

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA**



**EVALUACION DEL CONTENIDO DE TIAMINA EN CUATRO MARCAS DE  
HARINA DE MAIZ NIXTAMALIZADO, FORTIFICADAS Y  
COMERCIALIZADAS EN EL SALVADOR**

**TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR**  
FRANCISCO BOSCO ANTONIO CORTEZ MORALES  
ANDREA LISSETTE GONZALEZ SANTAMARIA

**PARA OPTAR AL GRADO DE**  
LICENCIATURA EN QUIMICA Y FARMACIA

MARZO DE 2009

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**RECTOR**

MSc. RUFINO ANTONIO QUEZADA SANCHEZ

**SECRETARIO GENERAL**

LIC. DOUGLAS VLADIMIR ALFARO CHAVEZ

**FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA**

**DECANO**

LIC. SALVADOR CASTILLO AREVALO

**SECRETARIA**

MSc. MORENA LIZETTE MARTINEZ DE DIAZ

## **COMITE DE TRABAJO DE GRADUACION**

### **COORDINADORA GENERAL**

Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo

### **ASESORA DE AREA DE ANALISIS DE ALIMENTOS: FISICOQUIMICO**

Ing. Rina Lavinia Hidalgo de Medrano

### **ASESORA DE AREA DE APROVECHAMIENTO DE RECURSOS NATURALES**

MSc. Sonia Maricela Lemus Martínez

### **DOCENTES DIRECTORES**

MSc. Verónica Carmelina Díaz Avilés

Licda. María Luisa Ortiz de López

## **AGRADECIMIENTOS**

**A DIOS TODO PODEROSO** por haberme permitido alcanzar con muchos esfuerzos el propósito de concluir esta carrera universitaria, así mismo por proveerme el discernimiento y capacidad para afrontar cada una de las adversidades presentadas a lo largo de mi desarrollo como profesional.

**A MIS PADRES** Guillermo Hurtado Román y Carmen Elena de Hurtado Morales, por haberme brindado su amor, cariño y apoyo incondicional en mi crecimiento académico.

**A MI HERMANO** Guillermo Edgardo Hurtado Morales, por ser una persona incondicional conmigo, le agradezco por estar junto a mi y apoyarme en los momentos mas críticos y difíciles de mi vida.

**A LA SEÑORA** María Elena Santamaría de González por su tiempo, esmero y colaboración en la logística durante cada defensa del presente trabajo.

**A NUESTROS ASESORES** Lic. René Ramos, MSc. Verónica Díaz y Licda. María Luisa Ortiz de López, por su dedicación, tiempo y apoyo tanto técnico como científico.

**Francisco Cortez**

## **AGRADECIMIENTOS**

Doy Gracias a **DIOS**, por haberme permitido llegar a esta etapa del camino. Gracias por darme la fuerza en los momentos difíciles; sin ti, no hubiese podido salir adelante. A veces sin entender las situaciones duras de la vida, te doy Gracias porque con tu amor y gran paciencia, me enseñas cada día a ser mejor persona.

Te doy Gracias Señor, por haberme dado a los mejores **PADRES**: María E. de González y Ricardo A. González. Gracias Mami y Papi, por apoyarme en cada momento. Desde que nací hasta el día de hoy me han cuidado, ayudado, aconsejado y hasta aguantado. Gracias por los valores que han forjado en mí. Gracias a ustedes he tenido el mejor ejemplo de vida, de lucha y de entrega por un ideal. Se que a veces parecía difícil creer tanto tiempo que pasaba en la U, tanto desvelo, tanta falta de tiempo para ustedes, pero aquí esta el fruto de todo eso.

Gracias a Ricky y Rodri mis **HERMANITOS**, por su amor y paciencia. Gracias por aguantarme mis malos momentos y llenar cada día de alegría con sus ocurrencias. Gracias, a toda mi Familia.

Gracias a nuestros **ASESORES Y DOCENTES DIRECTORES** por el tiempo que siempre tuvieron para nuestro trabajo. Gracias por su apoyo desinteresado. Un agradecimiento muy especial a la Licda. Mirna Sorto, porque siempre nos brindo muy amablemente su ayuda.

Gracias a cada una de las personas que conocí a lo largo de esta carrera: Licenciados, Amigos(as) y Compañeros(as). Lic. Larreynaga, Gracias por sus consejos. De cada uno de mis maestros aprendí no sólo los contenidos de las materias, sino también consejos muy sabios que ahora que dejo la Facultad puedo ponerlos en práctica. De mis amigos (Ari, Brenda y Danielito) me llevo el mejor de los recuerdos. Gracias por su apoyo.

Quisiera poder poner el nombre de cada una de las personas que mencione y de aquellas que en este momento no recuerdo, el espacio es pequeño. Pero puedo asegurar que siempre los tendré presente por haber sido parte de esta carrera que me ha permitido convertirme en una Profesional. Gracias a TODOS.

**Andrea González**

## DEDICATORIA

Especialmente quiero dedicar este trabajo a:

**DIOS**, por ser quien me ha dado la vida y las fuerzas de terminar esta Etapa.

A mi **Mami**, porque desde pequeña me inculco el valor del estudio, siempre tenía tiempo para ayudarme en las tareas. Con el paso del tiempo ya no te sentabas conmigo a hacer las tareas, habías creado en mí la Responsabilidad de entregar siempre lo mejor de mí. Tú siempre me has enseñado a vencer los temores, con tu ejemplo. Nunca olvidare cuantas veces estuviste pendiente de mí hasta que te vencía el cansancio. El día que no durmieron con mi Papi, ayudándome con el Herbario, las veces que salíamos corriendo para las actividades y exposiciones de la Universidad. Siempre has estado como una Amiga Fiel. Eres la mejor Mamá. A ti dedico este Logro.

También dedicó este Logro, en memoria de la Dra. Concepción González (Mí Abuelita Conchita). Gracias a mi Abuelita conocí la Farmacia, en ese entonces la Farmacia San Esteban. Cuando la visitaba recuerdo ver muchos frascos de Aguas, Esencias, etc., que a mi corta edad causaron mucha curiosidad. Con el tiempo esa curiosidad se convirtió en mi vocación, el “amor a la Química y Farmacia”. En todo momento me hizo sentir cuan orgullosa estaba de mi, y hoy que llegue al final se que no seria la excepción. La extraño tanto Abuelita y me llena de satisfacción saber que seguí sus pasos y con mucho orgullo le dedico esta Meta cumplida.

**Andrea L. González S.**

## INDICE

	<b>Página</b>
<b>RESUMEN</b>	
<b>CAPITULO I</b>	
1.0 Introducción	xx
<b>CAPITULO II</b>	
2.0 Objetivos	22
2.1 Objetivo general	22
2.2 Objetivos específicos	22
<b>CAPITULO III</b>	
3.0 Marco teórico	24
3.1 Maíz	24
3.1.1 Generalidades	24
3.1.2 Descripción botánica del maíz	24
3.1.3 Estructura, composición química y valor nutritivo del grano de maíz	25
3.1.3.1 Estructura del grano de maíz	25
3.1.3.2 Composición química del grano	27
3.1.4 Molienda del maíz y pérdida de nutrimentos	31
3.1.4.1 Molienda en seco	31
3.1.4.2 Molienda húmeda	32
3.1.4.3 Pérdida de nutrimentos en el proceso de molienda	35
3.1.5 Maíz Nixtamalizado	37



3.1.5.1	Maíz nixtamalizado en forma artesanal	37
3.1.5.2	Maíz nixtamalizado en forma industrial	37
3.2	Harina de maíz nixtamalizado fortificada	40
3.2.1	Fortificación. Definición, Métodos de Fortificación y alimentos apropiados	40
3.2.2	Harina de maíz nixtamalizado fortificada. Definiciones, Reseña histórica y marco legal	42
3.2.2.1	Definiciones	42
3.2.2.2	Reseña histórica	42
3.2.2.3	Marco Legal	43
3.2.3	Proceso industrial de la elaboración de harina de maíz nixtamalizado fortificada	45
3.2.4	Proceso de adición y estabilidad de los micronutrientes	47
3.3	Micronutrientes. Tiamina	49
3.3.1	Tiamina (Vitamina B <sub>1</sub> )	49
3.3.1.1	Estructura y propiedades generales	49
3.3.1.2	Estabilidad y formas de degradación	51
3.3.1.2.1	Propiedades de estabilidad	51
3.3.1.2.2	Mecanismo de degradación	52
3.3.1.3	Fuentes alimentarias	52
3.3.1.4	Absorción y almacenamiento corporal	53
3.3.1.5	Necesidades en los humanos	53
3.3.1.6	Carencia de tiamina	54

3.3.1.6.1	Beriberi	54
3.3.1.6.2	Síndrome de Wernicke-Korsakoff	57
3.3.1.6.3	Otros estados de carencia de tiamina	57
3.3.1.7	Determinación química de tiamina	58
3.4	Espectroscopia de fluorescencia molecular	59
3.4.1	Luminiscencia y Procesos Luminiscentes	59
3.4.1.1	Fluorescencia	59
3.4.1.1.1	Generalidades	59
3.4.1.1.2	Características de la fluorescencia	60
3.4.1.1.3	Medición de fluorescencia	62
3.4.1.1.4	Factores que afectan la medida de fluorescencia	63
3.4.1.1.4.1	Naturaleza y Rigidez de la molécula	64
3.4.1.1.4.2	Viscosidad del solvente	65
3.4.1.1.4.3	Partículas en suspensión	65
3.4.1.1.4.4	Concentración del analito	65
3.4.1.1.4.5	Arreglo geométrico de la celda o cubeta	66
<b>CAPITULO IV</b>		
4.0	Diseño metodológico	68
4.1	Tipo de Estudio	68
4.2	Investigación bibliográfica	68
4.3	Investigación de campo	69

4.4 Investigación experimental	71
4.4.1 Determinación de tiamina	71
4.4.1.1 Condiciones físicas y químicas controladas	78
<b>CAPITULO V</b>	
5.0 Resultados y análisis de datos	82
5.1 Cálculos	83
5.1.1 Determinación del volumen de la solución de muestra	83
5.1.2 Cuantificación de clorhidrato de tiamina en muestras de HMNF	85
5.2 Análisis de Varianza. ANOVA (simple)	94
<b>CAPITULO VI</b>	
6.0 Conclusiones	99
<b>CAPITULO VII</b>	
7.0 Recomendaciones	103
Bibliografía	
Anexos	

## **INDICE DE ANEXOS**

### **Anexo N°**

1. Apartado N° 8 de la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 67.03.02:03 Harina. Harina de maíz nixtamalizado.
2. Tabla de verificación de muestras y su respectiva codificación.
3. Determinación de Tiamina. Preparación de reactivos.
4. Marcha analítica (Ilustración).
5. Análisis del contenido de tiamina por lote y por marca.
6. Análisis de varianza o ANOVA (Simple).

## INDICE DE CUADROS

	<b>Página</b>
<b>Cuadro N°</b>	
1. Composición química proximal de las partes principales de los granos de maíz. (%)	27
2. Efecto de la molienda en el contenido de nutrimentos del maíz.	35
3. Efecto de la molienda en el contenido de vitamina B del maíz. (mg por 100 g)	36
4. Algunos alimentos utilizados como vehículos en programas de fortificación.	41
5. Niveles mínimos de micronutrientes en Harinas de Maíz.	44
6. Niveles de adición de micronutrientes en la Harina de maíz.	44
7. Factores que influyen en la estabilidad de micronutrientes.	48
8. Estabilidad de la premezcla de vitaminas y hierro almacenadas a temperatura ambiente.	48
9. Harinas de maíz nixtamalizado fortificadas seleccionadas para realizar la cuantificación de tiamina.	70

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura N°</b>	<b>Página</b>
1. Planta de maíz ( <i>Zea mais L.</i> ).	25
2. Corte transversal de un grano de maíz.	26
3. Molienda en seco usando el proceso de desgerminación.	32
4. Proceso de refinación del maíz.	34
5. Proceso de producción de harina de maíz nixtamalizada.	39
6. Proceso industrial de la elaboración de harina de maíz nixtamalizado fortificada.	46
7. Estructura de diversas formas de tiamina.	50
8. Persona Asiática con Beriberi.	55
9. Procesos Luminiscentes.	60
10. Diagrama en bloque de un Fluoriméto.	63
11. Fluoróforos naturales y su forma de fluorescencia.	64
12. Arreglos diversos de la celda en un Espectrofluorómetro.	66
13. Proceso de oxidación de la tiamina a tiocromo.	71
14. Esquema de dilución del estándar de Clorhidrato de tiamina.	73
15. Comparacion de los valores en mg/Kg obtenidos en las 16 lecturas de cada muestra y el valor establecido en la NSO 67.03.02:03. Harina. Harinas de maíz.	93

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla N°</b>	<b>Página</b>
1. Pesos (en gramos) de las muestras presentadas por lote y por duplicado.	82
2. Valores de las intensidades de fluorescencia de las soluciones de muestras, presentadas por lote y por duplicado.	87
3. Valores de las intensidad de fluorescencia de los blanco de muestra.	87
4. Valores de las intensidad de fluorescencia de las soluciones estándar de clorhidrato de tiamina y blancos de estándar.	88
5. Cantidad de clorhidrato de tiamina presente en cada 5,0 ml de solución de muestra, presentadas por marca y por lote.	90
6. Valores del contenido de clorhidrato de tiamina (mg) por kg de HMNF.	92
7. Resultados de la prueba ANOVA.	95
8. Resultados de la prueba de múltiples rangos.	96

## **ABREVIATURAS**

**ANOVA:** Análisis de varianza.

**AOAC:** Association of Official Analytical Chemists

**HMNF:** Harina de maíz nixtamalizado fortificada

**LSD:** Low significant difference

**NSO:** Norma Salvadoreña Obligatoria

**OMS:** Organización Mundial de la Salud

**FAO:** Food and Agriculture Organization

**ADN:** Ácido Desoxirribonucleico



## RESUMEN

El siguiente trabajo de investigación se realizó en dos etapas; la primera, presenta la evaluación del contenido de tiamina basándose en el método fluorimétrico del tiocromo del AOAC 953.17, en cuatro marcas (Del Comal<sup>®</sup>, Doña Blanca<sup>®</sup>, DANY<sup>®</sup>, MASECA<sup>®</sup>) de harina maíz nixtamalizado y fortificadas, comercializadas en El Salvador. Por marca se utilizaron cuatro muestras obteniendo un total de 16 muestras.

La segunda etapa de la evaluación consistió en comparar los valores experimentales con el valor expresado en la Norma Salvadoreña Obligatoria 67.03.02:03. Harina. Harinas de Maíz., el cual es de 2,2 miligramos de tiamina por cada kilogramo de harina de maíz nixtamalizado y fortificada.

Como resultado se obtuvo que las marcas de harina de maíz nixtamalizado y fortificadas DANY<sup>®</sup> y MASECA<sup>®</sup> cumplen con el valor establecido en la norma. De las marcas Del Comal<sup>®</sup> y Doña Blanca<sup>®</sup>, se obtuvo valores inferiores al valor normado. Finalmente se recomienda una evaluación constante sobre el contenido de tiamina en las harinas de maíz nixtamalizado, fortificadas y comercializadas en El Salvador.

**CAPITULO I**  
**INTRODUCCIÓN**

## 1.0 INTRODUCCIÓN

Un problema común en los países de Centroamérica en la ingesta de alimentos, es la falta de micronutrientes como yodo, ácido fólico, vitamina A, hierro y vitaminas del grupo B. Como una forma de contrarrestar la falta de micronutrientes en los alimentos y la deficiencia en las personas, se ha implementado la fortificación de alimentos a nivel regional <sup>(26)</sup>.

El Salvador cuenta con un Programa Nacional de Fortificación de Alimentos a cargo del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. El objetivo del programa es mejorar el estado nutricional de la población; a través de la ingesta de alimentos básicos, como: sal, azúcar, harina de trigo y harina de maíz nixtamalizado; fortificados cada uno de la siguiente forma: sal con yodo, azúcar con vitamina A, harina de maíz nixtamalizado y harina de trigo con hierro, ácido fólico y vitaminas del grupo B <sup>(21)</sup>.

Es importante mencionar que para lograr el éxito del Programa Nacional de Fortificación de Alimentos, este debe ser vigilado y evaluado constantemente. Y para su desarrollo debe contar con un marco legal que incluya reglamentos y normas técnicas de cada uno de los alimentos fortificados <sup>(21)</sup>.

En el año 2003 se inició la fortificación de la harina de maíz nixtamalizado, con hierro, ácido fólico y otras vitaminas del complejo “B”; dicha fortificación cuenta con la Norma Salvadoreña Obligatoria, Harinas. Harina de Maíz Nixtamalizado NSO 67.03.02:03, como instrumento jurídico. La Norma establece las

características y especificaciones sanitarias y nutricionales que debe de cumplir la harina de maíz nixtamalizado fortificada (6, 27).

La Norma debe ser aplicada a todas las harinas de maíz nixtamalizado las cuales deben estar fortificadas con hierro, niacina, tiamina, riboflavina y ácido fólico, que se utilizan en el país para consumo humano, sean éstas de producción nacional, importación o donación (7).

Este trabajo presenta la evaluación del contenido de tiamina en cuatro marcas de Harina de Maíz Nixtamalizado, fortificadas y comercializadas en El Salvador, las cuales son: DOÑA BLANCA<sup>®</sup>, DANY<sup>®</sup>, DEL COMAL<sup>®</sup> y MASECA<sup>®</sup>. La evaluación se realizó en dos partes: la primera fue una determinación química de tiamina basándose en la oxidación de esta a tiocromo, luego se midió la fluorescencia del tiocromo utilizando el método de espectroscopia de fluorescencia molecular. Dicha parte experimental se llevó a cabo en el Laboratorio de control de calidad físico-químico de medicamentos, cosméticos y alimentos del centro de investigación y desarrollo en salud, de la Universidad de El Salvador.

La segunda parte de la evaluación consistió en comparar los valores obtenidos de forma experimental con el valor del nivel mínimo de tiamina que se encuentra en la NSO 67.03.02:03, el cual es de 2,2 mg de tiamina por kilogramo de HMNF. Los resultados indican que las marcas DANY<sup>®</sup> y MASECA<sup>®</sup> superan el valor establecido en la norma a diferencia de las marcas Doña Blanca<sup>®</sup> y Del Comal<sup>®</sup> que no superan el valor normado.

## **CAPITULO II**

### **OBJETIVOS**

## **2.0 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el contenido de tiamina en cuatro marcas de harinas de maíz nixtamalizado, y fortificadas comercializadas en El Salvador.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

2.2.1 Seleccionar cuatro marcas representativas de un universo de harinas de maíz nixtamalizado y fortificadas, de forma dirigida no aleatoria; en cuatro centros de comercialización seleccionados aleatoriamente.

2.2.2 Determinar el contenido de tiamina en harinas de maíz nixtamalizado fortificadas, por medio del método fluorimétrico del Tiochromo.

2.2.3 Verificar mediante un análisis de varianza (ANOVA), si existe diferencia significativa entre los resultados obtenidos de miligramos de tiamina por kilogramo de harina de maíz nixtamalizado y fortificada, para los lotes de una misma marca.

**CAPITULO III**  
**MARCO TEÓRICO**

## 3.0 MARCO TEORICO

### 3.1 MAÍZ

#### 3.1.1 Generalidades

Maíz, palabra de origen indio caribeño, significa literalmente «lo que sustenta la vida». El maíz al igual que el trigo y el arroz es uno de los cereales más importantes del mundo, ya que suministra elementos nutritivos a los seres humanos y a los animales y es una materia prima básica de la industria de transformación con la que se produce almidón, aceite y proteínas, bebidas alcohólicas, edulcorantes alimenticios y, desde hace poco, combustible <sup>(10)</sup>.

#### 3.1.2 Descripción botánica del maíz

El maíz (*Zea mais L.*) (Ver Figura N° 1) pertenece a la familia de las gramíneas, es una planta anual, de tallo erecto que puede llegar a medir 2 ó 3 metros de altura, provisto de una serie de nudos de los que se arrancan las hojas alternas lanceoladas, con pequeñas lígulas. Las flores unisexuales se disponen en la misma planta; las masculinas formando espigas y las femeninas se reúnen en una mazorca apical en donde sobresalen los estilos que son pelitos de color café. La flor femenina o mazorca se llama cariopsis y se forma de 8 a 30 filas de semillas <sup>(4)</sup>.





**Figura N° 1. Planta de maíz (*Zea mays L.*)**

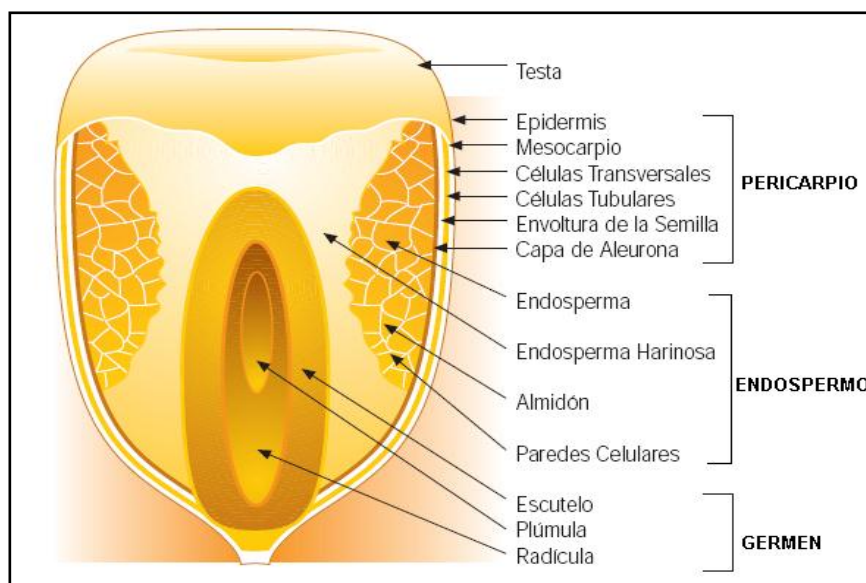
### **3.1.3 Estructura, composición química y valor nutritivo del grano de maíz**

#### **3.1.3.1 Estructura del grano de maíz**

Los granos de maíz se desarrollan mediante la acumulación de los productos de la fotosíntesis, la absorción a través de las raíces y el metabolismo de la planta de maíz en la inflorescencia femenina denominada espiga. Esta estructura puede contener de 300 a 1,000 granos según el número de hileras y el diámetro y longitud de la mazorca. El peso del grano puede variar mucho, de aproximadamente 19 a 30 g por cada 100 granos <sup>(10)</sup>.

Las partes principales del grano de maíz son: la cubierta de la semilla o pericarpio que protege la semilla de la entrada de hongos y bacterias, antes y después de la siembra; el endospermo amiláceo es la estructura de almacenamiento del grano que constituye su principal reserva energética y el

embrión o germen que es el responsable de formar una nueva planta (Ver Figura N° 2) <sup>(1)</sup>.



**Figura N° 2. Corte transversal de un grano de maíz** <sup>(24)</sup>

El pericarpio se caracteriza por un elevado contenido de fibra cruda, aproximadamente el 87%, la que está formada fundamentalmente por hemicelulosa (67%), celulosa (23%) y lignina (0,1%). El endospermo contiene un nivel elevado de almidón (88%), aproximadamente 8% de proteína y un contenido de grasa cruda relativamente bajo. El germen se caracteriza por un elevado contenido de grasa cruda (33% en término medio) y un nivel relativamente elevado de proteína (próximo al 20%) y minerales (Ver Cuadro N° 1) <sup>(10)</sup>.

**Cuadro N° 1. Composición química proximal de las partes principales de los granos de maíz (%) <sup>(10)</sup>**

COMPONENTE QUÍMICO	PERICARPIO	ENDOSPERMO	GERMEN
Proteína (%)	3,7	8,0	18,4
Fibra cruda (%)	86,7	2,7	8,8
Cenizas (%)	0,8	0,3	10,5
Almidón (%)	7,3	87,6	8,3
Azúcar (%)	0,3	0,6	10,8

De acuerdo a los datos del Cuadro N° 1 se establece que es en el germen donde se encuentra la mayor cantidad de grasas crudas y un nivel elevado de proteínas, en el endospermo se encuentra la mayor cantidad de almidón y la mayor cantidad de fibra cruda se encuentra en el pericarpio.

### **3.1.3.2 Composición química del grano**

Puede haber variedad tanto genética como ambiental y puede influir en la distribución ponderal y en la composición química específica del endospermo, el germen y la cáscara de los granos <sup>(9)</sup>. En general, la composición química es la siguiente:

#### **- Almidón**

El componente químico principal del grano de maíz es el almidón, al que corresponde hasta el 72-73% del peso del grano. Otros hidratos de carbono son azúcares sencillos en forma de glucosa, sacarosa y fructosa, en cantidades que varían del 1-3% del grano. El almidón está formado por dos polímeros de glucosa: amilosa y amilopectina. La amilosa es una molécula esencialmente lineal de unidades de glucosa, que constituye hasta el 25-30% del almidón. El polímero amilopectina también consiste de unidades de glucosa, pero en forma

ramificada y constituye hasta el 70-75% del almidón. La composición del almidón viene determinada genéticamente <sup>(10)</sup>.

### **- Proteínas**

Después del almidón, las proteínas constituyen el siguiente componente químico del grano por orden de importancia. En las variedades comunes, el contenido de proteínas puede oscilar entre el 8-11% del peso del grano, y en su mayor parte se encuentran en el endospermo. La calidad nutritiva del maíz como alimento viene determinada por la composición de aminoácidos de sus proteínas <sup>(10)</sup>.

El valor nutritivo de las proteínas vegetales es menor que el de la mayoría de las proteínas de origen animal ya que éstas son deficientes en uno o varios aminoácidos. El balance adecuado de aminoácidos desempeña un papel muy importante en la calidad de las proteínas, ya que la deficiencia o el exceso de alguno de ellos, puede traer como consecuencia una reducción en el valor nutritivo del alimento <sup>(27)</sup>.

### **- Aceites y ácidos grasos**

El aceite del grano de maíz está fundamentalmente en el germen y está determinado genéticamente, con valores que van del 3-18%. El aceite de maíz tiene un bajo nivel de ácidos grasos saturados: ácido palmítico y esteárico, con valores medios del 11% y el 2%, respectivamente. En cambio, contiene niveles relativamente elevados de ácidos grasos poliinsaturados, fundamentalmente ácido linoléico, con un valor medio de cerca del 24%. Sólo se han encontrado

cantidades reducidas de ácidos linolénico y araquidónico. Además, el aceite de maíz es relativamente estable por contener únicamente pequeñas cantidades de ácido linolénico (0,7%) y niveles elevados de antioxidantes naturales. El aceite de maíz contiene una buena distribución de sus ácidos grasos, fundamentalmente ácido oléico y linoléico <sup>(27)</sup>.

#### **- Fibra dietética**

Después de los carbohidratos (principalmente almidón), las proteínas y las grasas, la fibra dietética es el componente químico del maíz que se encuentra en cantidades mayores. Los carbohidratos complejos del grano de maíz se encuentran en el pericarpio y la piloriza, aunque también en las paredes celulares del endospermo y, en menor medida, en las del germen <sup>(10)</sup>.

#### **- Otros hidratos de carbono**

El grano maduro contiene pequeñas cantidades de otros hidratos de carbono, además de almidón. El total de azúcares del grano varía entre el 1-3%, y la sucrosa, el elemento más importante, se halla esencialmente en el germen. En los granos en vías de maduración hay niveles más elevados de monosacáridos, disacáridos y trisacáridos <sup>(10)</sup>.

#### **- Minerales**

El germen es relativamente rico en minerales, con un valor medio del 11%, frente a menos del 1% en el endospermo. El germen proporciona cerca del 78% de todos los minerales del grano. El mineral que más abunda es el fósforo, en forma de fitato de potasio y magnesio, encontrándose en su totalidad en el

embrión con valores de aproximadamente 0,90% en el maíz común y cerca del 0,92% en el maíz opaco-2. Como sucede con la mayoría de los granos de cereal, el maíz tiene un bajo contenido de calcio y de oligoelementos <sup>(16)</sup>.

#### **- Vitaminas liposolubles**

El grano de maíz contiene dos vitaminas solubles en grasa, la provitamina A o carotenoides, y la vitamina E. El maíz blanco contiene un escaso o nulo contenido de carotenoides. La mayoría de los carotenoides se encuentran en el endospermo duro del grano y únicamente pequeñas cantidades en el germen. La otra vitamina liposoluble, la vitamina E se halla principalmente en el germen. La fuente de la vitamina E son cuatro tocoferoles; el más activo biológicamente es el tocoferol-alfa; aunque el tocoferol-gamma es probablemente más activo como antioxidante <sup>(27)</sup>.

#### **- Vitaminas hidrosolubles**

Las vitaminas solubles en agua se encuentran sobre todo en la capa de aleurona del grano de maíz, y en menor medida en el germen y el endospermo. Esta distribución tiene importancia al elaborar el cereal pues, la elaboración da lugar a pérdidas considerables de vitaminas. Se han encontrado cantidades variables de tiamina y riboflavina en el grano del maíz; su contenido está determinado en mayor medida por el medio ambiente y las prácticas de cultivo que por la estructura genética, aunque se han encontrado diferencias en el contenido de estas vitaminas entre las distintas variedades. La vitamina soluble en agua a la cual se han dedicado más investigaciones es el ácido nicotínico, a

causa de su asociación con la deficiencia de niacina, o pelagra, fenómeno muy difundido en las poblaciones que consumen grandes cantidades de maíz (27).

El maíz no tiene vitamina B<sub>12</sub> y el grano maduro contiene sólo pequeñas cantidades -en caso de que las haya- de ácido ascórbico (10).

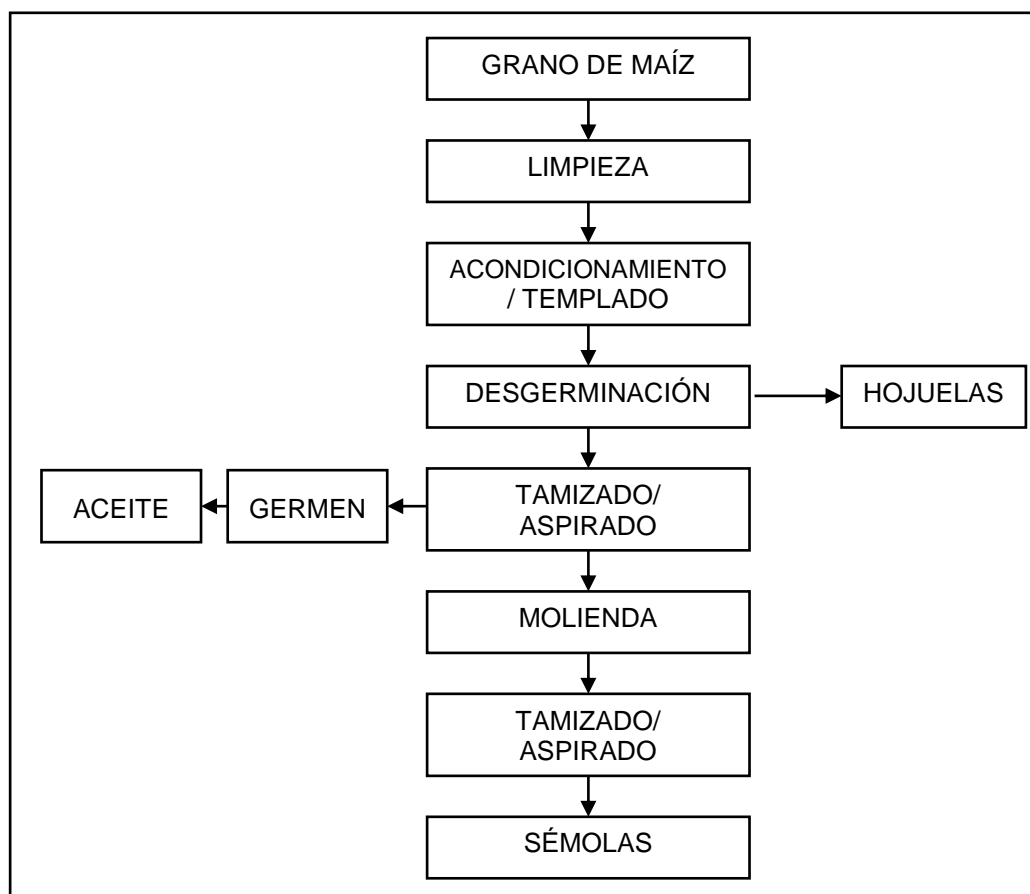
### **3.1.4 Molienda del maíz y pérdida de nutrimentos**

El grano de maíz se transforma en alimentos y productos industriales útiles mediante dos procedimientos: la molienda en seco y la molienda húmeda. Con la primera se extraen, como productos primarios, sémolas y harinas corrientes y finas. La segunda produce almidón, dextrina, fécula de maíz, miel de maíz, aceite refinado, confituras, colorantes para caramelos, glucosa líquida y sólida (14,10).

#### **3.1.4.1 Molienda en seco (8)**

Se obtienen sémolas y productos de molienda con diferentes granulometrías. La industria de la molienda de maíz en seco se basa en dos procesos básicos: métodos en los cuales se separa el germen y métodos en donde no se separa el germen. El proceso de desgerminación separa los elementos básicos: hollejo, germen y endospermo antes de la molienda. Los productos resultantes son: maíz quebrado, hojuelas, harina, aceite y forraje, los cuales se utilizan en la fabricación de cereales para desayuno, productos germinados, bebidas fermentadas como la cerveza y la malta, bocadillos y alimentos para animales (Ver Figura N° 3).

El método de no desgerminación simplemente muele el maíz entero, convirtiéndolo en una harina de maíz rica en aceite que se utiliza en productos horneados.



**Figura Nº 3. Molienda en seco usando el proceso de desgerminación** (20)

### 3.1.4.2 Molienda húmeda

La mayor parte de la producción de maíz, se procesa mediante molienda húmeda para obtener almidón y otros subproductos valiosos, como gluten y piensos. El almidón es materia prima de una amplia gama de productos alimentarios y no alimentarios. Su elaboración consiste fundamentalmente en utilizar maíz limpio que se macera en corrientes de agua y ácido sulfuroso



durante 28 a 48 horas a 52°C, lo que prepara al maíz para la molienda y la posterior separación de sus elementos mediante tamizado, centrifugación y lavado para obtener almidón del endospermo, aceite del germen y productos alimentarios de los residuos. El almidón se utiliza industrialmente como tal y también para producir alcohol y edulcorantes alimentarios, ya sea por hidrólisis ácida o enzimática. Esta última se realiza mediante alfa-amilasa, glucoamilasas, beta-amilasa y pululanasa de bacterias o de hongos. Se liberan los sacáridos de diversos pesos moleculares produciendo edulcorantes con diferentes propiedades funcionales: dextrosa líquida o cristalina, jarabes de maíz con elevada proporción de fructosa, jarabes ordinarios de maíz y maltodextrinas, los que tienen múltiples aplicaciones en la elaboración de alimentos <sup>(8,10)</sup>. En la Figura N° 4 se ilustra el proceso de refinación del maíz.

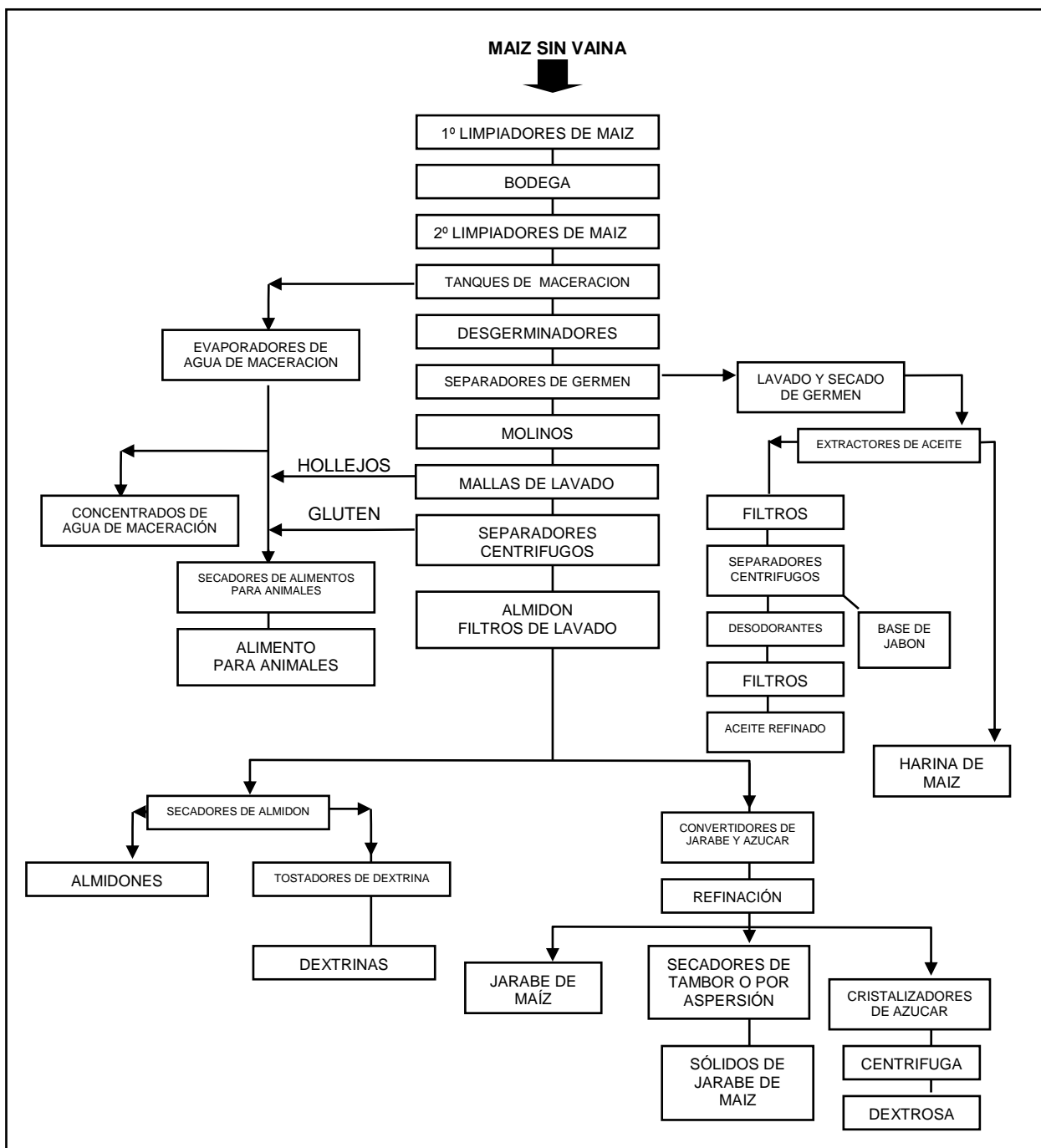


Figura Nº 4. Proceso de refinación del maíz (8)

### 3.1.4.3 Pérdida de nutrimentos en el proceso de molienda

La molienda reduce el valor nutritivo del maíz, tal como ocurre con otros cereales. Los nutrimentos que se encuentran en el grano presentan un patrón de distribución dentro de los diferentes componentes del mismo: el endospermo, el germen y el pericarpio <sup>(6)</sup>.

El maíz altamente refinado ha perdido la mayoría del germen y las capas externas (pericarpio) con ello la mayoría de las vitaminas B y algo de proteínas y minerales <sup>(6)</sup>. En el Cuadro N° 2 se presenta el contenido de nutrimentos de un grano de maíz entero, descascarado (eliminación de pericarpio) y desgerminado.

**Cuadro N° 2. Efecto de la molienda en el contenido de nutrimentos del maíz <sup>(6)</sup>**

		MAÍZ ENTERO	MAÍZ DESCASCARADO	MAÍZ SIN GERMEN
Nutrimento (%)	Proteína	9,9	10,1	8,7
	Almidón y azúcar	76,0	80,9	89,2
	Grasa	5,2	3,9	1,4
	Fibra cruda	12,8	8,6	4,0
	Cenizas	1,4	1,1	0,4
Aminoácidos (g/16gN)	Cisteína	2,2	2,2	2,3
	Lisina	3,0	2,6	1,9
	Metionina	2,1	2,2	2,3
	Triptofano	0,8	0,7	0,5
	Treonina	3,5	3,5	3,3
Minerales	Calcio (mg/g)	30,8	26,7	14,5
	Fósforo (mg/g)	3,1	2,5	0,8
	Zinc (ppm)	21,0	17,1	4,4
	Hierro (ppm)	23,3	19,7	10,8
	Cobre (ppm)	1,8	1,4	0,7
Vitaminas (µg/g)	Tiamina	4,7	4,4	1,3
	Riboflavina	0,9	0,7	0,4
	Niacina	16,2	13,9	9,8
	Piridoxina (B <sub>6</sub> )	5,4	5,4	1,9
	Folato	0,3	0,2	0,1
	Biotina (ng/g)	73,0	55,0	14,0

El proceso para obtener harinas refinadas de maíz reduce en forma significativa el contenido de vitaminas y minerales; en algunos casos, la disminución es superior al 70% del contenido en grano original <sup>(6)</sup>.

En el Cuadro N° 3 se indica como se ve afectado especialmente el contenido de vitaminas B, en un grano entero de maíz, uno ligeramente refinado y uno altamente refinado.

**Cuadro N° 3. Efecto de la molienda en el contenido de vitamina B del maíz (mg por 100 g) <sup>(19)</sup>**

<b>NIVEL DE PROCESAMIENTO DEL MAÍZ</b>	<b>TIAMINA (mg/100 g)</b>	<b>RIBOFLAVINA (mg/100 g)</b>	<b>NIACINA (mg/100 g)</b>
Grano entero	0,35	0,13	2,0
Ligeramente refinado	0,30	0,13	1,5
Altamente refinado (65 % de extracción)	0,05	0,03	0,6

Para obtener la cantidad de tiamina que se encuentra en un grano entero, se necesita consumir 700 g de maíz altamente refinado (65% de extracción). El índice de extracción es el porcentaje del grano original que permanece en la harina después de la molienda. Por lo tanto una harina de extracción de 65 % contiene 65 % (por peso) del grano entero, un 35% se ha removido. Los constituyentes de vitamina B que se pierden en la molienda se pueden restituir en la harina de maíz por medio de la fortificación <sup>(19)</sup>.

### **3.1.5 Maíz Nixtamalizado**

La palabra nixtamalización deriva del náhuatl *nextil*: cenizas o cal y *tamali*: masa de maíz. La nixtamalización es un proceso muy antiguo desarrollado por las culturas Mesoamericanas y aún es utilizado para la producción de tortillas. El maíz nixtamalizado no es más que el maíz cocido con agua y cal (hidróxido de calcio), con el fin de quitar el pericarpio o cáscara del grano <sup>(10)</sup>.

#### **3.1.5.1 Maíz nixtamalizado en forma artesanal**

El proceso de cocción del maíz en agua de cal es propio de México y América Central. Consiste en mezclar una parte de maíz integral con dos partes de una solución de cal aproximadamente al 1%. La mezcla se calienta a 80°C durante un lapso de 20 a 45 minutos y luego se deja reposar toda la noche. Al día siguiente, se decanta el líquido cocido y el maíz, denominado entonces nixtamal, se lava dos o tres veces con agua para eliminar las cubiertas seminales, las pilorrizas, la cal sobrante y las impurezas del grano. La añadidura de cal en las fases de cocción y de remojo contribuye a eliminar las cubiertas seminales; los subproductos se desechan o bien sirven para alimentar ganado porcino <sup>(10)</sup>.

#### **3.1.5.2 Maíz nixtamalizado en forma industrial**

La transformación industrial a gran escala del maíz en harina instantánea se basa en el método utilizado tradicionalmente en las zonas rurales, la diferencia es que se debe contar con maquinaria capaz de realizar las siguientes

operaciones: cocción en agua de cal, molienda, secado y cernido, así como una capacidad de producción diaria de 30 a 80 toneladas de harina <sup>(10)</sup>.

El proceso de producción de la harina de maíz nixtamalizada comienza con la recepción, limpieza y almacenamiento de maíz. Se pesa el lote de maíz a ser nixtamalizado y comienza la nixtamalización que se lleva a cabo de la siguiente forma: el maíz pesado se transporta a las instalaciones de elaboración para su cocción en agua de cal, convirtiéndolo en nixtamal. Tras su cocción y macerado, el maíz tratado en agua de cal se lava con agua a presión o pulverización y se tritura hasta que forme una masa que se lleva a un secador y se convierte en harina de maíz nixtamalizada <sup>(9)</sup>. En la Figura N° 5 se describe, con un esquema, las operaciones unitarias del proceso de producción de harina de maíz nixtamalizada en donde se incluye el proceso de nixtamalización.

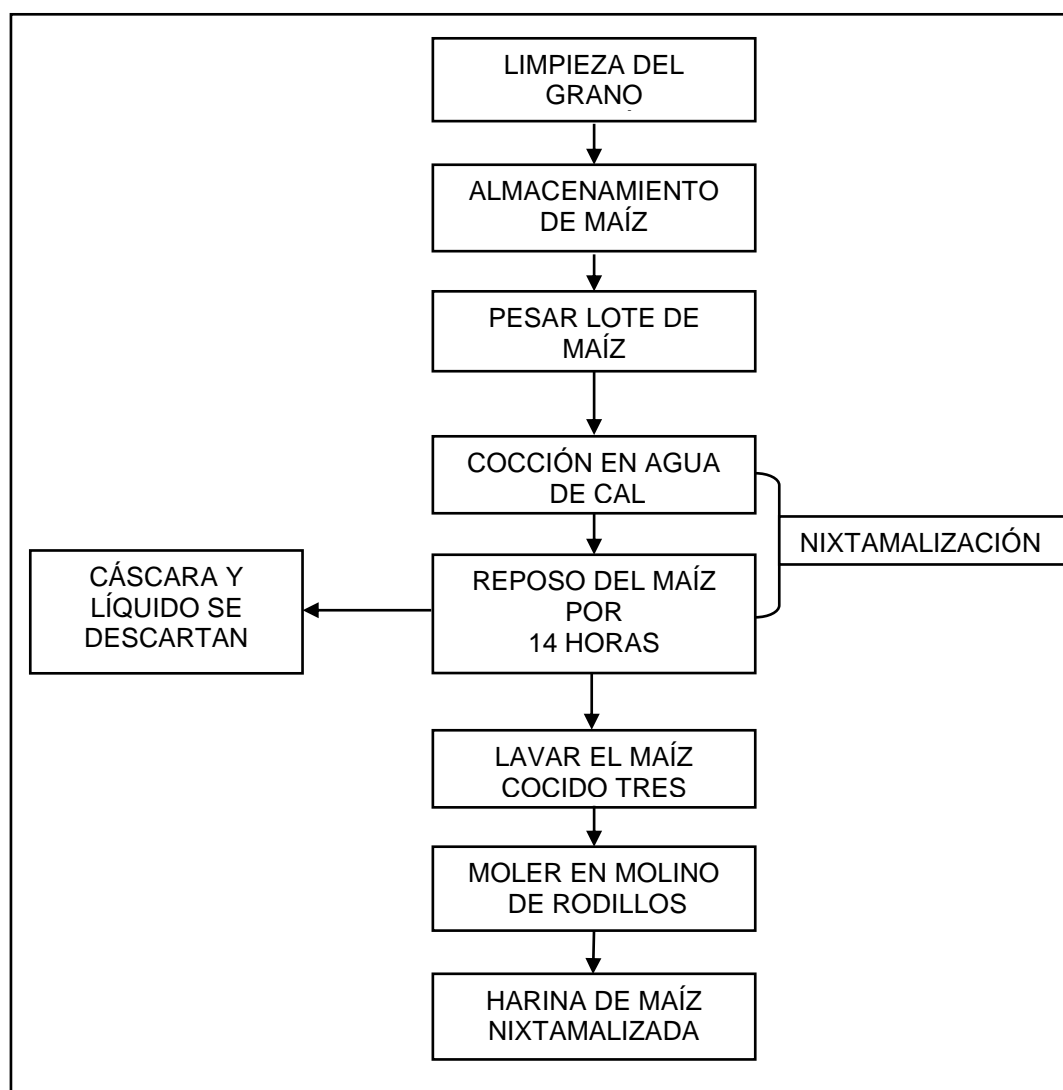


Figura Nº 5. Proceso de producción de harina de maíz nixtamalizada (9)

## **3.2 HARINA DE MAÍZ NIXTAMALIZADO FORTIFICADA**

### **3.2.1 Fortificación. Definición, Métodos de Fortificación y alimentos apropiados**

La fortificación de alimentos se define como la práctica de aumentar deliberadamente el contenido de micronutrientes esenciales -es decir, vitaminas y minerales (incluidos los oligoelementos)- en un alimento, a fin de mejorar la calidad nutricional del suministro de alimentos y proporcionar un beneficio para la salud pública con un mínimo riesgo para la salud <sup>(2)</sup>.

En la actualidad hay muchas técnicas distintas en uso; la elección del método depende del nutriente y del alimento. Un sistema que se utiliza frecuentemente en la harina o en un producto de grano fino, incluye la adición al alimento en polvo de una premezcla de nutrientes a una tasa establecida, a medida que este fluye en una de las etapas del proceso. Se requiere una mezcla completa. Este método es apto para molinos y grandes plantas de procesamiento. Para las instalaciones pequeñas o inclusive en ciudades pequeñas, se suministra paquetes de la premezcla con instrucciones en las que se indica las proporciones a utilizar y los métodos necesarios para garantizar una buena mezcla <sup>(19)</sup>. En el Cuadro N° 4 se muestran algunos alimentos utilizados como vehículos en programas de fortificación.



**Cuadro N° 4. Algunos alimentos utilizados como vehículos en programas de fortificación\* (11)**

NUTRIENTE	TIPO DE ALIMENTO	COMENTARIOS
Acido Ascórbico	Frutas y bebidas enlatadas, congeladas y secas, productos lácteos enlatados y secos, productos de cereales secos.	El ácido ascórbico debe protegerse del aire, si se encuentra en solución neutra.
Tiamina, Riboflavina y Niacina	Cereales secos, harina, pan, pasta, productos lácteos.	Arroz y granos similares pueden ser impregnados o recubiertos con el nutriente. La riboflavina puede colorear al alimento. La nicotinamida se prefiere generalmente al ácido nicotínico.
Vitamina A o Betacaroteno	Productos de cereales secos, harina, pan, pasta, productos lácteos, margarinas, aceites vegetales, azúcar, té, chocolate, glutamato monosódico.	La vitamina A debe protegerse del aire y mezclarse en agua, a productos no grasos (puede agregarse como perlas a base de gelatina, conjuntamente con un estabilizador como recubrimiento del producto alimentario o mezclado en un granulo simulado, como el arroz). El caroteno puede colorear los productos. Las pérdidas debidas al calor pueden ser significativas en los aceites de comida.
Vitamina D	Productos lácteos, margarina, productos de cereales secos, aceites vegetales, bebidas de frutas.	Ver comentarios en la relación con la Vitamina A. Múltiples fuentes de esta vitamina pueden ser indeseables.
Calcio	Productos de cereales, pan.	La cantidad que se debe agregar generalmente limita el rango de vehículos, que pueden utilizarse.
Hierro	Productos de cereales, pan, leche en polvo enlatada	La disponibilidad varía con la forma en la que se adiciona el hierro. El hierro puede causar cambios de color o de sabor en los alimentos.
Yodo	Sal	Generalmente se utiliza yoduro. El yodato es más estable en sal cruda.
Proteína	Productos de cereales, pan y harina de yuca	Se utilizan generalmente concentrados de proteína de diversos tipo. La cantidad que debe agregarse generalmente limita vehículos que se pueden utilizar
Aminoácidos	Cereales, pan y sustitutos de la carne	Se han propuesto otros vehículos. El uso de lisina, cisteína o metionina se han autorizado en algunas regiones. El interés de fortificar con aminoácidos disminuyo desde principios de la década de los 70's

\* Además, una amplia gama de nutrientes se han agregado a las formulas lácteas y alimentos para bebés.

### **3.2.2 Harina de maíz nixtamalizado fortificada. Definiciones, Reseña histórica y marco legal**

#### **3.2.2.1 Definiciones <sup>(17)</sup>**

Harina de maíz nixtamalizado: Es el producto deshidratado que se obtiene de la molienda de los granos de maíz (***Zea mais L.***) sometido a cocción parcial con agua en presencia de hidróxido de calcio.

Harina de maíz nixtamalizado fortificada: Es la harina de maíz nixtamalizado a la que se han agregado micronutrientes para obtener un producto con mayor valor nutricional, en las proporciones establecidas en la Norma Salvadoreña Obligatoria 67.03.02:03. Harinas. Harina de Maíz Nixtamalizado.

#### **3.2.2.2 Reseña histórica**

Con el propósito de disminuir las enfermedades ocasionadas por las deficiencias de micronutrientes el Ministerio de Salud y Asistencia Social ha implementado el Programa Nacional de Fortificación de Alimentos que incluye la yodación de la sal, la fortificación del azúcar con vitamina “A” y fortificación de las harinas de trigo y de maíz nixtamalizado con hierro y vitaminas del complejo “B”, incluyendo el ácido fólico <sup>(17)</sup>.

La fortificación de los alimentos procesados inicia en el país en el año 1968, con la fortificación de la sal con yodo. En 1990 se inicia la fortificación del azúcar con vitamina “A”. En 1995, la fortificación de harina de trigo con hierro, ácido fólico y otras vitaminas del complejo “B” y en el año 2003, inicia la fortificación

de harina de maíz nixtamalizado, con hierro, ácido fólico y otras vitaminas del complejo “B” <sup>(17)</sup>.

El objetivo del Programa Nacional de Fortificación de Alimentos es mejorar el estado nutricional de la población a través de la ingesta de alimentos como la harina de maíz fortificada con hierro, ácido fólico y otras vitaminas del complejo “B”. Para el desarrollo del programa se debe contar con un marco legal el cual incluya: Leyes, Reglamentos y Normas técnicas de cada uno de los alimentos fortificados <sup>(21)</sup>.

### **3.2.2.3 Marco Legal <sup>(7)</sup>**

A nivel nacional los organismos encargados de realizar el estudio de las normas son los Comités Técnicos de Normalización del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACYT. Estos comités están integrados por representantes de la Empresa Privada, Gobierno, Organismo de Protección al Consumidor y Académico Universitario.

El estudio de la Norma Salvadoreña Obligatoria 67.03.02:03 HARINAS. HARINA DE MAIZ NIXTAMALIZADO fue aprobado por el Comité Técnico de Normalización 03. La oficialización de la norma conlleva la ratificación por la Junta Directiva y el Acuerdo Ejecutivo del Ministerio de Economía.

La Norma se aplica a todas las harinas de maíz nixtamalizado las cuales deben estar fortificadas con hierro, niacina, tiamina, riboflavina y ácido fólico, que se

utilizan en el país para consumo humano, sean éstas de producción nacional, importación o donación.

Cabe mencionar que dentro de la Norma antes citada, en el numeral ocho denominado Fortificación (Ver Anexo N° 1), se enumera los niveles mínimos de micronutrientes expresados en mg/kg de harina que se deben de encontrar en la harina de maíz nixtamalizado ya fortificada. Ver Cuadro N° 5.

**Cuadro N° 5. Niveles mínimos de micronutrientes en harinas de maíz (7)**

MICRONUTRIENTES	NIVEL MÍNIMO (mg/kg de harina)
Hierro	25,0
Niacina	25,0
Tiamina (vitamina B <sub>1</sub> )	2,2
Riboflavina (Vitamina B <sub>2</sub> )	1,4
Acido fólico	0,8

También se menciona en la Norma, los niveles de adición para cumplir con los niveles de fortificación (mencionados en el Cuadro N° 5).

Se pueden utilizar una o varias mezclas de fortificantes de manera que luego de la mezcla recomendada, los niveles de adición de micronutrientes en la harina de maíz sea como a continuación se indican en el Cuadro N° 6

**Cuadro N° 6. Niveles de adición de micronutrientes en harina de maíz (7)**

MICRONUTRIENTES	NIVEL DE ADICIÓN (mg/kg de harina)
Hierro	27,30
Niacina	30,50
Tiamina (vitamina B <sub>1</sub> )	3,30
Riboflavina (Vitamina B <sub>2</sub> )	2,20
Acido fólico	0,92

### **3.2.3 Proceso industrial de la elaboración de harina de maíz nixtamalizado fortificada <sup>(28)</sup>**

El proceso comienza con la recepción del maíz, donde se pesa la carga, se toma una muestra y se analiza la muestra. Luego del análisis de las muestras y aceptado el maíz como materia prima, este se descarga en silos de almacenamiento donde permanece un promedio de 45 días hasta su maduración. Temperatura y humedad homogéneas aseguran buena calidad. Cuando el maíz ha alcanzado su madurez, se separa el olote y el maíz quebrado del grano entero. El maíz limpio se guarda en silos de día donde permanecerá como máximo 24 horas. Luego pasará al proceso de nixtamalización. El proceso en general consiste en mezclar el maíz con cal; la mezcla se deposita en un macerador para su cocimiento inyectando vapor. Después de cocido se lava el nixtamal y se deja reposar. Luego el nixtamal pasa por un molino. La harina obtenida se deshidrata a 200°C, esta se enfría por movimiento. Se dosifican aditivos y vitamina, se separa la harina fina y se almacena en silos. De los silos se transporta la harina a tolvas de empaque. Se llenan los sacos o paquetes, se verifica el peso, se toma una muestra de la harina para los análisis de laboratorio que certifican su calidad. Se cosen los sacos y se obtiene el producto terminado. Se almacena por lotes. Se procede a la liberación del lote para ser distribuidos y comercializados. El proceso se ilustra en la Figura N° 6.



**Figura N°6. Proceso industrial de la elaboración de harina de maíz nixtamalizado fortificada (28)**

### **3.2.4 Proceso de adición y estabilidad de los micronutrientes (24)**

El proceso de agregar micronutrientes a la harina refinada de maíz y la selección del equipo a nivel industrial deben ser estudiados cuidadosamente para asegurar la distribución uniforme de los nutrientes en el producto en la etapa de molienda, durante el almacenamiento, y en los alimentos después de que estos son preparados. Se deberán calcular y tomar en cuenta las pérdidas experimentadas durante el procesamiento, el almacenamiento y la cocción al determinar el nivel de micronutrientes que se agregará.

Los micronutrientes pueden ser agregados en forma individual o combinados en una premezcla en una proporción especificada. Es importante mezclar bien la harina refinada después de agregar los micronutrientes.

Los dos lugares más comunes para agregar los micronutrientes son:

- Antes de envasar en un transportador tipo tornillo (se obtiene un mezclado apropiado).
- El lugar donde convergen las harinas refinadas o las harinas integrales provenientes de diferentes lotes (se obtiene un mezclado excelente).

Para minimizar los errores en la tasa de agregado, los micronutrientes deben fluir libremente y, para evitar que se separen de la harina refinada o de la harina integral, el tamaño de la partícula debe ser similar a la del producto final.

Algunos factores que influyen sobre la estabilidad de las vitaminas y los minerales agregados durante el almacenamiento y la preparación de la harina

refinada de maíz o harina integral de maíz son los que se muestran en el Cuadro N° 7 que aparece a continuación:

**Cuadro N° 7. Factores que influyen en la estabilidad de micronutrientes** (24)

ALMACENAMIENTO	PREPARACIÓN
Temperatura	Temperatura
Contenido de humedad	Tipo de preparación
Presencia/ausencia de luz	Tiempo de cocción
pH del sistema	Proceso
Presencia de oxígeno	
Duración del almacenamiento	
Envase	

Los micronutrientes de la harina refinada de maíz fortificada almacenada a temperatura ambiente, tienen buena estabilidad como se puede observar en el Cuadro N° 8.

Un estudio demostró que la harina refinada de maíz amarillo conservaba toda la actividad de su vitamina B<sub>6</sub>, más del 95 por ciento de las vitaminas A, B<sub>1</sub> y B<sub>2</sub>, y alrededor del 85 por ciento del ácido fólico después de seis meses de almacenado a temperatura ambiente.

**Cuadro N° 8. Estabilidad de la premezcla de vitaminas y hierro almacenadas a temperatura ambiente** (24)

NUTRIENTE	UNIDADES	CANTIDAD INICIAL	CANTIDAD EN 3 MESES	CANTIDAD EN 6 MESES
Vitamina A	UI	6,000	5,820	5,880
Vitamina B <sub>1</sub>	mg	3,2	3,2	3,1
Vitamina B <sub>2</sub>	mg	2.0	1,8	1,9
Niacina	mg	26.0	25,7	ND
Vitamina B <sub>6</sub>	mg	4.5	4,0	4,5
Ácido Fólico	mg	0.6	0,5	0,5
Hierro	mg	41.0	39,0	40,0

ND = no disponible



### **3.3 MICRONUTRIENTES. TIAMINA.**

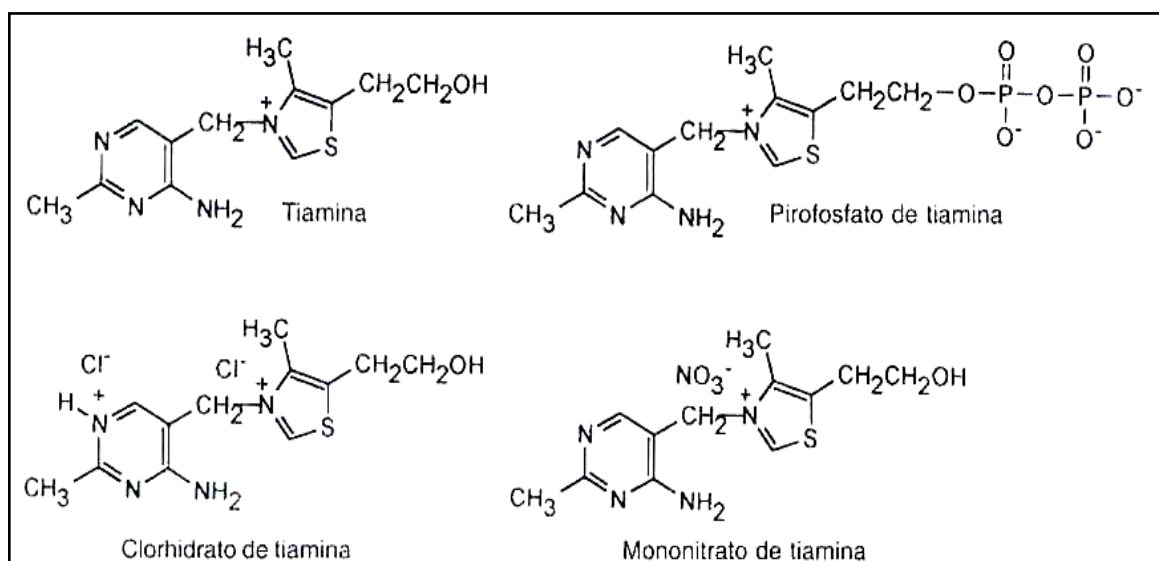
El término micronutrientes se refiere a las vitaminas y minerales cuyo requerimiento diario es relativamente pequeño pero indispensable para los diferentes procesos bioquímicos y metabólicos del organismo y en consecuencia para el buen funcionamiento del cuerpo humano. Unos de los más importantes micronutrientes son el yodo, el hierro y la vitamina A que son esenciales para el crecimiento físico, el desarrollo de las funciones cognitivas y fisiológicas y la resistencia a las infecciones. Existen otros micronutrientes como el zinc, el ácido fólico, el calcio y todas las vitaminas y minerales <sup>(29)</sup>.

#### **3.3.1 Tiamina (Vitamina B<sub>1</sub>)**

##### **3.3.1.1 Estructura y propiedades generales**

La tiamina es una pirimidina sustituida unida por un grupo metileno (-CH<sub>2</sub>-) a un tiazol sustituido. La tiamina está ampliamente distribuida en los tejidos vegetales y animales. La forma más común que existe naturalmente es el pirofosfato de tiamina (ver Figura N° 7) y en menor extensión la tiamina monofosforilada, el monofosfato de tiamina y el trifosfato de tiamina. El pirofosfato de tiamina funciona como una coenzima de diversas  $\alpha$ -cetoácido deshidrogenadas,  $\alpha$ -cetoácido descarboxilasas, fosfoacetolasas y transcetolasas <sup>(11)</sup>.

La tiamina existe comercialmente en forma de sales de mononitrato y clorhidrato, las cuales se utilizan ampliamente para la fortificación de los alimentos y como suplementos nutricionales <sup>(11)</sup>.



**Figura N° 7. Estructura de diversas formas de tiamina. Todas ellas poseen actividad Tiamina (Vitamina B1) <sup>(11)</sup>**

La tiamina es una de las vitaminas más inestables. Tiene una estructura de uniones débiles y se descompone con facilidad en un medio alcalino. La tiamina es muy soluble en agua. Resiste temperaturas de hasta 100°C, pero tiende a destruirse si se calienta en exceso (por ejemplo, sí se fríe en sartén caliente o si se cuece a presión) <sup>(19)</sup>.

La tiamina tiene una función muy importante en el metabolismo de los carbohidratos, interviniendo en el complejo mecanismo de la ruptura u oxidación de los carbohidratos y en el metabolismo del ácido pirúvico <sup>(19)</sup>.

La energía que emplea el sistema nervioso deriva por completo de los carbohidratos y una carencia de tiamina bloquea la utilización final de ellos y lleva a un déficit de energía y a lesiones en los tejidos nerviosos y el cerebro. Por este motivo, las necesidades de tiamina se expresan en relación con el consumo de carbohidratos <sup>(19)</sup>.

### **3.3.1.2 Estabilidad y formas de degradación**

#### **3.3.1.2.1 Propiedades de estabilidad <sup>(11)</sup>**

Las pérdidas de tiamina en los alimentos se ven potenciadas cuando: (a) Las condiciones favorecen la lixiviación de la vitamina en los medios acuosos del entorno, (b) El pH es próximo a la neutralidad o superior y/o (c) Cuando ocurre una exposición a agentes sulfitantes. Las pérdidas de tiamina pueden producirse en alimentos totalmente hidratados durante el almacenamiento a temperaturas moderadas a velocidades más bajas que a las observadas durante los tratamientos térmicos.

La tiamina exhibe una excelente estabilidad a temperatura ambiente bajo condiciones de baja actividad del agua. Los taninos pueden inactivar la tiamina, aparentemente mediante la formación de diversos compuestos biológicamente inactivos. Diversos flavonoides pueden alterar la molécula de tiamina pero el producto que aparentemente se forma durante la oxidación de los flavonoides en presencia de tiamina es disulfuro de tiamina, una sustancia que posee actividad vitamínica. Las proteínas y los carbohidratos pueden reducir la

velocidad de degradación en la tiamina durante el calentamiento o en presencia del bisulfito. Sin embargo, la magnitud de este efecto es difícil de predecir en los complejos sistemas alimentarios.

#### **3.3.1.2.2 Mecanismo de degradación**

El pH del medio de reacción influye poderosamente en la velocidad y el mecanismo de degradación térmica de la tiamina; a pH neutro o alcalino, hay desdoblamiento del puente metileno al calentarse en presencia de humedad. En condiciones ácidas (es decir,  $\text{pH} \leq 6$ ), la degradación térmica de la tiamina ocurre lentamente e implica la rotura del puente metilénico liberándose los restos de pirimidina y tiazol, en gran parte intactos. Entre valores de pH 6 y 7 se acelera la degradación de la tiamina con un gran aumento en el grado de fragmentación del anillo de tiazol y a pH 8 no se encuentra el anillo de tiazol entre los productos de degradación <sup>(11)</sup>.

#### **3.3.1.3 Fuentes alimentarias**

La tiamina se distribuye con amplitud en los alimentos de origen vegetal y animal. Está presente en todos los vegetales y es sintetizada por algunos microorganismos. Las fuentes más ricas son los granos de cereales y semillas. Las hortalizas verdes, pescado, carne, fruta y leche, todos contienen cantidades útiles. Tanto en semillas como en cereales, la tiamina se encuentra sobre todo en el germen y en las capas externas; por lo tanto, gran parte se puede perder

durante la molienda. Los salvados de arroz, trigo y otros cereales tienden a ser ricos de modo natural en tiamina <sup>(12,19)</sup>.

La pérdida de tiamina en la cocción casera no se considera excesiva, excepto en los alimentos cocidos en grandes volúmenes de agua que después se descarta. Por la solubilidad, el contenido de tiamina del agua de cocción siempre es apreciable <sup>(12)</sup>.

Los cereales y semillas mantendrán la tiamina durante un año o más si se almacenan bien, pero si los atacan bacterias, insectos u hongos el contenido de tiamina disminuye en forma gradual <sup>(19)</sup>.

#### **3.3.1.4 Absorción y almacenamiento corporal**

La tiamina se absorbe con facilidad en solución acuosa tanto del intestino delgado como del grueso, y después se transporta al hígado por la circulación portal. En el hígado, así como en todas las células vivas se combina normalmente con fosfato para formar cocarboxilasa. Se puede almacenar en el hígado como cocarboxilasa o se puede combinar además con manganeso y proteínas específicas para convertirse en enzimas activas conocidas como Carboxilasas <sup>(12)</sup>.

#### **3.3.1.5 Necesidades en los humanos**

Como la tiamina es esencial para el metabolismo energético, especialmente de los hidratos de carbono, la necesidad de tiamina se relaciona comúnmente con la ingesta calórica <sup>(13)</sup>.

En sujetos moderadamente activos, un consumo diario de 1 mg de tiamina para hombres y 0.8 mg para mujeres, es lo necesario. Durante el embarazo y la lactancia se recomienda una ingesta adicional de 0,6 mg/1,000 kcal. La FAO y la OMS recomienda consumir 0.4 mg/1000 Kcal., para la mayoría de las personas <sup>(13,19)</sup>.

### **3.3.1.6 Carencia de tiamina**

La deficiencia severa de tiamina lleva al estado llamado Beriberi. Los síntomas principales de la deficiencia de tiamina se relacionan con el sistema nervioso (beriberi seco) y con el sistema cardiovascular (beriberi húmedo). En los alcohólicos, la carencia de tiamina produce el síndrome de Wernicke-Korsakoff <sup>(13, 19)</sup>.

#### **3.3.1.6.1 Beriberi**

El beriberi es una enfermedad grave que tuvo una alta prevalencia hacia finales del siglo XIX y comienzos del siglo XX, particularmente en personas pobres de Asia (ver Figura N° 8), cuyo alimento básico era el arroz. El Beriberi, que se representa de diversas formas clínicas, se debe sobre todo a la carencia de tiamina <sup>(19)</sup>.



**Figura Nº 8. Persona Asiática con Beriberi**

### **Características clínicas**

#### **Beriberi húmedo**

Los síntomas cardiovasculares pueden ser prominentes e incluyen disnea de esfuerzo, palpitación, taquicardia y otras anomalías cardíacas; hay un gran edema, debido en gran parte a hipoproteinemia por ingesta insuficiente de proteínas, junto con insuficiencia de la función ventricular. Un paciente con beriberi húmedo, aunque se vea bien, se encuentra en peligro de sufrir un deterioro físico rápido con enfriamiento repentino de la piel, cianosis, aumento del edema, disnea grave, falla circulatoria aguda y muerte (13, 19).

#### **Beriberi seco**

Muchos de los signos y síntomas neurológicos son característicos de la neuritis periférica, con trastornos sensitivos en las extremidades, incluso áreas localizadas de hiperestesia o anestesia. La fuerza muscular se pierde

gradualmente y esto puede llegar a la “mano péndula” o a la parálisis total de una extremidad. La enfermedad casi siempre es crónica, pero en cualquier etapa se puede presentar una mejoría si se consume una dieta balanceada o si se comienza un tratamiento (13, 19).

### **Beriberi infantil**

El beriberi infantil casi siempre se presenta entre los dos y los seis meses de edad. En forma aguda, el bebé desarrolla disnea y cianosis y pronto fallece por falla cardíaca. El niño se desgasta y se torna delgado, presenta vómito y diarrea, y ocasionalmente se observan edema y convulsiones, cuando ya se encuentra en las etapas terminales (19).

### **Prevención**

Se debe cumplir con una dieta bien equilibrada, completa desde el punto de vista nutricional. Una buena dieta es esencial, porque en la mayoría de los casos el beriberi se debe a una deficiencia compleja o múltiple (12).

La tiamina debería ser administrada en alimentos naturales, productos basados en levadura, arroz pulido o en tabletas a ciertos grupos vulnerables de la comunidad. Es importante luchar para que se haga un diagnóstico precoz de los casos de carencia de tiamina así como ejecutar medidas apropiadas de tratamiento y prevención (19).



### **3.3.1.6.2 Síndrome de Wernicke-Korsakoff <sup>(19)</sup>**

El síndrome se caracteriza por síntomas oftalmológicos, como nistagmus (oscilación rápida e involuntaria del ojo), diplopía (visión doble por contracción desigual de los músculos del ojo), parálisis del recto externo (uno de los músculos del ojo) y algunas veces oftalmoplejía (parálisis de los músculos del ojo). Además hay también ataxia (pérdida de coordinación de los movimientos corporales) y cambios mentales. La psicosis de korsakoff incluye una pérdida de memoria del pasado inmediato y a menudo complicadas confabulaciones que tienden a enmascarar la amnesia.

#### **Prevención**

Se han sugerido varias posibles medidas, entre las cuales se menciona:

- a) La inmunización de los alcohólicos con grandes dosis de tiamina a intervalos regulares (desarrollar un producto de liberación lenta para reducir la frecuencia de las inyecciones).
- b) La fortificación de bebidas alcohólicas con tiamina.

### **3.3.1.6.3 Otros estados de carencia de tiamina**

Una neuritis óptica o retrobulbar, conocida además como ambliopía nutricional, que ocurrió en los campos de prisioneros durante la Segunda Guerra Mundial, probablemente se debió, por lo menos en parte, a carencia de tiamina no asociada con alcoholismo. Este cuadro puede ser semejante al serio brote de enfermedad neuropatía que se presentó en Cuba en 1993 <sup>(19)</sup>.

### **3.3.1.7. Determinación química de tiamina <sup>(12)</sup>**

La determinación de tiamina en los alimentos, materiales biológicos y productos farmacéuticos, se efectúa casi con exclusividad mediante el método fluorimétrico del tiocromo. Al oxidarse con ferricianuro en solución alcalina, la tiamina se transforma en tiocromo, que tiene una fluorescencia azul intensa. Es un método muy sensible y se correlaciona bien con los resultados del análisis, La secuencia de la determinación implica extracción de la vitamina, digestión de la materia orgánica, oxidación y extracción del tiocromo, el cual se extrae con isobutanol y se determina por fluorimetría (Ver apartado 3.4 Espectroscopia de Fluorescencia molecular)

## **3.4 ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCENCIA MOLECULAR**

### **3.4.1 Luminiscencia y Procesos Luminiscentes <sup>(16)</sup>**

Luminiscencia es el proceso de emisión de radiación en forma de luz de cualquier sustancia, y ocurre a partir de los estados excitados de cada especie química. Desde el punto de vista de la naturaleza del estado excitado, la luminiscencia fundamentalmente se puede clasificar en dos procesos fotoluminiscentes: fluorescencia y fosforescencia.

#### **3.4.1.1 Fluorescencia**

##### **3.4.1.1.1 Generalidades**

La fluorescencia es un proceso fotoluminiscente de emisión en el cual las moléculas son excitadas por la absorción de radiación electromagnética. Las especies excitadas se relajan al estado fundamental, liberando su exceso de energía en forma de fotones (ver figura N° 9), por eso la fluorescencia presenta dos tipos de espectros, que son: espectros de emisión y espectros de absorción. En fluorescencia la emisión es la imagen especular de la absorción de la energía que provoca la excitación <sup>(23)</sup>.

La fluorescencia se considera un proceso de decaimiento, ya que se emite un exceso de energía en forma de fotón desde el estado singulete excitado hasta llegar al estado singulete basal. La fluorescencia tiene lugar en sistemas químicos gaseosos, líquidos y sólidos; tanto sencillos como complejos <sup>(16)</sup>.

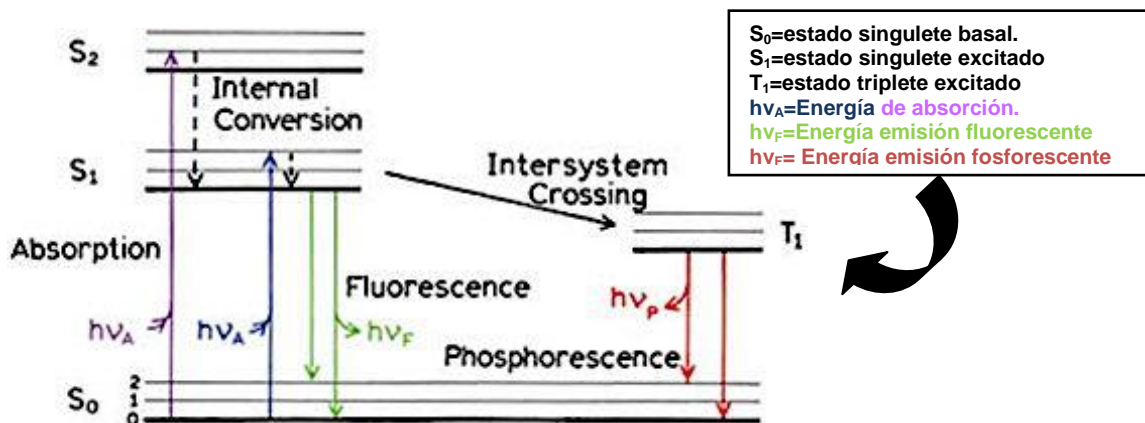


Figura N° 9. Procesos Luminiscentes (16)

#### 3.4.1.1.2 Características de la fluorescencia

El fenómeno de fluorescencia presenta ciertas características generales, las cuales son regularmente frecuentes para toda sustancia que presenta fluorescencia ya sea natural o modificada, las características generales de la fluorescencia son:

##### a) Desplazamiento de Stokes

Es la separación entre las longitudes de onda de excitación y emisión en un fluoróforo, lo cual incide en que la energía de emisión es ligeramente menor que la energía de excitación y de forma inversamente proporcional la longitud de onda de emisión es mayor que la longitud de onda de excitación, lo cual permite en la práctica la determinación de la separación entre dos grupos fluoróforos en una misma muestra, dicha separación es particular en cada especie química (16).

El rango del espectro de fluorescencia excitación – emisión ocurre entre 200 nm y 1000 nm ó bien  $50,000\text{ cm}^{-1}$  y los  $10,000\text{ cm}^{-1}$  respectivamente (23).

### **b) Independencia entre longitud de onda de excitación y emisión**

Los procesos de relajación de la energía absorbida provienen desde los estados electrónicos excitados, esencialmente corresponden a una relajación vibracional intramolecular (RVI), estos son mucho más rápidos (del orden de los de absorción radiactiva,  $10^{-15}$ - $10^{-12}$  s) que los correspondientes a la emisión fotónica, que oscilan entre los  $10^{-9}$  s de los procesos permitidos por espín, fluorescencia, a los tiempos más largos de los prohibidos por espín, fosforescencia, que pueden llegar a los minutos o las horas. Esto se debe a la independencia que coexiste entre la radiación de emisión y la longitud de onda de excitación (25).

### **c) Alta sensibilidad**

Esta característica se conoce como “la ventaja de la fluorescencia”, ya que está, se puede determinar en soluciones diluidas, que van desde  $10^{-10}$  molar hasta  $10^{-12}$  molar, esto se debe a que la radiación que emitirá la sustancia después de excitar sus moléculas internas, varía en función de la cantidad de muestra, es recomendable hacer lecturas de fluorescencia en soluciones diluidas (23).

#### **3.4.1.1.3 Medición de fluorescencia<sup>(16)</sup>**

Se define como la determinación de la intensidad de fluorescencia (radiación emitida) con un Espectrofluorometro ajustado bajo ciertas condiciones especiales.

La instrumentación básica con la que debe contar un equipo de medición de fluorescencia es la siguiente (ver figura N° 10): fuente de radiación de excitación, monocromador de excitación, filtro de excitación, celda o cubeta, filtro de emisión, monocromador de emisión, tubo fotomultiplicador, ordenador (detector, amplificador) y ploteador.

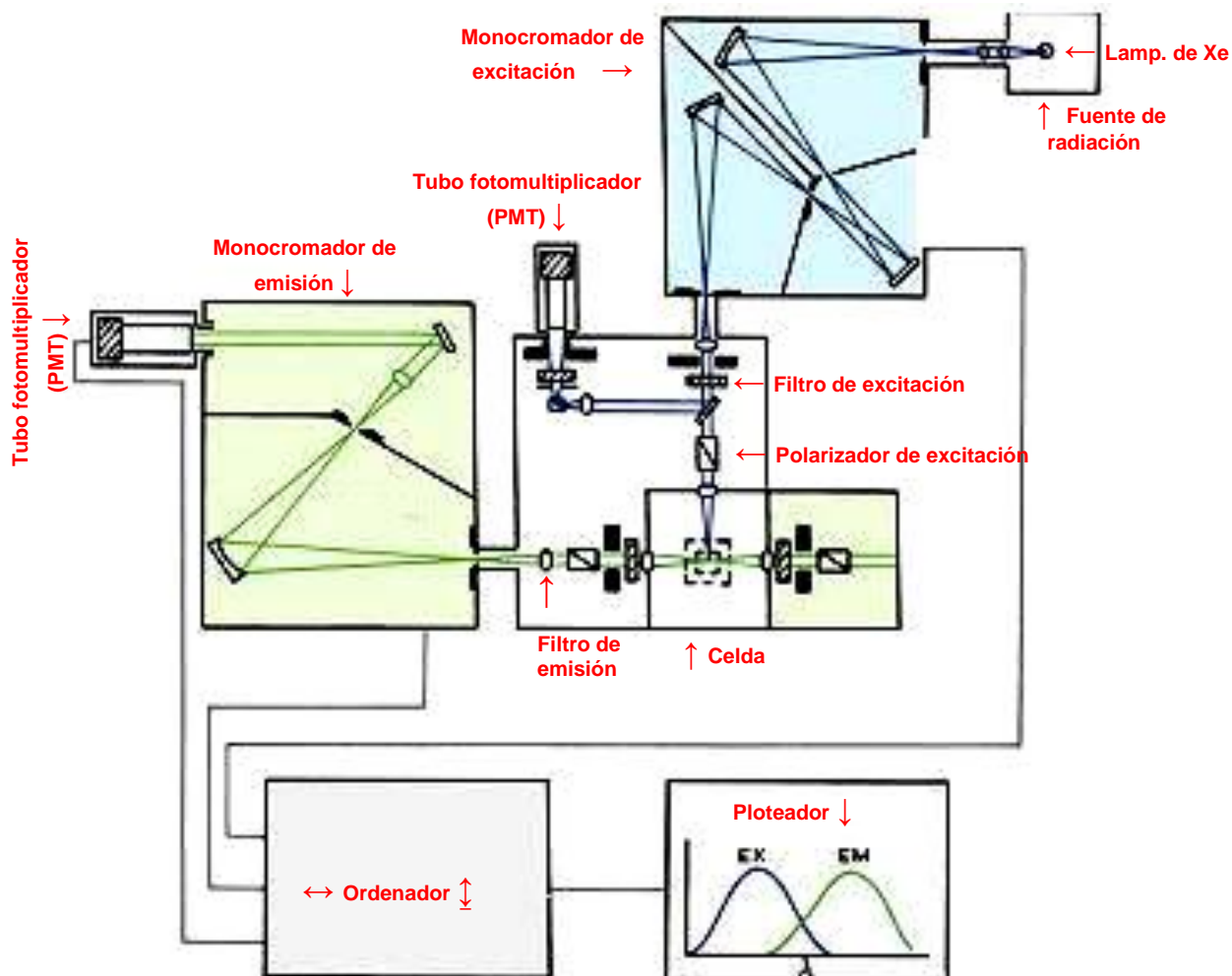


Figura N° 10. Diagrama en bloque de un fluorimetro <sup>(16)</sup>

#### 3.4.1.1.4 Factores que afectan la medida de fluorescencia

La medición de fluorescencia precisa una serie de controles desde la preparación de la muestra hasta la calibración del equipo, siendo la etapa más crítica, la preparación de la muestra. Los factores que generalmente afectan la medición de la fluorescencia son:

### 3.4.1.1.4.1 Naturaleza y Rigidez de la molécula

Las sustancias que presentan fluorescencia natural cumplen con la cualidad de ser muy voluminosas, presentan anillos aromáticos fusionados, incluso una serie de dobles enlaces conjugados, precisan interacciones  $\pi$  enlazante con  $\pi^*$  antienlazante ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) (25).

La fusión de anillos aromáticos y/o anillos heterocíclicos proporciona cierta rigidez bidimensional a la molécula lo cual permite que al recibir radiación de excitación dicha molécula sufra transiciones electrónicas a niveles superiores sin desdoblarse sus enlaces intramoleculares (ver figura N° 11), de esta manera la molécula puede emitir el exceso de energía como luz cuantificable en forma de fluorescencia (16).

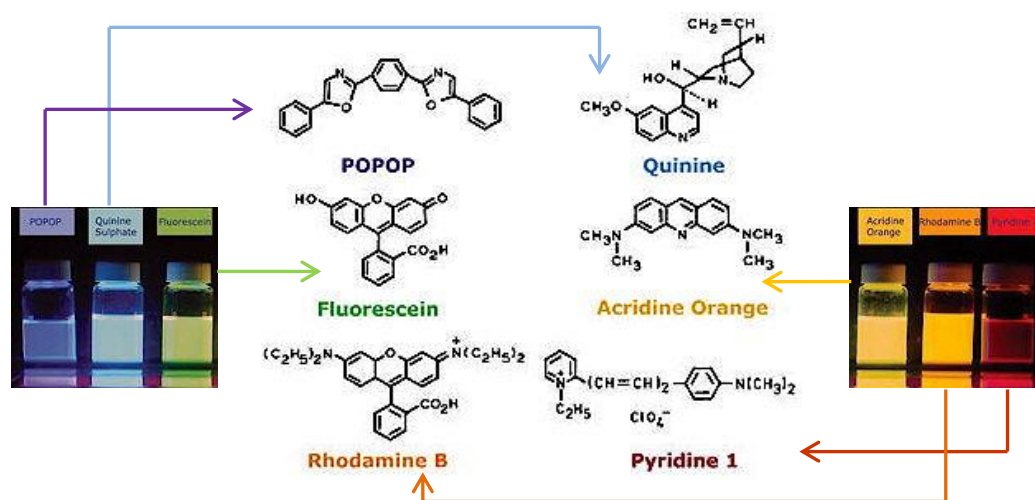


Figura N° 11. Fluoróforos naturales y su forma de fluorescencia (16)



#### **3.4.1.1.4.2 Viscosidad del solvente<sup>(23)</sup>**

El solvente juega un papel importante en el proceso de la medición de la fluorescencia, de tal manera que si se utiliza un solvente con muy baja viscosidad se aumenta la probabilidad de conversión externa (interacción electromagnética entre el fluoróforo y el disolvente en este caso) dando como consecuencia una disminución del rendimiento cuántico de la fluorescencia.

De forma análoga si en una determinación se utiliza un solvente de alta viscosidad se disminuye la posibilidad de conversión externa y se mantiene un eficiente rendimiento cuántico de fluorescencia.

#### **3.4.1.1.4.3 Partículas en suspensión<sup>(23)</sup>**

Los sólidos en suspensión provocan error en la detección de la intensidad de fluorescencia, debido a que las partículas en suspensión evitan una libre disipación de la radiación de emisión. Es importante mencionar que para soluciones que presentan turbidez es dispensable una filtración exhaustiva.

#### **3.4.1.1.4.4 Concentración del analito<sup>(25)</sup>**

La concentración del analito tiene una incidencia directa sobre la intensidad de fluorescencia de las soluciones de ese analito. Así la energía de radiación fluorescente  $F$  es proporcional a la energía radiante del haz excitado absorbido por el sistema, dando como consecuencia en un proceso controlado en condiciones de longitudes de onda de absorción y emisión, resultados satisfactorios en soluciones de concentración baja, y resultados no muy favorables en concentraciones altas de un determinado analito.

#### 3.4.1.1.4.5 Arreglo geométrico de la celda o cubeta<sup>(16)</sup>

El arreglo geométrico de la celda o cubeta tiene dos fundamentos principales: Angulo igual a  $90^\circ$  y ángulos mayores o menores a  $90^\circ$  (ver figura N° 12). Para poder detectar la intensidad de fluorescencia en soluciones con concentraciones en los intervalos de ( $10^{-12}\text{M}$  y  $10^{-10}\text{M}$ ) se utilizara un ángulo igual a  $90^\circ$  respecto al haz de excitación y el haz de emisión.

Ángulos inferiores o superiores a  $90^\circ$  son recomendados para soluciones que presentan de forma constante concentraciones de moderadas a concentradas y no pueden variarse, también se utilizan arreglos de ángulos superiores a  $90^\circ$  para la cuantificación de sustancias biológicas ya que necesitan de un haz de excitación mas disperso debido a lo voluminosa que pueden llegar a ser, tal como en la secuenciación del ADN. De forma independiente al arreglo que tenga la cubeta la absorción y emisión de radiación se dará en un ángulo de  $90^\circ$ .

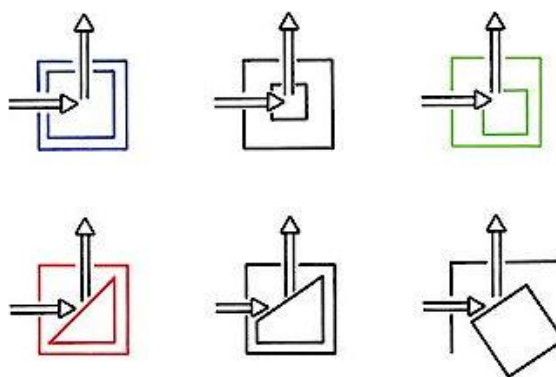


Figura N° 12. Arreglos diversos de la celda en un Espectrofluorómetro <sup>(16)</sup>.

**CAPITULO IV**  
**DISEÑO METODOLÓGICO**

## **4.0 DISEÑO METODOLÓGICO**

### **4.1 Tipo de Estudio <sup>(18)</sup>**

-Bibliográfico: Se emplearon fuentes de referencia tales como libros de métodos oficiales de análisis, publicaciones en revistas científicas, publicaciones de entidades de salud, publicaciones de periódicos, documentos oficiales (Normas técnicas) y tesis de pregrado.

- Experimental: Se emplearon variables para la realización del estudio, unas se mantienen constantes y otras se modifican dependiendo de las condiciones del método a realizar y exigencias del estudio; generalmente la variable independiente (cambios manipulados) genera la variación en la variable dependiente. El método a realizar en la presente investigación, está basado en el método 953.17 del AOAC “Determinación de tiamina en productos de grano”, en donde las concentraciones de tiamina varían con respecto a la naturaleza de la(s) muestra(s), dejando de forma constante las condiciones de análisis tales como tiempo y temperatura de digestión, pH, volúmenes de oxidante y solvente.

### **4.2 Investigación bibliográfica**

Se realizó por medio de visitas a los siguientes centros de documentación bibliográfica:

- Biblioteca Central de la Universidad de El Salvador (UES).
- Biblioteca “Dr. Benjamín Orozco” Facultad de Química y Farmacia (UES).

- Unidad Bibliotecaria de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la Universidad de El Salvador.
- Biblioteca “P. Florentino Idoate, S.J.” de la Universidad Centroamericana “José Simeón Cañas” (UCA).
- Biblioteca del Jardín Botánico La Laguna.
- Internet.

### **4.3 Investigación de campo**

Se realizó por medio de la verificación de las marcas y presentaciones de harinas de maíz nixtamalizado fortificadas comercializadas en los siguientes establecimientos: Supermercados Selectos<sup>®</sup> sucursal “La Cañada”, de ciudad Merliot, Supermercado Selectos<sup>®</sup>, sucursal “La Cima”, de San Salvador, Supermercados Selectos<sup>®</sup>, sucursal “San Luís”, ubicado en Centro Comercial San Luís, Supermercado Selectos<sup>®</sup>, sucursal “Plaza Merliot”, de Ciudad Merliot.

**Universo:** Harinas de maíz nixtamalizado, fortificadas y comercializadas en El Salvador, bajo las siguientes marcas: MASARICA<sup>®</sup>, TORTIMASA<sup>®</sup>, MINSA<sup>®</sup>, DOÑA BLANCA<sup>®</sup>, DANY<sup>®</sup>, DEL COMAL<sup>®</sup> y MASECA<sup>®</sup>. En las siguientes presentaciones: Paquete con 454 g de harina, paquete con 907 g de harina, paquete con 5 libras de harina y quintal de harina.

**Muestra:** Del universo de harinas de maíz nixtamalizado fortificadas se tomaron como muestra de forma dirigida aquellas marcas en la presentación de 907 g,

que por simple inspección tienen mayor presencia en la estantería de los 4 centros de comercialización. Las marcas que resultaron con mayor presencia en los supermercados (seleccionados al azar), se presentan en el cuadro N° 9. (Ver anexo N° 2)

**Cuadro N° 9. Harinas de maíz nixtamalizado fortificadas seleccionadas para realizar la cuantificación de tiamina**

PRODUCTO	CÓDIGO	PRESENTACIÓN
Harina de maíz nixtamalizado fortificada	HMNF-01-A	Paquete de 907 g
Harina de maíz nixtamalizado fortificada	HMNF-02-A	Paquete de 907 g
Harina de maíz nixtamalizado fortificada	HMNF-03-A	Paquete de 907 g
Harina de maíz nixtamalizado fortificada	HMNF-04-A	Paquete de 907 g

Las muestras se adquirieron en cada uno de los 4 centros de comercialización seleccionados; una muestra de cada una de las cuatro marcas por centro de distribución, obteniendo así un total de 16 muestras; cuatro muestras por marca; se tuvo el cuidado de que la presentación de las muestras fueran paquetes de 907 g y que cada muestra pertenezca a lotes de producción diferentes.

**Diseño muestral:** No probabilístico o dirigido ya que no sigue el proceso aleatorio, y aquí, el investigador opta en función de sus objetivos los elementos que forman en sí a la muestra <sup>(18)</sup>.

#### 4.4 Investigación experimental

La parte experimental, se llevó a cabo en 2 etapas:

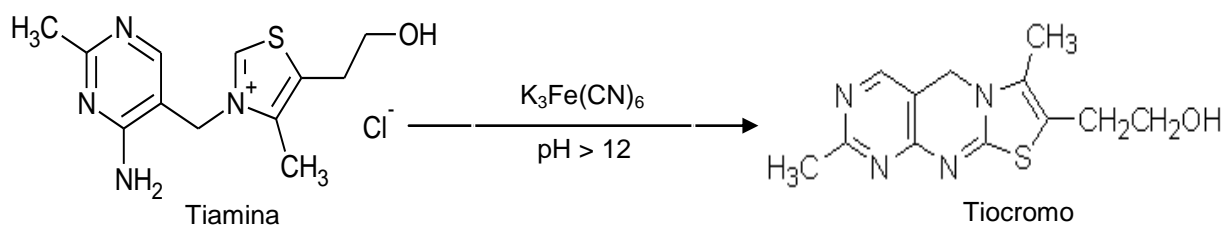
- Etapa 1: Preparación de las muestras para el análisis.
- Etapa 2: Determinación cuantitativa de tiamina, basada en el método oficial del AOAC 953.17 21ª edición; utilizando como equipo de medición un Espectrofluorimétero.

##### 4.4.1 Determinación de tiamina

**Tiamina en los productos de granos. Método fluorimétrico (rápido)**  
**(Método oficial de la AOAC 953.17 21ª edición)** <sup>(3)</sup>.

##### Fundamento químico del método <sup>(15)</sup>.

El método está basado en la oxidación de tiamina en solución alcalina a tiocromo que flúorece en la luz ultravioleta.



**Figura N° 13. Proceso de oxidación de tiamina a tiocromo** <sup>(15)</sup>

**Reactivos** (Ver Anexo N° 3)**Equipo**

- Tipo de equipo: Espectrómetro de luminiscencia.
- Fabricante: Perkin Elmer<sup>®</sup>
- Modelo: LS – 55.
- Ajustes de calibración para reproducibilidad efectiva: Solución de sulfato de quinina 0,25 µg de sulfato de quinina/mL,  $\lambda_{\text{excitación}}$  370 nm y  $\lambda_{\text{emisión}}$  400 nm.
- Ajustes de calibración para cuantificación de la tiamina, presente en la solución de muestra.  $\lambda_{\text{excitación}} = 365$  nm y  $\lambda_{\text{emisión}} = 435$  nm.

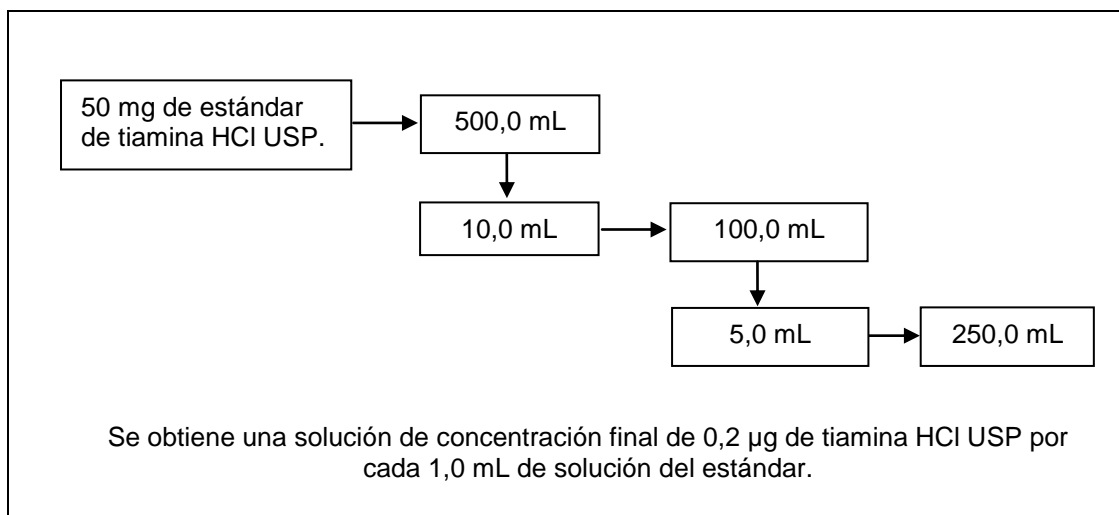
**Procedimiento** (Ver Anexo N° 4)**Estándar**

- Estándar USP: Tiamina clorhidrato USP, al 100% P/P de pureza.
- Condiciones del estándar: Anhidro.

**Preparación de la solución estándar de clorhidrato de tiamina (0,2µg/mL)<sub>(3)</sub>**

Diluir 5,0 mL de una solución de clorhidrato de tiamina cuya concentración sea de 10 µg/mL, a 250,0 mL con HCl 0,1N obteniendo una solución tal que 1,0 mL  $\equiv$  0,2 µg de clorhidrato de tiamina. (Nombrar ésta como solución estándar de trabajo). En la figura N°14 se describe la cantidad de estándar pesado, los volúmenes aforados y alícuotas tomadas.





**Figura N°14. Esquema de dilución del estándar de clorhidrato de tiamina**

### **Muestra**

De ser necesario agregar NaCl a la muestra para facilitar extracción, agregar 2,5 g de NaCl a la solución estándar de trabajo, antes de la dilución final, para obtener una concentración final de 5% P/V de NaCl y con esta concentración de NaCl se satura por completo la parte acuosa de la mezcla, favoreciendo la separación <sup>(3)</sup>.

### **Extracción (preparación de la solución de muestra)**

Pesar suficiente muestra para obtener finalmente la solución del ensayo, con una concentración de clorhidrato de tiamina de 0,2 µg/mL (por ejemplo 4,54 g de harina fortificada por cada 100,0 mL o bien 9,07 g de la misma harina por cada 200,0 mL de volumen final) y proceder por el siguiente método (ver anexo N° 4).

**Digestión a 95 – 100 °C:**

- 1) Colocar 4,54 g de muestra de HMNF pesados previamente en balanza analítica, en un frasco volumétrico de 100,0 mL. Agregar 2,5 g NaCl al final para obtener una solución al 5% P/V, lo cual ayuda subsecuentemente en la separación de la solución de ensayo. Mezclar completamente la harina y la sal con agitación antes de agregar el HCl 0,1N.
- 2) Agregar en 2 porciones, con agitación vigorosa, volumétricamente HCl 0,1N en la proporción de 15,0 mL del ácido por 1,0 g de muestra, utilizando parte de esas fracciones para lavar las paredes del recipiente.
- 3) Colocar el frasco volumétrico en un baño de agua previamente calentado entre 95 – 100°C. En el lapso de 30 minutos que dura el proceso de digestión, agitar frecuentemente para mantener en fase los sólidos suspendidos, en intervalos que duren de 5 a 8 minutos.
- 4) La solución debe ser distintivamente roja (pH 1,0 – 1,2). Si no es lo suficiente ácida (indica presencia de sustancias básicas en la muestra), agregar HCl 1,0N en porciones de 1,0 mL hasta lograr la acidez deseada. Anotar la cantidad de HCl 1,0N requerido para suplementar al HCl 0,1N. Realizar nuevamente la digestión con nueva muestra pesada y mezclando las cantidades necesarias de HCl 0,1N y HCl 1,0N.
- 5) Enfriar y diluir con HCl 0,1N de tal manera que se obtenga un volumen con una concentración de 0,2 µg de tiamina/mL.

6) Centrifugar hasta que quede transparente el sobrenadante y filtrar en papel conocido como “no adsorbente de tiamina” (se utilizó papel filtro Wathman poro fino #3). Descartar la primer decima parte del filtrado y nombrar al remanente del filtrado como “solución de la muestra en ensayo”.

### **Oxidación de la tiamina a tiocromo**

Realizar el siguiente procedimiento en cuatro o más tubos de 40 mL de capacidad:

#### **Tratamiento del estándar de clorhidrato de tiamina <sup>(3)</sup>**

1) Agregar 1,5g de NaCl o KCl y 5,0 mL de la solución estándar de clorhidrato de tiamina de concentración 0.2 µg/mL. La precisión de los resultados dependen de la uniformidad de la técnica que permitirá la oxidación de la tiamina, la solución oxidada debe protegerse de la luz ya que podría destruirse el tiocromo. Utilizar pipeta volumétrica de 3,0 mL y agregar a cada tubo el reactivo oxidante en un lapso no superior entre 1 – 2 seg.

Colocar la punta de la pipeta conteniendo el reactivo oxidante, en el cuello del tubo y sostener firmemente de tal manera que el reactivo oxidante no toque las paredes del tubo. Suavemente rotar el tubo hasta producir un remolino, en ese momento agregar 3,0 mL del reactivo oxidante.

2) Remover la pipeta y rotar el tubo otra vez hasta que se observe una mezcla homogénea. Inmediatamente agregar 13,0 mL de alcohol isobutílico, tapar y agitar vigorosamente un tiempo mayor o igual a 15 segundos.

3) Tratar de la misma manera los tubos restantes.

4) En 2 o más tubos de la misma capacidad tratarlos de forma similar, cambiando la adición del reactivo oxidante por solución de NaOH al 15%. (estos serán los blancos para el estándar)

**Tratamiento de la muestra:**

1) A cada uno de 4 o más tubos similares a los utilizados en el tratamiento del estándar, agregar 5,0 mL de solución de prueba. Tratar los tubos de la misma manera como en el estándar.

2) Después de haber agregado el isobutanol a todos los tubos, agitar durante 2 minutos, esperar la formación de 2 capas y pipetear 10,0 mL del extracto de isobutanol (capa de arriba) en una celda y medir la fluorescencia del tiocromo.

**Medida de la fluorescencia del Tiocromo:**

El contenido de tiamina de la solución de prueba ya oxidada es determinado comparando la intensidad de fluorescencia del extracto de esta solución con la fluorescencia del extracto de la solución estándar oxidada. La intensidad de fluorescencia es proporcional a la cantidad de tiamina presente y puede medirse con un fluorimétero calibrado.

Se obtienen resultados satisfactorios en la cuantificación de la fluorescencia del tiocromo al ajustar el equipo fluorimétero a 365 nm y 435 nm, máximos de excitación y emisión, respectivamente.

Utilizar la solución estándar de sulfato de quinina (0,25 µg/mL) para mantener la reproducibilidad del fluorimétero.

**Medir:**

- a) La fluorescencia del extracto con isobutanol de la solución de prueba (I).
- b) La fluorescencia del extracto con alcohol isobutílico de la solución de prueba, que se ha tratado con 3,0 mL de solución de NaOH al 15% P/V (b). (Esta solución es el blanco de la muestra)
- c) La fluorescencia del extracto de la solución estándar oxidada (S).
- d) La fluorescencia del extracto de la solución estándar que se ha tratado con 3,0 mL de solución de NaOH al 15% (d). Esta solución es el blanco del estándar.

**Cálculos** <sup>(3)</sup>

**Expresión para determinar los microgramos de tiamina presentes por cada 5 mL de solución de muestra. Ecuación N° 1:**

$$Z \text{ } \mu\text{g de tiamina / 5,0 mL de solución de prueba} = \frac{I - b}{S - d}$$

**En donde:**

- (I) es la medida de la fluorescencia del extracto con alcohol isobutílico de la solución de prueba.
- (b) es la medida de fluorescencia del blanco de la muestra
- (S) es la medida de la fluorescencia del estándar
- (d) es la medida de la fluorescencia del blanco del estándar

Será necesario expresar los  $\mu\text{g}$  de tiamina HCl por cada 5,0 mL de la solución de harina fortificada como mg de tiamina HCl por cada Kg de harina fortificada, haciendo uso del factor de conversión N° 1:

**Factor de conversión para expresar de  $\mu\text{g}/5 \text{ mL}$  a  $\text{mg}/\text{Kg}$ :**

$$\frac{Z \mu\text{g de tiamina}}{5,0 \text{ mL de solución}} \times \frac{\text{volumen total en (mL)}}{X \text{ g de muestra de HMNF}} \times \frac{1000 \text{ g de HMNF}}{1 \text{ Kg de HMNF}} \times \frac{1 \text{ mg}}{1000 \mu\text{g}}$$

Los resultados deberán ser expresados en: mg de tiamina HCl/Kg de harina fortificada  $\pm$  desviación estándar.

Con los resultados obtenidos posteriores a la ejecución del proyecto de investigación, se pretende entregar un documento a las autoridades encargadas del programa de fortificación de alimentos en El Salvador.

**4.4.1.1 Condiciones físicas y químicas que permanecieron constantes, durante el proceso de cuantificación de tiamina en muestras de harina de maíz nixtamalizado fortificadas.**

- Peso de muestra de HMNF: 4,54 g
- Peso de NaCl sólido para saturar la fase acuosa de la solución de muestra de HMNF: 2,5 g
- Temperatura de digestión de la muestra en solución: 95 – 100°C
- Tiempo de digestión de la muestra en solución: 30 minutos (agitaciones cada 6 minutos).
- Temperatura para llevar a volumen la solución de la muestra de HMNF: 25 – 30°C.
- Volumen de la solución de muestra de HMNF: 50,0 mL

- Concentración final de la solución de muestra de HMNF: 0,2  $\mu\text{g}$  de tiamina HCl / mL de solución de Mx.
- pH de la solución de muestra de HMNF: 1,0 – 1,2
- Frecuencia y tiempo de centrifugación de la solución de muestra de HMNF: 3500 – 4000 rpm durante 15 o 20 minutos, respectivamente según opalescencia.
- Filtración y papel filtro: Utilizar papel Whatman #3 y filtrar hasta obtener una solución transparente y libre de partículas en suspensión.
- Alícuota a tomar de la solución de muestra de HMNF: 5,0 mL.
- Peso de NaCl para sobre saturar la solución de muestra de HMNF: 1,5 g.
- Volumen y condición para adicionar el reactivo oxidante a los 5,0 mL de la solución de muestra de HMNF: 3,0 mL, protegiendo de la luz.
- Volumen y condición para adicionar NaOH de concentración 15% P/V, a los 5,0 mL de la solución de muestra de HMNF (blanco de la muestra): 3,0 mL, no proteger de la luz.
- Tiempo de agitación tras la adición del reactivo oxidante o del NaOH de concentración 15% P/V: 45 segundos, con agitador eléctrico.
- Solvente de extracción, volumen del solvente y condiciones: Alcohol isobutílico; 13,0 mL; debe ser anhidro y calidad reactivo, se agrega protegiendo de la luz para el caso de la muestra y sin protección de la luz para el blanco de la muestra.

- Tiempo de agitación tras la adición del solvente: 1 minuto, con agitador eléctrico.
- Tiempo de separación de la fase acuosa y la fase isobutílica: 30 minutos a temperatura ambiente



**CAPITULO V**  
**RESULTADOS Y ANÁLISIS DE DATOS**

## 5.0 RESULTADOS Y ANÁLISIS DE DATOS

En este capítulo se detalla la recolección, clasificación, presentación y discusión de los resultados obtenidos experimentalmente.

### Pesos de muestra.

A continuación se presenta en la tabla N° 1, los pesos de muestra de HMNF obtenidos para la posterior preparación de la solución de muestra de HMNF. Los pesos se reportan por marca y por lote, haciendo énfasis, que por cada lote se realizaron 2 pesadas, a las cuales de una forma arbitraria se les nominó peso muestra A y B.

**Tabla N° 1. Pesos (en gramos) de las muestras presentadas por lote y por duplicado**

N° Mx	Doña Blanca®		MASECA®		DANY®		Del Comal®					
	Lote	Peso(g)	Lote	Peso(g)	Lote	Peso(g)	Lote	Peso(g)				
#1	#31	A	4,5405	#1e	A	1,5000	#45	A	4,5406	#04-14-1	A	4,5400
		B	4,5406		B	1,5003		B	4,5401		B	4,5403
#2	#52	A	4,5408	#2e	A	2,5003	#51	A	4,5403	#05-09-3	A	4,5401
		B	4,5407		B	2,5000		B	4,5408		B	4,5411
#3	#65	A	4,5401	#3e	A	2,5001	#54	A	4,5402	#05-17-2	A	4,5409
		B	4,5406		B	#3e-B 2,5000		B	4,5400		B	4,5402
#4	#78	A	4,5408	#35	A	1,5008	#84	A	4,5400	#06-09-2	A	4,5405
		B	4,5407		B	1,5007		B	4,5409		B	4,5413

De la marca MASECA® se reportan valores de peso inferiores a 4,54 g debido a que al realizar el ensayo el equipo espectrómetro de luminiscencia, este no fue capaz de leer la solución de tiamina en dicha marca, como consecuencia se fueron analizando pesos de muestra que fueran capaces de sostener valores constantes en las lecturas de fluorescencia que más adelante se detallan.

## **5.1 Cálculos.**

### **5.1.1 Determinación del volumen de la solución de muestra.**

Los paquetes de harina de maíz nixtamalizado fortificadas que se han tomado como muestra rotulan en la etiqueta del informe nutricional, que estas contienen: 2,2 mg de tiamina por cada kilogramo de harina de maíz nixtamalizado. Partiendo de esta aseveración y del valor del peso de muestra de harina de maíz nixtamalizado fortificada que recomienda el AOAC en el método 953.17 (4,54 g de HMNF) se puede estimar de forma teórica la cantidad de tiamina que contiene dicho peso de muestra, según la siguiente relación:

**1Kg de Mx. de HMNF → 2,2 mg de tiamina HCl**

**4,54 g de Mx. de HMNF → X µg de tiamina HCl**

Escrito de otra forma:

**1000 g de Mx. de HMNF → 2200 µg de tiamina HCl**

**4,54 g de Mx. de HMNF → X µg de tiamina HCl**

$$\text{X µg de tiamina HCl} = \frac{4,54 \text{ g de Mx. de HMNF} \times 2200 \text{ µg de tiamina HCl}}{1000 \text{ g de Mx. de HMNF}}$$

Simplificando unidades y realizando las operaciones indicadas se obtiene:

$$\mathbf{X \mu g \text{ de tiamina HCl} = 9,988 \mu g \text{ de tiamina HCl}}$$

Se empleó en este ensayo el método del AOAC 953.17 (21ª edición), que exige que la concentración final de clorhidrato de tiamina tanto de la solución de muestra como de la solución de estándar, deba ser 0,2  $\mu\text{g}$  de clorhidrato de tiamina por 1,0 mL de solución de muestra y de estándar respectivamente. Esta afirmación y la cantidad de clorhidrato de tiamina contenido en el peso de las muestras de HMNF, permite determinar el volumen de solución de muestra a preparar, según la siguiente relación:

$$\mathbf{0,2 \mu g \text{ de tiamina HCl} \rightarrow 1,0 \text{ mL de solución de Mx. de HMNF}}$$

$$\mathbf{9,988 \mu g \text{ de tiamina HCl} \rightarrow X \text{ mL de solución de Mx. de HMNF}}$$

$$\mathbf{X \text{ mL de solución de Mx.} = \frac{9,988 \mu g \text{ de tiamina HCl} \times 1,0 \text{ mL de solución de Mx.}}{0,2 \mu g \text{ de tiamina HCl}}}$$

Simplificando unidades y resolviendo las operaciones indicadas se obtiene:

$$\mathbf{X \text{ mL de solución de Mx.} = 49,94 \text{ mL} \cong 50,0 \text{ mL de solución de Mx. de HMNF.}}$$

El resultado anterior permite inferir que: Por cada 4,54 g de muestra de HMNF hay un equivalente de 9,988  $\mu\text{g}$  de clorhidrato de tiamina, que al diluirse a un volumen de 50,0 mL con HCl 0,1N, se obtienen 50,0 mL de una solución cuya concentración será de 0,19976  $\mu\text{g}$  ( $\cong 0,2 \mu\text{g}$ ) de tiamina HCl por cada 1,0 mL de esa solución.

A partir de los cálculos antes expuestos, las condiciones de concentración, peso y volumen establecidas para el desarrollo de la parte experimental fueron:

- **Peso de muestra de HMNF:** 4,5400 g
- **Volumen de la solución de muestra de HMNF:** 50,0 mL
- **Concentración de la solución:** 0,2 µg de tiamina HCl / mL de solución de Mx.

### **5.1.2 Cuantificación de la clorhidrato de tiamina en las muestras de HMNF.**

Para cuantificar la cantidad de tiamina presente en las muestras de HMNF, inicialmente se utiliza la ecuación N°1 expresión que indica la cantidad (en µg) de clorhidrato de tiamina presente por cada 5,0 mL de la solución de muestra de HMNF.

Para poder comparar los resultados obtenidos en el ensayo con el valor de la NSO 67.03.02:03., es necesario realizar la conversión de Z µg de tiamina/ 5,0 mL de solución a Z mg de tiamina/Kg de muestra de HMNF, según la expresión

**(Ecuación N° 2):**

$$\frac{Z \text{ µg de tiamina}}{5 \text{ mL de solución}} \times \frac{\text{volumen de la solución muestra (mL)}}{\text{g de muestra de HMNF diluida}} \times \frac{1000 \text{ g de HMNF}}{1 \text{ Kg de HMNF}} \times \frac{1 \text{ mg}}{1000 \text{ µg}}$$

Los resultados obtenidos deben de expresarse como Z mg de tiamina/ Kg de muestra de HMNF ± desviación estándar.

A continuación en la tabla N° 2, se especifican los valores de las intensidades de fluorescencia, por duplicado y por marca, de cada una de las soluciones de muestra. En la tabla N° 3, se especifican los valores de las intensidades de fluorescencia para los blancos de muestra, por lote y por marca, finalmente en

la tabla N° 4, se especifica el valor de las intensidades de fluorescencia del estándar de clorhidrato de tiamina así como de los blancos del estándar.

Todos los datos reportados en las tablas N°2, N°3 y N°4, son valores correspondientes a lecturas directas del equipo Espectrómetro de Luminiscencia, marca Perkin-Elmer® modelo LS-55, utilizado en la parte experimental.

Es importante recalcar que los pesos mostrados en la Tabla N°1 se realizaron en duplicado A y B por cada lote en cada marca. Así mismo, para los duplicados A y B de los pesos de las muestras, se realizaron lecturas de fluorescencia por duplicado, teniendo para el duplicado A las lecturas  $A_1$  y  $A_2$ , de manera análoga para el duplicado B las lecturas  $B_1$  y  $B_2$ , tal como se muestran en la tabla N°2

**Tabla N° 2. Valores de las intensidades de fluorescencia de las soluciones de muestras, presentadas por lote y por duplicado**

N° Mx	Doña Blanca®			MASECA®			DANY®			Del Comal®		
	Lote		Intensidad	Lote		Intensidad	Lote		Intensidad	Lote		Intensidad
#1	#31	A <sub>1</sub>	894,603	#1e	A <sub>1</sub>	684,266	#45	A <sub>1</sub>	903,653	#04-14-1	A <sub>1</sub>	788,921
		A <sub>2</sub>	878,981		A <sub>2</sub>	660,511		A <sub>2</sub>	875,020		A <sub>2</sub>	735,111
		B <sub>1</sub>	926,736		B <sub>1</sub>	743,097		B <sub>1</sub>	933,577		B <sub>1</sub>	787,783
		B <sub>2</sub>	870,080		B <sub>2</sub>	714,338		B <sub>2</sub>	871,188		B <sub>2</sub>	737,136
#2	#52	A <sub>1</sub>	860,974	#2e	A <sub>1</sub>	999,055	#51	A <sub>1</sub>	922,630	#05-09-3	A <sub>1</sub>	875,652
		A <sub>2</sub>	876,693		A <sub>2</sub>	999,055		A <sub>2</sub>	899,444		A <sub>2</sub>	881,873
		B <sub>1</sub>	816,456		B <sub>1</sub>	999,055		B <sub>1</sub>	859,484		B <sub>1</sub>	834,546
		B <sub>2</sub>	927,591		B <sub>2</sub>	999,055		B <sub>2</sub>	800,234		B <sub>2</sub>	888,582
#3	#65	A <sub>1</sub>	817,704	#3e	A <sub>1</sub>	955,022	#54	A <sub>1</sub>	996,779	#05-17-2	A <sub>1</sub>	796,683
		A <sub>2</sub>	811,342		A <sub>2</sub>	883,961		A <sub>2</sub>	979,654		A <sub>2</sub>	756,797
		B <sub>1</sub>	795,422		B <sub>1</sub>	948,190		B <sub>1</sub>	996,779		B <sub>1</sub>	811,071
		B <sub>2</sub>	791,902		B <sub>2</sub>	963,133		B <sub>2</sub>	996,779		B <sub>2</sub>	795,843
#4	#78	A <sub>1</sub>	891,585	#35	A <sub>1</sub>	609,794	#84	A <sub>1</sub>	846,477	#06-09-2	A <sub>1</sub>	726,845
		A <sub>2</sub>	818,396		A <sub>2</sub>	667,048		A <sub>2</sub>	822,856		A <sub>2</sub>	761,845
		B <sub>1</sub>	864,870		B <sub>1</sub>	581,714		B <sub>1</sub>	850,664		B <sub>1</sub>	728,841
		B <sub>2</sub>	827,004		B <sub>2</sub>	556,336		B <sub>2</sub>	795,386		B <sub>2</sub>	747,481

A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, B<sub>1</sub> y B<sub>2</sub> son los valores de las intensidades obtenidas a partir de las lecturas de fluorescencia por duplicado de la solución de muestra.

**Tabla N° 3. Valores de las intensidades de fluorescencia de los blanco de muestra**

N° Mx	Doña Blanca®		MASECA®		DANY®		Del Comal®	
	Lote	Intensidad	Lote	Intensidad	Lote	Intensidad	Lote	Intensidad
#1	#31	284,346	#1e	91,922	#45	220,744	#04-14-1	233,226
#2	#52	275,01	#2e	150,895	#51	236,475	#05-09-3	169,980
#3	#65	270,211	#3e	203,073	#54	218,158	#05-17-2	211,582
#4	#78	298,801	#35	121,537	#84	237,022	#06-09-2	201,103

**Tabla N° 4. Valores de las intensidades de fluorescencia de las soluciones estándar de clorhidrato de tiamina y blancos de estándar**

<b>Solución Estándar de tiamina HCl (0,2 µg/mL)</b>		<b>Solución blanco de Estándar</b>	
<b>Lectura</b>	<b>Intensidad</b>	<b>Lectura</b>	<b>Intensidad</b>
L <sub>1</sub>	618,257		
L <sub>2</sub>	618,164	L <sub>1</sub>	15,711
L <sub>3</sub>	618,133		
L <sub>4</sub>	618,164	L <sub>2</sub>	15,708
L <sub>5</sub>	617,255		
L <sub>6</sub>	618,232	L <sub>3</sub>	15,713
L <sub>7</sub>	618,023		
<b>Promedio (S)</b>	618,0325	<b>Promedio (d)</b>	15,7106
<b>Desviación δ</b>	± 0,351065	<b>Desviación δ</b>	± 0,002516

Todas las intensidades de fluorescencia presentadas en las tablas N° 2 y N° 3 se utilizan directamente en la (Ec. 1). En los datos de la tabla N° 4 se utilizará el promedio tanto de la intensidad de fluorescencia de la solución estándar como de la intensidad del blanco del estándar.

A continuación en la tabla N° 5, se presenta por marca y por lote, la cantidad de clorhidrato de tiamina (Z µg) por cada 5,0 mL de solución de muestra, explicando de forma detallada el cálculo de estas cantidades a partir de la (Ec. 1) y de los datos de las tablas N° 2, N° 3 y N° 4.



**Ejemplo:**

Para la Mx.1, de la marca Doña Blanca<sup>®</sup>, en la tabla N° 2 se verifica el lote #31 y se observa que el duplicado A<sub>2</sub> proporciona una lectura de intensidad de fluorescencia para la solución de muestra (variable **I** en la Ec. 1) de (878,981), según la tabla N° 3 para el lote #31 de la marca Doña Blanca<sup>®</sup> el valor de la intensidad de fluorescencia para el blanco de la muestra (variable **b** en la Ec. 1) fue (284,346). Mientras que los valores de intensidad de fluorescencia para la solución de estándar de clorhidrato de tiamina (variable **S** en la Ec. 1) y blanco del estándar (variable **d** en la Ec. 1) están dados por los promedios mostrados en la tabla N° 4, respectivamente. El cálculo se desarrolla sustituyendo las variables (I, b, S y d. Ver página N° 14) de la (Ec. 1):

$$\frac{\text{Z } \mu\text{g de clorhidrato de tiamina}}{\text{5 mL de solución de Mx.oxidada}} = \frac{\text{I} - \text{b}}{\text{S} - \text{d}}$$



$$\frac{\text{Z } \mu\text{g de clorhidrato de tiamina}}{\text{5 mL de solución de Mx.oxidada}} = \frac{878,981 - 284,346}{618,0325 - 15,7106}$$



$$\frac{\text{Z } \mu\text{g de clorhidrato de tiamina}}{\text{5 mL de solución de Mx.oxidada}} = \mathbf{0,987237}$$

Siendo estos los  $\mu\text{g}$  de clorhidrato de tiamina encontrados en los 5,0 mL de la solución de muestra de harina Doña Blanca, para el peso duplicado A<sub>2</sub> del lote #31.

**Tabla N° 5. Cantidad de clorhidrato de tiamina presente en cada 5.0 ml de solución de muestra, presentadas por marca y por lote**

N° Mx	Doña Blanca®			MASECA®			DANY®			Del Comal®		
	Lote		Zµg/5.0mL	Lote		Zµg/5.0mL	Lote		Zµg/5.0mL	Lote		Zµg/5.0mL
#1	#31	A <sub>1</sub>	1,01317	#1e	A <sub>1</sub>	0,98343	#45	A <sub>1</sub>	1,13379	#04-14-1	A <sub>1</sub>	0,922587
		A <sub>2</sub>	0,98723		A <sub>2</sub>	0,94399		A <sub>2</sub>	1,08625		A <sub>2</sub>	0,833250
		B <sub>1</sub>	1,06652		B <sub>1</sub>	1,08110		B <sub>1</sub>	1,18347		B <sub>1</sub>	0,920698
		B <sub>2</sub>	0,97245		B <sub>2</sub>	1,03336		B <sub>2</sub>	1,07989		B <sub>2</sub>	0,836612
#2	#52	A <sub>1</sub>	0,97284	#2e	A <sub>1</sub>	1,40815	#51	A <sub>1</sub>	1,13918	#05-09-3	A <sub>1</sub>	1,171585
		A <sub>2</sub>	0,99893		A <sub>2</sub>	1,40815		A <sub>2</sub>	1,10068		A <sub>2</sub>	1,181914
		B <sub>1</sub>	0,89893		B <sub>1</sub>	1,40815		B <sub>1</sub>	1,03434		B <sub>1</sub>	1,103340
		B <sub>2</sub>	1,08344		B <sub>2</sub>	1,40815		B <sub>2</sub>	0,93597		B <sub>2</sub>	1,193052
#3	#65	A <sub>1</sub>	0,90897	#3e	A <sub>1</sub>	1,24841	#54	A <sub>1</sub>	1,29269	#05-17-2	A <sub>1</sub>	0,971408
		A <sub>2</sub>	0,89840		A <sub>2</sub>	1,13043		A <sub>2</sub>	1,26426		A <sub>2</sub>	0,905188
		B <sub>1</sub>	0,87197		B <sub>1</sub>	1,23707		B <sub>1</sub>	1,29269		B <sub>1</sub>	0,995296
		B <sub>2</sub>	0,86613		B <sub>2</sub>	1,26188		B <sub>2</sub>	1,29269		B <sub>2</sub>	0,970014
#4	#78	A <sub>1</sub>	0,98416	#35	A <sub>1</sub>	0,81062	#84	A <sub>1</sub>	1,01184	#06-09-2	A <sub>1</sub>	0,872858
		A <sub>2</sub>	0,86265		A <sub>2</sub>	0,90568		A <sub>2</sub>	0,97262		A <sub>2</sub>	0,930967
		B <sub>1</sub>	0,93981		B <sub>1</sub>	0,76400		B <sub>1</sub>	1,01879		B <sub>1</sub>	0,876172
		B <sub>2</sub>	0,87694		B <sub>2</sub>	0,72187		B <sub>2</sub>	0,92701		B <sub>2</sub>	0,907119

A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, B<sub>1</sub> y B<sub>2</sub> son los valores de los cálculos obtenidos a partir de las lecturas de fluorescencia por duplicado de la solución de muestra.

Los valores de la tabla N° 5 deben ser expresados en Z mg de clorhidrato de tiamina por Kg de muestra de HMNF, para lo cual se hace uso del factor de conversión dado por la expresión (Factor de conversión N°1):

$$\frac{Z \mu\text{g de tiamina}}{5 \text{ mL de solución}} \times \frac{\text{volumen de la solución muestra (mL)}}{\text{g de muestra de HMNF diluida}} \times \frac{1000 \text{ g de HMNF}}{1 \text{ Kg de HMNF}} \times \frac{1 \text{ mg}}{1000 \mu\text{g}}$$

En la tabla N° 6, se hace referencia a los valores expresados en mg de tiamina por cada Kg de muestra ± la desviación estándar por marca y por lote.

**Ejemplo:**

Para la Mx.1, de la marca Doña Blanca<sup>®</sup>, en la tabla N° 5 se verifica el lote #31, se observa que el duplicado A<sub>2</sub> reporta 0,98723 µg de clorhidrato de tiamina por cada 5,0 mL de solución de muestra. En la tabla N°1 para la misma marca y el mismo lote, el peso del duplicado A que se reportó fue de 4,5405 g. sustituyendo estos valores en la expresión (Factor de conversión N°1) se obtiene el siguiente resultado:

$$\frac{Z \text{ µg de tiamina}}{5 \text{ mL de solución}} \times \frac{\text{volumen de la solución muestra (mL)}}{\text{g de muestra de HMNF diluida}} \times \frac{1000 \text{ g de HMNF}}{1 \text{ Kg de HMNF}} \times \frac{1 \text{ mg}}{1000 \text{ µg}}$$



$$\frac{0.98723 \text{ µg de tiamina}}{5.0 \text{ mL de solución}} \times \frac{50.0 \text{ mL de sln. de muestra}}{4.5405 \text{ g de HMNF}} \times \frac{1000 \text{ g de HMNF}}{1 \text{ Kg de HMNF}} \times \frac{1 \text{ mg de tiamina}}{1000 \text{ µg de tiamina}}$$



$$\frac{49361,5}{22702,5} \text{ mg de clorhidrato de tiamina / Kg de HMNF}$$



$$2,1742 \text{ mg de clorhidrato de tiamina / Kg de HMNF}$$

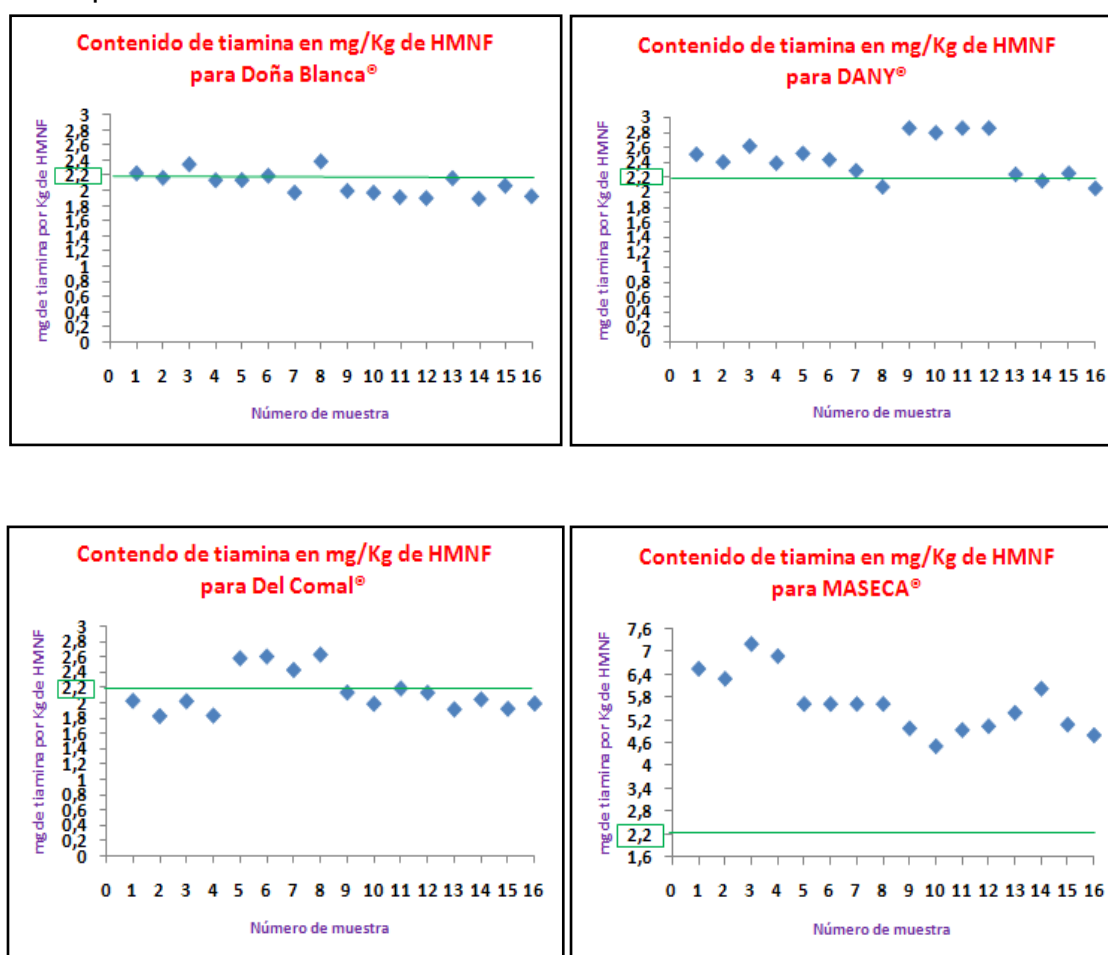
**Tabla N° 6. Valores del contenido de clorhidrato de tiamina (mg) por kg de HMNF**

<b>Doña Blanca®</b>		<b>MASECA®</b>		<b>DANY®</b>		<b>Del Comal®</b>	
# Mx.	mg/Kg	# Mx.	mg/Kg	# Mx.	mg/Kg	# Mx.	mg/Kg
1	2,231415	1	6,556227	1	2,497013	1	2,032131
2	2,174292	2	6,293300	2	2,392318	2	1,835353
3	2,348858	3	7,205944	3	2,606715	3	2,027836
4	2,141699	4	6,887695	4	2,378569	4	1,842636
5	2,142445	5	5,631926	5	2,509047	5	2,580528
6	2,199918	6	5,631926	6	2,424264	6	2,603278
7	1,979719	7	5,632601	7	2,277892	7	2,429675
8	2,386068	8	5,632601	8	2,061258	8	2,627233
9	2,002093	9	4,993468	9	2,847229	9	2,139243
10	1,978829	10	4,521573	10	2,784607	10	1,993412
11	1,920400	11	4,948296	11	2,847354	11	2,192186
12	1,907529	12	5,047532	12	2,847354	12	2,136501
13	2,167381	13	5,401282	13	2,228727	13	1,922384
14	1,899782	14	6,034648	14	2,142347	14	2,050362
15	2,069749	15	5,090990	15	2,243594	15	1,929343
16	1,931298	16	4,810230	16	2,041487	16	1,99748
<b>Estadísticos</b>		<b>Estadísticos</b>		<b>Estadísticos</b>		<b>Estadísticos</b>	
$\bar{x}$	2,092 mg/Kg	$\bar{x}$	5,645 mg/Kg	$\bar{x}$	2,445 mg/Kg	$\bar{x}$	2,146 mg/Kg
$\pm\delta$	<b>0,155</b> mg/Kg	$\pm\delta$	<b>0,773</b> mg/Kg	$\pm\delta$	<b>0,277</b> mg/Kg	$\pm\delta$	<b>0,268</b> mg/Kg
c.v	7,41%	c.v	13,70%	c.v	11,36%	c.v	12,50%
<b>Limite de confianza</b>		<b>Limite de confianza</b>		<b>Limite de confianza</b>		<b>Limite de confianza</b>	
L.I	2,0245 mg/Kg	L.I	4,5215 mg/Kg	L.I	2,0414 mg/Kg	L.I	1,8353mg/Kg
L.S	2,1606 mg/Kg	L.S	7,2059 mg/Kg	L.S	2,8473 mg/Kg	L.S	2,6272mg/Kg

$\bar{x}$  (Media muestral),  $\delta$  (desviación estándar para  $n < 30$ ), C.V (coeficiente de variabilidad), L.I (Limite inf.), L.S (Limite sup.)

Los valores de los contenidos de tiamina reflejados en la tabla N° 6 están expresados en mg de tiamina/Kg de HMNF esto permite una comparación entre esos valores y el valor establecido en la NSO 67.03.02:03. Harinas. Harina de maíz, el cual es de 2,2 mg de tiamina/Kg de HMNF.

En la figura N° 15 se puede observar la comparación entre los valores de mg/Kg obtenidos en las 16 lecturas realizadas a cada marca en estudio y el valor normado, dicho valor normado se representa en la grafica por una línea horizontal verde, en donde se va a interpretar que todo resultado obtenido que esta sobre y arriba de la línea horizontal cumple con la norma, de forma análoga todo valor debajo de la línea horizontal se entenderá como un incumplimiento a la NSO



**Figura N° 15. Comparación de los valores en mg/Kg obtenidos en las 16 lecturas de cada muestra y el valor establecido en la NSO 67.03.02:03. Harina. Harinas de maíz.**

Podemos inferir al analizar los datos reflejados en la figura N° 15, que la marca MASECA® y DANY® presentan una tendencia a superar o igualar el valor de mg de tiamina por kilogramo de harina de maíz nixtamalizado y fortificada establecido en la NSO 67.03.02:03, a diferencia la marca Del Comal® y Doña Blanca® presentan una tendencia a valores inferiores al valor normado.

## **5.2 Análisis de Varianza. ANOVA (simple).**

En la tabla N° 7 y en el anexo N° 6 se muestran los resultados de la prueba estadística “ANOVA”, dicha prueba hace referencia a la variación significativa que existe entre los lotes de producción en una misma marca de HMNF.

Se utilizó el software **STATGRAPHICS Centurión XV®** para obtener información acerca de la diferencia significativa que existe entre las varianzas de los valores del contenido de tiamina en los lotes de las marcas de HMNF, evaluando los datos a un nivel de confianza del 95%. El análisis de los lotes de las marcas estudiadas se presenta en el anexo N° 5.

ANOVA descompone la varianza de los valores del **contenido de tiamina** en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos.

**Tabla N° 7. Resultados de la prueba ANOVA**

<b>Marca</b>	<b>Varianza entre grupos</b>	<b>Varianza dentro de grupos</b>	<b>Razón F</b>	<b>Valor p</b>
DANY®	0,326779	0,0148397	22,02	0
DEL COMAL®	0,328664	0,00776173	42,34	0
DOÑA BLANCA®	0,0664386	0,0134937	4,92	0,0186
MASECA®	2,50034	0,12292	20,34	0,0001

Las estimaciones se han trabajado bajo un nivel de confianza del 95%

La tabla N° 7 expresa en los resultados de la prueba ANOVA que las 4 marcas de HMNF en estudio, presentan una variación significativa entre los lotes de una misma marca respecto a los valores que reflejan el contenido de tiamina en dichos lotes. Esto se debe a que el valor p de la prueba F es menor a 0,05.

Cabe mencionar que se realizó una prueba que verifica los resultados emitidos por el ANOVA, la cual se denomina “prueba de múltiples rangos”, en esta prueba se identifican los lotes que presentan una variación significativa en el contenido de tiamina. La prueba se fundamenta en el cálculo de la diferencia mínima significativa de Fisher ó LSD (low significative difference), los resultados se presentan en la tabla N° 8.

**Tabla N°8. Resultados de la prueba de múltiples rangos**

Marca de HMNF	Lotes de Comparación	± Límites	Valor LSD
DANY®	#45 - #54	0,18768	-0,362982
	#45 - #84	0,18768	0,304615
	#51 - #54	0,18768	-0,513521
	#54 - #84	0,18768	0,667597
Del Comal®	#04-14-1 - #05-09-3	0,135733	-0,62569
	#04-14-1 - #05-17-2	0,135733	-0,180846
	#05-09-3 - #05-17-2	0,135733	0,444843
	#05-09-3 - #06-09-2	0,135733	0,585284
	#05-17-2 - #06-09-2	0,135733	0,140441
Doña Blanca®	#31 - #65	0,178966	0,271853
	#31 - #78	0,178966	0,207013
	#52 - #65	0,178966	0,224825
MASECA®	#1e - #2e	0,540153	-1,85807
	#1e - #3e	0,540153	-0,754546
	#2e - #35	0,540153	1,4015
	#2e - #3e	0,540153	1,10353

La tabla N° 8 está constituida por 4 columnas de datos. De izquierda a derecha columna #1 hace referencia al nombre de la marca de HMNF en estudio.

Columna #2 se refiere a la comparación por parejas de lotes que presentan diferencia significativa en cada marca.

Columna #3 hace referencia al intervalo de variación permisible entre lotes para una marca específica, dicha variación viene dada en función de los datos presentados en la tabla N° 6, los límites de estos intervalos de variación son



valores reales que están separados a la izquierda y a la derecha del cero de forma simétrica, cada intervalo estipulado es único y repetitivo en cada marca analizada.

Columna #4 de la tabla N° 8 expresa el valor de la diferencia mínima significativa de Fisher o LSD.

La LSD se obtiene comparando por parejas los valores de las medias aritméticas de los mg de tiamina por Kg de HMNF presentadas en cada lote de producción dentro del análisis de una misma marca (ver anexo N° 5), aludiendo como variación significativa aquellos valores de LSD que estén fuera de los límites permisibles estipulados en la columna 3 de la tabla N°8.

El Software **STATGRAPHICS Centurión XV<sup>®</sup>** realiza la comparación entre parejas haciendo una resta de las medias entre los lotes que conforman el estudio de una marca estipulada.

Por lo tanto se puede inferir que las comparaciones entre lotes de las marcas DANY<sup>®</sup>, Doña Blanca<sup>®</sup>, MASECA<sup>®</sup> y Del Comal<sup>®</sup> presentadas en la tabla N° 8 indican que durante el proceso de manufactura de las HMNF de las marcas antes mencionadas no se están adicionando las cantidades de tiamina HCl declaradas en la etiqueta de información nutricional de los empaques primarios de dichas harinas, o bien durante el proceso de almacenamiento de estas no se están tomando las medidas necesarias y/o adecuadas para evitar la degradación de la tiamina.

**CAPITULO VI**  
**CONCLUSIONES**

## 6.0 CONCLUSIONES

- 6.1 Los lotes de producción analizados de las marcas de harina de maíz nixtamalizado y fortificadas DANY<sup>®</sup>, Del Comal<sup>®</sup>, Doña Blanca<sup>®</sup> y MASECA<sup>®</sup>, presentan una variación significativa entre sí, lo cual puede deberse a diversos factores intervinientes tales como: Temperatura de almacenamiento, contenido de humedad, presencia de metales que aceleren el proceso de descomposición de la tiamina y pH del medio; esencialmente estos aspectos pueden ser los causantes directos de la degradación de la tiamina durante su almacenamiento tanto como producto a granel como en anaquel, esto da como resultado el reporte de una cantidad de tiamina inferior a la rotulada en el empaque primario del producto terminado de las harinas de maíz nixtamalizado y fortificadas de las marcas antes mencionadas.
- 6.2 En general los valores de las medias que representan el contenido de tiamina en los lotes de cada marca analizada presentan coeficientes de variabilidad inferiores al 10%, lo cual permite inferir que las medias tienen una alta representatividad, por ende los valores individuales que reflejan el contenido de tiamina por cada lote en cada marca no presentan variabilidad entre sí.

- 6.3 Las marcas MASECA<sup>®</sup> y DANY<sup>®</sup> presentan una tendencia a igualar o superar el valor de miligramos de tiamina por cada kilogramo de harina de maíz nixtamalizado y fortificada expresado en la NSO 67.03.02:03 el cual es de 2,2 mg de tiamina por cada kilogramo de HMNF, por lo que se infiere que cumplen con lo establecido en la NSO 67.03.02:03.
- 6.4 Las marcas Del Comal<sup>®</sup> y Doña Blanca<sup>®</sup> presentan una tendencia a valores inferiores al estipulado en la NSO 67.03.02:03, lo cual permite inferir que las marcas de HMNF Del Comal<sup>®</sup> y Doña Blanca<sup>®</sup>, no cumplen con la NSO 67.03.02:03 Harinas. Harina de maíz nixtamalizado.
- 6.5 Los resultados de las diferencias mínimas significativas (LSD) de Fisher obtenidas en la prueba de múltiples rangos sugieren que la **marca Del Comal<sup>®</sup>** presenta una alta variabilidad en los lotes de producción analizados (#04-14-1, #05-09-3, #05-17-2 y #06-09-2) en cuanto al contenido de tiamina rotulado en la etiqueta del informe nutricional, obteniéndose diferencias significativas en **5** de **6** comparaciones entre pares de lotes de los antes mencionados, estas diferencias significativas exceden los valores límites de variabilidad (Limite inferior -0.135733 límite superior +0.135733) para esta marca.

6.6 Los resultados de las diferencias mínimas significativas (LSD) de Fisher obtenidas en la prueba de múltiples rangos sugieren que las marcas **MASECA**<sup>®</sup> y **DANY**<sup>®</sup> presentan una variabilidad inferior a la presentada en la marca **Del Comal**<sup>®</sup> en los lotes de producción analizados (#1e, #2e, #3e y #35 para MASECA<sup>®</sup> y #45, #51, #54 y #84 para DANY<sup>®</sup>) en cuanto al contenido de tiamina rotulado en la etiqueta del informe nutricional del empaque primario de dicha marca, obteniéndose diferencias significativas en **4 de 6** comparaciones **para ambas marcas** entre pares de lotes de los antes mencionados, estas diferencias significativas exceden los valores límites de variabilidad (Limite inferior -0,540153 límite superior +0,540153) para marca MASECA<sup>®</sup> y (Limite inferior -0,18768 límite superior +0,18768) para marca DANY<sup>®</sup>.

6.7 Los resultados de las diferencias mínimas significativas (LSD) de Fisher obtenidas en la prueba de múltiples rangos sugieren que la marca **Doña Blanca**<sup>®</sup> presenta una baja variabilidad en los lotes de producción analizados (#31, #52, #65 y #78) en cuanto al contenido de tiamina rotulado en la etiqueta del informe nutricional del empaque primario de dicha marca, obteniéndose diferencias significativas en **3 de 6** comparaciones entre pares de lotes de los antes mencionados, estas diferencias significativas exceden los valores límites de variabilidad (Limite inferior -0,178966 límite superior +0,178966) para esta marca.

**CAPITULO VII**  
**RECOMENDACIONES**

## 7.0 RECOMENDACIONES

- 7.1 Revisar, constantemente y periódicamente el contenido de tiamina en las harinas de maíz nixtamalizado y fortificadas comercializadas en El Salvador.
- 7.2 Implementar controles en proceso más rigurosos durante la producción de harinas de maíz nixtamalizado y fortificadas, para evitar que la tiamina adicionada en las mezclas fortificantes se exponga de forma prolongada a la luz, excesos de temperatura, humedad o cambios de pH, ya que con esto se estaría garantizando que la mayor parte de la tiamina adicionada no tendrá la tendencia a descomponerse.
- 7.3 Evaluar si el contenido mínimo de tiamina que se le agrega a la mayor parte de harinas de maíz nixtamalizado y fortificada, cumple con las exigencias cotidianas de las personas, respecto a este micronutriente.
- 7.4 Evaluar nuevas técnicas o mezclas adecuadas para incrementar el contenido de tiamina en los vehículos para fortificar, especialmente en las harinas de maíz nixtamalizado fortificadas comercializadas en El Salvador.

7.5 Verificar las buenas condiciones de almacenaje de las harinas de maíz nixtamalizado fortificadas para que cumpla con: estar protegidos de la luz, de la humedad, de los cambios a temperaturas elevadas, a la humedad y a las variaciones en el pH. Desde que se encuentra como producto a granel hasta acondicionarse como producto terminado.

7.6 Controlar las condiciones de luz durante la determinación de tiamina en harinas de maíz nixtamalizado y fortificadas por el método fluorimétrico del tiocromo, debido a que el tiocromo es un derivado de la tiamina que es sensible a la luz.



## **BIBLIOGRAFIA**

## BIBLIOGRAFIA

1. Aguirrezábal, L. et al. "Calidad de Maíz" en calidad de productos agrícolas, INTA-FCA-UNMdp-Balcare. 1998. Consultado: 07 abril 2008.  
Disponible en: [http: /ar. Geocities.com/cereales\\_2003/maíz/calida.doc](http://ar.Geocities.com/cereales_2003/maíz/calida.doc)
2. Allen, L. et al. 2006. Guidelines on food fortification with micronutrients. Francia. Editorial FAO,OMS. p. 25-35.
3. AOAC (Association of Official Analytical Chemist. 2000). Official Methods of Análisis. USA. CAPITULO 5, p. 6-10.
4. APROCSAL (Asociación de Promotores Comunales Salvadoreños). 2002. Cincuenta especies de la flora medicinal existente en El Salvador. El Salvador. Imprenta Díaz. p. 68.
5. Arévalo, Y. et al. 1999. Determinación del contenido de proteína, hierro, tiamina y riboflavina en harina de trigo grado "A" y en pan francés elaborado a partir de dicha harina. Trabajo de graduación. Lic. Qca. y Fcia. San Salvador, El Salvador. Universidad de El Salvador. p 88.

6. Bourges, M.; et al. 1999. Adición de vitaminas y minerales a harinas de maíz y de trigo en México. Salud Pública de México. vol.41, no.2, p. 130-137.
7. CONACYT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología). 2003. Norma Salvadoreña Obligatoria. NSO. HARINA. HARINA DE MAIZ NIXTAMALIZADO. 67.03.02:03.
8. Desrosier, N. 1987. Elementos de tecnología de alimentos. 5 ed. México, D.F. Compañía Editorial Continental, S.A de C.V. Trad. Cristina de Salinas. p. 155-166.
9. Dueñas, J.; et al. 1985. Estudio experimental sobre la preparación de harina de maíz precocida y fortificada para la elaboración de tortillas y alimentos infantiles para condiciones de El Salvador. Tesis Ing. Qco. San Salvador, El Salvador. Universidad Centroamericana "José Simeón Cañas". p. 30-33, 100, 101, 105,106.
10. FAO (Organización de Las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 1993. El Maíz en la Nutrición Humana. Colección FAO: Alimentación y nutrición N° 25. Roma. p. 5, 15-29, 43-48, 58, 59.

11. Fennema, O. 2000. Química De Los Alimentos, 2 ed. Zaragoza, España. Editorial ACRIBIA S.A. Cáp. 8, p. 637, 638, 677, 678, 680, 682, 685, 689.
12. Gennaro, A. 2003. Farmacia Práctica de Remington. 20 ed. Buenos Aires, Argentina. Editorial Médica Panamericana. p. 2170-2173.
13. Gilman, A.; et al. 1986. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 7 ed. Buenos Aires, Argentina. Editorial Médica Panamericana. p. 1469-1474.
14. Giménez, J. 1997. Molienda de Maíz. (en línea). Consultado: 08 abril 2008. Disponible en:  
[http://www.monografias.com/trabajos35/molienda/molienda\\_maíz/molien da\\_maíz.shtml](http://www.monografias.com/trabajos35/molienda/molienda_maíz/molien da_maíz.shtml)
15. Hashmi, M. 1986. Assay of vitamins in pharmaceutical preparations. 2 ed. Lahore, Pakistan. John Wiley and sons publications. p. 51-53, 106-109.
16. Lakowicz, J. 2006. Principles of fluorescence spectroscopy. 3<sup>rd</sup> ed. New York, USA. Editorial Springen. Cáp. 1 p1-15, Cáp. 2 p. 27-58.

17. MSPAS (Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social). 2007. Manual de Procedimientos Técnicos Para La Vigilancia Y Evaluación Del Programa Fortificación De Alimentos. El Salvador, Centro América. p. 1-4, 26-31, 40-48.
  
18. Muñoz, R. 2004. La Investigación científica paso a paso. 4 ed. San Salvador, El Salvador. UCA Editores. Cap. 1 p.13-14.
  
19. Perlis, A. 1992. Nutrición Humana en el Mundo en Desarrollo. Roma. FAO. p.119, 122-124, 185-189, 213-215, 268, 269, 310, 313, 314, 316, 318, 421.
  
20. Robutti, J. Calidad y Usos del Maíz (en línea). INTA Pergaminos, Buenos Aires. p 104. Consultado: 10 marzo, 2008. Disponib <http://www.inta.gov.ar/ediciones/idia/cereales/maiz03.pdf>
  
21. Rodríguez, H. Programa Fortificación de Alimentos. (en línea). San Salvador, El Salvador. Consultado: 07 marzo, 2008. Disponible en: [http://www.mspas.gob.sv/p\\_fortialimentos.asp](http://www.mspas.gob.sv/p_fortialimentos.asp)

22. Scrimshaw, N. La Fortificación de Alimentos: Una Estrategia Nutricional Indispensable. *An Venez Nutr.* (en línea). 2005, vol.18, no.1. Consultado: 07 Marzo 2008. p.64-68. Disponible en la World Wide Web:  
<[http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-07522005000100012&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-07522005000100012&lng=es&nrm=iso)>. ISSN 0798-0752
23. Settle, F. 1997. Handbook of instrumental techniques for analytical chemistry. 2<sup>nd</sup> ed. Virginia, USA. Editorial Prentice Hall. Pág. 26 p. 507-528.
24. USAID. Fortification Basics. Harina Refinada de maíz/ Harina Integral de maíz. Consultado: 07 marzo, 2008. Disponible en:  
<http://www.sightandlife.org/ffbasics/maiz.pdf>
25. Valeur, B. 2002. Molecular Fluorescence: Principles and applications. First Edition. Weinheimz, Alemania. Editorial Wiley-VCH. Pág. 1 p. 18-24.
26. Zelada, R. 2007. Expertos buscan armonizar fortificación alimentaria en Centro América (en línea) Guatemala. Diario de Centro América. Consultado 4 may. 2008. Disponible en :  
[http://www.sica.int/busqueda/busqueda\\_basica.aspx?IdCat=&IdMod=3&IdEnt=29](http://www.sica.int/busqueda/busqueda_basica.aspx?IdCat=&IdMod=3&IdEnt=29)
27. [http://apuntes.rincondelvago.com/el-maiz-en-la-alimentación-humana.](http://apuntes.rincondelvago.com/el-maiz-en-la-alimentacion-humana.html)  
Html

28. [http:// www.gimsa.com.html](http://www.gimsa.com.html)

29. <http://www.unicef.org.co/Micronutrientes/index.html>

**ANEXOS**



## ANEXO N° 1

### APARTADO N°8 DE LA NORMA SALVADOREÑA OBLIGATORIA. NSO. 67.03.02:03 HARINA. HARINA DE MAIZ NIXTAMALIZADO

#### 8. Fortificación

La fortificación de la harina de maíz nixtamalizado se debe hacer en base a la siguiente tabla:

Tabla A. Niveles Mínimos

MICRONUTRIENTES	NIVEL MÍNIMO (mg/kg de harina)
Hierro	25,0
Niacina	25,0
Tiamina (vitamina B <sub>1</sub> )	2,2
Riboflavina (Vitamina B <sub>2</sub> )	1,4
Acido fólico	0,8

El hierro se adicionara como fumarato ferroso. Se podrá utilizar otro compuesto de hierro que tenga mayor biodisponibilidad que los anteriores, y no afecte las características tecnológicas de la harina de maíz nixtamalizado, demostrado por investigaciones científicas y avalado por el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social.

#### 8.1 NIVELES DE ADICIÓN

Para cumplir con los niveles de fortificación especificados en la Tabla B, se debe utilizar una o varias mezclas fortificantes, de manera que luego de la mezcla recomendada, los niveles de adición de micronutrientes en la harina sea como sigue:

Tabla B. Niveles de adición

MICRONUTRIENTES	NIVEL DE ADICIÓN (mg/kg de harina)
Hierro	27,30
Niacina	30,50
Tiamina (vitamina B <sub>1</sub> )	3,30
Riboflavina (Vitamina B <sub>2</sub> )	2,20
Acido fólico	0,92

**ANEXO N° 2**

**TABLA DE VERIFICACION DE MUESTRAS Y SU RESPECTIVA  
CODIFICACIÓN**

Producto	Marca	Código	Presentación			
			454g	907g	5 Lb	Quintal
Harina de maíz nixtamalizado fortificada	MASECA® (01)	HMNF-01-A		✓		
Harina de maíz nixtamalizado fortificada	Doña Blanca® (02)	HMNF-02-A		✓		
Harina de maíz nixtamalizado fortificada	Del Comal® (03)	HMNF-03-A		✓		
Harina de maíz nixtamalizado fortificada	DANY® (04)	HMNF-04-A		✓		

**ANEXO N° 3.**

**DETERMINACIÓN DE TIAMINA  
PREPARACIÓN DE REACTIVOS**

## DETERMINACIÓN DE TIAMINA

### Preparación de Reactivos <sup>(3)</sup>

- **Solución de hidróxido de sodio al 15% P/V:**

Disolver 15,0 g de hidróxido de sodio en agua libre de CO<sub>2</sub> suficiente para preparar 100 mL de solución.

- **Solución de ferricianuro de potasio 1% P/V:**

Disolver 1,0 g de ferricianuro de potasio en agua suficiente para preparar 100 mL de solución. (Reactivo de preparación reciente)

- **Reactivo oxidante:**

Mezclar 4,0 mL de la solución de ferricianuro de potasio al 1%P/V con un volumen suficiente de solución de hidróxido de sodio al 15%P/V para preparar 100,0 mL de solución oxidante.

Usar la solución oxidante dentro de las 4 horas siguientes, a partir de la preparación.

- **Alcohol isobutílico:**

Redestilar alcohol isobutilico en un aparato destilador de vidrio. Utilizar el producto redestilado como anhidro.

- **Solución stock de sulfato de quinina:**

Preparar la solución stock disolviendo 10,0 mg de sulfato de quinina en suficiente ácido sulfúrico 0,1 N para preparar 1 L de solución stock. Almacenar en recipientes adecuados resistentes a la luz.

La solución de sulfato de quinina es utilizada para mantener la reproducibilidad del fluorimétero.

- **Solución estándar de sulfato de quinina:**

Diluir 1 volumen de solución stock de sulfato de quinina con 39 volúmenes de ácido sulfúrico 0,1 N. La solución es fluorescente en el mismo grado como lo hacen los extractos con isobutanol, de tiocromo obtenido de 1 µg de clorhidrato de tiamina. Almacenar en recipientes adecuados resistentes a la luz.

- **Soluciones estándar de clorhidrato de tiamina.**

**Solución stock de clorhidrato de tiamina (100 µg/mL).**

- a) Pesar entre 50,0 mg del estándar de referencia de clorhidrato de tiamina que se ha secado de forma constante en un desecador sobre anhídrido fosfórico.
- b) Disolver en alcohol al 20% (ajustado a pH 3,5 - 4,3 con HCl), y diluir a 500,0 mL con el alcohol acidificado.
- c) Adicionalmente, agregar suficiente alcohol acidificado para obtener exactamente la concentración de 100 µg clorhidrato de tiamina/mL. Almacenar en recipientes adecuados resistentes a la luz.

**Solución intermedia (10 µg/mL).**

- a) Diluir 10,0 mL de la solución stock a 100,0 mL con alcohol al 20% V/V acidificado (ajustado a pH 3.5-4.3 con HCl).
- b) Almacenar en recipientes adecuados resistentes a la luz.

**Solución de trabajo (0,2 µg/mL).**

A 5,0 mL de la solución intermedia adicionarle 50 mL de solución de HCl 0,1N, digerir levemente, y diluir a 250 mL con HCl 0,1N. Preparar la solución de trabajo de forma reciente para cada ensayo.

**ANEXO N° 4**

**MARCHA ANÁLITICA ILUSTRADA**

**Ilustración de la marcha analítica seguida a lo largo del desarrollo de la parte experimental.**



**Figura N°1. Selección de la muestra**

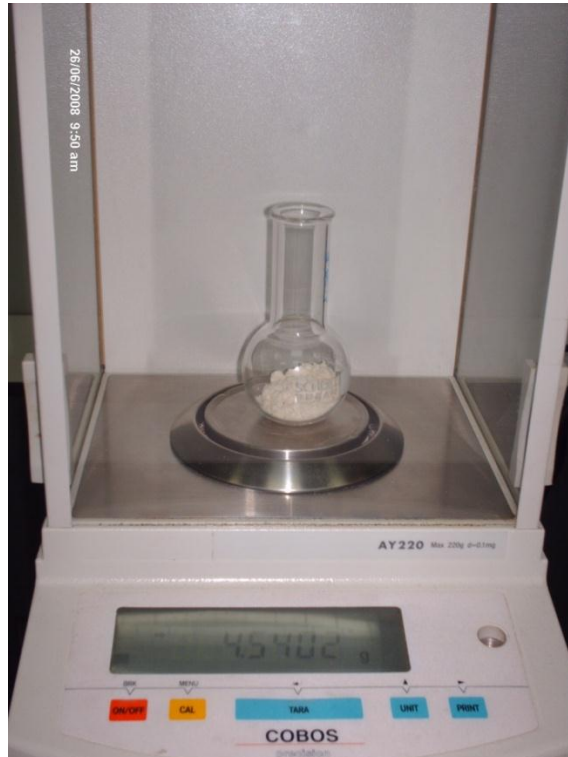


**Figura N°2. Etiquetado de las muestras**





**Figura N°3. Traslado de las muestras al laboratorio**



**Figura N°4. Toma de la muestra**

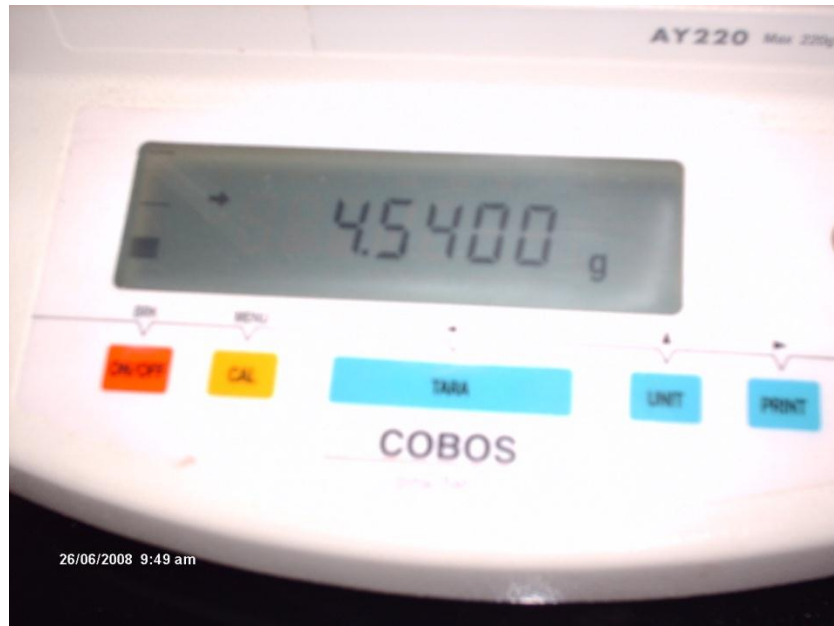


Figura N°5. Toma de la muestra: (4,5400 g)

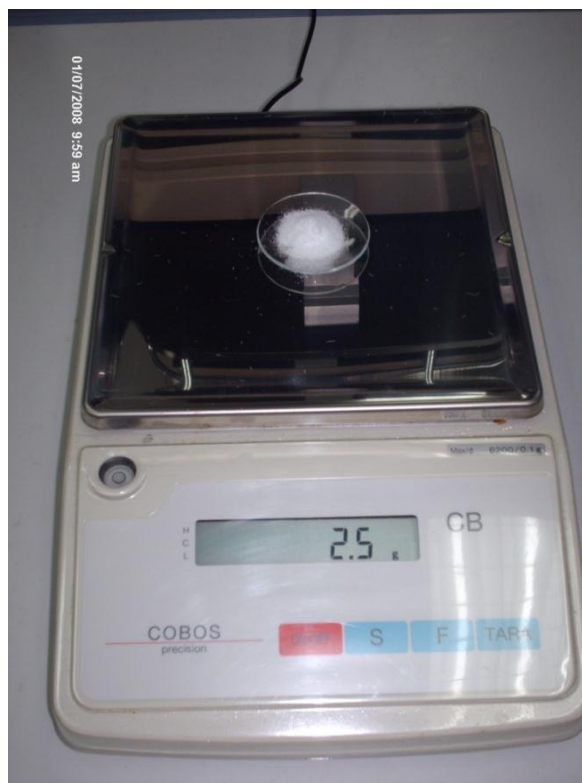
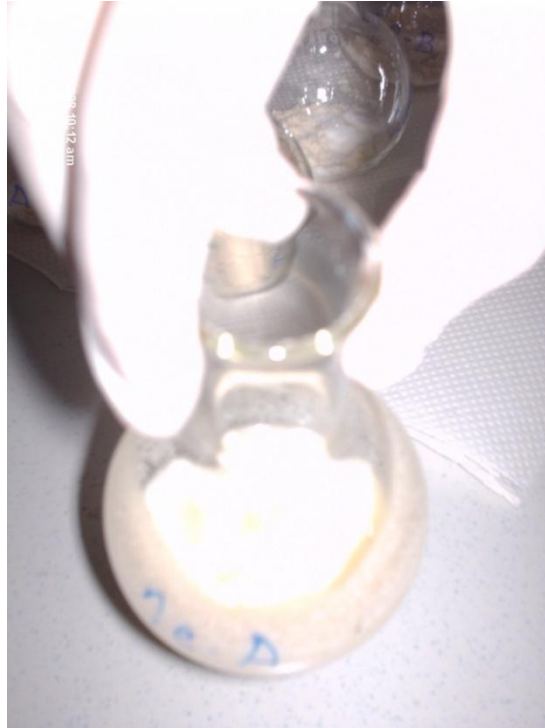
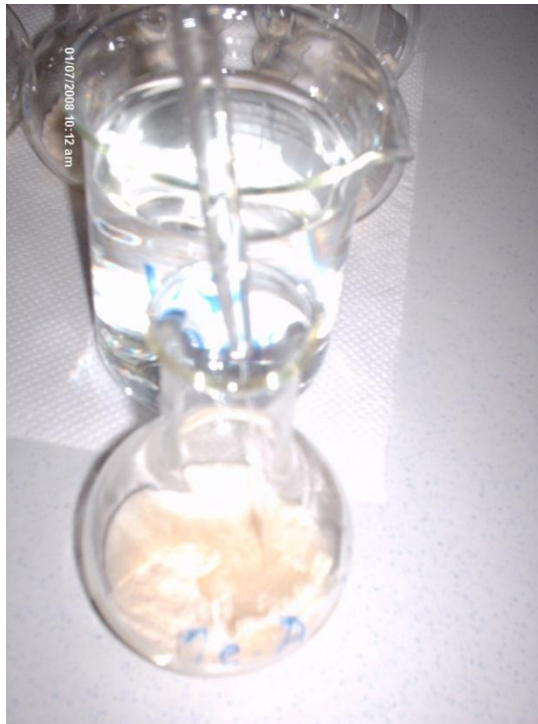


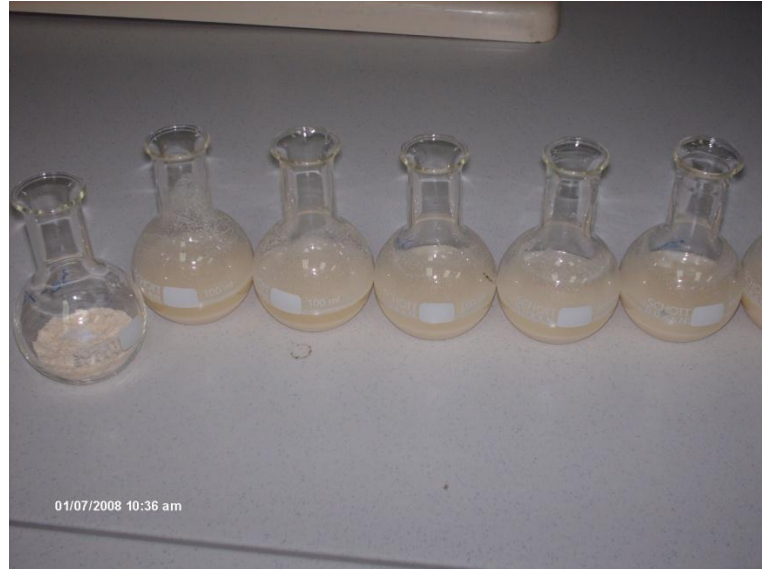
Figura N°6. Pesada del cloruro de sodio: 2,5 g



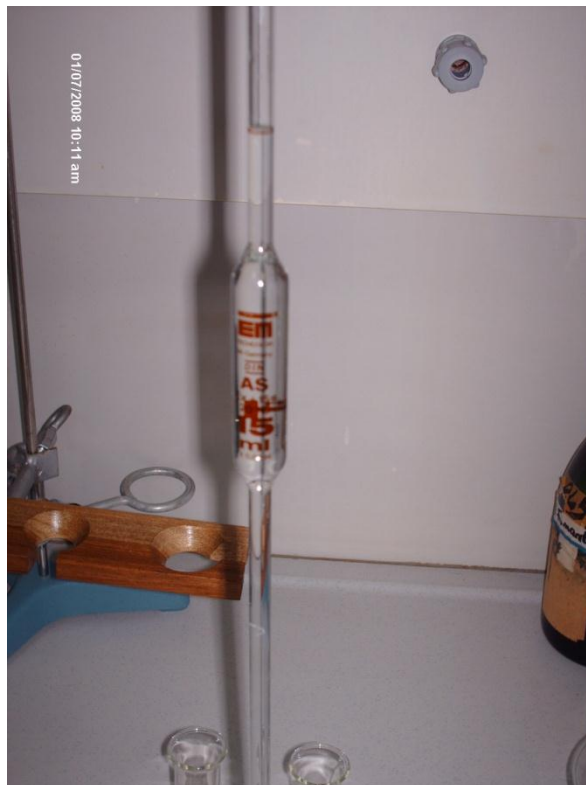
**Figura N°7. Mezcla de la muestra de HMNF (4,5400 g) y cloruro de sodio**



**Figura N°8. Adición del HCl previo a la digestión**



**Figura N°9. Adición de HCl**



**Figura N°10. Adición de HCl en 3 porciones de 15,0 mL cada una**



**Figura N°11. Digerir durante 30 minutos: (entre 95 – 100 °C)**



**Figura N°12. Durante la digestión agitar ocasionalmente las soluciones:**



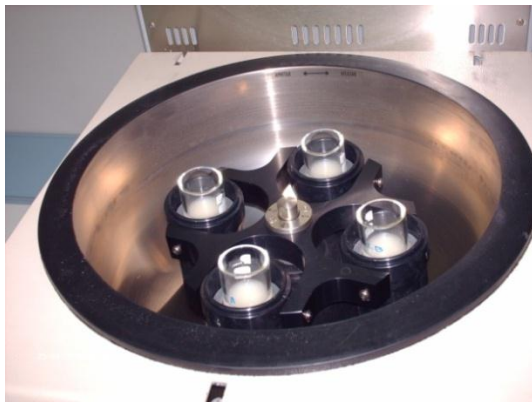
**Figura N°13. Posterior a la digestión enfriar las soluciones a temperatura ambiente**



**Figura N°14. Posterior al enfriamiento aforar a 50,0 mL con HCl**



**Figura N°15. Posterior al aforo determinar el pH de las soluciones**



**Figura N°16. Centrifugar las soluciones durante 20 minutos a 4,000 RPM**



**Figura N°17. Filtrar con papel adecuado**



**Figura N°18. Filtrar hasta obtener claridad**





**Figura N°19. Centrifugar nuevamente si la filtración no es del todo transparente**



**Figura N°20. Preparar tubos con 1.5 g de NaCl para saturar la fase acuosa de la mezcla por preparar**



**Figura N°21. Pipetear 5,0 mL del filtrado transparente de la solución de muestra de HMNF**



**Figura N°22. Tubos c/u con 5,0 mL del filtrado de la solución de muestra**



**Figura N°23. Preparación del blanco de la muestra**



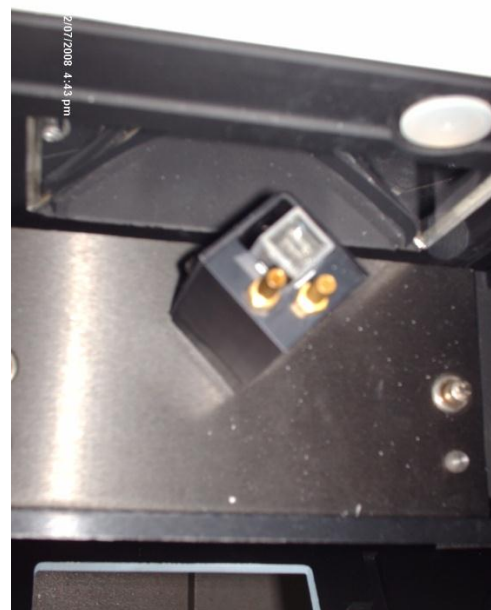
**Figura N°24. Blanco del Estándar**



**Figura N°25. Adición de los 3,0 mL de la mezcla oxidante a la Mx.**



**Figura N°26. Adición de los 3,0 mL de la mezcla oxidante a la Mx.**



**Figura N°27. Equipo para Espectrómetro de luminiscencia Perkin Elmer® modelo LS – 55**

**ANEXO N° 5**

**ANÁLISIS DEL CONTENIDO DE TIAMINA  
POR LOTE Y POR MARCA**

TABLA N° 1. ANALISIS POR LOTE DEL CONTENIDO DE TIAMINA (MARCA DANY®)

Presentación de la muestra	Lote de las muestras	Duplicación de muestra	Peso Real de muestra (g)	Volumen de HCl 0.1N (mL)	pH	Lectura de un blanco por lote de muestra (b)				Z mg de tiamina/Kg de harina	Promedio del contenido de Tiamina por Lote (mg/Kg)	Desviación Estándar Por Lote de Muestra	Intervalo de Confianza (Li-Ls)	Coeficiente de Variabilidad (%)
						Lectura por duplicado de cada duplicado (f)		Z mg de tiamina/5 mL de Sol.	Z mg de tiamina/Kg de harina					
PAQUETE DE 907 g ctu	#45	45-A	4,5406	50	1	A-1	903,653	1,133793884	2,4970134	2,4686542	0,106156561	Li 2,362497589 Ls 2,574810721	4,300179534	
			4,5406	50	1	A-2	875,02	1,086256189	2,3923186					
		4,5401	50	1	B-1	933,577	1,183474952	2,6067156						
		4,5401	50	1	B-2	871,188	1,079894143	2,3785691						
	#51	51-A	4,5403	50	1	A-1	922,63	1,139183028	2,5090479	2,3181157	0,196058085	Li 2,122057602 Ls 2,514173771	8,45764884	
			4,5403	50	1	A-2	899,444	1,100688668	2,4242642					
		4,5408	50	1	B-1	859,484	1,034345417	2,2778925						
		4,5408	50	1	B-2	800,234	0,935976106	2,0612582						
#54	54-A	4,5402	50	1	A-1	996,779	1,292698922	2,847229	2,8316362	0,031352861	Li 2,800283381 Ls 2,862989102	1,107234757		
		4,5402	50	1	A-2	979,654	1,264267286	2,784607						
	4,54	50	1	B-1	996,779	1,292698922	2,8473545							
	4,54	50	1	B-2	996,779	1,292698922	2,8473545							
#84	84-A	4,54	50	1	A-1	848,477	1,011842503	2,226728	2,1640395	0,093100538	Li 2,07093901 Ls 2,257140086	4,302164354		
		4,54	50	1	A-2	822,856	0,972625938	2,1423479						
	4,5409	50	1	B-1	850,664	1,018793934	2,2435947							
	4,5409	50	1	B-2	795,386	0,927019103	2,0414876							

Lecturas de emisión de fluorescencia:

Estándar:	618,0325
Blanco de estándar :	15,7105

TABLA N° 2. ANALISIS POR LOTE DEL CONTENIDO DE TIAMINA (MARCA DEL COMAL®)

Presentación de la muestra	Lote de las muestras	Duplicado de muestra	Peso Real de muestra (g)	Volumen de HCl 0.1N (mL)	pH	Lectura por duplicado (l)		Lectura de un blanco por lote de muestra (b)	Z mg de tiamina/5 mL de Sln.	Z mg de tiamina/Kg de harina	Promedio del contenido de Tiamina por Lote (mg/Kg)	Desviación Estándar Por Lote de Muestra	Intervalo de Confianza (Li-Ls)	Coeficiente de Variabilidad (%)
						A-1	A-2							
	#04-14-1	04-14-A	4,54	50	1	788,921		233,226	0,922587918	2,032131978	1,93448954	0,11032175	Li	5,702887016
			4,54				0,833250321		1,835353131	1,824167784				
		4,5403	50	1	787,783				Ls					
		4,5403				0,920898863	2,027836406		2,044811289					
PAQUETE DE 907 g c/u	#05-09-3	05-09-A	4,5401	50	1	875,652		169,98	1,171685962	2,58052898	2,56017905	0,08906743	Li	3,478952981
			4,5401				1,18194325		2,603278176	2,47111621				
		4,5411	50	1	834,546				Ls					
		4,5411				1,103340074	2,429675792		2,649246472					
	#05-17-2	05-17-A	4,5409	50	1	796,683		211,582	0,97408981	2,139243279	2,11533589	0,08522701	Li	4,02900611
			4,5409				0,905188587		1,99341229	2,030108873				
		4,5402	50	1	811,071				Ls					
		4,5402				0,995296536	2,192186546		2,200562898					
	#06-09-2	06-09-A	4,5405	50	1	726,845		201,103	0,872868703	1,922384547	1,98637359	0,06065795	Li	3,053703066
			4,5405				0,930967157		2,050362641	1,925715643				
		4,5413	50	1	728,841				Ls					
		4,5413				0,876172546	1,92934302		2,047031545					

Lecturas de emisión de fluorescencia

Estándar (S) :	618,0325
Blanco de estándar (d) :	15,7105



TABLA N° 3. ANALISIS POR LOTE DEL CONTENIDO DE TIAMINA (MARCA DONA BLANCA®)

Presentación de la muestra	Lote de las muestras	Duplicado de muestra	Peso Real de muestra (g)	Volume n de HCl 0.1N (mL)	pH	Lectura por duplicado de cada duplicado (l)	Lectura de un blanco por lote de muestra (b)	Z µg de tiamina/5 mL de Sol.	Z mg de tiamina/Kg de harina	Promedio del contenido de Tiamina por Lote (mg/Kg)	Desviación Estandar Por Lote de Muestra	Intervalo de Confianza (Li-Ls)	Coefficiente de Variabilidad (%)
PAQUETE DE 907 g c/u	#31	31-A	4,5405	50	1	A-1 894,603	284,346	1,013,740,17	2,231,450,79	2,224,066,35	0,091083766	Li	4,095370903
			4,5405	50	1	A-2 878,981		0,987237723	2,174292971			Ls	
		4,5406	50	1	B-1 926,736	1,066622558		2,348858208	2,315150117				
		4,5406	50	1	B-2 870,08	0,972459913		2,141699144					
	#52	52-A	4,5408	50	1	A-1 860,374	275,01	0,972841769	2,142445756	2,17703805	0,167678796	Li	7,702152735
			4,5408	50	1	A-2 876,693		0,988939106	2,199918749			Ls	
		4,5407	50	1	B-1 816,456	0,898931137		1,979719287	2,344716844				
		4,5407	50	1	B-2 927,591	1,083442079		2,386068402					
	#65	65-A	4,5401	50	1	A-1 817,704	270,211	0,908970617	2,002093824	1,95221337	0,045479324	Li	2,329628763
			4,5401	50	1	A-2 811,342		0,89840816	1,978829014			Ls	
		4,5406	50	1	B-1 795,422	0,871877115		1,920400641	1,99769269				
		4,5406	50	1	B-2 791,902	0,866133065		1,907523985					
#78	78-A	4,5408	50	1	A-1 891,585	298,801	0,984164616	2,167381555	2,03358198	0,124474766	Li	6,120961308	
		4,5408	50	1	A-2 818,396		0,862653199	1,899782415			Ls		
	4,5407	50	1	B-1 864,87	0,93981264		2,069749738	1,909107218					
	4,5407	50	1	B-2 827,004	0,876944858		1,931298165	2,158056751					

lecturas de emisión de fluorescencia.

Estandar (S) : 618,0325

Blanco de estándar (d) : 15,7105

TABLA N° 4. ANALISIS POR LOTE DEL CONTENIDO DE TIAMINA (MARCA MASECA®)

Presentación de la muestra	Lote de las muestras	Duplicado de muestra	Peso Real de muestra (g)	Volumen de HCl 0.1N (mL)	pH	Lectura por duplicado de cada duplicado (I)	Lectura de un blanco por lote de muestra (b)	Z mg de tiamina/mL de Sln.	Z mg de tiamina/Kg de harina	Promedio del contenido de Tiamina por Lote (mg/Kg)	Desviación Estándar Por Lote de Muestra	Intervalo de Confianza (LI-LS)	Coefficiente de Variabilidad (%)	
PAQUETE DE 907 g cfu	#1e	1e-A	1,5	50	1	A-1 684,266	91,922	0,98343411	6,5562274	6,73579174	0,396719736	Li 6,339072008	5,889726862	
			1,5	A-2 660,511	0,943995072	6,29330048		LS 7,13251479						
		1e-B	1,5003	50	1	B-1 743,097		1,0810778	7,20594401			Li 5,631926		
			1,5003	50	1	B-2 714,338		1,033360893	6,88763508					
		2e-A	2,5003	50	1	A-1 999,055		1,408150458	5,631926			LS 5,63226392		
			2,5003	50	1	A-2 999,055		1,408150458	5,631926					
	2e-B	2,5	50	1	B-1 999,055	1,408150458	5,63260183	Li 4,9934681						
		2,5	50	1	B-2 999,055	1,408150458	5,63260183							
	#3e	3e-A	2,5001	2,5001	50	1	A-1 955,022	203,073	1,24841636	4,9934681	4,87771771	0,240870328	Li 4,636847386	4,938176868
				2,5001	50	1	A-2 883,961		1,130438636	4,52157328			LS 5,18568042	
		3e-B	2,5	50	1	B-1 948,19	1,23707419		4,94829676	Li 5,192347822				
			2,5	50	1	B-2 963,133	1,261883179		5,04753272				LS 6,243583468	
35-A		1,5008	50	1	A-1 609,794	0,81062455	5,40128298		Li 5,71796564					
		1,5008	50	1	A-2 687,048	0,9056880018	6,03464831			LS 5,192347822				
35-B	1,5007	50	1	B-1 581,714	0,764004967	5,09093065	Li 5,71796564							
	1,5007	50	1	B-2 556,336	0,721871358	4,81023094		LS 5,192347822						

Lecturas de emisión de fluorescencia

Estándar: 618,0325

Blanco de estándar: 15,7105

**ANEXO N°6**

**ANÁLISIS DE VARIANZA O ANOVA**

## ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA SIMPLE): MARCA DANY®

**Tabla ANOVA para TIAMINA por LOTE**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,980336	3	0,326779	22,02	0,0000
Intra grupos	0,178076	12	0,0148397		
Total (Corr.)	1,15841	15			

**El StatAdvisor**  
 La tabla ANOVA descompone la varianza de TIAMINA en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 22,0206, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de TIAMINA entre un nivel de LOTE y otro, con un nivel del 95,0% de confianza. Para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras, seleccione Pruebas de Múltiples Rangos, de la lista de Opciones Tabulares.

Análisis de Varianza para los lotes de la Marca DANY®

### MARCA DANY:

#### Pruebas de Múltiple Rangos para TIAMINA por LOTE

Método: 95,0 porcentaje LSD

LOTE	Casos	Media	Grupos Homogéneos
84	4	2,16404	X
51	4	2,31812	XX
45	4	2,46865	X
54	4	2,83164	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
45 - 51		0,150538	0,18768
45 - 54	*	-0,362982	0,18768
45 - 84	*	0,304615	0,18768
51 - 54	*	-0,513521	0,18768
51 - 84		0,154076	0,18768
54 - 84	*	0,667597	0,18768

\* indica una diferencia significativa.

Tabla de resultados que expresa la diferencia significativa entre pareja de lotes de la marca DANY®

#### El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 4 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

## ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA SIMPLE): MARCA DEL COMAL®

STATGRAPHICS Centurion - EXPERIMENTO ANOVA DEL COMAL.sgp - [ANOVA Simple - TIAMINA por LOTE]

Archivo Editar Definir Medir Analizar Mejorar Controlar Pronósticos SnapStats!! Herramientas Ver Ventana Ayuda

Libro de Datos  
StatAdvisor  
StatGallery  
StatReporter  
Comentarios del StatFolic  
ANOVA Simple - TIAMIN

Etiqueta:      Fila:

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,985992	3	0,328664	42,34	0,0000
Intra grupos	0,0931408	12	0,00776173		
Total (Corr.)	1,07913	15			

**El StatAdvisor**  
La tabla ANOVA descompone la varianza de TIAMINA en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 42,3442, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de TIAMINA entre un nivel de LOTE y otro, con un nivel del 95,0% de confianza. Para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras, seleccione Pruebas de Múltiples Rangos, de la lista de Opciones Tabulares.

Etiqueta:      Fila:

Análisis de Varianza para los lotes de la Marca DEL COMAL®

### Pruebas de Múltiple Rangos para TIAMINA por LOTE

Método: 95,0 porcentaje LSD

LOTE	Casos	Media	Grupos Homogéneos
#04-14-1	4	1,93449	X
#06-09-2	4	1,97489	X
#05-17-2	4	2,11534	X
#05-09-3	4	2,56018	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
#04-14-1 - #05-09-3	*	-0,62569	0,135733
#04-14-1 - #05-17-2	*	-0,180846	0,135733
#04-14-1 - #06-09-2		-0,0404051	0,135733
#05-09-3 - #05-17-2	*	0,444843	0,135733
#05-09-3 - #06-09-2	*	0,585284	0,135733
#05-17-2 - #06-09-2	*	0,140441	0,135733

\* indica una diferencia significativa.

#### El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 5 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

Tabla de resultados que expresa la diferencia significativa entre pareja de lotes de la marca DEL COMAL®

## ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA SIMPLE): MARCA DOÑA BLANCA®

STATGRAPHICS Centurion - EXPERIMENTO ANOVA DOÑA BLANCA.sgp - [ANOVA Simple - tiamina por lotes]

Archivo Editar Definir Medir Analizar Mejorar Controlar Pronósticos SnapStats!! Herramientas Ver Ventana Ayuda

Libro de Datos  
StatAdvisor  
StatGallery  
StatReporter  
Comentarios del StatFolic  
ANOVA Simple - tiamina

**Tabla ANOVA para tiamina por lotes**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,199316	3	0,0664386	4,92	0,0186
Intra grupos	0,161924	12	0,0134937		
Total (Corr.)	0,36124	15			

**El StatAdvisor**  
La tabla ANOVA descompone la varianza de tiamina en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 4,92368, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de tiamina entre un nivel de lotes y otro, con un nivel del 95,0% de confianza. Para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras, seleccione Pruebas de Múltiples Rangos, de la lista de Opciones Tabulares.

Análisis de Varianza para los lotes de la Marca Doña Blanca®

### Pruebas de Múltiple Rangos para tiamina por lotes

Método: 95,0 porcentaje LSD

lotes	Casos	Media	Grupos Homogéneos
65	4	1,95221	x
78	4	2,01705	xx
52	4	2,17704	xx
31	4	2,22407	x

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
31 - 52		0,0470283	0,178966
31 - 65	*	0,271853	0,178966
31 - 78	*	0,207013	0,178966
52 - 65	*	0,224825	0,178966
52 - 78		0,159985	0,178966
65 - 78		-0,0648396	0,178966

\* indica una diferencia significativa.

Tabla de resultados que expresa la diferencia significativa entre pareja de lotes de la marca Doña Blanca®

### El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 3 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

## ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA SIMPLE): MARCA MASECA®

STATGRAPHICS Centurion - EXPERIMENTO ANOVA MASECA.sgp

Archivo Editar Definir Medir Analizar Mejorar Controlar Pronósticos SnapStats!! Herramientas Ver Ventana Ayuda

Libro de Datos  
StatAdvisor  
StatGallery  
StatReporter  
Comentarios del StatFolio  
ANOVA Simple - TIAMIN

### ANOVA Simple - TIAMINA por LOTE

**Tabla ANOVA para TIAMINA por LOTE**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	7,50101	3	2,50034	20,34	0,0001
Intra grupos	1,47504	12	0,12292		
Total (Corr.)	8,97605	15			

**El StatAdvisor**  
La tabla ANOVA descompone la varianza de TIAMINA en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 20,3412, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de TIAMINA entre un nivel de LOTE y otro, con un nivel del 95,0% de confianza. Para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras, seleccione Pruebas de Múltiples Rangos, de la lista de Opciones Tabulares.

Análisis de Varianza para los lotes de la Marca MASECA®

### ANOVA Simple - TIAMINA por LOTE

**Pruebas de Múltiple Rangos para TIAMINA por LOTE**

Método: 95,0 porcentaje LSD

LOTE	Casos	Media	Grupos Homogéneos
#3e	4	4,87772	x
#35	4	5,33429	xx
#2e	4	5,63226	x
#1e	4	6,73579	x

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
#1e - #2e	*	1,10353	0,540153
#1e - #35	*	1,4015	0,540153
#1e - #3e	*	1,85807	0,540153
#2e - #35		0,297976	0,540153
#2e - #3e	*	0,754546	0,540153
#35 - #3e		0,456571	0,540153

\* indica una diferencia significativa.

**El StatAdvisor**  
Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 4 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

Tabla de resultados que expresa la diferencia significativa entre pareja de lotes de la marca MASECA®