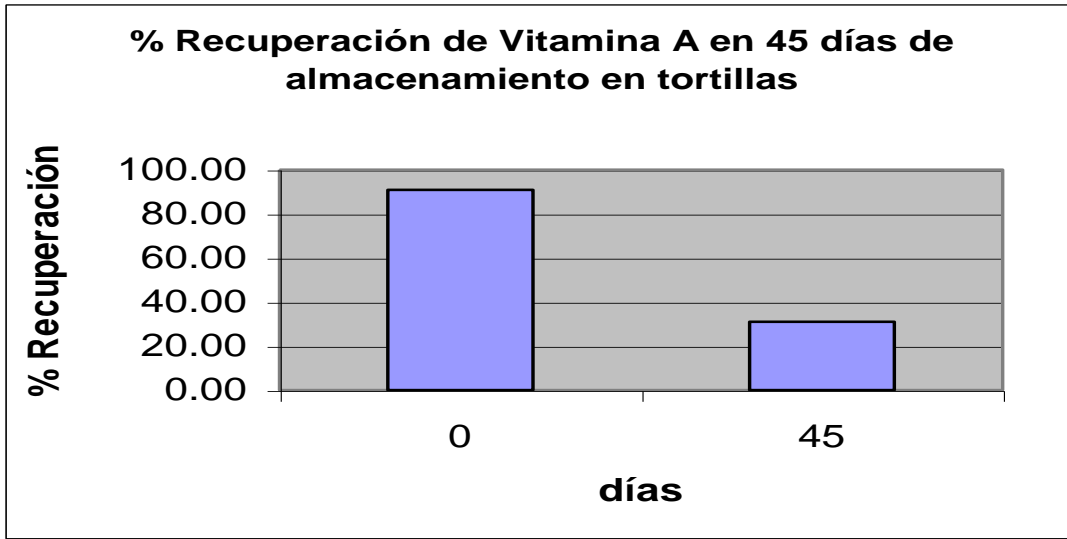
**Gráfico # 7**



**Gráfico # 8**



**Gráfico # 9**



**Gráfico # 10**

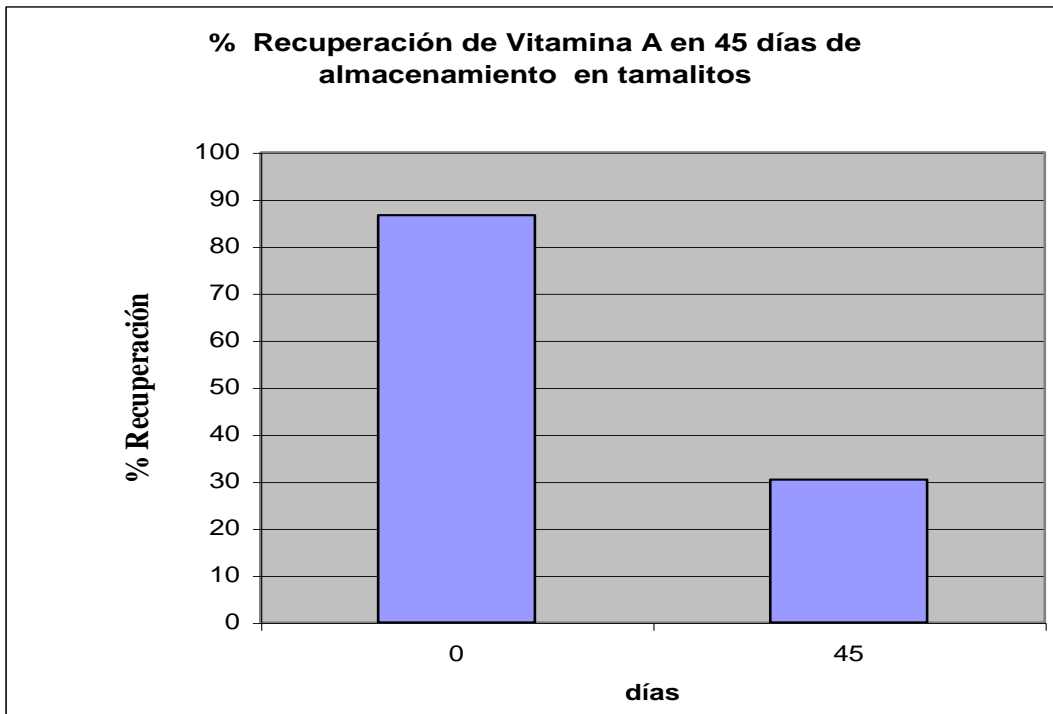
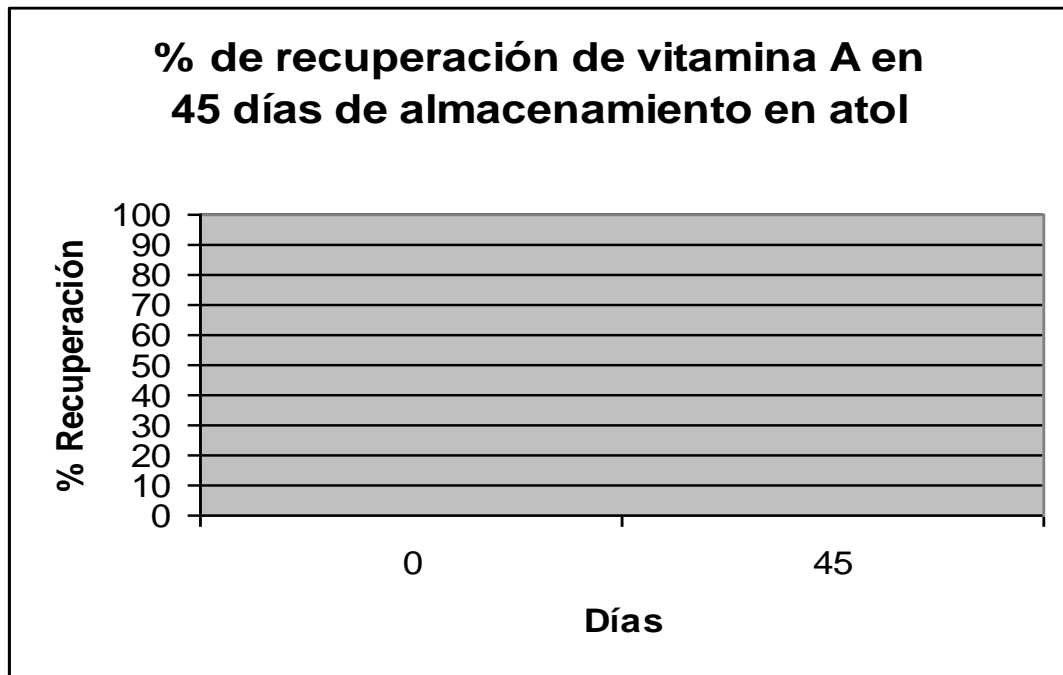


Gráfico 11



No se detectó vitamina A en el atol

## APÉNDICE B

### Análisis de Varianza

Para vitamina C

Datos utilizados para análisis de varianza

**Tabla # 17 mg de vitamina C/g de muestra en período de almacenamiento**

días	# corrida	PH	Tamalitos	tortillas	atol	harina
0	1	7	0.235	0.284	0.167	0.482
	2		0.269	0.34	0.167	0.482
	3		0.269	0.284	0.167	0.482
	1	5	0.22	0.224	0.161	0.482
	2		0.203	0.249	0.161	0.455
	3		0.203	0.273	0.161	0.455
45	1	7	0.201	0.227	0.119	0.453
	2		0.185	0.204	0.119	0.453
	3		0.185	0.204	0.119	0.438
	1	5	0.173	0.186	0.088	0.394
	2		0.177	0.193	0.099	0.394
	3		0.177	0.193	0.099	0.394
90	1	7	0.133	0.216	0.087	0.39
	2		0.133	0.203	0.131	0.39
	3		0.159	0.203	0.131	0.39
	1	5	0.154	0.173	0.084	0.305
	2		0.128	0.173	0.084	0.305
	3		0.128	0.173	0.084	0.29

Variable dependiente: Concentración de vitamina C

**Tabla A Análisis de correlaciones para concentración de vitamina C**

Correlaciones	Grados de Libertad	Anova SS	Mean Square	Valor de F	Pr > F
DIAS	2	0.1057043	0.05285218	317.40	0.0001
PH	1	0.0202005	0.02020050	121.31	0.0001
DIAS*PH	2	0.0004656	0.00023279	1.40	0.2570
COCCION	3	0.8405869	0.28019563	1682.72	0.0001
DIAS*COCCION	6	0.0112422	0.00187370	11.25	0.0001
PH*COCCION	3	0.0031779	0.00105931	6.36	0.0010
DIAS*PH*COCCION	6	0.0063936	0.00106561	6.40	0.0001

## Análisis de Medias

Examen para la Variable: Concentración

Alfa = 0.05 df = 48 MSE = 0.000167

Diferencia significativa mínima = 0.009

**Tabla A<sub>1</sub> análisis de medias para días**

Grupo	Media	N	DIAS
A	0.286458	24	0
B	0.228083	24	45
C	0.193625	24	90

Examen para la Variable: Concentración

Alfa = 0.05 df = 48 MSE = 0.000167

Diferencia significativa mínima = 0.0061

**Tabla A<sub>2</sub> análisis de medias para pH**

Grupo	Media	N	PH
A	0.252806	36	7
B	0.219306	36	5

Examen para la Variable: Concentración

Alfa = 0.05 df = 48 MSE = 0.000167

Diferencia significativa mínima = 0.0114

**Tabla A<sub>3</sub> análisis de medias para cocción**

Grupo	Media	N	COCCION
A	0.413000	18	Harina
A	0.222333	18	Tortilla
B	0.185111	18	Tamalito
C	0.123778	18	Atol

## Análisis de Varianza

Variable dependiente: Concentración de vitamina C en Harina

**Tabla B análisis de correlaciones para concentración de vit. C en harina**

Correlaciones	Grados de Libertad	Anova SS	Mean Square	Valor de F	Pr > F
DIAS	2	0.1138921	0.05694606	535.26	0.0001
PH	1	0.0050334	0.00503339	47.31	0.0001
DIAS*PH	2	0.0011388	0.00056939	5.35	0.0218

## Análisis de Medias

Examen para la Variable: Harina

Alfa = 0.05 df = 12 MSE = 0.000106

Diferencia significativa mínima = 0.0159

**Tabla B<sub>1</sub> análisis de medias para días**

Grupo	Media	N	DIAS
A	0.473000	6	0
B	0.313500	6	90
C	0.296333	6	45

Examen para la Variable: Harina

Alfa = 0.05 df = 12 MSE = 0.000106

Diferencia significativa mínima = 0.0106

**Tabla B<sub>2</sub> Análisis de medias para pH**

Grupo	Media	N	PH
A	0.377667	9	7
B	0.344222	9	5

## Análisis de Varianza

Variable dependiente: Concentración de vitamina C en Tamalito

**Tabla C análisis de correlaciones de concentración de vitamina en tamalito**

Correlaciones	Grados de Libertad	Anova SS	Mean Square	Valor de F	Pr > F
DIAS	2	0.0265481	0.01327406	77.85	0.0001
PH	1	0.0023576	0.00235756	13.83	0.0029
DIAS*PH	2	0.0016041	0.00080206	4.7	0.0310

## Análisis de Medias

Examen para la Variable: Tamalito

Alfa = 0.05 df = 12 MSE = 0.00017

Diferencia significativa mínima = 0.0201

**Tabla C<sub>1</sub> análisis de medias para días**

Grupo	Media	N	DIAS
A	0.233167	6	0
B	0.183	6	45
C	0.139167	6	90

Examen para la Variable: Tamalito

Alfa = 0.05 df = 12 MSE = 0.00017

Diferencia significativa mínima = 0.0134

**Tabla C<sub>2</sub> análisis de medias para pH**

Grupo	Media	N	PH
A	0.196556	9	7
B	0.173667	9	5

## Análisis de Varianza

Variable dependiente: Concentración de vitamina C en Atol

**Tabla D análisis de correlaciones de vitamina C en atol**

Correlaciones	Grados de Libertad	Anova SS	Mean Square	Valor de F	Pr > F
DIAS	2	0.0147074	0.00735372	64.35	0.0001

## Análisis de Medias

Examen para la Variable: Atol

Alfa = 0.05 df = 12 MSE = 0.00014

Diferencia significativa mínima = 0.0165

**Tabla D<sub>1</sub> análisis de medias para días**

Grupo	Media	N	DIAS
A	0.164000	6	0
B	0.107167	6	45
B	0.100167	6	90

Examen para la Variable: Atol

Alfa = 0.05 df = 12 MSE = 0.00014

Diferencia significativa mínima = 0.011

**Tabla D<sub>2</sub> análisis de medias para pH**

Grupo	Mean	N	PH
A	0.134111	9	7
B	0.113444	9	5

## Análisis de Varianza

Variable dependiente: Concentración de vitamina C en tortilla

**Tabla E Análisis de correlaciones de vitamina C en tortilla**

Correlaciones	Grados de Libertad	Anova SS	Mean Square	Valor de F	Pr > F
DIAS	2	0.025963	0.0129815	41.11	0.0001
PH	1	0.0059769	0.00597689	18.93	0.0009
DIAS*PH	2	0.0008268	0.00041339	1.31	0.3060

## Análisis de Medias

Examen para la Variable: Tortilla

$$\text{Alfa} = 0.05 \quad \text{df} = 12 \quad \text{MSE} = 0.000316$$

Diferencia significativa mínima = 0.0274

**Tabla E<sub>1</sub> análisis de medias para días**

Grupo	Media	N	DIAS
A	0.27567	6	0
B	0.20117	6	45
B	0.19017	6	90

Examen para la Variable: Tortilla

$$\text{Alfa} = 0.05 \quad \text{df} = 12 \quad \text{MSE} = 0.000316$$

Diferencia significativa mínima = 0.0183

**Tabla E<sub>2</sub> análisis de medias para pH**

Grupo	Media	N	PH
A	0.240556	9	7
B	0.204111	9	5

## Análisis de varianza

Para vitamina A

Datos utilizados para análisis de varianza

Tabla # 18 Concentración de vitamina A en período de almacenamiento

días	# corrida	Cocción	Concentracion
0	1	Tamalitos	6.61
	2		4.85
	3		7.26
	4		6.43
	1	Tortillas	6.35
	2		6.29
	3		6.760
	4		6.960
	1	harina	6.88
	2		5.83
	3		6.13
	4		6.99
45	1	tamalitos	1.7
	2		0.59
	3		4.84
	4		1.72
	1	tortillas	3.600
	2		1.500
	3		1.320
	4		2.560
	1	harina	1.98
	2		2.79
	3		3.92
	4		2.78
90	1	harina	0.89
	2		2.02
	3		2.02
	4		1.92

Variable dependiente: Concentración de vitamina A

Tabla F análisis de correlaciones para vitamina A

Correlaciones	Grados de Libertad	Anova SS	Mean Square	Valor de F	Pr > F
DIAS	1	60.0625	60.0625	40.61	0.0001
COCCION	1	0.0625	0.0625	0.04	0.8406
DIAS*COCCION	1	0.0625	0.0625	0.04	0.8406

Examen para la Variable: Concentración  
 Alfa = 0.05 df = 12 MSE = 1.479167  
 Diferencia significativa mínima = 1.325

**Tabla F<sub>1</sub> análisis de medias para días**

Grupo	Media	N	DIAS
A	6.3750	8	0
B	2.5000	8	45

Examen para la Variable: Concentración  
 Alfa = 0.05 df = 12 MSE = 1.479167  
 Diferencia significativa mínima = 1.325

**Tabla F<sub>2</sub> análisis de medias para cocción**

Grupo	Media	N	COCCION
A	4.5000	8	tortillas
B	4.3750	8	tamalitos

## Análisis de Varianza

Variable dependiente: Concentración de vitamina A en harina

**Tabla G análisis de correlaciones de vitamina A en harina**

Correlaciones	Grados de Libertad	Anova SS	Mean Square	Valor de F	Pr > F
DIAS	2	48.9829	24.4914	58.30	0.0001

## Análisis de Medias

Examen para la Variable: Harina  
 Alfa = 0.05 df = 9 MSE = 0.420092  
 Diferencia significativa mínima = 1.2796

**Tabla G<sub>1</sub> análisis de medias para días**

Grupo	Media	N	DIAS
A	6.4575	4	0
B	2.8675	4	45

C	1.7125	4	90
---	--------	---	----

### Análisis de Varianza

Variable dependiente: Concentración de vitamina A en tamalito

**Tabla H análisis de correlaciones de vitamina A en tamalito**

Correlaciones	Grados de Libertad	Anova SS	Mean Square	Valor de F	Pr > F
DIAS	1	29.10845	29.10845	14.33	0.0091

### Análisis de Medias

Examen para la Variable: tamalito

$$\text{Alfa} = 0.05 \quad \text{df} = 6 \quad \text{MSE} = 2.031783$$

Diferencia significativa mínima = 2.4663

**Tabla H<sub>1</sub> análisis de medias para días**

Grupo	Media	N	DIAS
A	6.315	4	0
B	2.500	4	45

### Análisis de varianza

Variable dependiente: Concentración de vitamina A en tortilla

**Tabla I análisis de correlaciones de vitamina A en tortilla**

Correlaciones	Grados de Libertad	Anova SS	Mean Square	Valor de F	Pr > F
DIAS	1	35.02845	35.02845	51.19	0.0004

### Análisis de Medias

Examen para la Variable: tortilla

$$\text{Alfa} = 0.05 \quad \text{df} = 6 \quad \text{MSE} = 0.68425$$

Diferencia significativa mínima = 1.4312

**Tabla I<sub>1</sub> análisis de medias para días**

Grupo	Media	N	DIAS
A	6.430	4	0
B	2.245	4	45

## APÉNDICE C

### DETERMINACIÓN DE ÁCIDO ASCORBICO

#### MÉTODO # 43.064 AOAC ( )

##### A. Principio

El ácido ascórbico reduce el indicador de óxido reducción, 2,6-dichloroindofenol, a una solución sin color. En el punto final, el exceso de la solución no reducida es color rosa en una solución ácida. La vitamina es extraída y se titula en presencia de una solución de  $\text{HPO}_3\text{-CH}_3\text{COOH}$  o de  $\text{HPO}_3\text{-CH}_3\text{COOH-H}_2\text{SO}_4$  para mantener una acidez apropiada para la relación y evitar autooxidación del ácido ascórbico a un pH alto.

##### B. Reactivos

1. Soluciones extractoras. (1) Solución ácida de ácido acético-metafosfórico. Disolver, con agitación, 15g  $\text{HPO}_3$  en 40ml  $\text{CH}_3\text{COOH}$  y 200ml de agua; diluir a 500ml y filtrar rápidamente con papel filtro, colocar en un recipiente tapada y guardar en refrigeración. ( $\text{HPO}_3$  cambia lentamente a  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , pero si se almacena en refrigerador, la solución mantendrá satisfactoriamente 7-10 días). (2) Solución ácida de ácido sulfúrico ácido acético-metafosfórico. Proceder como en (1) usando una solución 0.3N  $\text{H}_2\text{SO}_4$  en lugar de agua.
2. Solución estándar de ácido ascórbico 1mg/ml. Pesar 50mg de ácido ascórbico estándar USP que haya sido almacenado en el desecador y en oscuridad. Transferir a un balón volumétrico de 50ml. Diluir al volumen con solución ácido acético metafosforico antes de usar.
3. Solución estándar de indofenol. Disolver 50mg de sal de sodio de 2.6 dicloroindofenol en 50ml de agua y que contenga 42mg  $\text{NaHCO}_3$ . Agitar vigorosamente hasta disolver. Diluir con agua hasta un volumen de 200ml. Filtrar y colocar en un recipiente tapado opaco y refrigerar.

### **C. Estandarización del método**

En cada uno de 3 erlenmeyers de 50ml colocar 2ml de solución estándar de ácido ascórbico más 5ml de solución de ácido acético metafosfórico. Titular con la solución de indofenol hasta llegar al punto final (color rosa pálido permanente por más de 5 segundos) De la misma forma titule 3 blancos compuestos de 7ml de solución de ácido acético-metafosfórico más un volumen de agua igual al volumen utilizado de solución de indofenol para preparar el estándar de ácido ascórbico. Después de restar la media de los blancos (usualmente 0.1ml) de la titulación de estandarización, calcule y exprese la concentración de la solución de indofenol diariamente con una preparación fresca de solución de ácido ascórbico estándar.

### **D. Prueba preliminar cantidades apreciables de sustancias básicas**

Moler la muestra y agregar 25µl de solución HPO<sub>3</sub>-HOAc. Medir pH poniendo una gota de azul de timol (un pH > 1.2 indica cantidades apreciables de sustancias básicas). Para preparaciones líquidas, diluir una muestra representativa con solución HPO<sub>3</sub>-HOAc antes de hacer la prueba con el indicador.

### **E. Preparación de la muestra y determinación**

Pulverice la muestra, moliéndola gentilmente. Agregue solución de HPO<sub>3</sub>-HOAc y triture hasta que la muestra esté en suspensión. Diluya con HPO<sub>3</sub>-HOAc para medir el volumen. Designa a este volumen como V. Filtrar. Tomar 2 mililitros del filtrado y agregar 5ml de solución ácido acético metafosfórico. Titular con la solución de indofenol. Determinar el ácido ascórbico.

$$\text{Mg. Ácido ascórbico/g muestra} = (X-B) \cdot (F/E) \cdot (V/Y)$$

X = volumen de indofenol utilizado en la titulación

B = volumen de indofenol utilizado en el blanco

F = mg ácido ascórbico equivalente a 1ml de solución estándar de indofenol

E = g de muestra analizada

Y = volumen de la solución muestra titulada

V = volumen de ácido metafosfórico para extraer vitamina

## **MÉTODO PARA DETERMINACIÓN DE VITAMINA A**

### **I. Preparación del estándar**

Solución madre de palmitato de retinol:

1. Pesar 0.053g de palmitato de retinol
2. El balón debe ser actínico o forrado y protegido de la luz.
3. El palmitato se afora con etanol absoluto a 100ml. La [ ] que queda es de 530 $\mu$ g/ml.
4. Tomar 5ml de esta solución y tratarla como muestra: saponificar, extraer, lavar, evaporar, aforar (ver preparación de muestra).
5. Se afora a 25ml con etanol. Esta es la solución madre de retinol.

### **II. Preparación de la muestra**

1. Pesar 5 gramos de muestra (5ml sí es líquido)
2. Preparar sistema de reflujo (estufa, baño de agua, condensador o refrigerante).
3. Colocar la muestra en un balón de fondo plano de 250ml, lavar con 25ml de agua.
4. Agregar 30ml de etanol, 50ml KOH (1:1) y un poco de antioxidante (BHT ó hidroquinona), 1 magneto y poner a saponificar 1 hora desde que empiece el reflujo.
5. Quitar del calor y cuando esté frío transferir a ampolla de extracción de 500ml y lavar el balón con 50ml de agua.
6. Agregar a la ampolla 50ml de éter y extraer. Dejar reposar 15 min.
7. La fase acuosa (abajo) se recibe en erlenmeyer cubierto de la luz y la etera (arriba) se transfiere a 1 ampolla de 250ml.
8. Se extrae con éter 3 veces más (c/15min)
9. La fase etérea que queda en la ampolla de 250ml, se lava con agua. Se agrega la mayor cantidad de agua posible, se agita y se libera presión. Se deja reposar 15 min.

- Y se vuelve a lavar. Se sigue lavando hasta que la fase acuosa, con 3 gotas de fenoftaleína quede incolora. Esto se prueba en un tubo de ensayo.
10. Se desecha la fase acuosa y la etérea se filtra en un crisol de fondo poroso con sulfato de sodio anhidro.
  11. El filtrado se lleva a evaporar totalmente con nitrógeno.
  12. Según el color que quede, se afora a 5, 10 ó 25ml con metano HPLC, se filtra y se inyecta. La muestra siempre debe estar protegida de la luz.

NOTA: Si se forma emulsión en la ampolla al extraer o lavar, se agrega un poco de etanol para deshacerla. Si la emulsión es muy grande agregar en vez de etanol, solución salina.

### **III. Condiciones de trabajo**

Fase Móvil: Metanol: agua 90:10

Longitud de onda del detector: 325 nm.

Flujo: 0.6ml/min

Volumen de inyección: 20µL

Presión de la bomba ≈ 190bar

Columna: Hypersil ODS 200mm x 2.1mm 5µm

## **EJEMPLOS DE CROMATOGRAMAS**

**MÉTODO PARA MEDIR ACIDEZ EN GRASAS**  
**MÉTODO AACC 02-01A**

**Área de investigación**

Aplicable a granos y harina

**Aparato**

1. Molino que pueda moler pequeñas muestras de grano de tal manera que el 90% o más pase por un tamiz 40 U.S. estándar
2. Equipo de extracción de grasas; soxhlet o equipo similar para extraer grasas.

**Reactivos**

1. Eter; punto de ebullición 35-60 grados
2. Solución Tolueno-alcohol-fenofaleína (TAP). Mezclar partes iguales por volumen de tolueno CP y alcohol etílico 95%. Agregar 0.2g fenofaleína/L para formar una solución del 0.02%.
3. KOH. Preparar una solución estándar libre de CO<sub>2</sub> 0.0178N (1ml=1 mg KOH)

**Color de estándares**

La intensidad del color amarillo en el grano varía dependiendo del tipo; es por eso que es de mucha ayuda crear un estándar de color que ayude a llevar la titulación al punto final. La preparación se hace de la siguiente manera:

A 50ml de agua se le agrega potasio dicromato 0.05% gota a gota hasta que la solución concuerde con el color de la muestra extraída para titular. Luego se le agrega 2.5 ml de permanganato de potasio 0.01% y se mezcla. El punto final de la titulación tiene que concordar con el color de esta solución. Se prepara el estándar de color para titulación del blanco agregando 2.5ml de permanganato de potasio 0.01% a 50ml de agua.

**Procedimiento**

Para mejores resultados, el contenido de humedad del grano no debe exceder el 11%. Porcentajes mas altos de humedad en la extracción se ha encontrado que aumentan los valores de acidez significativamente.

1. Moler mínimo 40g de grano de trigo ó 200g de granos más grandes como maíz. Una vez molidos, la muestra debe llevarse a extracción en menos de 1 hora para evitar cambios causados por enzimas lipolíticas.
2. Extraer 10g de muestra molida con éter en extractor con un rango que sifone cada 3 minutos. Extraer aproximadamente por 16 horas.
3. Evaporar el éter de la muestra extraída y disolver en recipiente de extracción con 50ml de solución TAP.
4. Titular la solución con KOH 0.0178N hasta que el color del punto final concuerde con el estándar.
5. Determinar blanco titulando 50ml de solución TAP hasta que el color del punto final concuerde con el color del blanco estándar que se realizó en la parte de reactivos.

### **Nota**

En el caso de que el grano tenga altos valores de acidez de grasas, se pueden formar emulsiones durante la titulación y cuesta ver el punto final. Cuando una emulsión aparezca, se puede agregar 50ml de solución TAP para clarificar la solución a titular. La titulación del blanco en este caso debe ser el doble que la original.

### **Cálculos**

Reporte la acidez de grasas como mg de KOH requeridos para neutralizar ácidos grasos libres de 100g de grano en base seca con la siguiente fórmula.

$$\text{Valore de acidez en grasa} = ((T - B) \times 10) / (100 - W) \times 100$$

T = ml de KOH 0.0178N requeridos para titular muestra

B = ml de KOH 0.0178N requeridos para titular blanco

W= g de agua en 100 g de muestra