

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE
HUAMANGA**

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y METALURGIA

**ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN
INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**



**“ESTUDIO DE LA ADICIÓN DE VITAMINA A, ÁCIDO FÓLICO, HIERRO Y
ZINC AL YOGURT, EN ANIMALES EXPERIMENTALES CON ANEMIA
INDUCIDA”**

Tesis para optar el Título Profesional de:
INGENIERA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

Presentado por:
MARISOL AYALA REMÓN

AYACUCHO – PERÚ

2015

DEDICATORIA

A nuestro Divino creador por la dádiva de la vida y la salud.

A mi adorada madre Casilda Remón Pizarro (☺), quién es mi guía espiritual en cada paso que doy y mi sostén para seguir adelante.

A mi amado padre Calixto Ayala Baldeón, por su entera dedicación en mi formación personal y profesional, pese a las adversidades que le ha tocado vivir.

A mis queridos hermanos (as): Efraín, Mónica, Edith, Margoth, Liss y Henry; por su cariño, paciencia, confianza, ánimo y constante apoyo incondicional en todas las etapas de mi vida y cada quien es mi fortaleza en el cumplimiento de cada meta propuesta.

A Yony Ayala Suarez, por su amor y comprensión.

A mis maravillosos sobrinos (as): Álvaro Gabriel, Marco Antonio, José Fernando, Luana Arellí y André Leonel; quienes alegran mi vida con sus ternuras y ocurrencias.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por darme sabiduría y la oportunidad de investigar en beneficio de la sociedad.

A mi familia por su cariño y perseverancia en la culminación de esta etapa de mi formación profesional, un especial agradecimiento a mi hermana Edith Ayala Remón por su constancia y empuje hacia el logro de mis objetivos.

Al Mg.Sc. Alberto Huamaní Huamaní, por su valiosa asesoría y apoyo constante en el desarrollo y culminación del presente trabajo, de igual forma a la Mg. Estad. Luz J. Bullón Camarena y M.S. Walter F. Salas Valerio.

A mi alma máter, la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga y en especial a la Escuela de Formación Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias, por su acogida en sus aulas y enseñanza recibida por sus docentes en esta etapa de mi formación profesional.

A la Empresa LipoTech S.A - Argentina y DSM Nutritional Products S.A - Perú, por las muestras de minerales y vitaminas proporcionadas.

A todo el personal que labora en la Planta Piloto de Leche y Bioterio del LENA de la Universidad Nacional Agraria La Molina y en especial al Ph. D. Carlos Vélchez Perales por sus valiosas enseñanzas en el empleo del método depleción – repleción de la hemoglobina; al

Sr. Mauro Ayala Espinoza, por su supervisión y asistencia técnica en el cuidado de los animales experimentales.

Al Instituto de Investigación Nutricional por las facilidades brindadas en el uso del liofilizador y al laboratorio de Patología Clínica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por permitirme determinar la concentración de la hemoglobina en sus instalaciones.

ÍNDICE GENERAL

	Página
RESUMEN	
I. INTRODUCCIÓN	01
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	05
2.1 Anemia	05
2.2 Vitamina A	07
2.2.1 Función	07
2.2.2 Absorción	08
2.2.3 Rol en la hemoglobina	08
2.2.4 Toxicidad	09
2.3 Ácido fólico	09
2.3.1 Función	09
2.3.2 Absorción	10
2.3.3 Rol en la hemoglobina	10
2.3.4 Toxicidad	11
2.4 Hierro	11
2.4.1 Función	12
2.4.2 Absorción	12
2.4.3 Rol en la hemoglobina	14
2.4.4 Toxicidad	15
2.5 Zinc	15

2.5.1 Función	15
2.5.2 Absorción	16
2.5.3 Rol en la hemoglobina	17
2.5.4 Toxicidad	17
2.6 Ingesta diaria recomendada (RDA) en niños (as) en edad escolar	18
2.6.1 Requerimientos de micronutrientes en animales de laboratorio	18
2.7 Interacciones	19
2.7.1 Calcio-minerales	19
2.7.2 Hierro-zinc	20
2.7.3 Caseína-hierro	21
2.8 Fortificación focalizada	21
2.9 Yogurt como vehículo para la fortificación	23
2.10 Evaluación sensorial	24
2.11 Animal experimental	25
2.12 Antecedentes	26
III. MATERIALES Y MÉTODOS	27
3.1 Lugar de ejecución	27
3.2 Diseño de la investigación	27
3.3 Población y muestra	29
3.3.1 Población	29
3.3.2 Muestra	29
3.4 Materiales y equipos	29
3.4.1 Animales experimentales	29
3.4.2 Insumos de la dieta de los animales experimentales	30

3.4.3 Materiales empleados	34
3.4.3.1 Materia prima	34
3.4.3.2 Material biológico	34
3.4.3.3 Insumos	34
3.4.3.4 Materiales	35
3.4.3.5 Reactivos	37
3.4.3.6 Equipos	37
3.5 Metodología experimental	38
3.5.1 Elaboración del yogurt fortificado	38
3.5.2 Evaluación sensorial	42
3.5.3 Métodos de análisis	42
3.5.4 Preparación del liofilizado para las raciones	43
3.5.5 Preparación y caracterización de las dietas purificadas	44
3.5.5.1 Dieta purificada deficitaria (fase de depleción)	44
3.5.5.2 Dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado (fase de repleción)	46
3.5.6 Determinación de la hemoglobina	48
3.6 Instrumentos de colecta de datos	49
3.7 Procedimientos de análisis de datos	49
3.8 Consideraciones éticas	50
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51
4.1 Análisis proximal y micronutrientes del yogurt fortificado	51
4.2 Evaluación sensorial	53
4.3 Yogurt fortificado liofilizado	57
4.4 Depleción de la hemoglobina o inducción a anemia	59

4.5 Efecto de la vitamina A, ácido fólico, hierro y zinc en la concentración de la hemoglobina en ratas Holtzman machos con anemia	63
4.5.1 Repleción de la hemoglobina mediante el consumo de la dieta deficitaria más yogurt fortificado	63
V. CONCLUSIONES	70
VI. RECOMENDACIONES	71
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 01: Concentración de la hemoglobina para diagnosticar la anemia	06
Tabla 02: Ingesta diaria recomendada para niños (as) en edad escolar	18
Tabla 03: Requerimientos de micronutrientes en ratas de laboratorio por kg de dieta	19
Tabla 04: Pre mezcla fortificada (programa escolar)	23
Tabla 05: Composición en 100 gramos de azúcar refinado	30
Tabla 06: Análisis proximal en 100 gramos de caseína	30
Tabla 07: Composición en 100 gramos de manteca vegetal	31
Tabla 08: Análisis proximal en 100 gramos de fibra	31
Tabla 09: Composición de la mezcla de sales minerales empleada en la formulación de la dieta purificada deficitaria	32
Tabla 10: Composición en 100 gramos de maicena	32
Tabla 11: Composición de la mezcla de vitaminas empleada en la formulación de la dieta purificada deficitaria	33
Tabla 12: Fortificación del yogurt por porción de 215 gramos para la población escolar	39
Tabla 13: Insumos en función a la cantidad del yogurt base	39
Tabla 14: Composición en 100 gramos de dieta purificada deficitaria	45
Tabla 15: Composición en 100 gramos de dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado	46

Tabla 16: Análisis proximal y de micronutrientes por cada 100 gramos de yogurt fortificado	52
Tabla 17: Análisis de la varianza para el atributo color	55
Tabla 18: Análisis de la varianza para el atributo sabor	57
Tabla 19: Composición en 100 gramos de yogurt fortificado liofilizado	58
Tabla 20: Pruebas estadísticas comparativas de la hemoglobina antes y después del consumo de la dieta purificada deficitaria	60
Tabla 21: Pruebas estadísticas comparativas de la hemoglobina antes y después del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado	66

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 01: Diseño del método depleción–repleción de la hemoglobina	28
Figura 02: Diagrama de flujo para la elaboración del yogurt sin micronutrientes (control)	40
Figura 03: Diagrama de flujo para la elaboración del yogurt fortificado con vitamina A palmitato, ácido fólico, sulfato ferroso estabilizado con vitamina C y microencapsulado y gluconato de zinc estabilizado	41
Figura 04: Promedio del atributo color evaluado por los panelistas	54
Figura 05: Promedio del atributo sabor evaluado por los panelistas	56
Figura 06: Concentración de la hemoglobina antes (basal) y después (anemia) de la dieta purificada deficitaria	60
Figura 07: Promedio de la concentración de la hemoglobina antes (basal) y después de la dieta purificada deficitaria	61
Figura 08: Concentración de la hemoglobina antes (anemia) y después de la dieta deficitaria más yogurt fortificado	64
Figura 09: Promedio de la concentración de la hemoglobina basal, antes (anemia) y después (recuperación) del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado	65

RESUMEN

La presente investigación, se realizó con el objetivo de evaluar el efecto de la vitamina A, ácido fólico, hierro y zinc, en animales experimentales con anemia inducida. Para seleccionar que concentración de los micronutrientes no cambia el color y sabor del alimento vehículo se realizó las comparaciones entre los 4 tratamientos (25, 45, 70 y 100 por ciento de la ingesta diaria recomendada para los niños (as) en edad escolar) mediante el Análisis de la Varianza. Para evaluar el efecto en los animales experimentales se empleó el método depleción – repleción de la hemoglobina, que consistió en reducir la concentración de hemoglobina por debajo de 11g/dL mediante el suministro de 15 g/día de una dieta purificada deficitaria en vitamina A como rovimix (0,02 g), ácido fólico (0,0002 g) y hierro como sulfato férrico (0,025 g) por 100 gramos de dieta, en 10 ratas machos de la raza Holtzman de 27 a 28 días de vida; para luego proceder a elevar la concentración hasta valores normales del animal (11.1 a 18 g/dL), mediante la provisión de 20 g/día de una dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado con vitamina A como palmitato (retinol 0,212 mg), ácido fólico de grado alimentario (0,095 mg), sulfato ferroso estabilizado con vitamina C y microencapsulado (3,49 mg de hierro) y gluconato de zinc estabilizado (3,92 mg de zinc) por 100 gramos de dieta; para tal efecto, se realizó comparaciones de las concentraciones de hemoglobina del grupo experimental antes y después de la administración de las dietas purificadas (deficitaria y deficitaria más yogurt fortificado) mediante la prueba T de Student para muestras relacionadas. En la evaluación sensorial, los resultados del estudio determinaron que no se encontró diferencias significativas ($p\text{-valor} > 0,05$) entre los tratamientos en el color y sabor. En la fase de depleción se presenció una disminución significativa en la concentración de la

hemoglobina (p-valor < 0,05) después de los 35 días de tratamiento, obteniéndose en promedio 10,24 g/dL de hemoglobina y en fase de repleción se evidenció un incremento significativo en la concentración de la hemoglobina (p-valor < 0,05) después de los 28 días de tratamiento; obteniéndose en promedio 15,04 g/dL de hemoglobina. En conclusión los micronutrientes empleados en el estudio no afectan el color ni el sabor del yogurt por lo que puede adicionarse hasta el 100 por ciento de la ingesta diaria recomendada para la población objetiva. La formulación empleada en la inducción fue efectiva con un 80 por ciento de animales anémicos; demostrándose el efecto anti anémico con el yogurt fortificado en un modelo animal, que servirán de base para diseñar pruebas en humanos.

I. INTRODUCCIÓN

La anemia es el problema nutricional más prevalente a nivel mundial que afecta aproximadamente 1620 millones de personas y el 50 por ciento es debido a la deficiencia de hierro, siendo una de las poblaciones perjudicadas, los niños en edad escolar con una prevalencia del 25,4 por ciento; en América Latina y el Caribe afecta al 39,5 por ciento de preescolares (WHO, 2008), mientras que en nuestro país la prevalencia en niños en edad preescolar es de 34 por ciento, con 31,1 por ciento en la zona urbana y 39,8 por ciento en la zona rural, con mayores prevalencias en la sierra (Puno, 65,8 por ciento) y selva (Madre de Dios, 48,2 por ciento) (ENDES, 2013); por lo tanto si no se revierte las deficiencias de los micronutrientes involucrados en la síntesis de la hemoglobina, los efectos serán adversos sobre el desarrollo cognitivo, el aprendizaje y la capacidad de trabajo en la edad adulta limitando fuertemente el desarrollo adecuado de una sociedad y por ende la economía de un país (Urdampilleta *et al.*, 2010); es así que Soemantri *et al.* (1985) y Saewondo *et al.* (1989) demostraron que el rendimiento de niños escolares anémicos resultó menor en tareas de atención, memoria, rendimiento y aprendizaje que el grupo sin anemia; por lo que debe ser abordado de manera integral con el objetivo de lograr el desarrollo físico, intelectual y social óptimo. Sin embargo, las altas prevalencias indican que existe un problema de biodisponibilidad, agravado por el bajo consumo de los micronutrientes como

consecuencia de las dietas que son a base de cereales y tubérculos en países en vías de desarrollo como el nuestro.

La WHO (2014), menciona que la cifra real de la anemia se encuentra oculta en las estadísticas de las bajas tasas del rendimiento escolar y disminución de la productividad; es así que según la Evaluación Censal de Estudiantes a nivel nacional, sólo el 33 por ciento de estudiantes de segundo grado de instituciones públicas obtuvieron un resultado satisfactorio en el área de comprensión lectora y 16,8 por ciento en el área de matemática (UMC, 2013), ante ello la Organización Mundial de la Salud recomienda aumentar la absorción de hierro mediante la fortificación, a la vez controlar las infecciones y mejorar el estado nutricional de otras deficiencias como: La cianocobalamina o vitamina B12, ácido fólico y vitamina A, que participan en la síntesis de la hemoglobina. Es así, que un producto fortificado óptimo debe aportar por ración entre 50 a 100 por ciento de los requerimientos y en el caso de los micronutrientes deficitarios se debe cubrir el 100 por ciento y de la más alta biodisponibilidad (Céspedes, 2008).

El estado peruano implementó diversos programas con el objetivo de contribuir a mejorar el nivel nutricional, asistencia y rendimiento escolar, proporcionando raciones de alimentos que aporten nutrientes de acuerdo a sus requerimientos, enfatizando en sus objetivos específicos la reducción de la incidencia de anemia, cuyos resultados no reflejaron el logro de sus objetivos; por ello a partir del año 2012 a través del programa Qali Warma viene brindando servicio alimentario a los escolares, con el fin de contribuir a mejorar la atención en clases, asistencia escolar, de acuerdo a sus hábitos alimenticios. En la mayoría de los alimentos fortificados con vitaminas y minerales, los productos son rechazados por los consumidores ya sean niños o jóvenes, debido a las características de los fortificantes,

la interacción entre éstos y las reacciones con los componentes del alimento que ocasionan modificaciones en cuanto al sabor, aroma y color; principalmente el hierro que acelera la oxidación lipídica produciendo características organolépticas desfavorables y es muy reactivo con sales comestibles y azúcares, interfiriendo su absorción el alto contenido de calcio y caseína (Ugarte *et al.*, 2011); frente a estos cambios que sufre el alimento fortificado existe la alternativa de hacer uso de micronutrientes microencapsulados de alta biodisponibilidad y solubilidad.

En el presente estudio se empleó el método depleción-repleción de la hemoglobina; siendo el propósito aportar en el requerimiento dietético de los micronutrientes teniendo como vehículo un alimento de gran aceptabilidad por el grupo etéreo, con visión a prevenir y controlar la anemia que genera consecuencias negativas en la salud y educación de los niños (as) en edad escolar; existen antecedentes de que los resultados de las investigaciones con modelos animales proporcionan información necesaria para diseñar pruebas humanas por sus semejanzas anatómicas, fisiológicas, neurológicas, bioquímicas, farmacológicas y comportamiento (Cardozo *et al.*, 2007). De lo expuesto anteriormente, se plantean los siguientes objetivos:

Objetivo general:

Evaluar el efecto de la vitamina A, ácido fólico, hierro y zinc, en animales experimentales con anemia inducida.

Objetivos específicos:

- Evaluar el color del yogurt fortificado con vitamina A, ácido fólico, hierro

microencapsulado y zinc al 25, 45, 70 y 100 por ciento de la ingesta diaria recomendada para los niños (as) en edad escolar frente al control.

- Evaluar el sabor del yogurt fortificado con vitamina A, ácido fólico, hierro microencapsulado y zinc al 25, 45, 70 y 100 por ciento de la ingesta diaria recomendada para los niños (as) en edad escolar frente al control.
- Evaluar el efecto del consumo de la dieta purificada deficitaria en vitamina A, ácido fólico y hierro en la concentración de la hemoglobina en los animales experimentales.
- Evaluar el efecto del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado con vitamina A, ácido fólico, hierro microencapsulado y zinc en la concentración de la hemoglobina en los animales experimentales con anemia.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Anemia

Es un trastorno, en el cual el número de eritrocitos es insuficiente para satisfacer las necesidades del organismo. Se cree que en conjunto, la carencia de hierro es la causa más común de anemia, pero pueden causarla otras carencias nutricionales como: Folato, vitamina B12, vitamina A y lisina, la inflamación aguda y crónica, las parasitosis y las enfermedades hereditarias o adquiridas que afectan a la síntesis de la hemoglobina y a la producción o la supervivencia de los eritrocitos (WHO, 2011; Madrid, 2012).

Condición en la cual la sangre carece de suficientes glóbulos rojos (un adulto normal destruye cada hora entre 100 y 200 millones de hematíes y cada día degrada seis gramos aproximadamente de hemoglobina en el retículo endotelio del hígado, bazo y médula ósea), o la concentración de hemoglobina es menor que los valores de referencia según edad, sexo, altitud, embarazo y lactancia. La hemoglobina es un conglomerado de proteína formada por una o varias unidades de porfirina (estructuras cíclicas formadas por cuatro anillos pirrólicos unidos entre sí por puentes metino, guardan en su interior un átomo de hierro) que tiene la propiedad de fijar oxígeno y se produce en los glóbulos rojos de los

seres humanos; su deficiencia indica, en principio, que existe una deficiencia de hierro (ENDES, 2012; Blanco, 2011; Grandy *et al.*, 2010).

Las manifestaciones clínicas de la anemia varían desde palidez generalizada de la piel y mucosas, fatiga, cansancio, sofocación, mareo, dolor de cabeza, hasta retardo en el desarrollo, problemas en el aprendizaje, disminución de la actividad motora, anormalidad en la conducta, pérdida de apetito e incremento en el número de infecciones por alteración del sistema inmune, esto puede persistir durante toda la vida si la deficiencia no se revierte completamente (Secretaría de salud, 2003; Lozoff *et al.*, 1991 citado por Nemirovsky, 2010).

Estudios realizados en la población escolar muestran las consecuencias de la anemia; siendo éstas, el menor rendimiento en tareas de atención, memoria y aprendizaje respecto al grupo sin anemia (Soemantri *et al.*, 1985; Saewondo *et al.*, 1989), demostrándose en el estudio que mediante un tratamiento en niños anémicos mejoró el rendimiento en las pruebas pero la diferencia entre los grupos permaneció; cabe destacar que la función cognitiva incrementa al aumentar la concentración de la hemoglobina con el tratamiento (Howard, 2005). A nivel del mar, la concentración de la hemoglobina para diagnosticar la anemia se indica en la Tabla 01:

Tabla 01: Concentración de la hemoglobina para diagnosticar la anemia

Población	Sin anemia (g/dL)	Leve (g/dL)	Moderada (g/dL)	Grave (g/dL)
Niños de 5 a 11 años	≥11,5	11 a 11,4	8 a 10,9	< 8

Fuente: WHO (2011)

En animales de la especie roedores (ratas), el rango normal de la hemoglobina es de 11,1 a 18 g/dL (Kaneko, 1989; Romero, 2008), por debajo de 11g/dL se considera anemia (Gonzales *et al*, 2013).

2.2 Vitamina A

En la fortificación se empleó en su forma dry vitamin A palmitate 250 S/N, polvo fino de color amarillo claro, cuyas partículas contienen la vitamina A como palmitato finamente dispersado en una matriz de almidón alimenticio modificado, sacarosa y aceite de coco fraccionado. BHT (E-321), ascorbato de sodio, benzoato de sodio y ácido sórbico añadidos como conservantes. El contenido mínimo de la vitamina A es de 250 000 UI/g, se dispersa rápida y completamente en agua, siendo sensible al aire, calor, luz y humedad. Empleado para la fortificación de los alimentos (sobre todo harina y azúcar), productos horneados, bebidas y otros alimentos (DSM, 2014).

2.2.1 Función

Conocido por su rol en la visión, también es importante en el crecimiento y desarrollo corporal, participa en la diferenciación celular (bajo la forma de ácido retinoico), reproducción e inmunidad (impulsa la formación de los linfocitos T); siendo sus formas activas el retinol (es la más activa y fundamental para la reproducción y desarrollo de los huesos), retinal (el retinol se transforma en retinal para su uso en la retina ocular dentro de la visión nocturna y de colores) y ácido retinoico (retinal se transforma en ácido retinoico para el crecimiento y desarrollo corporal) (Blanco, 2011).

2.2.2 Absorción

En la mucosa intestinal el retinol se une a la proteína fijadora y forma el complejo retinol-CRBP II, que luego se reesterifica a ésteres de retinol (ER). Estos ésteres se agregan para formar los quilomicrones que posteriormente ingresan a la linfa y sangre y llegan a los tejidos periféricos a través de la lipoproteinlipasa o al hígado (se almacena en un 90 por ciento en el hígado y secundariamente en el tejido adiposo, pulmón y riñón) a través de un receptor APO E. El zinc favorece su absorción de la vitamina A (Blanco, 2011; Piñeiro, 2014).

2.2.3 Rol en la hemoglobina

La deficiencia de la vitamina A genera también una serie de síntomas no específicos como incremento de riesgo a anemia (Blanco, 2011; Wedner y Ross, 2008; Palafox, 2003).

La vitamina A juega un rol importante en la causa de la anemia, las evidencias indican que este efecto es mediado a través de la síntesis de transferrina y receptores de transferrina, de ahí mejoran la movilización del hierro e ingreso a los tejidos eritropoyéticos, además la vitamina A mejora la absorción del hierro en el precario intestino delgado (Quiroz, 2009). La vitamina A beneficia la condición hematológica y el metabolismo del hierro, por otro lado la infestación parasitaria contribuye al aumento en la prevalencia de anemia e hipovitaminosis A, bien sea debido a pérdidas sanguíneas o impidiendo la absorción de estos nutrientes (Alfaro y Carvajal, 2001; Ortiz *et al.*, 2000 y Latham, 2002 citados por Papale, 2008). La vitamina A también está implicada en la movilización del hierro desde el hígado, dado que el retinol y el ácido retinoico son necesarios para la síntesis de la proteína

transportadora de hierro, la transferrina (Castrillón y Serpa, 2013; Devil, 2006).

2.2.4 Toxicidad

El nivel máximo de ingesta diaria es de 900 ug de retinol por día en niños (as) de 4 a 8 años y de 1700 ug por día en niños (as) de 9 a 13 años; éste nivel es aplicable solo a la vitamina A preformada (retinol, la forma de vitamina A en las alimentos de origen animal, mayoría de alimentos fortificados y suplementos), no aplica a la vitamina derivada de los carotenoides (Otten *et al.* 2006).

2.3 Ácido fólico

En la fortificación se empleó el ácido fólico de grado alimentario, polvo cristalino e inodoro de color amarillo - naranja, con un 90 por ciento de pureza; soluble en soluciones alcalinas y carbonatos, ligeramente soluble en agua, insoluble en alcohol, acetona, éter y cloroformo; es bastante estable al aire, pero un poco sensible al calor y a la luz, sobre todo a la radiación ultravioleta, relativamente estables en soluciones neutras, ácidos, álcalis y agentes reductores u oxidantes puede causar descomposición. Empleado en alimentos, alimentos para bebés y dietética (DSM, 2014).

2.3.1 Función

Lucy Wills, en 1931 identificó al folato como necesario para evitar la anemia durante el embarazo. Tres componentes conforman su estructura; pteridina (6-metilpteridina), ácido para amino benzoico y una o más moléculas del aminoácido glutamato. En los tejidos, el

folato actúa bajo la forma de ácido tetrahidro fólico, fundamental en la síntesis de ADN y en el metabolismo de algunos aminoácidos; así participa de la síntesis de purinas (adenina y guanina) y de la timina (Blanco, 2011). Los folatos tienen principalmente dos efectos fisiológicos importantes: Son cofactores para enzimas que sintetizan ADN y ARN y son necesarios para la conversión de homocisteína a metionina (Suarez *et al.* 2005).

Su deficiencia se asocia a un retardo de la división celular (afecta a la médula ósea y produce células sanguíneas grandes de forma irregular llamados megaloblastos) y a un incremento de los niveles de homocisteína, un metabolismo considerado factor de riesgo de las enfermedades cardiovasculares. Su deficiencia en mujeres embarazadas ocasiona defectos en el tubo neural, espina bífida, anacefalia, etc. (Blanco, 2011; Melo y Cuamatzi, 2007).

2.3.2 Absorción

Se absorbe de los alimentos bajo la forma de mono glutamato ácido fólico, ácido 5- metil tetrahidro fólico y/o ácido 5-formil tetrahidro fólico; en el plasma se transporta en su forma activa como metil tetrahidro folato, dirigiéndose al hígado. El transporte se realiza unido a albúmina o transferrina. En las células el folato participa en el proceso de división celular (Blanco, 2011).

2.3.3 Rol en la hemoglobina

Esencial en la reproducción celular y ayuda en la formación de los glóbulos rojos al fijar el hierro a la hemoglobina, por lo cual previene ciertas formas de anemia (Melo y Cuamatzi,

2007; Hernández y Sastre, 1999).

2.3.4 Toxicidad

No se almacena en el cuerpo y si es que hubiera un exceso se elimina por la orina. El nivel máximo de ingesta diaria es de 400 ug de folato por día en niños (as) de 4 a 8 años y de 600 ug por día en niños (as) de 9 a 13 años; las cuales pueden ser obtenidos a través de suplementos, alimentos fortificados o la combinación de los dos (Otten *et al.* 2006).

2.4 Hierro

En la fortificación se empleó el sulfato ferroso estabilizado con vitamina C y micro encapsulado con fosfolípidos como fuente de hierro (vida útil, un año). Compuesto por sulfato ferroso, ácido ascórbico y lecitina. Aspecto cremoso, homogéneo, gris verdoso, viscoso, tixotrópico y de aroma suave característico. Su composición como hierro es de 5,25 a 5,75 por ciento p/p, con una alta biodisponibilidad, empleados en la fortificación de alimentos como el yogurt. Estable durante el uso y la vida útil del alimento fortificado (LipoTech, 2014). La adición de la vitamina C al yogurt afecta la calidad debido a su acidez, por ello para su empleo en este alimento se deben microencapsular a ambos (Kim *et al.*, 2003). Según Del Pozo *et al.* (2010), está recubierta por liposomas formados por fosfolípidos; estos se unen y forman una esfera protectora que al ser consumida, el proceso digestivo a nivel intestinal rompe el liposoma liberando el hierro y dejándolo disponible para la absorción, no compromete el sabor ni color y posee la misma biodisponibilidad del sulfato ferroso farmacéutico, que es considerado el estándar de biodisponibilidad para todos los compuestos de hierro en la industria alimentaria. Así mismo disminuye la

posibilidad de interacción del hierro con el resto de los nutrientes de la leche, quedando disminuidos los efectos de las proteínas, minerales y otras sustancias que se postulan como inhibidores.

2.4.1 Función

Participa en la formación de glóbulos rojos en la médula ósea, junto con cobalto, cobre, proteínas y vitaminas, repone los destruidos (eritrocitos solo tienen 120 días de vida); cumple el papel en la formación de hemoglobina (65 por ciento de hierro), mioglobina (diez por ciento de hierro, proteína de los músculos esqueléticos, viscerales y del corazón) y citocromos (enzimas como catalasa y peroxidasa; cinco por ciento de hierro), por lo que está vinculado al transporte de oxígeno de los pulmones a los tejidos y permite la oxidación de los nutrientes en los tejidos; su ausencia está en niños (as) que aprenden con dificultad, desganados y sin deseos de estudiar (Blanco, 2011; Muñoz, 1990).

2.4.2 Absorción

Se absorbe a nivel del intestino delgado proximal (duodeno); en la luz intestinal el Fe^{+3} se transforma en Fe^{+2} por acción de la ferrireductasa presente en la superficie del enterocito, la vitamina C favorece esta conversión; la absorción se lleva a cabo mediante el Transportador de Metal Divalente (DMT1) y la hepcidina (polipéptido de 25 aminoácidos formado en el intestino, evita la hemocromatosis) regulada por la proteína hemojuvelina; ya en el enterocito (regula la absorción del hierro según las necesidades del organismo) el Fe^{+2} se transforma en Fe^{+3} y se almacena unido a la ferritina y hemosiderina (20 por ciento de hierro) o transferirse al plasma mediante un hierro transportador y una hefaestina, para

luego circular con la transferrina (B globulina, una glucoproteína sintetizada por el hígado) al igual que el hierro proveniente de la destrucción de los hematíes viejos. La médula ósea y otros órganos reciben el hierro de la transferrina mediante los receptores de transferrina TfR1 y TfR2 para unirse al lisosoma cuyo pH ácido disocia el hierro de la transferrina y queda a disposición de la misma. El exceso se almacena unido a la apoferritina para formar la ferritina o a la transferrina para ser puesto a disposición de los hematíes jóvenes que formarán hematíes maduros y saldrán a la circulación sanguínea (Blanco, 2011; Grandy *et al.*, 2010).

El proceso de absorción es controlado por tres factores: Intraluminales (inhiben o promueven la cantidad de hierro disponible para la absorción), mucosales (incluyen la extensión de la superficie de la mucosa y la motilidad intestinal) y somáticos (estado nutricional del hierro de un individuo, la eritropoyesis y la hipoxia) (Bothwell, 1979; citado por Nemirovsky, 2010).

La concentración en el cuerpo humano es de 0,0004 por ciento localizado en los glóbulos rojos, médula ósea, riñones, hígado y bazo; se pierde un miligramo aproximadamente en la orina, sudor, cabello, uñas, bilis y heces debido a la descamación de las células de la piel y el intestino; sin embargo las mujeres en edad fértil deben remplazar el hierro perdido en la menstruación (Madrid, 2012; Blanco, 2011; Nemirovsky, 2010).

La tasa de absorción del hierro hem (fuente animal) es de 25 por ciento y no hem (fuente vegetal) de uno a cinco por ciento, siendo la absorción del hierro total (hem y no hem) de cinco a 15 por ciento. Para que el hierro se absorba debe estar en su estado ferroso (se logra en presencia de pH ácido). El hierro trabaja como cofactor de la enzima:

Desoxirribonucleasa, Arginasa, Peroxidasa, Catalasa, Citocromo oxidasa, cumpliendo la función de óxido-reducción. La absorción se desaprovecha por las infestaciones parasitarias (uncinariasis, malaria, etc.) (Blanco, 2011).

Se incrementa la absorción en deficiencia del metal, anemias hemolíticas, hipoxia y en presencia de ácido ascórbico, proteínas de origen animal, ácidos orgánicos (succínico, cítrico, málico, láctico, tartárico), vitamina A, etc.; lo disminuye los procesos infecciosos e inflamatorios, fitatos, fibra alimentaria, oxalatos, polifenoles, proteínas vegetales, huevo, minerales (zinc, manganeso, magnesio, cobre, calcio) (Blanco, 2011; Grandy *et al.*, 2010).

Algunas fuentes proteicas de origen animal como la leche entera, caseína, proteínas derivadas del suero de la leche, queso, clara de huevo, etc. disminuyen en un 10 y 50 por ciento la absorción de hierro (Cook y Monsen, 1976); según Grandy *et al.* (2010) afirman que la absorción de hierro no hem proveniente de alimentos vegetales, sales minerales y también en carnes, es favorecido por los alimentos fermentados, entre otros.

2.4.3 Rol en la hemoglobina

Principal componente de los glóbulos rojos, esencial para transportar el oxígeno a las células y para el funcionamiento de todas las células del cuerpo. En 1932, Castle aportó pruebas convincentes de que el hierro inorgánico podía utilizarse en la síntesis de la hemoglobina. El hierro forma parte de la hemoglobina, mioglobina, citocromos y enzimas (Castrillón y Serpa, 2013; Boccio *et al.*, 2003), siendo un nutriente esencial para la mayoría de los procesos de oxidación-reducción y constituye el átomo central de la estructura de la hemoglobina (Murray *et al.*, 1994).

2.4.4 Toxicidad

Niveles por encima a 45 mg por día provocan desórdenes a nivel gastrointestinal (Blanco, 2011). El nivel máximo de ingesta diaria es de 40 mg por día en niños (as) de 4 a 13 años; la cual puede ser obtenido del alimento, agua y suplementos (Ottens *et al.*, 2006).

2.5 Zinc

En la fortificación se empleó el gluconato de zinc estabilizado como fuente de zinc (vida útil, dos años); polvo fino blanco ligeramente amarillento. Higroscópico. Alta solubilidad en agua, proporciona solución incolora, translúcida. Alta biodisponibilidad, con un contenido de zinc de 9,4 a 11,6 por ciento p/p., empleado en la fortificación de alimentos. Estable durante el uso y la vida útil del producto (LipoTech, 2014).

2.5.1 Función

Cumple un rol fundamental como parte del sistema inmunitario, mantención de la estructura de las proteínas, crecimiento, maduración sexual, fertilidad, metabolismo de la vitamina A, metabolismo de hormonas, cicatrización de heridas, sentido del gusto y del apetito (Blanco, 2011; Grandy *et al.*, 2010). Su deficiencia severa en los períodos de rápido crecimiento afecta negativamente el desarrollo cognitivo, cerebral y sexual (Penland, 2000). Grandy *et al.* (2010) indican que la deficiencia moderada presenta efectos adversos en el desarrollo neuroconductual y psicomotor.

La deficiencia del zinc interactúa con la deficiencia de vitamina A, exacerbando la ceguera

nocturna (Muñoz, 1990); también provoca aumento de las enfermedades respiratorias, digestivas y de la piel por una disminución en la respuesta inmune (Grandy *et al.*, 2010). El zinc se encuentra en muchas enzimas importantes y esenciales para el metabolismo (FAO, 2013), siendo un componente indispensable para la función normal de más de 300 enzimas catalíticas, estructurales y de regulación (Grandy *et al.*, 2010).

2.5.2 Absorción

La concentración en el organismo se mantiene con una absorción diaria de alrededor de 5 g por día. El zinc exógeno se absorbe en el duodeno distal o el yeyuno proximal; los factores alimentarios que promueven la absorción son los aminoácidos (principalmente la histidina, metionina y cisteína), citrato, glucosa y lactosa, mientras que el ácido fítico, fibra, cobre, hierro y calcio lo inhiben. La cantidad del hierro puede determinar su efecto sobre la absorción del zinc y solo las dosis farmacológicas parecen disminuir la captación del zinc (Blanco, 2011; Grandy *et al.*, 2010; Bowman y Rusell, 2003).

No existe lugares importantes de reserva funcional para éste elemento, por ello el recambio diario es alto y rápido; los micro-pozos del zinc en la mucosa intestinal no constituyen verdaderos reservorios ya que no tienen capacidad de suplir eficazmente las pérdidas agudas, siendo probable que cuando se requiera un suplemento se deba considerar el aporte diario y la mayor cantidad de días (Paredes y Bolaños, 2009).

En las células de la mucosa, el zinc induce la transcripción del ARNm para sintetizar varias proteínas. Una de ellas la metalotioneína, tiene capacidad para fijarse a los metales. Una vez absorbida se une a la albúmina para transportarse hacia los eritrocitos (70 por ciento),

donde forma parte de la anhidrasa carbónica; al timo, como cofactores de la hormona tímica timulina. En caso de saturación de la albúmina, también se puede ligar a la transferrina o a la α 2-macroglobulina (20 a 40 por ciento) (Blanco, 2011; Grandy *et al.*, 2010); como es un mecanismo saturable determina una fracción de absorción, siendo ésta en niños de 20 a 25 por ciento aproximadamente, por otro lado Wada *et al.* (1985) citado por Paredes y Bolaños (2009) demostraron mediante estudios de absorción con isótopos estables, 53 por ciento de asimilación del zinc de la dieta cuando el aporte fue de 5,5 mg/día y disminuyó a 25 por ciento cuando la carga del zinc subió a 16,5 mg/día.

Algunos estudios estiman que la excreción endógena (realizada por vía gastrointestinal; secreciones pancreáticas, intestinal y biliar) se aproxima a dos mg diarios (Grandy *et al.*, 2010; Paredes y Bolaños, 2009).

2.5.3 Rol en la hemoglobina

La deficiencia se manifiesta por baja estatura, hipogonadismo y anemia leve (Secretaría de salud, 2003).

2.5.4 Toxicidad

Niveles por encima de 40 mg por día produce baja absorción de cobre, diarrea, náuseas y menor función inmune, esta cantidad solo puede ser aportada por exceso de suplementos (Blanco, 2011). El nivel máximo de la ingesta diaria es de 12 mg por día en niños (as) de 4 a 8 años y de 23 mg por día en niños (as) de 9 a 13 años; la cual puede ser obtenido del alimento, agua y suplementos (Otten *et al.*, 2006).

2.6 Ingesta diaria recomendada (RDA) en niños (as) en edad escolar

Nivel de ingesta diaria de un nutriente que resulta suficiente para cubrir las necesidades del 97,5 por ciento de los individuos sanos, según edad, sexo, situaciones de embarazo y lactancia (Blanco, 2011).

La ingesta diaria recomendada para los niños (as) en edad escolar se muestra en la Tabla 02.

Tabla 02: Ingesta diaria recomendada para niños (as) en edad escolar

Edad (años)	Vitamina A (ug RAE ^a /día)	Ácido fólico (ug folatos ^b /día)	Hierro (mg/día)	Zinc (mg/día)
4 a 8	400	200	10	5
9 a 13	600	300	8	8

Fuente: Otten *et al.* (2006).

^a Retinol activity equivalent (RAE). 1 ug RAE = 1 ug retinol.

^b As dietary folate equivalents (DFEs). 1DFE = 1 ug food folate = 0,6 ug of folic acid from fortified food or as a supplement consumed with food = 0,5 ug of folic acid from a supplement taken on an empty stomach.

2.6.1 Requerimientos de micronutrientes en animales de laboratorio

En la Tabla 03 se muestra los requerimientos de los micronutrientes en estudio en los animales de laboratorio en crecimiento.

Tabla 03: Requerimientos de micronutrientes en ratas de laboratorio por kg de dieta

Nutriente	Unidad	Crecimiento
Vitamina A (retinol)	mg	0,7
Ácido fólico	mg	1,0
Hierro	mg	35,0
Zinc	mg	12,0

Fuente: National Academy Press (1995)

2.7 Interacciones

2.7.1 Calcio-minerales

El calcio interactúa con el hierro, zinc, magnesio y fósforo. El calcio inhibe la absorción del hierro de manera dosis dependiente y dosis saturable. Lo mismo ocurre con el zinc, fósforo y magnesio (Araya y Ruz, 2007).

El calcio tiene especial importancia, ya que además de intervenir en la biodisponibilidad del hierro no hemo, interviene también en la biodisponibilidad del hierro hemo. El efecto es dosis dependiente, por debajo de 40 mg no interfiere, pero entre 40 y 300 mg de calcio sí lo hace y sin aumento luego de los 300 mg, pudiendo disminuir la biodisponibilidad del hierro hasta en un 50 por ciento. El calcio y el hierro no compiten por el transportador de Metal Divalente (DMT1), lo cual explica el efecto sobre este tipo de hierro (Gaitán *et al.*, 2006; Hallberg, 1998). Según Paredes y Bolaños (2009), la absorción del hierro a partir de una comida estandarizada se reduce significativamente con la ingesta concomitante de carbonato de calcio o de hidroxipatita; en contraste, los suplementos de calcio no afecta la

absorción de zinc.

2.7.2 Hierro-zinc

Al administrar ambos minerales en matrices alimentarias complejas el efecto inhibitorio sólo es significativo en relaciones molares Fe: Zn de 25:1, pero cuando ambos minerales son ingeridos en soluciones acuosa se observa una disminución del 50 por ciento en la absorción del hierro cuando la relación molar Zn: Fe es mayor de 4:1 (15 mg Zn vs 3 mg Fe); sin embargo, cuando esta proporción se administra con comida el efecto desaparece (Rossander-Hultén *et al.*, 1991 citado por Pizarro *et al.*, 2005).

Se produce una disminución de la biodisponibilidad del hierro en un 50 por ciento, cuando la proporción de Zn/Fe en una solución acuosa es superior a 5:1; este mismo efecto no se observa cuando los dos minerales están en relación equimolar en una mezcla de alimentos. En teoría existe una disminución de la biodisponibilidad recíproca, debido a que el zinc y el hierro no compiten por el DMT1 (Gaitán *et al.*, 2006; Whittaker, 1998).

La captación del hierro es inhibida por zinc y cobre. Una relación molar del hierro: cobre: zinc de 1:1:1 inhibe la captación del hierro o cobre en un 45 por ciento, por lo que estos resultados muestran que relaciones molares elevados de los metales en mención pueden producir una inhibición en la captación de uno o más de ellos (Arredondo *et al.*, 2005). No se apreció un efecto significativo de una dosis fisiológica de zinc sobre la absorción del hierro, observándose un efecto inhibitorio de la absorción del hierro cuando se administró una dosis farmacológica del zinc (11,71 mg) en una proporción molar respecto al hierro 1:1 (Olivares *et al.*, 2005); la FAO (2013) indica que aun con la administración de 10 mg

de zinc diarios, no se observaron efectos adversos sobre los estados del hierro y/o cobre, que compiten para su absorción.

2.7.2 Caseína-hierro

La caseína de la leche inhibe la absorción del hierro en los humanos. Parece ser que la fosforilación de la serina y de la treonina permite la unión de residuos del hierro y de otros minerales, reduciendo la eficiencia de la absorción (West, 1986). Dentro de los compuestos favorecedores de la absorción del hierro, tienen un papel importante el ácido ascórbico, los aminoácidos de origen cárnico, aminoácidos azufrados (cistina y cisteína), la vitamina A y los fructooligosacáridos; sin embargo este efecto positivo no se observa con la proteína animal contenida en la clara de huevo o en la leche, la cual tiene grande cantidad de coalbúmina (proteína quelante del metal) y caseína (proteína que oxida el hierro) (Gaitán *et al.*, 2006; Ugarte *et al.*, 2011).

2.8 Fortificación focalizada

La fortificación focalizada es la adición de micronutrientes a los alimentos consumidos por grupos específicos de la población como los alimentos complementarios, los cereales para niños y los alimentos que forman parte de programas de bienestar social (almuerzos escolares, programas de asistencia en casos de desastres, etc.), procurando proporcionar energía adicional, proteínas y cada vez en mayor medida micronutrientes al costo más bajo posible. El nivel del compuesto de hierro agregado debe proporcionar del 30 al 60 por ciento del requerimiento para el hierro por ración (suponiendo dos a tres raciones por día), con la cual el alimento puede considerarse una excelente fuente del nutriente. Las pruebas

de cambios sensoriales en los alimentos fortificados debe empezar a este nivel y ajustarse si se producen cambios sensoriales inadmisibles. En la fortificación focalizada el tipo de hierro a emplear es el sulfato o fumarato ferroso (Codex Alimentarius, 1997; OPS, 2002). Según Cuevas (2009), es la práctica de añadir cantidades suficientes de micronutrientes de manera de proveer los requerimientos diarios para grupos específicos de la población por medio del consumo usual de los alimentos fortificados mediante alimentos complementarios y aquéllos destinados a alimentación institucional (escuelas, hospitales), o distribuidos en situaciones de emergencia. Un producto fortificado óptimo debe aportar por ración entre 50 a 100 por ciento de los requerimientos y en el caso de micronutrientes deficitarios se debe cubrir el 100 por ciento empleando micronutrientes de alta biodisponibilidad (Céspedes, 2008). El proceso de fortificación no cambia el sabor ni el color del alimento, no requiere cambiar en los hábitos dietéticos, poca posibilidad de consumo excesivamente alto, costo final de la fortificación del alimento se transfiere al consumidor a precio muy bajo, lo cual resulta eficaz comparado con otras intervenciones (UNICEF, 2004; citado por Cuevas, 2009). La fortificación es una de las estrategias (fácil de implementar, administrar a niveles que no son riesgo, supervisión y vigilancia; bajo costo y la tecnología está disponible) más efectivas para asegurar un consumo permanente de nutrientes; cuyo efecto depende del nivel de fortificación, tipo de fortificante, biodisponibilidad del fortificante y cantidad de consumo del alimento fortificado (Grudem y Debustos, 2014). En nuestro país fue creado el Programa Nacional de Apoyo Alimentario en el año 1992, cuyo objetivo general fue contribuir a mejorar el nivel nutricional, la asistencia y el rendimiento escolar, prioritariamente en situación de extrema pobreza y entre uno de sus objetivos específicos estuvo el proporcionar raciones de alimentos que aporten como mínimo un tercio de los requerimientos nutricionales de cada niño, reduciendo la incidencia de anemia e incrementando su capacidad de aprendizaje; la

cantidad de los micronutrientes en estudio por ración se muestra en la Tabla 04 (Ravina *et al.*, 2002).

Tabla 04: Pre mezcla fortificada (programa escolar)

Nutrientes	Componentes	Cantidad mínima	
		por porción de 50 gramos	Unidad
Vitamina A	Vitamina A Acetate	800	ug
Folato	Ácido fólico	75	ug
Hierro	Fumarato ferroso	6	mg
Zinc	Óxido de zinc	6	mg

Fuente: Lage Comercial S.A.C. (2012)

2.9 Yogurt como vehículo para la fortificación

La venta de yogurt cada vez más se viene incrementando, debiéndose esto a su capacidad de diversificación, apariencia natural, características organolépticas, propiedades nutricionales, etc., con un aumento progresivo del consumo (12 a 16 millones de toneladas) a nivel mundial (Padilla, 2011 y Dello, 2004 citados por Reyes, 2014); según MINAG (2009), la producción nacional del yogurt el 2001 fue de 27, 292 millones de kilogramos y al año 2005 de 57,990 millones de kilogramos con un incremento gradual año tras año, alcanzando a 116,03 millones de kilogramos el año 2009, con un incremento de 15,5 por ciento respecto de la producción del año 2008.

En nuestro país en la lista de alimentos saludables recomendados para su expendio en quioscos escolares están considerados los yogures parcialmente descremados con bajo contenido de azúcar. Considerándose bajo contenido de azúcar a 1 ¼ cucharadita ó 6,25

gramos por vaso de 250 mL para alimentos líquidos y ≤ 5 gramos o una cucharadita por 100 gramos de alimento sólido (MINSA, 2012).

2.10 Evaluación sensorial

Es una disciplina científica que permite definir, medir, analizar e interpretar las características de un producto, empleando los órganos de los sentidos bajo el criterio de que no existe ningún instrumento que pueda reemplazar la respuesta humana; las características físicas y químicas de los alimentos causan estímulo sobre los órganos de los sentidos haciendo posible la percepción de impresiones visuales, gustativas, olfativas, táctiles y auditivas que hacen que el individuo acepte o rechace un alimento, ésta aceptación o rechazo es susceptible de ser medida con la ayuda de diferentes pruebas sensoriales (Villaruel, *et al.*, 2003), se emplea para mejorar y optimizar los productos alimenticios existentes y realizar investigaciones en la elaboración e innovación de nuevos productos, aseguramiento de la calidad, promoción y venta; siendo importante tener en cuenta la opinión del consumidor desde el momento de la etapa del diseño del producto (Hernández, 2005).

Según Liria-Domínguez (2007) la prueba afectiva tipo hedónica, se usa cuando el objetivo es determinar la aceptabilidad de consumo de un producto, para ello los panelistas son reclutados por uso del producto, no entrenados. Acevedo *et al.* (2009), empleó la escala hedónica de cinco puntos (me disgusta mucho a me gusta mucho) para evaluar la aceptación del yogurt de leche caprina basándose en las características sensoriales (olor, color, sabor, dulzor, textura y apariencia general); valiéndose para tal fin de 43 panelistas no entrenados fundamentados por los estudios realizados por diversos autores (Arcila y

Mendoza, 2006; Blanco *et al.*, 2006 y Sindoni *et al.*, 2008 citados por Acevedo *et al.*, 2009) quienes también evaluaron con panelistas no entrenados menores a 50. Tamine y Robinson (1985) sugieren la evaluación de las características: Sabor y aroma, color, cuerpo y textura, consistencia y viscosidad.

2.11 Animal experimental

El animal experimental es aquella en la que la calidad genética y ambiental ha sido controlada y asegurada, por lo tanto es capaz de dar una respuesta fiable y reproducible a la pregunta experimental; la homogeneidad está relacionado a las características somáticas (peso, sexo y edad), genéticos (igualdad o similitud biológica de su información genética) y sanitarias, siendo éstas axénicos (sin gérmenes), gnotoxénicos (con gérmenes controlados) o estándares (con flora nativa). En el principio de las tres R estudiado por Russell y Burch (1959) se busca garantizar el uso racional y respetuoso del animal experimental, reduciendo el número de animales usados en los proyectos de investigación; reemplazando el animal siempre que sea posible por otro tipo de modelos (simuladores, cultivo de tejidos, etc.) y refinando los procedimientos de manipulación mediante el estudio de su comportamiento, minimizando el dolor que pueda sufrir y garantizando que los resultados sean confiables. Los resultados de investigaciones con modelos animales proporcionan información necesaria para diseñar pruebas humanas, ya que estos efectos son en base a reacciones y comportamientos frente a un factor por parte de un organismo completo, ante ello el código de Nuremberg señala que cualquier experimento hecho en seres humanos debe estar diseñado a partir de los resultados de investigación animal, al igual que la declaración de Helsinki (la investigación médica en humanos debe estar basada en pruebas de laboratorio adecuadamente realizadas y en experimentación con

animales); ya que los efectos biológicos (desarrollo de enfermedades, terapéuticos y otras intervenciones) se realizan en modelos animales experimentales por sus semejanzas anatómicas, fisiológicas, neurológicas, bioquímicas, farmacológicas y comportamiento (Cardozo *et al.*, 2007).

2.12 Antecedentes

En un estudio en mujeres embarazadas que recibieron suplementos con hierro y vitamina A, la hemoglobina aumentó de 10,8 a 14,7 g/dL, eliminándose la anemia en un 97 por ciento, con una reducción del 68 por ciento cuando se suplementó con solo hierro (Alfaro y Carvajal, 2001).

Bowman y Russell (2003), demostraron que la hemoglobina en mujeres anémicas aumenta más cuando a la administración diaria de suplementos de hierro se agregan altas dosis de vitamina A (60 000 ER/día) y 15 mg/día zinc.

García y Villar (2010), demostraron que una dieta a base de quinua enriquecida con retinol (Arovit en su forma comercial) incrementa significativamente la concentración de la hemoglobina sérica en ratas variedad albina con anemia inducida.

En un estudio aleatorizado con doble enmascaramiento y controlado, efectuado en China con niños de 6 a 9 años; se encontró que los niños tratados con zinc y polimicronutrientes mejoraron más en todas las pruebas sobre el desempeño neuropsicológico que los niños tratados con zinc solo o con polimicronutrientes solos (Sandstead *et al.*, 1998; citado por Bowman y Russell, 2003).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

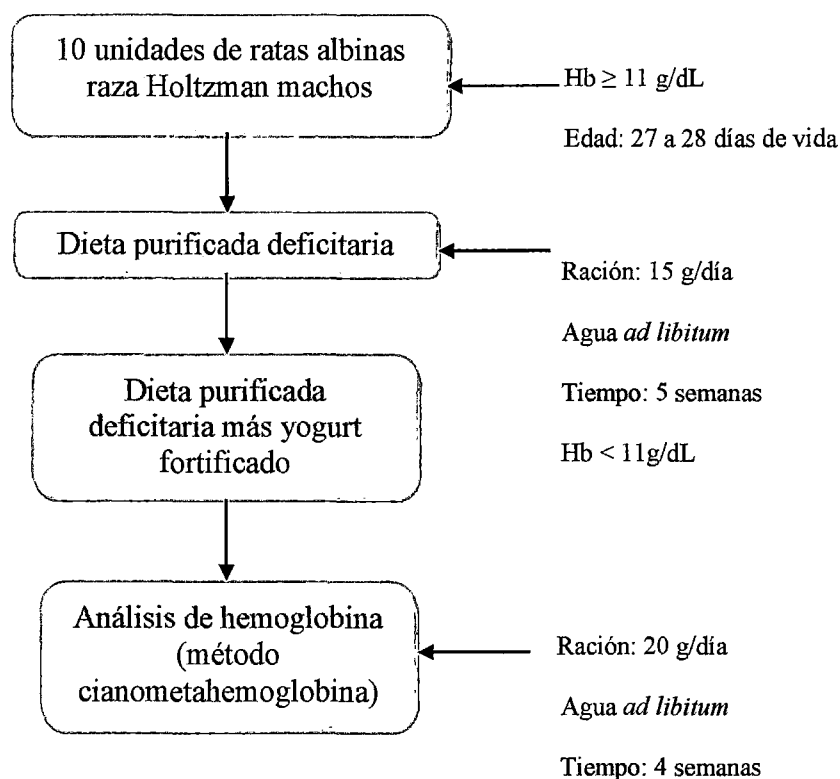
3.1 Lugar de ejecución

El estudio se realizó en el Bioterio del Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos (LENA), el yogurt fortificado se elaboró en el Laboratorio de Investigación de Leche y Productos Lácteos y la Planta Piloto de Leche, efectuándose los análisis en el laboratorio de instrumentación e investigación y fisicoquímica de la Universidad Nacional Agraria La Molina. El liofilizado se llevó a cabo en el laboratorio del Instituto de Investigación Nutricional (IIN). El análisis de hemoglobina se realizó en el Laboratorio de Patología Clínica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Los servicios de análisis fisicoquímico en el Laboratorio Calidad Total de la UNALM y micronutrientes en el laboratorio Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C

3.2 Diseño de la investigación

En el presente estudio se empleó el método depleción-repleción de la hemoglobina empleada por García *et al.* (2013), que consistió en disminuir la concentración de hemoglobina por debajo de 11 g/dL mediante una alimentación basada en una dieta

purificada deficitaria en vitamina A, ácido fólico y hierro; micronutrientes involucrados en la síntesis de la hemoglobina (fase de depleción), mientras que en la fase de repleción se procedió a elevar nuevamente la concentración de la hemoglobina hasta valores normales de los animales experimentales (11,1 a 18 g/dL) a través del suministro de una dieta purificada empleando como única fuente de los micronutrientes deficitarios el yogurt fortificado con vitamina A como palmitato, ácido fólico, sulfato ferroso estabilizado con vitamina C y microencapsulado y gluconato de zinc estabilizado. En la Figura 01, se esquematiza el método.



Fase de depleción (inducción a anemia): ☐

Fase de repleción (recuperación de anemia): ☐

Figura 01: Diseño del método depleción-repleción de la hemoglobina

3.3 Población y muestra

3.3.1 Población: Ratas Albinas raza Holtzman.

3.3.2 Muestra: Se utilizaron 10 ratas que cumplieran con los criterios de inclusión (animales con nivel de hemoglobina mayor o igual a 11g/dL, machos y edad 27 a 28 días de vida).

3.4 Materiales y equipos

3.4.1 Animales experimentales

Se empleó 10 ratas albinas de la raza Holtzmann machos de 27 a 28 días de vida adquiridos del Bioterio de LENA del Departamento Académico de Nutrición de la Universidad Nacional Agraria la Molina; previa codificación por perforación en las orejas y determinación de la concentración de la hemoglobina de cada animal, se alojaron en uno de los ambientes del Bioterio de la misma universidad, en una batería provista de jaulas individuales bajo condiciones de ciclo luz/oscuridad de 12/12 horas, temperatura entre 22 a 23 °C, 63 por ciento de humedad relativa (para la cual se contó con un calefactor y un ventilador eléctrico), alimentados con 15 y 20 gramos por día de cada dieta controlada (dieta purificada deficitaria y dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado) y agua *ad libitum*. Al finalizar el periodo de inducción a anemia (depleción) y recuperación (repleción) se determinó la concentración de la hemoglobina de cada animal para su comparación dentro del grupo.

3.4.2 Insumos de las dietas de los animales experimentales

En las Tablas del 05 al 11 se muestran la composición y análisis proximal en 100 g de cada insumo empleado en la dieta purificada deficitaria y la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado.

Tabla 05: Composición en 100 gramos de azúcar refinado

Nutrientes	Unidad	Cantidad
Agua	g	0,6
Carbohidratos totales	g	99,2
Carbohidratos disponibles	g	99,2
Cenizas	g	0,2
Zinc	mg	0,00
Hierro	mg	0,10
Retinol	ug	0,0
Vitamina A equivalentes totales	ug	0,0
Energía	Kcal	384,0

Fuente: Reyes *et al.* (2009)

Tabla 06: Análisis proximal en 100 gramos de caseína

Nutrientes	Unidad	Cantidad
Humedad	g	4,08
Proteínas	g	87,99
Extracto etéreo (grasa)	g	0,13
Fibra cruda	g	0,00
Ceniza	g	3,75
Extracto libre de nitrógeno	g	4,05
Energía	Kcal	369,33

Fuente: Bioterio del Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos (2014)

Tabla 07: Composición en 100 gramos de manteca vegetal

Nutrientes	Unidad	Cantidad
Agua	g	0,10
Grasa total	g	99,50
Cenizas	g	0,40
Zinc	mg	0,00
Hierro	mg	0,00
Retinol	ug	0,00
Vitamina A equivalentes totales	ug	0,00
Energía	Kcal	880,00

Fuente: Reyes *et al.* (2009).

Tabla 08: Análisis proximal en 100 gramos de fibra

Nutrientes	Unidad	Cantidad
Humedad	g	5,04
Proteína	g	5,46
Extracto etéreo	g	0,65
Fibra cruda	g	24,28
Ceniza	g	5,20
Extracto libre de nitrógeno	g	59,37
Energía	Kcal	265,17

Fuente: Bioterio del Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos (2014).

Tabla 09: Composición de la mezcla de sales minerales empleada en la formulación de la dieta purificada deficitaria

Minerales	Porcentaje
Sulfato de aluminio	0,017
Carbonato de calcio	54,293
Sulfato de cobre	0,090
Carbonato de magnesio	2,500
Cloruro de potasio	11,200
Yoduro de potasio	0,011
Fosfato de potasio monobásico	21,200
Fluoruro de sodio	0,100
Sulfato de manganeso	0,039
Cloruro de sodio	6,900
Sulfato de magnesio	1,600
Sulfato férrico	0,025 ¹

Fuente: Bioterio del Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos (2014)

¹Corresponde a 1.2 por ciento respecto al requerimiento de la dieta purificada empleada en el Bioterio de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

Tabla 10: Análisis proximal en 100 gramos de maicena

Nutrientes	Unidad	Cantidad
Humedad	g	12,68
Proteína	g	0,42
Extracto etéreo	g	1,27
Fibra cruda	g	0,73
Ceniza	g	0,25
Extracto libre de nitrógeno	g	84,65
Energía	Kcal	351,71

Fuente: Bioterio del Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos (2014)

Tabla 11: Composición de la mezcla de vitaminas empleada en la formulación de la dieta purificada deficitaria

Vitaminas	Porcentaje
Tiamina (B1)	0,025
Riboflavina (B2)	0,020
Piridoxina (B6)	0,020
Pantotenato de calcio	0,200
Niacina	0,200
Inositol	1,250
Menadiona	0,025
Biotina	0,001
Cianocobalamina (B12)	0,0001
Vitamina E	1,680
Cloruro de colina	1,200
Ácido fólico (B9)	0,0002 ^a
Rovimix (A, B2, D3)	0,02 ^b
Azúcar impalpable	95, 359

Fuente: Bioterio del Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos (2014)

^{a, b} Corresponde a 1,5 por ciento respecto al requerimiento de la dieta purificada empleada en el Bioterio de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

En la Tabla 19, se presenta los valores de la composición proximal y micronutrientes del yogurt fortificado liofilizado, las cuales fueron determinados teniendo en cuenta los resultados del análisis proximal y de micronutrientes por cada 100 g de yogurt fortificado en base húmeda (Tabla 16) y la humedad del producto liofilizado (NTP 202.137: 2005) en base parcialmente seca (9,87 por ciento).

3.4.3 Materiales empleados

3.4.3.1 Materia prima: Leche fresca, proveniente de la Planta Piloto de Leche de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

3.4.3.2 Material biológico: Ratas Holtzman machos del Bioterio del Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos (LENA) de la UNALM.

3.4.3.3 Insumos

- Ácido cítrico.
- Ácido fólico de grado alimentario.
- Azúcar blanca y azúcar refinada.
- Caseína.
- Colorante piña.
- Cultivo termófilo de yogurt.
- Esencia piña.
- Estevia en polvo.
- Fibra.
- Gluconato de zinc estabilizado.
- Leche en polvo descremado (LPD).
- Maicena.
- Manteca vegetal.
- Mezcla de vitaminas.
- Mezcla de sales minerales.
- Piña (fruta fresca).

- Pectina.
- Saborizante piña.
- Sorbato de potasio.
- Sulfato ferroso estabilizado con vitamina C y microencapsulado.
- Vitamina A palmitato 250 000 UI/g.

3.4.3.4 Materiales

- Algodón.
- Baldes de capacidad 5 y 15 litros.
- Bandejas metálicas.
- Batería provista de 30 jaulas metálicas de fierro galvanizado.
- Batidor de alambre.
- Bolsas de plástico.
- Botellas de vidrio de 300 mL (bebederos).
- Brocha.
- Bombilla de succión.
- Bureta.
- Butirómetros de Gerber con tapones, de 10 mL y 50 mL.
- Cápsulas metálicas con tapa.
- Cernidor.
- Cooler.
- Cucharón de palo.
- Cucharones de plástico, capacidad 50 gramos.
- Cuchillo.
- Desecadores con cloruro de calcio.

- Envases de plástico de 4 kilogramos de capacidad.
- Escobillas de cerdas de 1 pulgada para frascos.
- Espátula de acero inoxidable.
- Etiquetas autoadhesivas de colores de 19 * 13 mm y 3*3 pulgadas.
- Frascos de polietileno de 200 mL y 1 litro.
- Frascos de vidrio de 30 gramos (comederos).
- Gradilla.
- Guantes de látex desechables.
- Jarras de plástico, capacidad de 2 y 5 litros.
- Lactodensímetro Quévenne con termómetro.
- Lancetas marca Accu-Chek de 0,04 mm.
- Matraz de Erlenmeyer.
- Mesas.
- Micropipetas de plástico.
- Ollas con tapa, capacidad 6 kilogramos.
- Papel boom.
- Paletas de plástico desechables para helados.
- Pinza y nuez, pinza de crisol.
- Pipetas de 1 mL, 10 mL y 10,75 mL esterilizados.
- Pipetas de Sahli de 20 microlitros.
- Piseta con agua destilada.
- Plumón indeleble negro.
- Probeta de 250 mL.
- Soporte universal.
- Táper con tapa de 1; 2 y 2,4 kilogramos.

- Termómetro (0 a 100 °C).
- Tijera.
- Tira reactiva (Charm MRL Beta-lactámicos / Tetraciclina).
- Tubos de ensayo con tapa esterilizados.
- Tubos capilares microhematocrito heparinizados con sodio 80 iu/mL, 1,1 a 1,2 mm de diámetro interior.
- Vasos de plástico desechables de 3, 5 y 7 onzas.
- Vasos de plástico con tapa, desechables de 3,25 onzas.
- Vasos de precipitado.

3.4.3.5 Reactivos

- Ácido sulfúrico.
- Alcohol de 96%.
- Alcohol iso – amílico.
- Azul de metileno.
- Hidróxido de sodio 0,1 N.
- Hipoclorito de sodio marca clorox
- Fenolftaleína al 0,1%.
- Reactivo Drabkin.

3.4.3.6 Equipos

- Balanza analítica marca Adventurer, capacidad 1 y 2 kg.
- Balanza eléctrica marca Súper – SS, capacidad 5 kg.
- Balanza de plataforma marca Berkel, capacidad 5 kilogramos.
- Calefactor eléctrico marca Imaco.

- Centrífuga con calentador ($65\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$) de 1000 a 1200 rpm.
- Cocina.
- Descremadora marca Primo.
- Espectrofotómetro (Photometer 5010 V5⁺)
- Estufa.
- Liofilizador marca Virtis, capacidad 2,8 kg.
- Licuadora.
- Mezclador eléctrico marca Hobart, capacidad 5 kg.
- Cámara de refrigeración (2 a 6 $^{\circ}\text{C}$).
- Potenciómetro digital tipo pH meter.
- Refractómetro marca ABBE, capacidad entre 0 y 85 $^{\circ}\text{Brix}$.
- Refrigeradora marca Samsung.
- ROSA incubators.
- Ventilador eléctrico marca Isensidacqua.
- Viscosímetro Brookfield modelo RVT, Spindle N° 4 y rotación 10 rpm.

3.5 Metodología experimental

3.5.1 Elaboración del yogurt fortificado

El tipo de yogurt elaborado fue; yogurt frutado (piña procesada como mermelada); con adición de estevia en su forma cristalizada, sometido a un tratamiento mecánico debatido (fortificación y adición de los insumos indicados en las Tablas 12 y 13), parcialmente descremado a 1,8 por ciento y con un contenido de sólido total de 15,8 por ciento mediante la adición de leche en polvo descremado.

El proceso de elaboración del yogurt control y fortificado se muestran en las Figuras 02 y 03.

Tabla 12: Fortificación del yogurt por porción de 215 gramos para la población escolar

Micronutrientes	Control	T1	T2	T3	T4
Ácido fólico (mg)	-	0,05 (0,075)	0,09 (0,14)	0,14 (0,21)	0,20 (0,30)
Vitamina A palmitato 250 S/N (mg)	-	2,00 (0,15)	3,60 (0,27)	5,60 (0,42)	8,00 (0,60)
Sulfato ferroso estabilizado con vitamina C y microencapsulado (mg)	-	38,10 (2,00)	68,57 (3,60)	106,67 (5,60)	152,38 (8,00)
Gluconato de zinc estabilizado (mg)	-	21,28 (2,00)	38,30 (3,60)	59,57 (5,60)	85,11 (8,00)

Control (sin adición de micronutrientes), ingesta diaria recomendada de micronutrientes (RDA).

T1 (25% RDA), T2 (45% RDA), T3 (70% RDA) y T4 (100% RDA). T (concentración).

()), Equivalente a folato, retinol, hierro y zinc elemental; según valores de RDA (población escolar).

Tabla 13: Insumos en función a la cantidad del yogurt base

Insumos	Unidad	Cantidad
Mermelada de piña (65 °Brix)	%	5,000
Colorante piña	%	0,007
Esencia piña	%	0,010
Sorbato de potasio	%	0,009

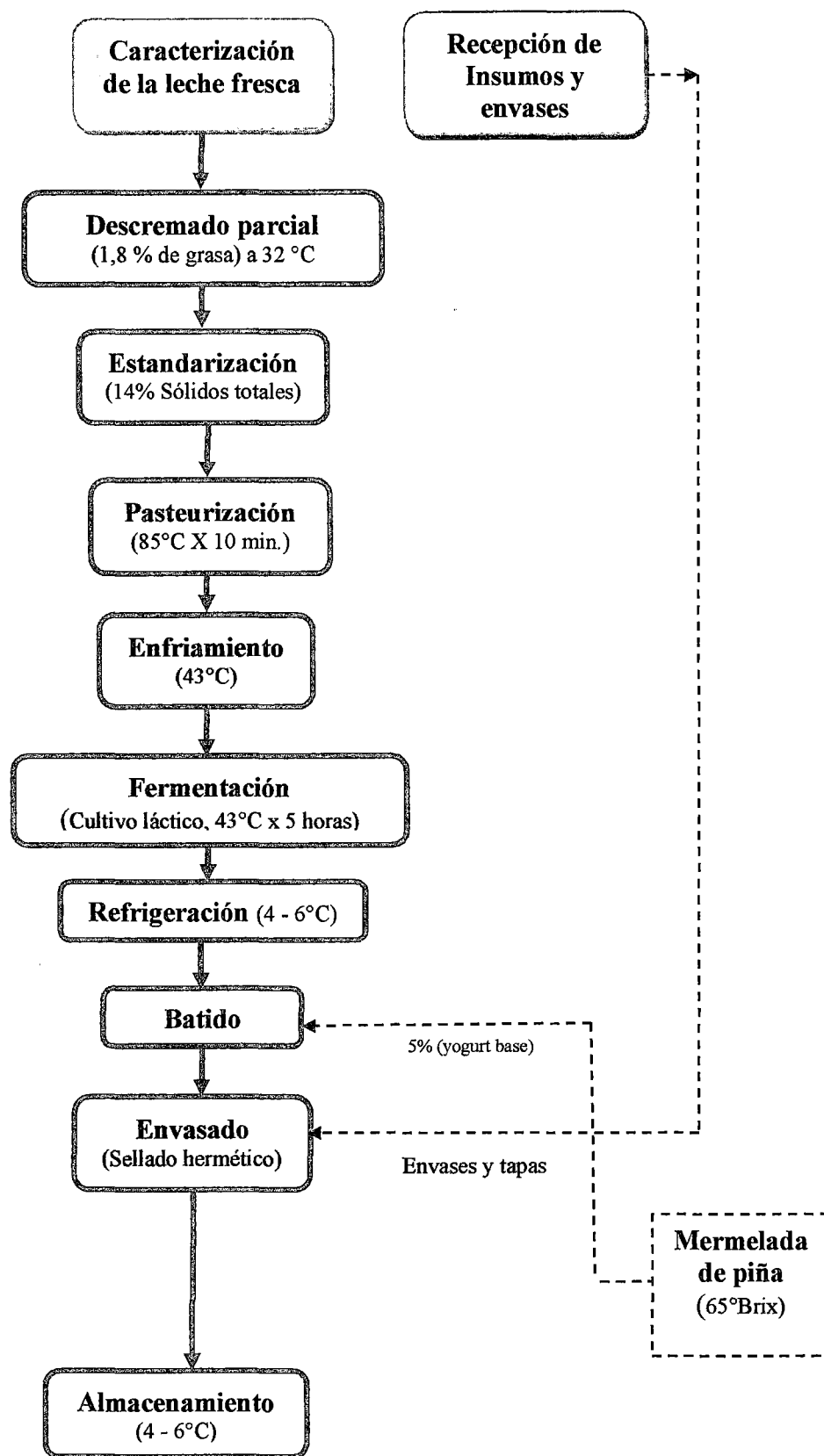


Figura 02: Diagrama de flujo para la elaboración del yogurt sin micronutrientes (control)

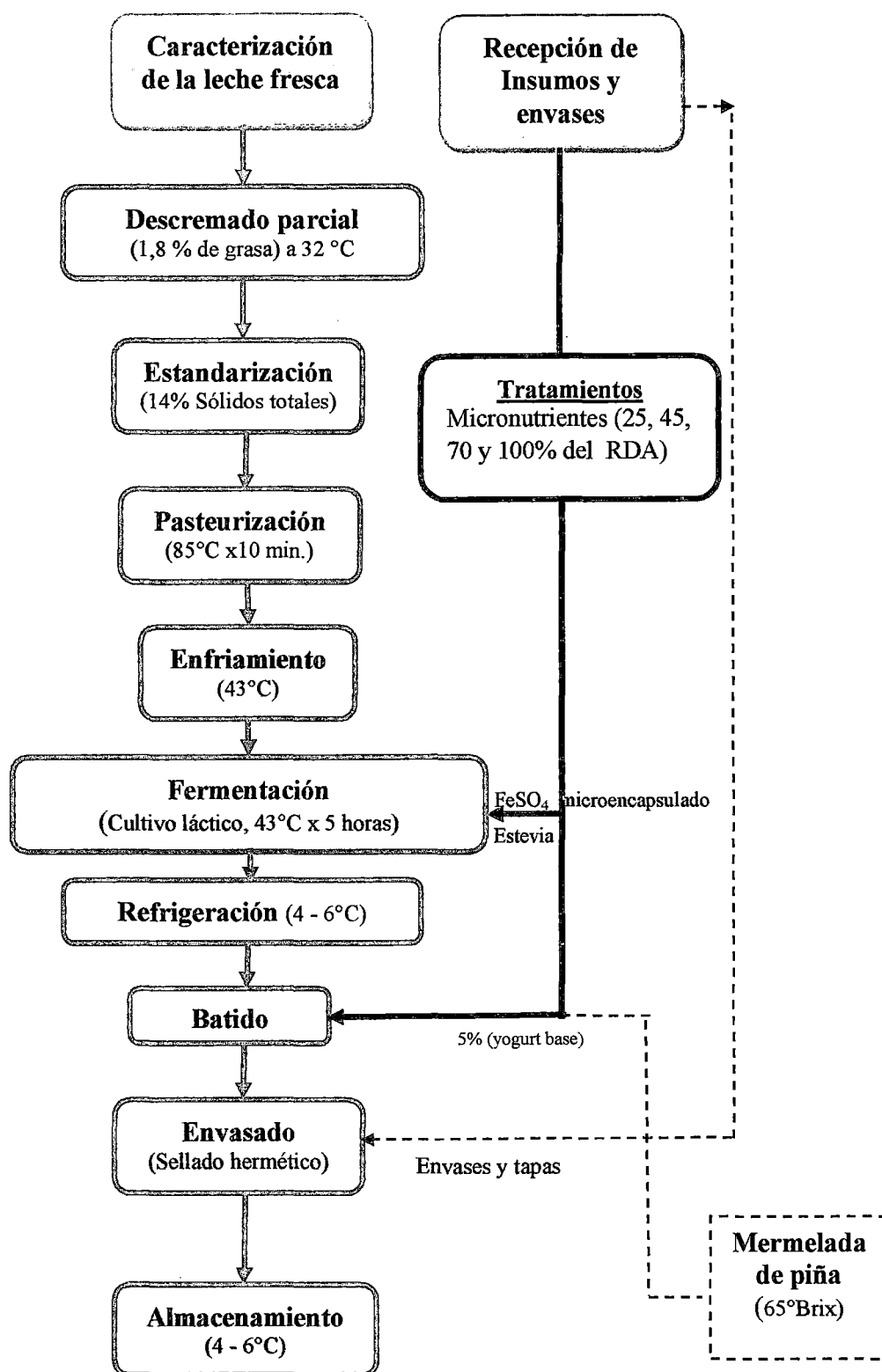


Figura 03: Diagrama de flujo para la elaboración del yogurt fortificado con vitamina A palmitato, ácido fólico, sulfato ferroso estabilizado con vitamina C y microencapsulado y gluconato de zinc estabilizado

3.5.2 Evaluación sensorial

Durante el almacenamiento se realizó la evaluación sensorial de los atributos sabor y color de las muestras del yogurt fortificado a diferentes concentraciones frente al control (yogurt sin adición de los micronutrientes), siendo clasificados en una escala hedónica preestablecida de cinco puntos (1 = me disgusta mucho y 5 = me gusta mucho), para dicho fin se contó con el apoyo de 26 personas de la Planta Piloto de Leche de la Universidad Nacional Agraria La Molina relacionadas con productos lácteos (Jefe de planta, control de calidad, personal de laboratorio y personal de producción), con tres repeticiones para todas las muestras en tres fechas distintas. Con la muestra que se aproxime más al control en cuanto al sabor y color (muestra óptima) se trabajó para evaluar el efecto del producto fortificado sobre la concentración de la hemoglobina en los animales experimentales anémicos, objetivo general del presente estudio. El formato empleado se muestra en el Anexo 05.

3.5.3 Métodos de análisis

Los análisis químicos realizados a la materia prima y producto fortificado fueron los siguientes:

- Densidad relativa, por el método NTP 202.008 (1998).
- Ensayo de reductasa o ensayo de azul de metileno, por el método NTP 202.014 (2004) (revisada el 2013).
- Antibióticos, Prueba Charm MRLBL / TET (detecta la combinación de beta-lactámicos /tetraciclina).

- Sólidos totales, Fórmula de Richmond modificada por Kirk *et al.* (1999).
- Humedad, por el método A.O.A.C (1984).
- Materia grasa, por el método NTP 202.028 (1998) (revisada el 2013).
- Ceniza, por el método NTP 202.172 (1998) (incineración en una mufla del material orgánico 540 a 550 °C).
- Acidez titulable, por el método NTP 202.116 (2008).
- Viscosidad aparente, por Viscosímetro Brookfield.
- pH, usando el PH-metro (potenciómetro).
- Grasa por el método FIL-IDF 116 A (1987).
- Humedad por el método FIL-IDF 151 (1991).
- Proteína por el método NTP 202.119 (1998).
- Cenizas por el método AOAC 945.46 (2012).
- Fibra cruda por el método NTP 205.003 (1980) (revisada el 2011).
- Carbohidratos por diferencia MS-IIN Collazos (1993).
- Ácido fólico por el método AOAC 944.12 (2005).
- Hierro por el método NOM 117-SSA1 (1994).
- Vitamina A por el método AOAC 2001.13 (2012).
- Zinc por el método NOM 117-SSA1 (1994).

3.5.4 Preparación del liofilizado para las raciones

El yogurt fortificado (100 por ciento de ingesta diaria recomendada), se congeló a - 80 °C por 4 horas, posteriormente se liofilizó a - 60 °C y a 100 Pa de presión, hasta la formación en polvo. El producto liofilizado se empleó en la formulación de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado empleada en la fase de repleción (recuperación) para

evaluar el efecto en la concentración de la hemoglobina de los animales experimentales anémicos.

3.5.5 Preparación y caracterización de las dietas purificadas

Las dietas que se formulan con un conjunto más refinado y restringido de ingredientes se designan dietas purificadas; siendo éstos ingredientes relativamente puras, así se tiene como fuente de: Proteínas (caseína y proteína aislado de soja), carbohidratos (azúcar y almidón), grasas y ácidos grasos esenciales (aceite vegetal y manteca de cerdo), fibra (celulosa), sales inorgánicas y vitaminas químicamente puros (Consejo Internacional para la Ciencia Animal de Laboratorio, 1987 citado por National Academies Press, 1995).

3.5.5.1 Dieta purificada deficitaria (fase de depleción)

Se preparó 5,250 kg de dieta purificada deficitaria en vitamina A, ácido fólico y hierro, cuya composición por 100 gramos se muestra en la Tabla 14, para dicho fin se empleó sólo el 1,2 por ciento de minerales (sulfato férrico) y 1,5 por ciento de vitaminas (ácido fólico y rovimix) del requerimiento de la especie, empleada por el Bioterio de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Antes de iniciar la alimentación para la inducción a anemia, se obtuvo la concentración de la hemoglobina de cada uno de los animales experimentales; cuyos datos fueron el punto de partida para observar la disminución de la hemoglobina, posteriormente cada unidad experimental recibió una ración controlada de 15 gramos por día por un periodo de 5 semanas, culminada éste tiempo se determinó la concentración de la hemoglobina y se registró el consumo diario de la dieta purificada deficitaria de cada unidad experimental (Anexos 14 y 24).

Tabla 14: Composición en 100 gramos de dieta purificada deficitaria

Ingredientes	Porcentaje	Proteína	Valor energético (Kcal)
Caseína	11,360	9,995	41,956
Mezcla de minerales ¹	3,918		0,000
Sulfato férrico	0,025		
Mezcla de vitaminas ²	4,641		16,891
Ácido fólico	0,0002		
Rovimix (A, B2 y D3)	0,020		
Grasa	7,000		61,600
Maicena	58,020		204,062
Azúcar	11,000		42,240
Fibra	5,000		13,259
			Total
			380,008

Fuente: Bioterio del Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos (2014)

¹Sulfato de aluminio $AlK(SO_4)_2 \cdot 12 H_2O$ (0,17), $CaCO_3$ (542,93), $CuSO_4$ (0,90), $MgCO_3$ (25), Kcl (112), KI (0,11), fosfato de potasio monobásico PO_4KH_2 (212,0), NaF (1,0), $MnSO_4 \cdot H_2O$ (0,39), Nacl (69,0), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (16,0) y Sulfato férrico $Fe_2(SO_4)_3 \cdot nH_2O$ (0,25); todas las cantidades en gramos por cada kilogramo de mezcla de minerales.

²Tiamina B1 (0,25), riboflavina B2 (0,20), piridoxina B6 (0,20), pantotenato de calcio (2,0), niacina (2,0), inositolmyo $C_6H_{12}O_6$ (12,50), menadiona K (0,25), biotina B uno por ciento (0,01), cianocobalamina B12 (0,001), vitamina E 25 por ciento (16,80), cloruro de colina $(CH_3)_3NCl CH_2CH_2OH$ (12,0), ácido fólico B9 (0,002), Rovimix (vitamina A, B2, D3) (0,15) y azúcar refinado (953,587); todas las cantidades en gramos por cada kilogramo de mezcla de vitaminas.

3.5.5.2 Dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado (fase de repleción)

Se preparó 5,6 kg de dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado liofilizado, en base a los requerimientos nutricionales de los animales (ratas de laboratorio) en crecimiento (Tabla 3), cuya composición por 100 g de alimento se muestra en la Tabla 15.

Tabla 15: Composición en 100 gramos de dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado

Ingredientes	Porcentaje	Proteína (%)	Valor energético (Kcal)
Yogurt fortificado	17,000	3,976	65,076
Caseína	6,952	6,117	25,676
Mezcla de minerales ¹	3,918		0,000
Mezcla de vitaminas ²	4,641		16,818
Grasa	6,300		58,344
Maicena	45,100		158,621
Azúcar	11,000		42,240
Fibra	5,000		13,259
		Total	380,034

¹AlK (SO₄)₂. 12 H₂O (0,17), CaCO₃ (542,93), CuSO₄ (0,90), MgCO₃ (25), KCl (112), KI (0,11), PO₄KH₂ (212,0), NaF (1,0), MnSO₄. H₂O (0,39), NaCl (69,0) y Mg SO₄.7H₂O (16,0). Todas las cantidades en gramos por cada kilogramo de mezcla de minerales.

²B1 (0,25), B2 (0,20), B6 (0,20), pantotenato de calcio (2,0), niacina (2,0), C₆H₁₂O₆ (12,50), menadiona K (0,25), biotina B 1% (0,01), B12 (0,001), vitamina E 25% (16,80), cloruro de colina (12,0) y azúcar refinada (933,86). Todas las cantidades en gramos por cada kilogramo de mezcla de vitaminas.

Después del periodo de inducción a anemia, observada mediante la disminución de la concentración de la hemoglobina, se procedió con el tratamiento (codificados con las letras UE-1, UE-2...UE-10, para su identificación) con la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado. Los datos de la concentración de hemoglobina obtenida después de la inducción fue el punto de partida para observar el incremento de la hemoglobina, el periodo experimental duró cuatro semanas con un suministro controlado de 20 a 20,05 g de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado. Culminada el experimento se registró la concentración de la hemoglobina y consumo diario del alimento de cada unidad experimental (Anexos 19 y 26)

A continuación se describe las etapas de la preparación de las dietas:

a. Pesado

Todos los ingredientes se pesaron de acuerdo a la formulación para cada dieta (dieta purificada deficitaria y dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado).

b. Mezclado

Se realizó el mezclado de la manteca vegetal y la fibra en un mezclador eléctrico (Marca Hobart, capacidad 5 kilogramos) a una velocidad baja, por un tiempo aproximado de 10 a 12 minutos, posteriormente se añadió el azúcar, caseína, yogurt fortificado liofilizado, mezcla de vitaminas y minerales por un espacio aproximado de 12 a 15 minutos para finalmente agregarle maicena (ingrediente liviano y fino), por un espacio de 8 a 10 minutos, obteniéndose una mezcla homogénea.

c. Envasado y almacenado

El alimento para cada dieta fue envasado y almacenado en recipientes de plástico herméticos de 4 kilogramos de capacidad, limpio y seco; en un ambiente con suficiente ventilación (22 a 23 °C) a fin de garantizar la conservación del alimento durante su consumo.

3.5.6 Determinación de la hemoglobina

Se recolectó 20 microlitros de sangre de cada animal experimental, empleándose para ello lancetas y pipetas de Sahli, la extracción se realizó a la altura de la punta de la cola previa higiene con agua destilada y alcohol, descartándose la primera gota de sangre, antes de la toma de muestra. Se tuvo en cuenta la ausencia de burbujas de aire en la pipeta, en caso de presencia se volvió a tomar una nueva muestra para evitar errores en la lectura. Culminada la extracción se limpió la cola con agua destilada hasta quitar el residuo de sangre. La muestra se transvasó a los tubos de ensayo rotulados conteniendo 5 mL de reactivo Drabkin, enjuagándose la pipeta con el diluyente 3 veces para luego mezclar y dejar en reposo por 10 minutos, finalmente se midió la absorbancia de la solución homogénea mediante un espectrofotómetro a una longitud de onda de 540 nm. Los componentes de la solución diluyente de Drabkin son: Bicarbonato de sodio (1 g), cianuro de potasio KCN (50 mg), ferrocianuro de potasio $K_3Fe(CN)_6$ (200 mg) destilado a 1000 mL (Benjamín, 1984). Se realizó los cálculos de la concentración de la hemoglobina empleando la siguiente fórmula:

$$\text{Factor} = 37$$

$$\text{Concentración de la hemoglobina} = (\text{Factor}) (\text{absorbancia de cada muestra}).$$

3.6 Instrumentos de colecta de datos

Los datos de la concentración de hemoglobina de las unidades experimentales fueron registrados en una ficha (Anexos 14 y 19).

El instrumento empleado para cuantificar la hemoglobina fue el espectrofotómetro (método cianometahemoglobina). Se midió la concentración de la hemoglobina al iniciar el experimento (basal); después de las cinco semanas del periodo de inducción a anemia (suministro de la dieta purificada deficitaria) y al finalizar las cuatro semanas de tratamiento (suministro de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado).

3.7 Procedimientos de análisis de datos

Para la evaluación sensorial de los atributos color y sabor de los cuatro tratamientos del yogurt se empleó el análisis de la varianza mediante el diseño bloque completo al azar (bloque: panelistas). El *software* empleado para el análisis de datos fue el InfoStat, para denotar las diferencias observadas como significativas se utilizó un nivel del cinco por ciento; según Anzaldúa (1994) y Watts *et al.* (1992) para la escala hedónica los valores pueden ser tratados como cualquier dimensión física y puede usarse la T de Student, la prueba F, el ANVA, análisis de regresión, etc.

Para comparar las diferencias de medias de las concentraciones de la hemoglobina del grupo experimental antes y después de la administración de las dietas purificadas (deficitaria y deficitaria más yogurt fortificado) se empleó la prueba T de Student para muestras relacionadas (diseño de estudio antes y después). El *software* empleado para el

análisis de datos fue SPSS versión 22; para denotar las diferencias observadas como significativas se utilizó un nivel del cinco por ciento.

3.8 Consideraciones éticas

a. Producto fortificado

Para el análisis sensorial; se contó con el personal de la Planta Piloto de Leche de la Universidad Nacional Agraria La Molina, quienes son conocedores de las características sensoriales de productos lácteos; se les brindó suficiente información para que tomen una decisión de forma voluntaria a través de un documento escrito para su participación como panelistas (Anexo 04).

b. Empleo de animales experimentales

En la investigación se siguió las pautas descritas en la guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio del Instituto Nacional de Salud (Fuentes *et al.*, 2008) y del Bioterio del Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos, se trabajó bajo la supervisión y asistencia técnica del personal del bioterio de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

184917

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Análisis proximal y micronutrientes del yogurt fortificado

En la Tabla 16 se muestran los resultados del análisis proximal y de micronutrientes, en ella podemos observar que los valores se encuentran dentro de los requerimientos por el grupo etáreo sugerida por Otten *et al.* (2006) siendo la ingesta diaria recomendada para niños (as) en edad escolar de 600 ug de retinol, 300 ug de folato, 8 mg de hierro y 8 mg de zinc; mostrándose los análisis de la leche fresca en el Anexo 02, valores dentro del rango a lo reportado por la NTP 202.001 (2010) que señala que la densidad a 15 °C debe estar en un rango de 1,029 a 1,034 g/mL, acidez 0,13 a 0,17 g de ácido láctico, sólidos totales mínimo 11,4 por ciento, materia grasa mínimo 3,2 por ciento y ceniza total máximo 0,7 por ciento, considerándose buena calidad según el tiempo de reducción del azul de metileno a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ de 5 horas (NTP 202.014:2004); por lo tanto la leche fresca empleada fue adecuada para su procesamiento.

La forma química de los fortificantes empleados fueron, la vitamina A palmitato 250 S/N (250 000 UI/g de vitamina A), ácido fólico de grado alimentario (90 por ciento de pureza), sulfato ferroso estabilizado con vitamina C y microencapsulado (contenido de hierro de

5,25 a 5,75 por ciento de p/p) y gluconato de zinc estabilizado (contenido de zinc de 9,4 a 11,6 por ciento p/p).

Tabla 16: Análisis proximal y de micronutrientes por cada 100 gramos de yogurt fortificado

Nutrientes	Unidad	Promedio
Carbohidratos	g	9,300
Cenizas	g	0,900
Grasa	g	1,500
Humedad	g	84,200
Proteína	g	4,100
Fibra cruda	g	0,000
Ácido fólico	ug	98,320
Hierro	mg	3,596
Retinol	ug	219,000
Zinc	mg	4,042

Según Reyes, *et al.* (2009) un yogurt frutado de leche parcialmente descremado presenta 73,8 g de agua, 4,1 g de proteínas, 2,8 g de grasa total, 18,2 g de carbohidratos disponibles, 0,3 g de fibra dietaria, 0,8 g de cenizas, 0,67 mg de zinc, 0,05 mg de hierro, 12 ug de retinol y 0,53 mg de vitamina C, toda esta composición en base a 100 gramos de alimento; de acuerdo a los resultados, el yogurt fortificado del presente estudio tuvo un contenido en promedio de 4,1 g de proteína valor igual al reportado por Reyes *et al.* (2009), con una ligera a moderada variación en lo referente a cenizas, grasa y humedad; siendo la mitad el contenido en carbohidratos (parcialmente edulcorado con estevia en polvo) y nula la fibra

cruda debido a que sólo se empleó un cinco por ciento de mermelada de piña.

4.2 Evaluación sensorial

Debido a que el producto fortificado es para consumo humano, específicamente será elaborado para la población escolar con fines preventivos y control de la anemia, el proceso empleado no debe cambiar el sabor ni el color del alimento vehículo, siendo necesario para tal fin evaluar dichos atributos; para ello los panelistas fueron reclutados teniendo en cuenta el conocimiento de productos lácteos, realizándose de acuerdo al formato (Anexo 05).

En el Anexo 03, se muestra los resultados de los análisis fisicoquímicos del yogurt fortificado (acidez 0,8 a 0,95, pH 4,25 a 4,5 y viscosidad 10 753 a 13 221 Cp) en seis días de almacenamiento (tiempo en la cual se realizó la evaluación sensorial), valores dentro del rango señalado por la NTP 202.092 (2008) que indica que el yogurt debe presentar una acidez entre 0,6 a 1,5 g de ácido láctico en 100 g de alimento y un $\text{pH} \leq 4,6$; según Reyes (2014) los yogures estandarizados a 13 por ciento de sólidos totales tienen una viscosidad aparente de 9 000 a 15 000 Cp.

En la Figura 04, se muestra los resultados del valor promedio del atributo color; información que se deriva del Anexo 07 de las puntuaciones según la escala hedónica; apreciándose mayores promedios en la escala 4 (me gusta moderadamente) seguida de la escala 5 (me gusta mucho).

En la escala 4, el porcentaje de aceptación predominante para la muestra 2341 (25% RDA) con un 77 por ciento, seguida de 73 por ciento para la muestra 4231 (70% RDA), 69 por

ciento para la muestra 3412 (45% RDA) y 62 por ciento de aceptación para la muestra 5343 (100% RDA); mientras que para la escala 5, se tuvo un 38 por ciento de aceptación para la muestra 5343, 27 por ciento para las muestras 3412 y 4231 respectivamente y 23 por ciento de aceptación para la muestra 2341, éstos resultados indican que el yogurt fortificado a diferentes concentraciones de micronutrientes tuvo buena aceptabilidad en cuanto al atributo color por los panelistas.

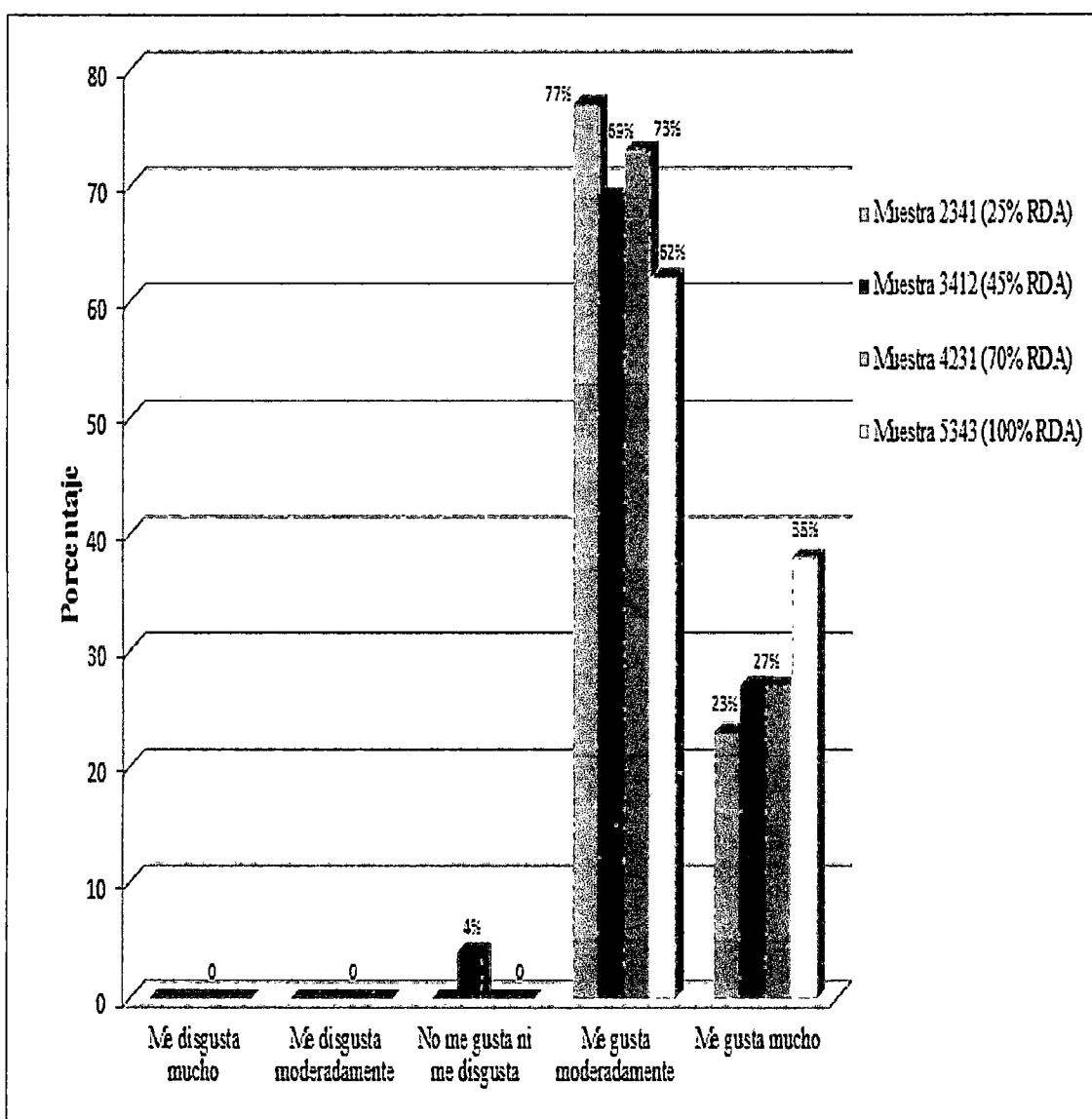


Figura 04: Promedio del atributo color evaluado por los panelistas

Los resultados de la Tabla 17, nos indica que no hay suficiente evidencia estadística para afirmar que hubo diferencia significativa en cuanto al color del yogurt fortificado respecto al control ($p\text{-valor} > 0,05$).

Tabla 17: Análisis de la varianza para el atributo color

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Panelistas	10,66	25	0,43	2,70	0,0005
Tratamientos	0,41	3	0,14	0,87	0,4589
Error	11,84	75	0,16		
Total	22,91	103			

En la Figura 05, se muestra los resultados del valor promedio del atributo sabor; información que se deriva del Anexo 11 de las puntuaciones según la escala hedónica; obteniéndose mayores promedios en la escala 4 (me gusta moderadamente) seguida de la escala 5 (me gusta mucho).

En la escala 4, el porcentaje de aceptación predominante para la muestra 3412 (45% RDA) con un 85 por ciento, seguida de 73 por ciento para la muestra 2341 (25% RDA), 69 por ciento para la muestra 4231 (70% RDA) y 5343 (100% RDA) respectivamente; mientras que para la escala 5, se tuvo un 27 por ciento de aceptación para las muestras 2341, 4231 y 5343 respectivamente y 12 por ciento de aceptación para la muestra 3412, éstos resultados nos indican que el yogurt fortificado a diferentes concentraciones de micronutrientes tuvo buena aceptabilidad por los panelistas en cuanto al atributo sabor, siendo según Rasic y Kurman (1978) uno de los atributos de mayor ponderación en la apreciación del yogurt.

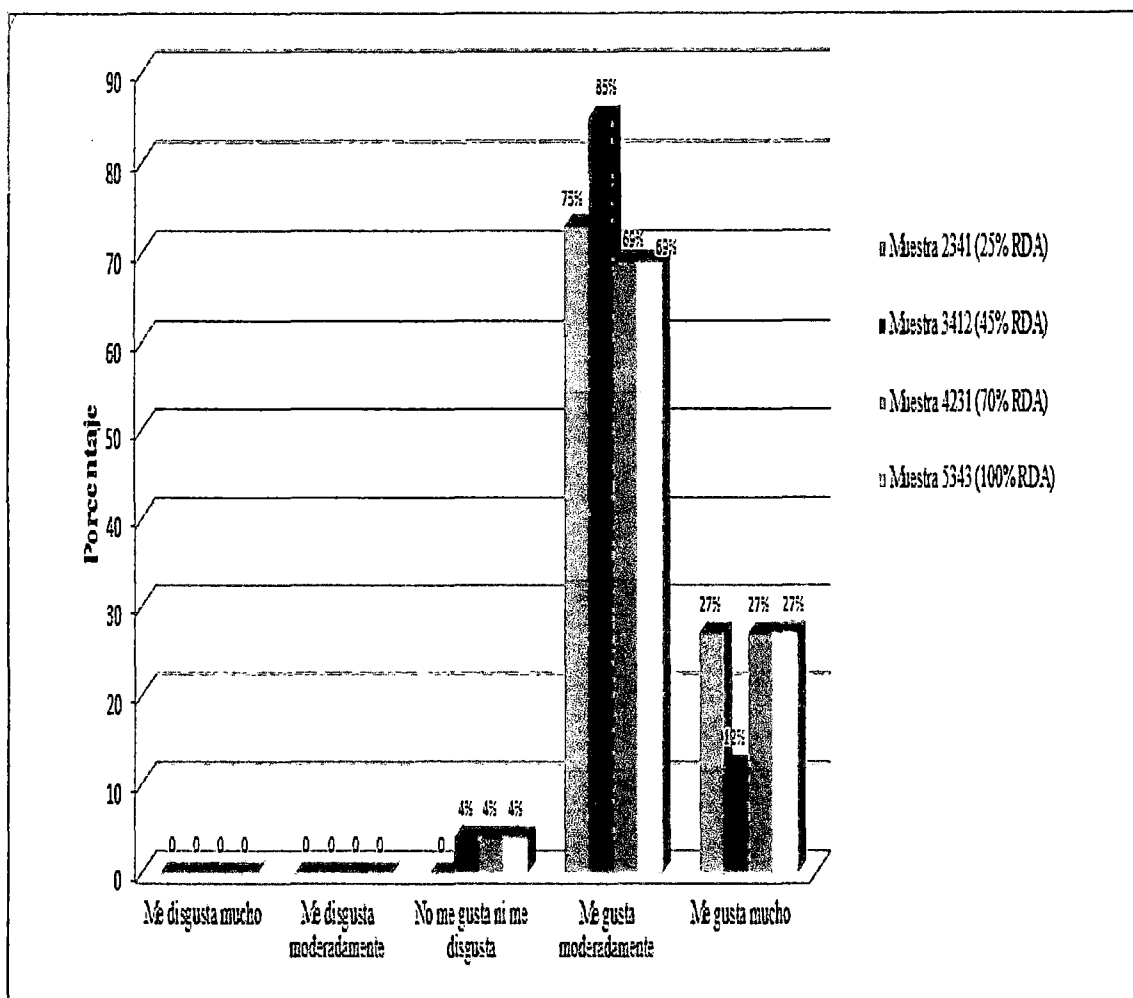


Figura 05: Promedio del atributo sabor evaluado por los panelistas

Los resultados de la Tabla 18, nos indica que no hay suficiente evidencia estadística para afirmar que hubo diferencia significativa en cuanto al sabor del yogurt fortificado respecto al control ($p\text{-valor} > 0,05$).

Al no encontrarse diferencias entre los cuatro tratamientos referente a los atributos en evaluación, se tomó el tratamiento cuatro (100 por ciento de la ingesta diaria recomendada) para la liofilización y en base a ello se realizó la formulación de la dieta en función al requerimiento de la especie (Tabla 03) para evaluar el efecto de los micronutrientes en los animales experimentales con anemia inducida. Según Amerine *et al.* (1965) señalan

innovar en el sabor, color, empaque y distribución, aspectos que conseguirán la aprobación del consumidor; mientras que Meilgaard *et al.* (1991) indican que mejorar un producto implica ajustar o aumentar los atributos clave del producto.

Tabla 18: Análisis de la varianza para el atributo sabor

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Panelistas	9,51	25	0,38	2,25	0,0038
Tratamientos	0,57	3	0,19	1,12	0,3471
Error	12,68	75	0,17		
Total	22,76	103			

4.3 Yogurt fortificado liofilizado

La vitamina A como palmitato y el ácido fólico empleada en la fortificación, son sensibles al calor (DSM, 2014), por ésta razón se liofilizó el yogurt fortificado con la finalidad de reducir las pérdidas de los componentes termo sensibles (Ramírez y Cañizares, 2003).

Pardo (2002), indicó que entre las ventajas está prevenir el daño térmico, inhibición del crecimiento microbiano, los volátiles diferentes del agua son retenidos y posterior recuperación de las propiedades del alimento al añadirle el volumen de agua que en un principio tenía.

La composición del producto fortificado liofilizado se muestra en la Tabla 19.

Tabla 19: Composición en 100 gramos de yogurt fortificado liofilizado

Nutrientes	Unidad	Valor
Carbohidratos	g	53,05
Cenizas	g	5,13
Grasa	g	8,56
Humedad	g	9,87
Proteína	g	23,39
Fibra cruda	g	0,00
Ácido fólico	ug	560,87
Hierro	mg	20,51
Retinol	ug	1249,29
Zinc	mg	23,06
Energía	Kcal	382,80

Según Orrego (2003) citado por Ramírez (2006) un producto liofilizado retiene las propiedades físicas, químicas, biológicas y organolépticas de sus estados frescos, el uso de rangos bajos de temperatura también evita la desnaturalización de proteínas; siendo la principal ventaja la calidad superior y la longevidad del producto.

Fellows (2000) indica que por éste proceso el movimiento de solutos es mínimo con la retención de nutrientes en gran porcentaje (temperaturas por debajo del punto de congelación y presiones reducidas), con cambios estructurales o encogimientos mínimos, en la que el aspecto, la textura, el sabor y el aroma no se pierden, se intensifican y se mantienen las características nutricionales (Charm, 1981; Yanovsky, 2003 citado por Ramírez, 2006), conservados adecuadamente se puede almacenar por periodos muy largos

con reducciones muy bajas de sus características organolépticas, físicas, químicas y biológicas (Ramírez, 2006).

La humedad del producto en estudio fue de 9,87 por ciento, Alvarado (1996) citado por Ramírez (2006) señala que la liofilización no altera la estructura fisicoquímica del material permitiendo su conservación indefinida sin cadena de frío, con menos de 15 por ciento de humedad y alta estabilidad microbiológica.

El propósito de emplear el método de secado por liofilización fue el mantener las propiedades nutricionales principalmente los micronutrientes empleados en el yogurt, la cual se empleó como parte de su dieta de los animales con anemia durante la fase de repleción (recuperación), empleado en su forma sólida para asegurar el consumo por el material biológico siendo estos no adiestrados a consumir yogurt en su forma natural.

4.4 Depleción de la hemoglobina o inducción a anemia

En la Figura 06 se muestra la representación gráfica comparativa de la concentración de la hemoglobina, notándose que los animales experimentales presentaron anemia ($Hb < 11$ g/dL) en distintas proporciones después de 35 días del consumo de la dieta purificada deficitaria en vitamina A, ácido fólico y hierro respecto al basal.

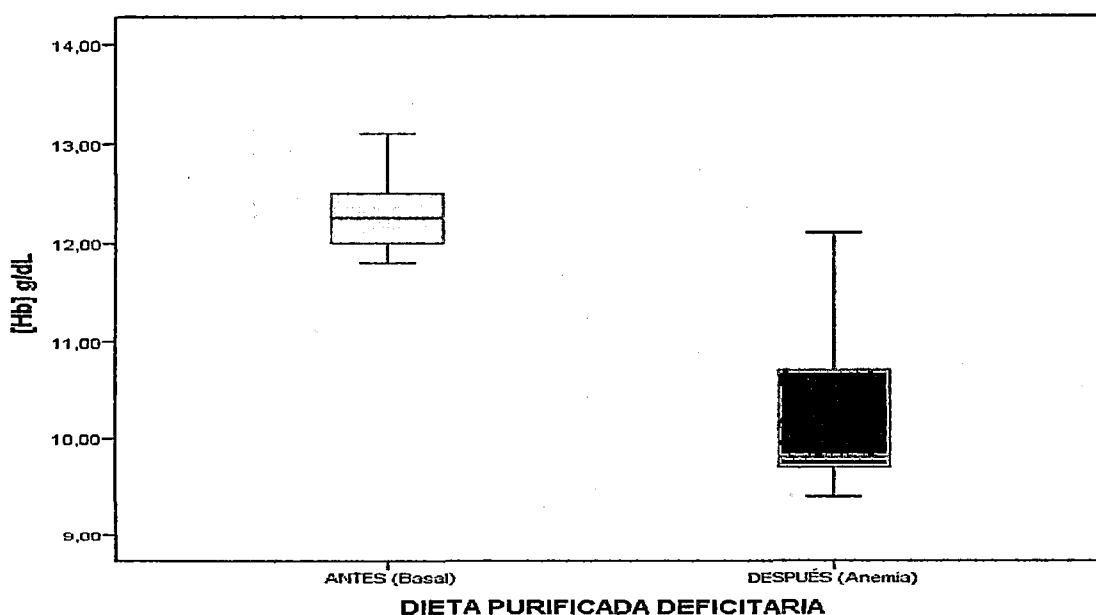


Figura 06: Concentración de la hemoglobina antes (basal) y después (anemia) de la dieta purificada deficitaria

Los resultados de la Tabla 20, nos indica que hay suficiente evidencia estadística para afirmar que hubo una disminución significativa de la concentración promedio de la hemoglobina con la dieta deficitaria en vitamina A, ácido fólico y hierro (p-valor < 0,05).

Tabla 20: Pruebas estadísticas comparativas de la hemoglobina antes y después del consumo de la dieta purificada deficitaria

Dieta purificada deficitaria	Hemoglobina promedio	N	Desviación estándar	Diferencias		
				de medias relacionadas	Prueba T	P-valor
Antes (Basal)	12,290	10	0,407	2,050	8,319	0,000
Después (Anemia)	10,240	10	0,943			

En la Figura 07, se aprecia que los animales experimentales anémicos presentaron en promedio 10,24 g/dL de hemoglobina respecto al basal (Hb = 12,29), como efecto de la dieta purificada deficitaria en vitamina A, ácido fólico y hierro.

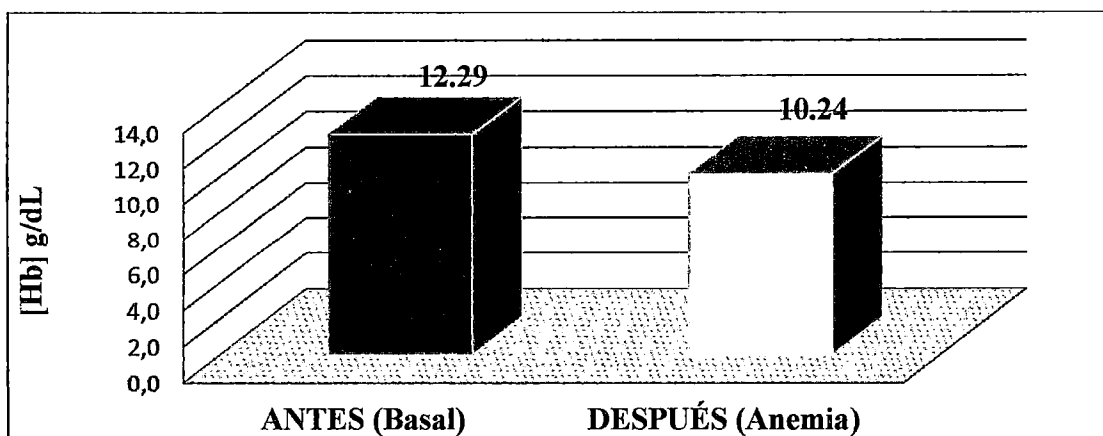


Figura 07: Promedio de la concentración de la hemoglobina antes (basal) y después de la dieta purificada deficitaria

En el Anexo 14, se muestra los resultados de la concentración de hemoglobina antes y después de los 35 días de recibir la dieta purificada deficitaria controlada, suministrada de 15 a 15,05 gramos diarios por animal experimental, con un consumo promedio mínimo de 12,68 gramos (rata 1) y máximo de 14,14 gramos (rata 3) (Anexo 25); en base al consumo controlado se obtuvo 10,24 g/dL de hemoglobina respecto al basal (12,29 g/dL), siendo el valor máximo al final del periodo de inducción de 12,1 g/dL y mínimo de 9,4 g/dL (Anexo 14) y gráficamente se aprecia en la Figura 06; mientras que en el estudio realizado por García *et al.* (2013) la concentración promedio de la hemoglobina va desde 12,73 a 8,73 antes y después de las ocho semanas de inducción a anemia.

La dieta purificada deficitaria en vitamina A, ácido fólico y hierro, permitió reducir la

concentración de la hemoglobina por debajo de las cantidades fisiológicas propias de los animales experimentales, en cinco semanas sometidas a inducción; cuya eficiencia de la formulación referente a la cantidad de animales (ratas Holtzman machos) que se hicieron anémicos fue de un 80 por ciento (8 ratas machos) respecto al punto de corte (anemia, hemoglobina menor a 11 g/dL), siendo su composición por 100 g de alimento de 0,025 g de sulfato férrico, 0,02 g rovimix (A, B2 y D3), 0,0002 g ácido fólico y caseína al 10 por ciento (Tabla 14), deficitario al 1,2 por ciento de minerales y 1,5 por ciento de vitaminas respecto al requerimiento de la formulación de la dieta purificada empleada por el Bioterio del Laboratorio de Evaluación Nutricional de la Universidad Nacional Agraria La Molina, cuyo resultado fue superior a lo reportado por García *et al.* (2013), quienes al trabajar con una dieta purificada deficitaria en hierro (1,28 mg Fe/kg de dieta) y caseína al 12,58 por ciento de proteínas, obtuvieron 60 por ciento de ratas machos anémicos en ocho semanas; por lo tanto la dieta purificada deficitaria empleada presentó mejor resultado en menos tiempo respecto a la dieta deficitaria sólo en hierro y caseína. Cabe señalar que los animales empleados en el estudio de García *et al.* (2013) fueron ratas Sprague Dawley machos de 21 a 24 días de destete, en cambio en el estudio la raza fue el Holtzman machos de 27 a 28 días de vida (destetados a los 20 a 21 días de nacido), siendo los animales en estudio con mayor tiempo de vida en comparación a los animales inducidos por otros autores (posterior al destete) siendo los animales recién destetados más vulnerables a caer anémicos por el suministro deficitario de nutrientes que participan en la síntesis de hemoglobina; mientras que Duarte *et al.* (1999), empleando una dieta de caseína con un contenido de 10 por ciento de proteínas obtuvieron 54 por ciento de animales anémicos de un total de 50 animales Raza Wistar machos en 45 días.

Las dietas purificadas deficitarias empleados por los diversos autores y en el presente

estudio, se encuentran por debajo de los requerimientos de la especie que son 15 por ciento de proteínas, 35 mg de hierro, 12 mg de zinc, 0,7 mg de vitamina A (Retinol) y 1 mg de ácido fólico, todos por kilogramo de dieta (National Academy Press, 1995).

Los resultados indican que la deficiencia de los micronutrientes en estudio producen anemia; es así que la deficiencia de retinol perjudica la utilización de hierro, debido a que el retinol y el ácido retinoico son necesarios para la síntesis de la proteína transportadora de hierro, la transferrina; la carencia del ácido fólico produce anemia megaloblástica siendo su principal función ayudar en la formación de glóbulos rojos al fijar el hierro a la hemoglobina, por otro lado la deficiencia del zinc con lleva a alteraciones inmunitarias por lo que cumple un rol primordial como parte del sistema inmune y es esencial para controlar las infecciones que dificultan la absorción de los nutrientes.

Se consideró a los 10 animales para la fase de repleción o recuperación, debido a que hubo una notable disminución de la hemoglobina en todos los animales experimentales respecto al basal, tal como se muestra en el Anexo 14.

4.5 Efecto de la vitamina A, ácido fólico, hierro y zinc en la concentración de la hemoglobina en ratas Holtzman machos con anemia

4.5.1 Repleción de la hemoglobina mediante el consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado

En la Figura 08, se representa gráficamente los resultados individuales; en la cual se aprecia claramente el incremento de la concentración de la hemoglobina de los animales

experimentales anémicos posterior al consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado (14,2 a 16,0 g/dL, n = 10).

Durante el periodo de recuperación, la ración diaria de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado fue controlada para cada animal, la cual consistió de 20 a 20,05 g de dieta suministrada por día, con un consumo promedio mínimo de 14,98 g (UE-8) y máximo de 19,86 g (UE-9) (Anexo 27); obteniéndose en promedio 15,04 g/dL de hemoglobina, recuperándose de la anemia el 100 por ciento de los animales experimentales tal y como se aprecia en el Anexos 19, después de los 28 días de tratamiento; por lo tanto el yogurt fortificado con los cuatro micronutrientes presenta un efecto anti anémico.

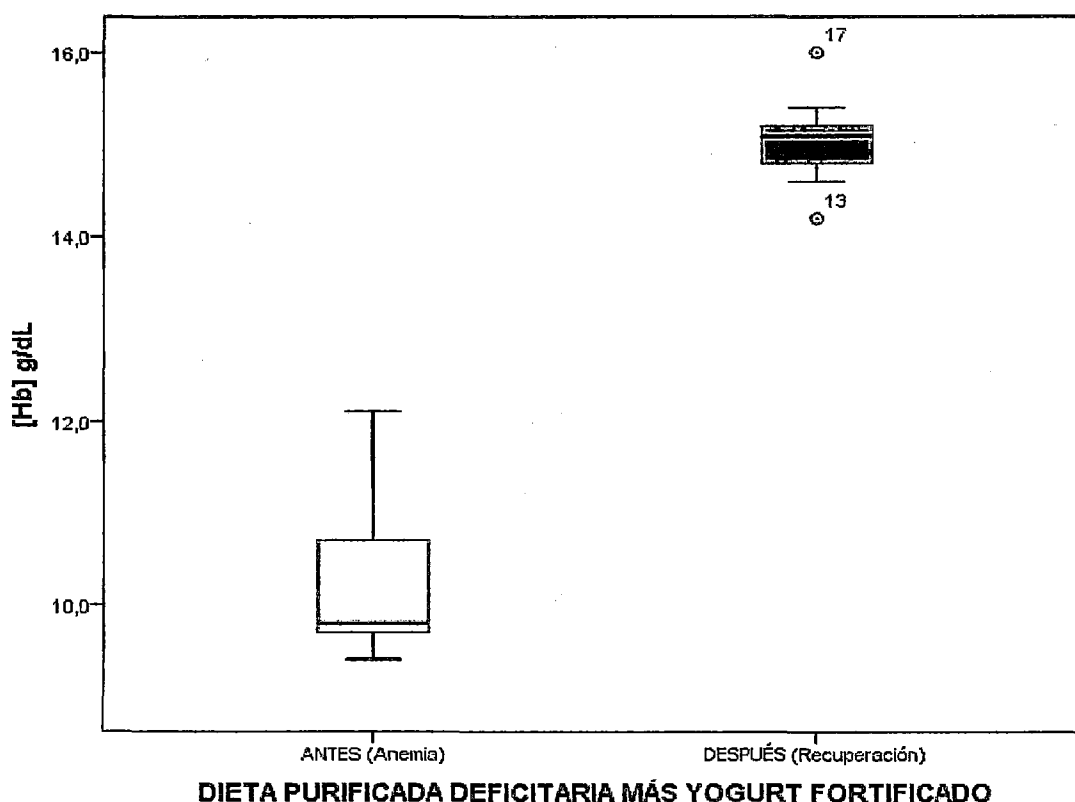


Figura 08: Concentración de la hemoglobina antes (anemia) y después de la dieta deficitaria más yogurt fortificado

En la Figura 09, se aprecia la recuperación de la anemia de los animales experimentales con la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado, siendo éste último la única fuente de la vitamina A, ácido fólico, hierro y zinc, con un incremento en promedio de 4,80 g/dL de hemoglobina (10,24 a 15,04 g/dL).

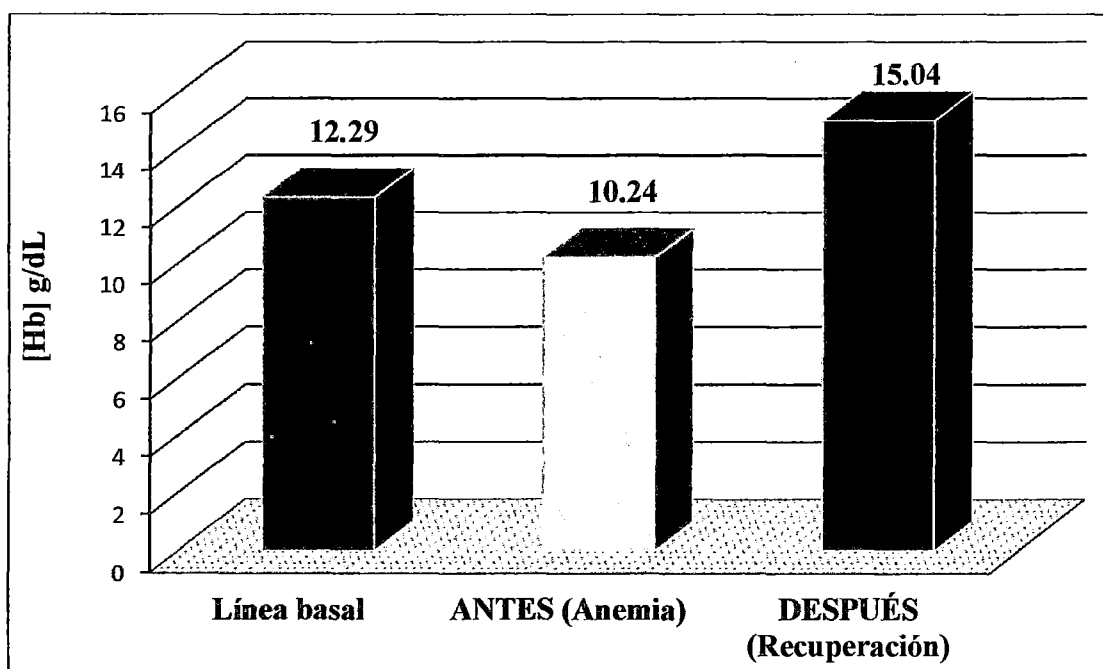


Figura 09: Promedio de la concentración de la hemoglobina basal, antes (anemia) y después (recuperación) del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado

Los resultados de la Tabla 21, nos indica que hay suficiente evidencia estadística para afirmar que hubo un incremento significativo de la concentración promedio de la hemoglobina con la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado (p-valor < 0,05).

Tabla 21: Pruebas estadísticas comparativas de la hemoglobina antes y después del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado

Dieta deficitaria más yogurt fortificado	Hemoglobina promedio	N	Desviación estándar	Diferencias		
				de medias relacionadas	Prueba T	P-valor
Después (Recuperación)	15,04	10	0,49	4,80	12,54	0,000
Antes (Anemia)	10,24	10	0,94			

En las últimas décadas se ha incrementado considerablemente las investigaciones relacionados con el desarrollo de alimentos fortificados con diferentes fuentes de hierro y/o nuevas alternativas terapéuticas más eficaces que las que existen en la actualidad (García *et al.*, 2013).

La WHO (2014), recomienda aumentar la absorción de hierro mediante la fortificación, a la vez controlar las infecciones y mejorar el estado nutricional de otras deficiencia como la vitamina B12, ácido fólico y vitamina A que participan en la síntesis de la hemoglobina, por éstas razones en la dieta se empleó como fortificantes el sulfato ferroso estabilizado con vitamina C y micro encapsulado (3,49 mg de hierro), gluconato de zinc estabilizado (3,92 mg de zinc), vitamina A como palmitato (0,212 mg de retinol) y ácido fólico de grado alimentario (0,095 mg) por 100 gramos de dieta, empleando como vehículo de dichos fortificantes el yogurt debido a que en nuestro país en la lista de alimentos saludables recomendados para su expendio en quioscos escolares están considerados los yogures parcialmente descremados con bajo contenido de azúcar (MINSA, 2012) y también por la aceptabilidad del producto por el grupo etáreo, incrementándose su producción nacional año tras año, siendo en el año 2009 de 116,03 millones de kilogramos

(MINAG, 2009).

Se sabe que el hierro para que se absorba debe estar en su estado ferroso, lo cual se logra en presencia de pH ácido, por ello se empleó en el estudio al sulfato ferroso microencapsulado estabilizado con vitamina C (facilita la absorción de hierro al formar quelatos con hierro férrico a un pH ácido que permanece soluble al pH alcalino del duodeno), debido a que la adición directa de esta vitamina al yogurt afecta la calidad debido a su acidez, por ello Kim *et al.* (2003) recomienda microencapsular a ambos para su uso en los alimentos. Se empleó como vehículo el yogurt ($\text{pH} \leq 4,6$) debido a que el ácido láctico es promovedor de la absorción del hierro al igual que la vitamina A incorporado y sin dejar de lado al ácido fólico, que fija el hierro a la hemoglobina. Existen evidencias de que el hierro inorgánico se utiliza en la síntesis de la hemoglobina, siendo el mineral un nutriente esencial para la mayoría de los procesos de oxidación-reducción y constituye el átomo central de la estructura de la hemoglobina (Murray *et al.*, 1994), siendo mayor su absorción en deficiencia del metal, anemias hemolíticas e hipoxia.

Una de las manifestaciones clínicas de la anemia es el incremento en el número de infecciones por alteración del sistema inmune (Secretaría de salud, 2003; Lozoff *et al.*, 1991 citado por Nemirovsky, 2010), por ello se empleó el zinc como uno de los fortificantes debido a que cumple un rol fundamental como parte del sistema inmunitario (Blanco, 2011).

La recuperación de la anemia con los micronutrientes empleados se produce debido a que la vitamina A beneficia la condición hematológica y el metabolismo del hierro (Alfaro y Carvajal, 2001; Ortiz *et al.*, 2000 y Latham, 2002 citados por Papale, 2008); dicha

vitamina está implicada en la movilización del hierro desde el hígado, dado que el retinol y el ácido retinoico son necesarios para la producción de la proteína transportadora de hierro (transferrina); mejorando dicha absorción en el precario intestino delgado (Quiroz, 2009; Devil, 2006; Castrillón y Serpa, 2013). Existe antecedentes que la vitamina³A interviene en la hematopoyesis, una mayor exposición permite que se formen o se liberen a la circulación más glóbulos rojos dentro de las limitaciones que impone una deficiencia de hierro corporal total, las evidencias sugieren que este efecto es mediado a través de la síntesis de transferrina y receptores de transferrina, de ahí mejoran la movilización e ingreso del hierro a los tejidos eritropoyéticos (Bowman y Russell, 2003; Quiroz, 2009); el hierro participa en la formación de glóbulos rojos en la médula ósea, junto con cobalto, cobre, proteínas y vitaminas y cumple el papel en la formación de la hemoglobina con un 65 por ciento de hierro (Blanco, 2011), el ácido fólico ayuda en la formación de glóbulos rojos al fijar el hierro a la hemoglobina, mientras que la absorción de la vitamina A es favorecido por el zinc (Piñeiro, 2014).

El efecto del incremento de la hemoglobina ha sido demostrado en varios estudios tanto en animales experimentales como en humanos; entre ellos está en lo reportado por García y Villar (2010) quienes en su estudio señalan que una dieta a base de quinua enriquecida con retinol incrementa significativamente la concentración de la hemoglobina sérica en ratas variedad albina con anemia inducida; por otro lado en estudios sobre fortificación de alimentos con hierro y vitamina A se encontraron efectos favorables en el estado nutricional del hierro en los niños preescolares y mujeres embarazadas (Alfaro y Carvajal, 2001; Ortiz *et al.*, 2000 y Latham, 2002 citados por Papale, 2008); mientras Bowman y Russell (2003) al realizar estudios en mujeres anémicas, comprobaron que la hemoglobina aumenta más cuando a la administración diaria de suplementos de hierro se agregan

vitamina A y zinc; así mismo Alfaro y Carvajal (2001) indican que las mujeres embarazadas que recibieron suplementos con hierro y vitamina A, la hemoglobina aumentó significativamente, eliminándose la anemia en un 97 por ciento; mientras que en un estudio aleatorizado con doble enmascaramiento y controlado, en china con niños de 6 a 9 años, se encontró que el tratamiento con zinc y polimicronutrientes mejoraron más en todas las pruebas sobre el desempeño neuropsicológico en comparación a los tratados con zinc solo o con polimicronutrientes solos (Sandstead *et al.*, 1998; citado por Bowman y Russell, 2003) debido a que la función cognitiva incrementa al aumentar la concentración de la hemoglobina con el tratamiento (Howard, 2005).

V. CONCLUSIONES

- Al comparar las medias del atributo sensorial color, del yogurt fortificado con vitamina A, ácido fólico, hierro y zinc, no se encontró diferencias significativas a diferentes concentraciones de micronutrientes al cotejar con un yogurt sin micronutrientes (p-valor > 0,05).
- Al comparar las medias del atributo sensorial sabor, del yogurt fortificado con vitamina A, ácido fólico, hierro y zinc, no se encontró diferencias significativas a diferentes concentraciones de micronutrientes al cotejar con un yogurt sin micronutrientes (p-valor > 0,05).
- La dieta purificada deficitaria en vitamina A como rovimix (0,02 g), ácido fólico (0,0002 g) y sulfato férrico (0,025 g) por 100 g de alimento, fue efectiva con un 80 por ciento de animales anémicos (Hb < 11 g/dL) basada en la concentración de la hemoglobina (Hb promedio 10,13 g/dL).
- El tratamiento con la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado con vitamina A (retinol 0,212 mg), ácido fólico (0,095 mg), hierro (3,49 mg) y zinc (3,92 mg) por 100 gramos de alimento tuvo un efecto anti anémico basada en la concentración de la hemoglobina (Hb promedio: 10,1 a 15,04 g/dL).

VI. RECOMENDACIONES

- Evaluar la estabilidad de los micronutrientes empleados en el estudio durante la vida en anaquel del yogurt.
- Evaluar el efecto del yogurt fortificado sobre la anemia leve a moderada en niños (as) en edad escolar, tomando como base el efecto anti anémico demostrado en un modelo animal.
- En los programas implementados por el estado se considere como uno de sus componentes la estrategia de prevención y control de la anemia, mediante el suministro de productos fortificados con micronutrientes cuyos efectos preventivos hayan sido demostrados.
- En todo programa, proyecto y estrategia de intervención nutricional se considere la línea basal como punto de partida para determinar el efecto e impacto que se logren sobre la sociedad.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Acevedo, I; García, O; Contreras, J; Acevedo, I. 2009. Elaboración y evaluación de las características sensoriales de un yogurt de leche caprina con jalea semifluida de piña. Universidad Centro occidental “Lisandro Alvarado” (UCLA); Barquisimeto, estado Lara, Venezuela.
2. Alfaro, T. y Carvajal, D. 2001. Influencia de la deficiencia de vitamina A sobre la anemia en niños(as) preescolares de Costa Rica. *Acta pediátr. Costarric.* 15 (2).
3. Amerine, MA; Pangborn, RM; Roessler, EB. 1965. Principles of sensory evaluation of food. In: *Food Science and Technology Monographs*. Academic Press. New York. p. 338-339.
4. Anzaldúa, A. 1994. La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y en la práctica. Editorial Acribia. Zaragoza-España.
5. Araya, H y Ruz, M. 2007. Evaluación de riesgos para vitaminas y minerales en alimentos fortificados. Departamento de Nutrición, facultad de medicina de la Universidad de Chile.
6. Arredondo, M; Le Blanc, S; Silva, C; Pizarro, F. 2005. Interacciones negativas entre hierro, cobre y zinc. INTA. Chile.
7. Benjamín, MM. 1984. Manual de patología clínica en veterinaria. Editorial Limusa.1

- ed. México.
8. Blanco, T. 2011. Alimentación y nutrición. Fundamentos y nuevos criterios. 1 ed. Perú.
 9. Boccio, J; Salgueiro, G; Lysionek, A; Zubillaga, M; Goldman, C; Weill, R; Caro, R. 2003. Metabolismo del hierro: conceptos actuales sobre un micronutriente esencial. ALAN. 53 (2): 119-132.
 10. Bowman, BA y Russell, RM. 2003. Conocimientos actuales sobre nutrición. 8 ed. Washington, EUA.
 11. Cardozo, CA; Mrad, A; Martínez, C; Rodríguez, E; Lolas, F. 2007. El animal como sujeto experimental. Aspectos técnicos y éticos. Centro interdisciplinario de estudios en bioética (CIEB). Vicerrectoría de investigación y desarrollo. Universidad de Chile. 1 ed. 228 p.
 12. Castrillón, DC y Serpa, AM. 2013. Adición de vitaminas A, B, C, D y de los minerales hierro y calcio en productos lácteos para niños entre 1 y 4 años. Tesis. Antioquía, Corporación Universitaria Lasallista, Facultad de Ingeniería de Alimentos. 75 p.
 13. Céspedes, A. 2008. Programas sociales con productos fortificados para infantes, niñas y niños pequeños. Programa Mundial de Alimentos. Reunión Subregional de los Países de América del Sur. Lima - Perú.
 14. Codex Alimentarius. 1997. Guidelines for Use of Nutrition Claims. CAC/GL 23.
 15. Cook, JD y Monsen, ER. 1976. Food iron absorption in human subjects III. Comparison of the effect of animal proteins on nonheme iron absorption. Seattle. EE.UU. Am. J. Clin. Nutri. 29: 859 – 867.
 16. Cuevas, R. 2009. IX Congreso Peruano de Nutrición, VI Curso Internacional de Actualización en Nutrición y IV Jornadas Peruano Chilenas de Nutrición.

- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Perú.
17. Charm Sciences INC. 2014. Consultado 28 jun. 2014. Disponible <http://www.charm.com/>.
 18. Charm, SE. 1981. The Fundamentals of Food Engineering. 3 ed. 660 p.
 19. Devil, T. 2006. Bioquímica: libro de texto aplicaciones clínicas. España: Reverte, S.A.
 20. DSM (Bright Science. Brighter Living, PE). 2014. Folic Acid Food Grade and Dry Vitamin A Palmitate 250 S/N. Consultado 15 feb. 2013. Disponible <http://www.dsm.com/corporate/about/our-company.html>
 21. Duarte, TR; Carvalho, SM; Sgarbieri, VC. 1999. Bovine Blood components: Fractionation, Composition, and Nutritive value. J Agric Food Chem. 47 (1): 231-6.
 22. ENDES (Encuesta Demográfica y de Salud Familiar, PE). 2012. Perú. Consultado 24 set. 2013. Disponible <http://proyectos.inei.gob.pe/web/biblioineipub/bancopub/Est/Lib1075/index.html>
 23. ENDES (Encuesta Demográfica y de Salud Familiar, PE). 2013. Perú.
 24. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, RO). 2013. Roma. Consultado 24 may. 2014. Disponible <http://www.paho.org/nutricionydesarrollo/wp-content/uploads/2012/12/Normas-Protocolos-y-Consejeria-para-la-Suplementacion-con-Micronutrientes-Ecuador.pdf>
 25. Fellows, P. 2000. Food Processing Technology: Principles and Practice. 2 ed.
 26. Fuentes, FM; Mendoza, RA; Rosales, AL; Cisneros, RA. 2008. Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: Ratón. Centro Nacional de Productos Biológicos. Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud. Perú.
 27. Gaitán, D; Olivares, M; Arredondo, M; Pizarro, F. 2006. Biodisponibilidad de hierro en humanos. Laboratorio de Micronutrientes Instituto de Nutrición y

- Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile. Rev. Chil. Nutr. 33 (2):142-148.
28. García, LM. y Villar, FP. 2010. Efecto de una dieta a base de *Chenopodium Quinoa* “Quinua” enriquecida con retinol, sobre la concentración de hemoglobina sérica en *Rattus rattus* variedad albinus con anemia inducida. Tesis para optar el Título Profesional de Licenciada en Nutrición: Trujillo, Perú. Universidad de César Vallejo, Facultad de Ciencias Médicas, Escuela Profesional de Nutrición. Trujillo. 56 p.
29. García, Y; García, A; Ángeles, SC; Carmona, A; Cárdenas, R. 2013. Evaluación de dieta purificada para la obtención de biomodelo de ratas anémicas. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas. 32(3): 312-320.
30. Gonzales, EF; Melgarejo, GC; Chávez, LK; Arellán, LJ; Carbajal, E; Cabrera, YA; Quiróz, GM, García, IN; Llanto, M; Choque, FG. 2013. Efecto terapéutico del extracto etanólico de *Erythroxylum coca* spp. En anemia ferropénica inducida en ratas Holtzman macho. Anales de la Facultad de Medicina. 74 (1): 7-10.
31. Grandy, G; Weisstaub, G; López, D. 2010. Deficiencia de hierro y zinc en niños. Rev. Soc. Bol. Ped. 49 (1): 25-31.
32. Grudem, S; Debustos, C. 2014. Situación de la fortificación de alimentos en el Perú. Programa Mundial de Alimentos. Consultado el 10 dic. 2014. Disponible http://www.bvs.ins.gob.pe/congresos/images/ponencias/dia_8/sala_ABC_3ra_mesa/1_y_2_PMA_Fortificacion_Cecilia_De_Bustos.pdf
33. Hallberg, L.1998. Does calcium interfere with iron absorption. Am. J. Clin. Nutr. v.3, 68 p.
34. Hernández, E. 2005. Evaluación sensorial. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Colombia. 128 p.

35. Hernández, M. y Sastre, A. 1999. Tratado de Nutrición. Ediciones Díaz de Santos, S.A. Madrid.
36. Howard, MD. 2005. Nutrition and Student Performance at School. Journal of School Health. California. 75 (6): 199-213.
37. Kaneko, JJ. 1989. Clinical biochemistry of domestic animals. Academic Press Inc. 894 p.
38. Kim, SJ; Ahn, J; Seok, JS; Kwak, HS. 2003. Microencapsulated Iron for Drink Yogurt Fortification. Asian Australasian Journal of Animal Science. 16 (4). Korea.
39. Lage Comercial S.A.C. 2012. Pre-mezclas vitamínicas e insumos para la industria alimentaria. Perú.
40. LipoTech. 2014. Especificación de Sulfato ferroso estabilizado con vitamina C y micro encapsulado. Argentina.
41. Liria-Domínguez, MR. 2007. Guía para la evaluación sensorial de alimentos. Instituto de Investigación Nutricional. *Agro Salud*. 45 p.
42. Madrid, A. 2012. Guía práctica de nutrición y dietética. Un tratado completo, moderno y práctico de nutrición y dietética en un solo libro. AMV ediciones. 1 ed. España. 375 p.
43. Meilgaard, M; Civille, GV; Carr, BT. 1991. Sensory Evaluation Techniques. 2 ed. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida.
44. Melo, V; Cuamatzi, O. 2007. Bioquímica de los Procesos Metabólicos. 2 ed. Editorial Reverté, S.A. México. 406 p.
45. MINAG (Ministerio de Agricultura, PE). 2009. Consultado 11 jun. 2014. Disponible http://www.infolactea.com/p_informacion.php.
46. MINSA (Ministerio de Salud, PE). 2012. Resolución Ministerial 908-2012/MINSA. Alimentos saludables recomendados para su expendio en los quioscos escolares de las instituciones educativas. Perú.

47. Munayco, CV; Ulloa, ME; Medina, J; Lozano, CR; Tejada, V; Castro, C; Munarriz, J; De Bustos, C; Arias, L. 2013. Evaluación del Impacto de los Multimicronutrientes en Polvo sobre la Anemia Infantil en tres Regiones Andinas del Perú. *Rev. Peru. Med. Exp. Salud Pública*. 30(2): 229-234.
48. Muñoz, AM. 1990. Alimentación y Nutrición. Perú. 1 ed.
49. Murray, RK; Granner, DK; Mayes, PA; Rodwell, VW. 1994. Bioquímica de Harper. 13 ed. México. El Manual Moderno. 961 p.
50. National Academy Press. 1995. Nutrient Requirements of Laboratory Animals. Washington, D.C.
51. Nemirovsky, Y. 2010. Estimación del efecto del camu camu (*Myrciaria dubia* H.B.K Mc Vaugh, 1958) como fuente de vitamina C, en la biodisponibilidad de hierro. Tesis para optar el grado de Magister Scientiae. Lima- Perú. Universidad Nacional Agraria la Molina, Escuela de Postgrado de Nutrición. Lima. 116 p.
52. Olivares, M; Pizarro, F; Ruz, M. 2005. Inhibición de la absorción de hierro por el zinc: Efecto de dosis fisiológico y Farmacológicos. INTA. Chile.
53. OPS (Organización Panamericana de la Salud, WA). 2002. Compuestos de hierro para la fortificación de alimentos. Guía para América latina y el Caribe. Washington.
54. Otten, JJ; Pitz, J; Meyers, LD. 2006. Dietary reference intakes: The essential guide to nutrient requirements. Institute of medicine of the national academies. Washington, D.C.
55. Padilla, A. 2011. El rol de los lácteos en las nuevas tendencias del retail. Chile. Zenith International.
56. Palafox, GM. 2003. Vitamin A deficiency, iron deficiency, and anemia among preschool children in the republic of the Marshall Islands. *Nutrition*. 19(5): 405-

- 408.
57. Papale, JF; Nieves, M; Torres, M; Berné, Y; Dellan, G; Rodríguez, D; Mendoza, N. 2008. Anemia, deficiencias de hierro y de vitamin A y helmintiasis en una población rural del estado Lara. *Anales Venezolanos de Nutrición* 21(2): 70-76.
58. Pardo, JM. 2002. Modelling Studies on Freeze-drying of Coffee Extracts. A PhD. Thesis. The University of Reading. Faculty of Life Sciences. School of Food Biosciences.
59. Paredes, G y Bolaños, R. 2009. Biodisponibilidad del zinc. *Rev. Perú. Pediatr.* 62 (2).
60. Penland, JG. 2000. Behavioral data and methodology issues in studies of zinc nutrition in humans. *Journal of Nutrition.* p. 361-364.
61. Piñeiro, R. 2014. Micronutrientes y desarrollo cognitivo. Cuba. Consultado 15 jun. 2014. Disponible portal.oas.org/.../Pineiro,%20nutricion%20desarrollo%20cognitivo.ppt.
62. Pizarro, F; Olivares, M; Kain, J. 2005. Hierro y zinc en la dieta de la población de Santiago. *Rev Chil Nutr. Universidad de Chile. Chile.* 32(1).
63. Programa Nacional de Alimentación Escolar QALI WARMA (MIDIS). 2013. Perú. Consultado 18 jun. 2014. Disponible <http://www.qaliwarma.gob.pe/>.
64. Quiroz, P. 2009. Relación de la reserva de Hierro y la ingesta de Vitamina A en el rendimiento escolar de adolescentes. *Renut.* 3(7): 333-344.
65. Ramírez, JS. 2006. Liofilización de alimentos. Colombia. *ReCiTeIA* 6(2): 36 p.
66. Ramírez, JS y Cañizares, J. 2003. Deshidratación de la papa mediante liofilización atmosférica. Universidad Central del Ecuador, Escuela de Ingeniería Química. Ecuador.
67. Rasic, J. y Kurman, J. 1978. Yogurt: Scientific grounds, tecnology, manufacture and

- preparations. Technical dairy publishing house, vanlose, Copenhagen. Denmark.
68. Ravina, R; Paulini, J; Cancho, C. 2002. Consultado 20 de jul. 2014. Disponible <http://www.cies.org.pe/sites/default/files/investigaciones/costo-efectividad-del-programa-de-desayunos-escolares-de-foncodeess-y-el-programa-de-alimentacion-escolar-del-pronaa.pdf>.
69. Reyes, JF. 2014. Desarrollo de yogurt light para la planta de lácteos ecolac de la UTPL- Ecuador. Tesis para optar el grado de Magister Scientiae en Tecnología de Alimentos de la UNALM. Perú.
70. Reyes, M; Gómez-Sánchez, I; Espinoza, C; Bravo, F; Ganoza, L. 2009. Tablas peruanas de composición de alimentos. 8 ed. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud. 64 p.
71. Romero, F. 2008. Estabilidad de vitaminas, vida comercial y bioaccesibilidad de folatos – hierro en fórmulas infantiles de continuación y crecimiento. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia. Murcia. Facultad de Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los Alimentos. 214 p.
72. Saewondo, S; Husaini, M; Pollitt, E.1989. Effects of iron deficiency on attention and learning processes in preschool children: Bandung, Indonesia. American Journal of Clinical Nutrition. 50(3): 667-673.
73. Secretaría de salud. ME. 2003. Bases Técnicas para la Suplementación de Vitaminas y Minerales en la Infancia y Adolescencia. México. 1 ed. Disponible en <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/documentos/DOCSAL7235.pdf>.
74. Soemantri, AG; Pollit, E; Kim, I. 1985. Iron Deficiency Anemia and Educational Achievement. American Journal of Clinical Nutrition. 42(6): 1221-1228.
75. Suarez, T; Torrealba, M; Villegas, N; Osorio, C; Nieves, M. 2005. Deficiencias de hierro, ácido fólico y vitamina B12 en relación a anemia, en adolescentes de una

- zona con alta incidencia de malformaciones congénitas en Venezuela. Universidad Nacional Experimental "Francisco de Miranda" (TS, MT, NV) e Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (CO, MNGC).
76. Tamine, A y R. Robinson. 1985. Yoghurt science and technology. Oxford Pergamon Press – UK – 431.
 77. Ugarte, M; Giraudo, M; Sánchez, H. 2011. Fortificación con hierro de productos lácteos. Universidad Nacional de Lanús. Argentina. 12(2): 154-164.
 78. UMC (Unidad de medición de la calidad educativa, PE). 2013. Evaluación Censal de Estudiantes (ECE 2013). Ministerio de educación. Consultado 16 jul. 2014. Disponible <http://umc.minedu.gob.pe/?p=1405>.
 79. Urdampilleta, A; Martínez, JM; González, P. 2010. Intervención dietético-nutricional en la prevención de la deficiencia de hierro. Nutr. Clín. Diet. Hosp. 30(3): 27-41.
 80. Villarroel, L; Álvarez, J; Maldonado, D. 2003. Aplicación del análisis de componentes principales en el desarrollo de productos. 2(3): 399-408.
 81. Watts, B.M; Ylimaki, G.L; Jeffery, L.E; Elias, I.G. 1992. Métodos sensoriales básicos para la evaluación de alimentos. Centro Internacional de investigación para el desarrollo CID. Ottawa – Canadá.
 82. Wedner, S y Ross, D. 2008. Vitamin A deficiency and Its prevention. International Encyclopedia of Public Health. 532 p.
 83. West, DW. 1986. Structure and function of the phosphopyrilated residues of casein. J. Dairy Sci. 53: 333-352.
 84. Whittaker, P. 1998. Iron and zinc interactions in humans. Am. J. Clin. Nutr. 68(2): 442-446.
 85. WHO (Organización Mundial de la Salud, GI). 2014. Deficiencias de micronutrientes. Consultado 13 jul. 2014. Disponible

<http://www.who.int/nutrition/topics/ida/en/>

86. WHO (Organización Mundial de Salud, GI). 2011. Concentraciones de hemoglobina para evaluar la anemia y diagnosticar su gravedad. Ginebra.

WHO/NMH/NHD/MNM/11.1. Consultado 18 jul. 2014. Disponible

http://www.who.int/vmnis/indicators/haemoglobin_es.pdf.

87. WHO (Organización Mundial de la Salud, GE). 2008. Worldwide prevalence of anaemia 1993–2005: WHO global database on anaemia / Edited by Bruno de Benoist, Erin McLean, Ines Egli and Mary Cogswell. Ginebra. Consultado 13 jun.

2013. Disponible

http://www.who.int/vmnis/database/anaemia/anaemia_data_status_t2/es/index.html

ANEXOS

ANEXO 01: Certificados de análisis de los micronutrientes empleados, estevia y yogurt fortificado

Bio-Zn A.A.S.®

LipeTech S.A.

Unidad Legal y Administrativa
Av. Juan Manuel de Rosas, 1000
0142000, Ciudad de Buenos Aires, Argentina
Tel: 011 4773 4900
Fax: 011 4773 4901

Labores y Partes de
Acción y Partes de
Acción y Partes de
Acción y Partes de
Acción y Partes de

ESPECIFICACIÓN DE PRODUCTO

Código Producto: 230

Gluconato de Zinc estabilizado
Ingrediente alimentario. Nutriente.

Características Físico-químicas	Especificación
Aspecto	Blanco a ligeramente amarillento, fino, fluido. Higroscópico.
Solubilidad	En agua destilada al 5 % p/p. Solución incolora, traslúcida.
pH solución	En agua destilada al 5 % p/p: $6,5 \pm 1,0$ (5,5 a 7,5)
ZINC	Como zinc (% p/p): $10,5 \pm 1,1$ (9,4 a 11,6)
Contenido de agua	No más de 10 % p/p (Karl-Fischer)
Arsénico	No más de 2 mg/Kg
Plomo	No más de 2 mg/Kg
Mercurio	No más de 2 mg/Kg
Cadmio	No más de 2 mg/Kg

Características microbiológicas	Especificación
Aerobios mesófilos viables totales	No más de 1000 UFC/g
Enterobacterias	Ausente en 1 g
Coliformes	Ausente en 1 g
Hongos y levaduras	No más de 100 UFC/g

Propiedades principales

- Estable durante el uso y la vida útil del producto.
- Alta solubilidad en agua. Proporciona soluciones traslúcidas e incoloras.
- Alta Biodisponibilidad

Principales aplicaciones

Nutriente mineral Zinc, suplementos dietarios, fortificación de alimentos.

Packaging	Doble bolsa de polietileno en cajas de cartón o en bolsa polipapel conteniendo 10 Kg de producto.
Condiciones almacenaje	Lugar fresco y seco (8 a 20 °C). Perfectamente cerrado en su envase original y al abrigo de la luz.
Vida útil	2 (dos) años contados desde su elaboración bajo las condiciones de almacenamiento recomendadas.

vacu



Denominación Legal y Administración:
Av. Santa Fe 3935 2º A - (C1425BIC) Capital Federal, ARGENTINA
Tel: (+54 11) 4773 3930 / Fax: (+54 11) 4777 0345

Laboratorio y Planta Industrial:
Alberti 1751 - (B1766BII) La Tablada, Prov. Buenos Aires, ARGENTINA
Tel-Fax: (+54 11) 4699 6888 / 4699 6620 / 4699 7182

CERTIFICADO DE ANÁLISIS

Nº: 3012

Producto: **Bio-Zn A.A.S.®**

Código: 230

Lote Nº: 2814

Análisis: 30 ABR 2013

Elaboración: 16 ABR 2013

Vencimiento: 16 ABR 2015

Características Físico-químicas	Especificación	Resultado
Aspecto	Blanco a ligeramente amarillento, fino, fluido. Higroscópico.	CUMPLE
Solubilidad	En agua destilada al 5 % p/p. Solución incolora o ámbar claro, traslúcida.	CUMPLE
pH solución	En agua destilada al 5 % p/p: $6,5 \pm 1,0$ (5,5 a 7,5)	6,3
ZINC	Como zinc (% p/p): $10,5 \pm 1,1$ (9,4 a 11,6)	10,5
Contenido de agua	No más de 10 % p/p (Karl-Fischer)	3,6
Arsénico	No más de 2 mg/Kg	CUMPLE
Plomo	No más de 2 mg/Kg	CUMPLE
Mercurio	No más de 2 mg/Kg	CUMPLE
Cadmio	No más de 2 mg/Kg	CUMPLE

Características microbiológicas	Especificación	Resultado
Aerobios mesófilos viables totales	No más de 1000 UFC/g	CUMPLE
Enterobacterias	Ausente en 1 g	AUSENTE
Coliformes	Ausente en 1 g	AUSENTE
Hongos y levaduras	No más de 100 UFC/g	CUMPLE

Dra. LAURA M. CACERES
BIOQ. M.P. 6408
JEFE DE CONTROL DE CALIDAD

FIRMA

PRODUCT SPECIFICATION

Product Code: 130

Ferrous Sulphate Stabilised with Vitamin C and microencapsulated.
Food ingredient. Nutrient.

Physical-chemical Properties.	Specification
Appearance	Creamy, homogenous, greenish-grey, viscous, thixotropic product. Soft characteristic smell.
pH	3.7 ± 0.5 (3.2 to 4.2)
Density	Relative to water (20 to 25°C): 1.19 ± 0.02 (1.17 to 1.21)
IRON	As iron (% w/w): 5.50 ± 0.25 (5.25 to 5.75) As iron (% w/v): 5.50 ± 0.30 (5.20 to 5.80)
Arsenic	Less than 2 mg/Kg
Lead	Less than 2 mg/Kg
Mercury	Less than 1 mg/Kg
Cadmium	Less than 1 mg/Kg

Microbiological analysis	Specification
Total aerobes	Less than 1000 CFU/g
Enterobacteriaceae	Absent in 1 g
Yeasts and moulds	Less than 100 CFU/g
Staphylococcus aureus	Absent in 1 g

Main Characteristics
- Stable in the food under customary conditions of storage, distribution and use. - High bio-availability / physiologically available from the food.

Main applications
Nutrient: source of iron, dietary supplements, food fortification, fluid milk, powder milk, yoghurt, dairy products, dairy desserts, infant formulation, fruit concentrates.

Packaging	Plastic bottles, sealed with an PEAD – aluminium foil, with plastic cap and conveniently labelled.
Package	Carton, containing plastic bottles, secured in a plastic box (expanded polyurethane - Isolation material). Conveniently Labelled.
Storage conditions	Keep tightly closed in original container, no air chamber, stored in a fresh area (-8 °C to +15 °C). Do not freeze. Do not store under 6 °C.
Shelf life	Shelf life is 1 year from date of manufacture, when stored according to the recommended storage conditions.

Handwritten signature



Product Information

Product Data Sheet

Folic Acid Food Grade

Description

Folic Acid Food Grade is a yellow to yellowish-orange, crystalline, practically odourless powder.

Product identification

Product code: 50 0435 7

Chemical name: N-[4-[[[2-amino-1,4-dihydro-4-oxo-6-pteridiny]methyl]amino]benzoyl]-L-glutamic acid

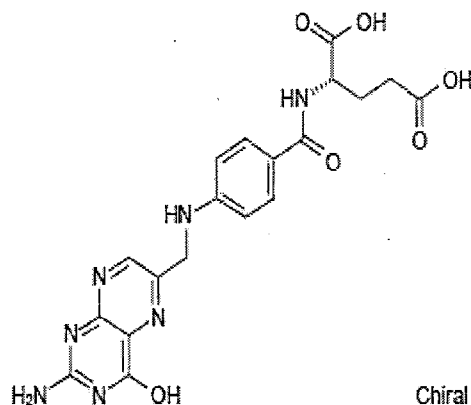
Synonyms: pteroylglutamic acid (PGA); vitamin B₉; folacin

CAS No.: 59-30-3

EINECS No.: 200-419-0

Empirical formula: C₁₉H₁₉N₇O₆

Molecular mass: 441.40 g/mol



Specifications

Appearance:	yellow to yellowish-orange powder
Identity:	corresponds
Water:	5.0-8.5%
Lead:	max. 2 ppm
Sulphated ash (residue on ignition):	max. 0.3%
Assay:	95.0-102.0% (on anhydrous material)
Related substances:	
N-(4-Aminobenzoyl)-L-glutamic acid:	max. 0.5%
2,5,6-Triaminopyrimidin-4(1H)-one:	max. 0.5%
Pteric acid:	max. 1.0%
Any other impurity:	max. 0.5%
Total of other impurities:	max. 3.0%

**DSM**

BRIGHT SCIENCE. BRIGHTER LIVING.

Product Information

Product Data Sheet

Folic Acid Food Grade

Solubility

Folic Acid Food Grade is very slightly soluble in water, insoluble in alcohol, acetone, ether and chloroform, and readily soluble in solutions of alkali hydroxides and carbonates.

Stability and storage

Folic Acid Food Grade is fairly stable to air, but somewhat sensitive to heat and light, especially to ultraviolet radiation. Neutral solutions are relatively stable. Acids, alkalis and reducing or oxidizing agents may cause decomposition. The product may be stored for 36 months from the date of manufacture in the unopened original container in a dry place and at a temperature below 25 °C. The 'best use before' date is printed on the label.

Compendial compliance

Folic Acid Food Grade meets all requirements of the FCC when tested according to this compendium.

Uses

For food, baby food and dietetics.

This product is not intended for use in the manufacture of sterile drug products. The purchaser assumes all responsibility for additional processing, testing, labelling and registration required for such use.

Safety

This product is safe for the intended use. Avoid ingestion, inhalation of dust or direct contact by applying suitable protective measures and personal hygiene.

For full safety information and necessary precautions, please refer to the respective DSM Material Safety Data Sheet.

**DSM**

BRIGHT SCIENCE. BRIGHTER LIVING.

Product Information

Product Data Sheet

Dry Vitamin A Palmitate 250 S/N

Description

Dry Vitamin A Palmitate 250 S/N is a light yellow to tan, fine powder. The individual particles contain vitamin A palmitate finely dispersed in a matrix of modified food starch, sucrose and fractionated coconut oil. BHT (E 321), sodium ascorbate, sodium benzoate and sorbic acid are added as preservatives. Silicon dioxide is added as a processing aid.

Product identification

Product code: 50 1255 4

Chemical name: all-*trans*-3,7-dimethyl-9-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexene-1-yl)-2,4,6,8-nonatetraene-1-yl palmitate

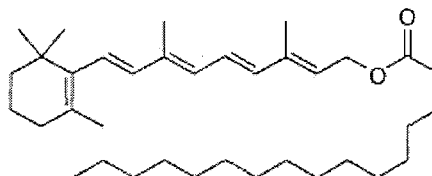
Synonyms: retinyl palmitate; all-*trans*-vitamin A palmitate; vitamin A palmitate

CAS No.: 79-81-2

EINECS No.: 201-228-5

Empirical formula: $C_{36}H_{60}O_2$

Molecular mass: 524.87 g/mol



Specifications

Appearance:	light yellow to tan, fine powder
Identity for vitamin A palmitate:	corresponds
Identity for BHT:	corresponds
Fineness (US standard sieves):	
100% through sieve No. 30	
min. 98% through sieve No. 50	
min. 90% through sieve No. 60	
min. 45% through sieve No. 100	
Residue on ignition:	max. 5%
Loss on drying:	max. 5%
Vitamin A content:	min. 250 000 IU/g
Microbiological purity:	corresponds



Product Information

Product Data Sheet

Dry Vitamin A Palmitate 250 S/N

Dispersibility

Dry Vitamin A Palmitate 250 S/N disperses quickly and completely in cold water. High concentrations produce cloudy dispersions which, however, remain uniform for relatively long periods.

Stability and storage

Dry Vitamin A Palmitate 250 S/N is sensitive to air, heat, light and humidity. The product may be stored for 24 months from the date of manufacture in the unopened original container and at a temperature below 15 °C. The 'best use before' date is printed on the label. Keep container tightly closed. Once opened, use contents quickly.

Uses

For staple food fortification (especially flour and sugar), baked products, beverages and other foods.

Compendial compliance

The active ingredient, Vitamin A Palmitate meets all requirements of the relevant monographs of the USP, the FCC and the Ph. Eur. when tested according to these compendia.

Safety

This product is safe for the intended use. Avoid ingestion, inhalation of dust or direct contact by applying suitable protective measures and personal hygiene.

For full safety information and necessary precautions, please refer to the respective DSM Material Safety Data Sheet.

FCPN/CCQ-INASEQ-18/2011

La Paz, 15 de febrero de 2012

Página 1 de 5

INFORME DE ANALISIS

HQ/SA/14/2012

1. Empresa: MAJOTA.
2. Solicitante: Ing. Victor Taborga.
3. Análisis: Requisitos de calidad de producto de stevia en polvo.
4. Número de muestras: Una muestra de edulcorante con stevia en polvo.
Stevie-Línea Dorada. En frascos de 20 g.
5. Resultados:

Requisitos organolépticos

Parámetro	Muestra	Valores según NB	Método de Ensayo
	Stevie-Línea Dorada	37013	
Color	Blanco	Blanco, ligeramente amarillento	Análisis sensorial
Olor	Inodoro	Inodoro	Análisis sensorial
Sabor	Dulce intenso y ligeramente amargo	Dulce intenso y amargo	Análisis sensorial
Aspecto	Polvo	Polvo	Análisis sensorial

Requisitos de identificación

Parámetro	Muestra	Valores según NB	Método de ensayo
	Stevie-Línea Dorada	NB 37013	
Solubilidad en agua	Soluble	Soluble	Ensayo cualitativo de solubilidad
Solubilidad en alcohol etílico	Soluble	Soluble	Ensayo cualitativo de solubilidad
Solubilidad en alcohol metílico	Soluble	Soluble	Ensayo cualitativo de solubilidad



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUIMICAS

Cota Cota Calle 27 Campus Universitario

Teléfonos 2792238 — 2795878

Fax: 591 - 2 - 2792238

Cajón Postal N° 303

La Paz — Bolivia

Página 2 de 5

Parámetro	Requisitos de pureza		Método de ensayo
	Muestra Stevia-Línea Dorada	Valores según NB 37013	
Glicósidos de esteviol (%)	95	Mínimo permitido 95 %	NB 37017
Humedad (%)	4.87	Máximo permitido 4 %	NB 37014
pH	7	6.5 - 7 en solución acuosa	NB 37016
Cenizas (%)	0.02	Máximo permitido 0.05 (%)	NB 37015
Materia insoluble en agua (%)	No contiene residuos insolubles	Exento de materias insolubles en agua	Gravimétrico
Sodio (%)	No contiene	Exento de sodio	Gravimétrico
Arsénico (mg/Kg)	< a 1 mg/Kg	No más de 1 mg/Kg	Horno de Grafito
Plomo (mg/Kg)	< a 1 mg/Kg	No más de 1 mg/Kg	Horno de Grafito



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUIMICAS

Cota Cota Calle 27 Campus Universitario

Teléfonos 2792238 — 2795878

Fax: 591 - 2 - 2792238

Cajón Postal N° 303

La Paz — Bolivia

Página 3 de 5

Parámetro	Requisitos microbiológicos		Método de Ensayo
	Muestra Stevie-Linea Dorada	Valores según NB 37013	
Recuento total de Aerobios mesófilos (UFC/g)	50	Límite máximo aceptable 1×10^3 UFC/g	NB 32003
Coliformes totales (NMP/g)	ausencia	< 10 UFC/g	NB 32005
Recuento de mohos (UFC/g)	ausencia	Límite máximo aceptable 1×10^2 UFC/g	NB 32006
Recuento de levaduras (UFC/g)	30	Límite máximo aceptable 1×10^3 UFC/g	NB 32006
Salmonella en 25 g (UFC/g)	ausencia	ausencia	NB 32007

6. Observaciones:

- El muestreo fue realizado por la persona solicitante.
- Se adjunta los espectros de Resonancia Magnética Nuclear.
- Se tomó como referencia la Norma Boliviana 37013. (Edulcorante natural de stevia en polvo Requisitos de identificación y pureza para los aditivos alimentarios.

Es cuanto se informa para fines consiguientes.

Dr. Lenny Flores
Analista

Dr. Alarcía Velázquez
Analista

Dr. Edgar Coronel Canaviri
Jefe a.i. Lab. Serv. Análisis

cc correlativo IQ y archivo Laboratorio





LA MOLINA CALIDAD TOTAL LABORATORIOS

Instituto de Certificación, Inspección y Ensayos

INFORME DE ENSAYOS

N° 006310 - 2014

SOLICITANTE : AYALA REMON MARISOL
DIRECCIÓN LEGAL : MZA. 8 LOTE. 16 SECTOR EDUCACION AYACUCHO
- HUAMANGA - AYACUCHO
RUC : 10407877131 Teléfono: 990558853
PRODUCTO : YOGURT FRUTADO FORTIFICADO
NUMERO DE MUESTRAS : Uno
IDENTIFICACIÓN/MTRA : S.L.
CANTIDAD RECIBIDA : 955.9 g (+ envase) de muestra proporcionada por el solicitante.
MARCA(S) : S.M.
FORMA DE PRESENTACIÓN : Envasado, la muestra ingresa en botella sellada a temperatura ambiente
SOLICITUD DE SERVICIOS : S/S N°EN-003836 -2014
REFERENCIA : PERSONAL
FECHA DE RECEPCIÓN : 25/08/2014
ENSAYOS SOLICITADOS : FÍSICO/QUÍMICO
PERÍODO DE CUSTODIA : 10 Días, a partir de la fecha de recepción.
RESULTADOS:



ENSAYOS FÍSICOS / QUÍMICOS:

ENSAYOS	PROMEDIO	RESULTADO 1	RESULTADO 2
1.- Carbohidratos (g / 100 g de muestra original)	9.3	9.25	9.31
2.- Células (g / 100 g de muestra original)	0.9	0.91	0.87
3.- Energía Total (Kcal / 100 g de muestra original)	67.1	66.88	66.93
4.- Grasas (g / 100 g de muestra original)	1.5	1.48	1.49
5.- Humedad (g / 100 g de muestra original)	84.2	84.22	84.26
6.- Proteína (g / 100 g de muestra original) (Factor: 6.25)	4.1	4.14	4.04
7.- % Kcal. proveniente de Grasas	20.1	19.9	20.0
8.- % Kcal. proveniente de Proteínas	24.5	24.8	24.2
9.- % Kcal. proveniente de Carbohidratos	55.4	55.3	55.8
10.- Fibra Cruda (g / 100 g de muestra original)	0.0	0.0	0.0

MÉTODOS UTILIZADOS EN EL LABORATORIO:

- 1.- Por Diferencia MS-INN Colazos 1993
- 2.- AOAC 945.45 Cap. 33 Ed. 19 Pág. 10 2012
- 3.- Por Cálculo MS-INN Colazos 1993
- 4.- FIL-IDF 116A 1987
- 5.- FIL-IDF 151 1991
- 6.- NTP 202.119 1998
- 7.- Por Cálculo MS-INN Colazos 1993
- 8.- Por Cálculo MS-INN Colazos 1993
- 9.- Por Cálculo MS-INN Colazos 1993
- 10.- NTP 205.003 (Revisada el 2011) 1980

CONTINÚA INFORME DE ENSAYOS N° 006310-2014

Pág 1/2



Av. La Universidad 595 La Molina Lima - Peru
Telefaxes: (511) 3495540 - 3492507 - 3495794 - 3492101
E-mail: calnet@infolegpdcio.net.pe / mktg@lamolina.edu.pe
Página Web: www.lamolina.edu.pe/calidadtotal



LA MOLINA CALIDAD TOTAL LABORATORIOS

Instituto de Certificación, Inspección y Ensayos

INFORME DE ENSAYOS N° 006310- 2014

FECHA DE EJECUCIÓN DE ENSAYOS: Del 25/08/2014 Al 29/08/2014.

ADVERTENCIA:

- 1.- El empaque, las condiciones de muestra, tratamiento y transporte de la muestra hasta su ingreso a La Molina Calidad Total - Laboratorios son responsabilidad del Solicitante.
- 2.- Se prohíbe la reproducción parcial o total del presente Informe sin la autorización de La Molina Calidad Total - Laboratorios.
- 3.- Valido para la cantidad recibida. No es un certificado de Conformidad ni Certificado del Sistema de Calidad de quien lo produce.
- 4.- Este documento al ser emitido sin el simbolo de acreditación, no se encuentra dentro del marco de la acreditación otorgada por INDECOPI-SNA.

La Molina, 25 de Agosto del 2014



LA MOLINA CALIDAD TOTAL LABORATORIOS
M. Sc. Jorge Chávez Pérez
Anal. Químico



Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C.

JR. ALMIRANTE GUISE N° 2530 - 2586 / LIMA 14 - PERÚ TELÉFONO: 206-9280
E-mail: satperu@satperu.com / Página web: www.satperu.com

INFORME DE ENSAYO N° DT-04595-01-2014

PRODUCTO : Yogurt frutado fortificado
SOLICITADO POR : Ayala Remon Marisol
DIRECCIÓN : Mza. B Lote. 16 Sector Eduacion - Ayacucho - Huamanga - Ayacucho
FECHA DE RECEPCIÓN : 2014-09-06
FECHA DE ANÁLISIS : 2014-09-09
FECHA DE INFORME : 2014-09-17
SOLICITUD N° : SDT-08488-2014

IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA : Ninguna
ESTADO / CONDICIÓN : Producto líquido denso / Refrigerado
PRESENTACIÓN : Botella de plástico cerrado con tapa, sin litografiar
CANTIDAD DE MUESTRA : 1000 Mililitros
CANTIDAD DE MUESTRA DIRIMIENTE : Ninguna (A solicitud del cliente)

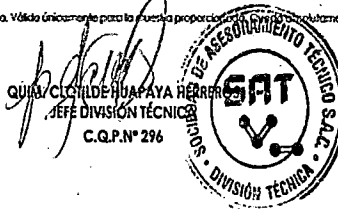
Servicio	Vía / Resultado
(*) Ácido Fólico (ug/100g)	98,32
(*) Hierro (-)	A: 36,19 mg/Kg B: 35,72 mg/Kg Promedio : 35,96mg/Kg
(*) Vitamina A (-)	A: 2,38 ugRE/g: B: 2,00 ugRE/g: Promedio: 2,19 ugRE/g
(*) Zinc (-)	A : 40,83 mg/Kg B: 40,01 mg/Kg Promedio : 40,42mg/Kg

(*) LOS METODOS INDICADOS NO HAN SIDO ACREDITADOS POR INDECOPI-SNA

MÉTODOS

- (*) Ácido Fólico : AOAC 944.12 (2005) Cap. 45 Ed. XVII Pág. 57. Folic acid (Pteroglutamic acid) in Vitamin Preparations. Microbiological Method
(*) Hierro : NOM 117-SSA1 (1994) Item 7.1.1 y 9. Método de prueba para la determinación de cadmio, arsénico, plomo, estaño, cobre, hierro, zinc y mercurio en alimentos, agua potable y agua purificada por espectrometría de absorción atómica
(*) Vitamina A : AOAC 2001.13, 1991. Ed. (2012). Vitamin A (Retinol) in foods
(*) Zinc : NOM 117-SSA1 (1994) Item 7.1.1 y 9. Método de prueba para la determinación de cadmio, arsénico, plomo, estaño, cobre, hierro, zinc y mercurio en alimentos, agua potable y agua purificada por espectrometría de absorción atómica

- Informe de ensayo emitido en base a resultados obtenidos en nuestra laboratorio. Válido únicamente para la muestra preparada y analizada. No es permitida la reproducción total o parcial del presente informe sin la autorización escrita de SAT S.A.C. Este documento es válido solo en original.



ANEXO 02: Análisis fisicoquímico y proximal de la leche

Características fisicoquímicas de la leche de vaca

Análisis	Unidad	Resultado			
		1	2	3	Promedio
pH		6,71	6,74	6,73	6,73
Densidad corregida	g/ml	1,030	1,029	1,031	1,030
Acidez	°D	15,5	15,0	15,5	15,33
Grasa	%	3,5	3,3	3,4	3,40
Sólidos totales	%	12,40	11,90	12,52	12,27
Prueba de la reductasa	Hora	> 6	> 6	> 6	> 6
Antibióticos	-	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

Composición proximal en 100 g de leche de vaca

Componentes	Unidad	Valor
Humedad	g	87,2
Proteína	g	3,2
Grasa	g	3,4
Ceniza	g	0,6
Carbohidratos	g	5,6

ANEXO 03: pH y acidez del yogurt base y análisis fisicoquímico del yogurt fortificado

pH y acidez del yogurt base

Proceso	pH				Acidez (g de ácido láctico)			
	1	2	3	Promedio	1	2	3	Promedio
Fermentación	4,56	4,59	4,61	4,59	0,63	0,61	0,63	0,62

Características fisicoquímicas del yogurt fortificado durante el análisis sensorial

Día	Análisis	Unidad	RDA (porcentaje)			
			25	45	70	100
2	pH		4,50	4,51	4,52	4,50
	T	°C	5,2	4,8	5,8	6,1
	Acidez	g de ácido láctico	0,75	0,79	0,83	0,80
	Viscosidad	Cp	13220	13126	13182	13221
	T	°C	4,0	4,3	4,1	4,1
4	pH		4,24	4,25	4,25	4,25
	T	°C	6,0	6,3	6,5	6,27
	Acidez	g de ácido láctico	0,89	0,86	0,92	0,89
	Viscosidad	Cp	12240	12180	12231	12237
	T	°C	4,1	4,0	4,0	4,0
6	pH		4,43	4,43	4,45	4,44
	T	°C	5,3	5,5	6,0	5,60
	Acidez	g de ácido láctico	0,97	0,93	1,01	0,95
	Viscosidad	Cp	10800	10160	10590	10753
	T	°C	4,0	4,3	4,1	4,1

ANEXO 04: Hoja de consentimiento informado

**Instituto de Seguridad Alimentaria Nutricional (ISAN), de la Universidad Nacional
Agraria la Molina**

Mi nombre es Marisol Ayala Remón, soy estudiante de la Escuela de Posgrado en Nutrición Pública de la Universidad Nacional Agraria la Molina y estoy llevando a cabo un estudio titulado *“yogurt fortificado con vitamina A, ácido fólico, hierro y zinc en animales experimentales con anemia inducida”*. En esta fase del estudio ustedes evaluarán dos aspectos; el sabor y color del yogurt fortificado, con la finalidad de trabajar en la segunda fase con una de las muestras que ustedes elijan; para dicho fin solicito su autorización para que su persona participe voluntariamente en este estudio, la cual consiste en la degustación del producto en tres fechas diferentes, en la cual usted llenará un formato de fácil aplicación por un tiempo no mayor de 10 minutos. El resultado que usted me entregue será estrictamente confidencial. La referida evaluación no conlleva a ningún riesgo para usted. Si no comprende puede preguntarme las veces que desee.

El ISAN agradece su valiosa colaboración.

**Conocedor de lo indicado arriba y al recibir la explicación de lo que he preguntado
acepto participar voluntariamente en el presente trabajo de investigación.**

Una copia de este documento se quedará con Ud. para que lo revise cuantas veces lo desee.

Firma: _____

Nombre del participante

DNI N°

Firma: _____

Nombre del testigo

DNI N°

Firma: _____

Marisol Ayala Remón

DNI N° 40787713

Fecha: ____ de ____ de 2014.

ANEXO 05: Formato para la evaluación sensorial

Escala hedónica estructurada

Fecha: _____

Edad: _____

Sexo: (F) (M)

Pruebe por favor las muestras de yogures que se le está presentando e indique el nivel de agrado a cada atributo según la escala; cada vez que usted pruebe las muestras proceda a enjuagarse la boca con agua de mesa.

Marque con una X el renglón que corresponda a la escala que mejor describa su reacción para cada una de las muestras.

Atributos	Escala	Muestras			
		2341	3412	4231	5343
Sabor	(1) Me disgusta mucho				
	(2) Me disgusta moderadamente				
	(3) No me gusta ni me disgusta				
	(4) Me gusta moderadamente				
	(5) Me gusta mucho				
Color	(1) Me disgusta mucho				
	(2) Me disgusta moderadamente				
	(3) No me gusta ni me disgusta				
	(4) Me gusta moderadamente				
	(5) Me gusta mucho				

Comentarios: _____

Gracias.

Numeración de las muestras para la evaluación sensorial.

1234	Control
2341	25% RDA
3412	45% RDA
4231	70% RDA
5343	100% RDA

ANEXO 06: Evaluación sensorial del yogurt fortificado en cuanto a color

Panelistas	2341 (25% RDA)	3412 (45% RDA)	4231 (70% RDA)	5343 (100% RDA)
1	4	4	4	4
2	4	5	4	4
3	5	5	5	5
4	4	4	4	5
5	5	5	5	4
6	4	4	4	4
7	5	4	4	4
8	4	4	5	4
9	4	4	4	5
10	4	3	4	5
11	4	4	4	4
12	4	4	4	4
13	4	4	4	4
14	4	4	4	5
15	4	4	4	4
16	4	4	5	4
17	4	4	4	5
18	5	5	4	4
19	4	4	4	5
20	4	4	4	4
21	4	4	4	4
22	4	4	5	4
23	5	5	5	5
24	4	5	4	5
25	5	5	5	5
26	4	4	4	4

Fuente: Resultados de la evaluación sensorial (setiembre, 2014).

ANEXO 07: Promedio de los resultados del atributo color

Escala	Muestra			
	2341	3412	4231	5343
	(25% RDA)	(45% RDA)	(70% RDA)	(100% RDA)
Me disgusta mucho	0	0	0	0
Me disgusta moderadamente	0	0	0	0
No me gusta ni me disgusta	0	1 (4%)	0	0
Me gusta moderadamente	20 (77%)	18 (69%)	19 (73%)	16 (62%)
Me gusta mucho	6 (23%)	7 (27%)	7 (27%)	10 (38%)
Total	26 (100%)	26 (100%)	26 (100%)	26 (100%)

ANEXO 08: Análisis de la varianza para el atributo color

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Color	104	0.48	0.29	9.28

ANEXO 09: Análisis de la varianza (SC tipo III) para el atributo color

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Panelistas	10,66	25	0,43	2,70	0,0005
Tratamientos	0,41	3	0,14	0,87	0,4589
Error	11,84	75	0,16		
Total	22.91	103			

ANEXO 10: Evaluación sensorial del yogurt fortificado en cuanto a sabor

Panelistas	2341 (25% RDA)	3412 (45% RDA)	4231 (70% RDA)	5343 (100% RDA)
1	4	4	4	4
2	4	4	4	4
3	4	4	3	4
4	4	4	4	5
5	5	5	4	3
6	4	3	4	4
7	5	4	5	4
8	4	4	4	5
9	4	4	4	4
10	4	4	5	4
11	4	4	4	4
12	4	4	4	4
13	4	4	4	4
14	4	4	4	5
15	4	4	4	4
16	5	5	5	5
17	4	4	4	5
18	5	4	4	4
19	4	4	4	5
20	4	4	4	4
21	5	4	5	4
22	4	4	5	4
23	4	4	4	4
24	5	5	5	5
25	4	4	4	4
26	5	4	5	4

Fuente: Resultados de la evaluación sensorial (setiembre, 2014).

ANEXO 11: Promedio de los resultados del atributo sabor

Escala	Muestra			
	2341	3412	4231	5343
	(25% RDA)	(45% RDA)	(70% RDA)	(100% RDA)
Me disgusta mucho	0	0	0	0
Me disgusta moderadamente	0	0	0	0
No me gusta ni me disgusta	0	1 (4%)	1 (4%)	1 (4%)
Me gusta moderadamente	19 (73%)	22 (85%)	18 (69%)	18 (69%)
Me gusta mucho	7 (27%)	3 (12%)	7 (27%)	7 (27%)
Total	26 (100%)	26 (100%)	26 (100%)	26 (100%)

ANEXO 12: Análisis de la varianza para el atributo sabor

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Sabor	104	0,44	0,23	9,79

ANEXO 13: Análisis de la varianza (SC tipo III) para el atributo sabor

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Panelistas	9,51	25	0,38	2,25	0,0038
Tratamientos	0,57	3	0,19	1,12	0,3471
Error	12,68	75	0,17		
Total	22,76	103			

ANEXO 14: Concentración de la hemoglobina en ratas albinas de la raza Holtzman, antes y después del consumo de una dieta purificada deficitaria

Código (Ratas)	Concentración de hemoglobina (g/dL)	
	Basal	Anemia
1	12,0	9,6
2	13,1	12,1
3	11,8	9,7
4	12,7	9,8
5	12,5	10,7
6	11,8	9,9
7	12,1	9,4
8	12,4	9,8
9	12,2	11,7
10	12,3	9,7

Fuente: Resultados experimentales (setiembre a octubre, 2014).

ANEXO 15: Estadísticas de la hemoglobina, antes (basal) y después (anemia) del consumo de la dieta purificada deficitaria

Dieta purificada			Desviación	Media de error
deficitaria	Media	N	estándar	estándar
Hb Basal	12,290	10	0,407	0,129
Hb Anemia	10,240	10	0,943	0,298

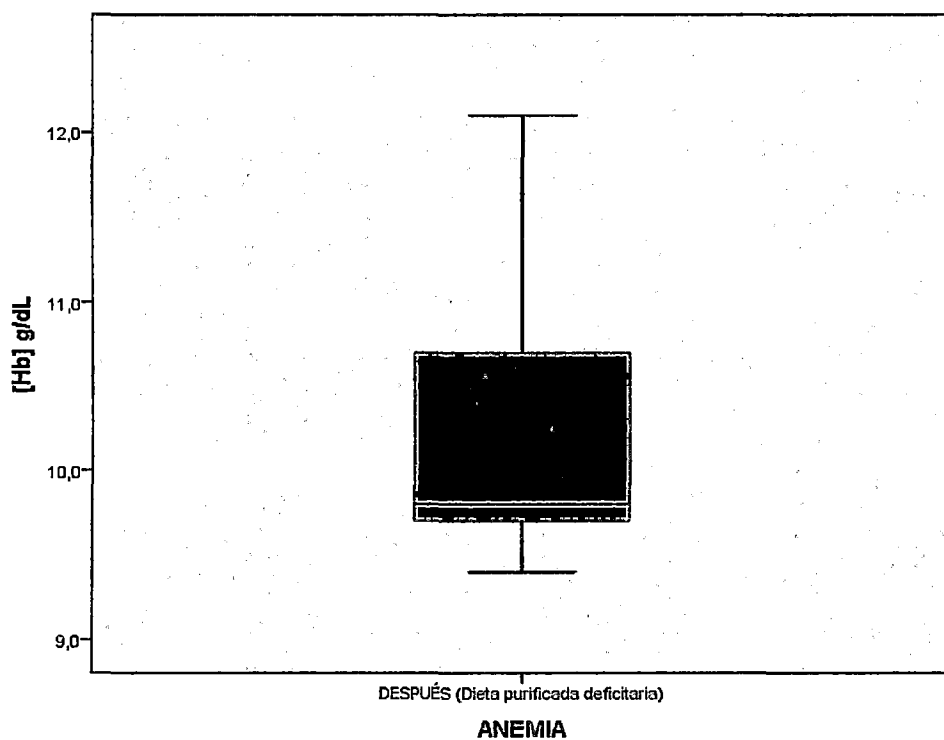
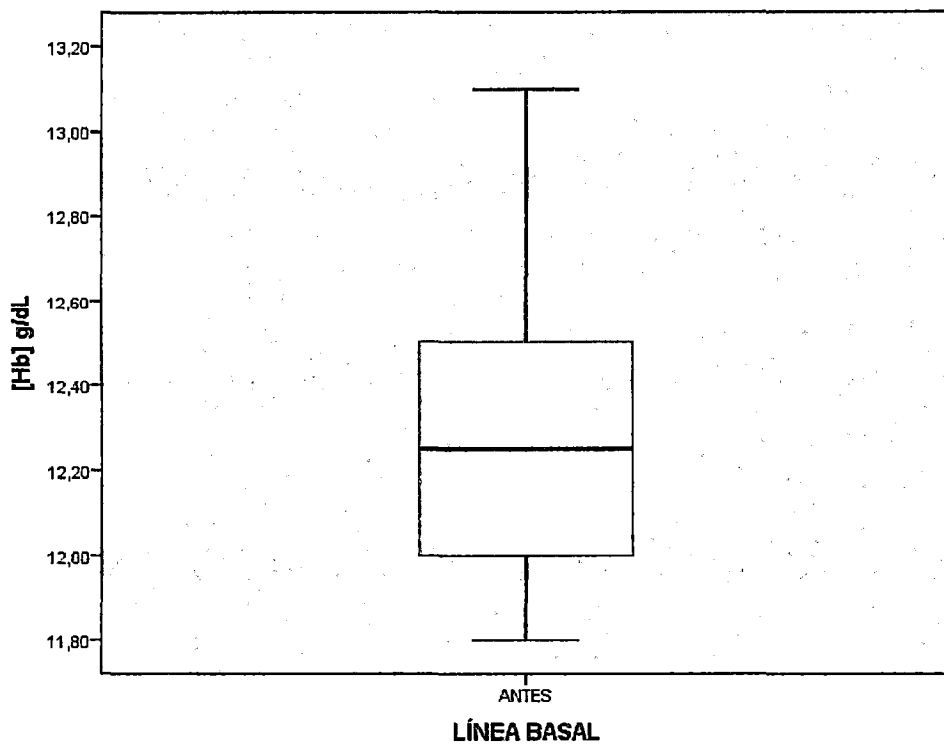
ANEXO 16: Correlaciones de la hemoglobina, antes (basal) y después (anemia) del consumo de la dieta purificada deficitaria

Dieta purificada deficitaria	N	Correlación	Sig.
Hb Basal & Hb Anemia	10	0,583	0,077

ANEXO 17: Pruebas estadísticas comparativas de la hemoglobina, antes (basal) y después (anemia) del consumo de la dieta purificada deficitaria

Diferencias emparejadas								
		95% de intervalo						
		Media de de confianza de la						
Dieta purificada	Desviación	error	diferencia	Sig.				
deficitaria	Media	estándar	estándar	Inferior	Superior	T	gl	(bilateral)
Hb Basal– Hb Anemia	2,050	0,779	0,246	1,493	2,607	8,319	9	0,000

ANEXO 18: Representación gráfica de la concentración de la hemoglobina, antes (basal) y después (anemia) del consumo de la dieta purificada deficitaria



ANEXO 19: Concentración de la hemoglobina en ratas albinas de la raza Holtzman;
basal, anemia y después del consumo de la dieta purificada deficitaria más
yogurt fortificado

Código (ratas)	Concentración de hemoglobina (g/dL)		
	Basal	Anemia	Recuperación
T-1	12,1	9,4	15,2
T-2	13,1	12,1	14,8
T-3	12,5	10,7	14,2
T-4	12,7	9,8	15,1
T-5	11,8	9,9	14,8
T-6	12,4	9,8	14,6
T-7	12,0	9,6	16,0
T-8	12,3	9,7	15,4
T-9	11,8	9,7	15,2
T-10	12,2	11,7	15,1
Promedio	12,29	10,24	15,04

Fuente: Resultados experimentales (setiembre a noviembre, 2014).

ANEXO 20: Estadísticas de la hemoglobina, antes (anemia) y después del consumo de la
dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado

Dieta deficitaria más yogurt fortificado	Desviación		Media de error	
	Media	N	estándar	estándar
[Hb]Después	15,040	10	0,486	0,154
[Hb] Antes	10,240	10	0,943	0,298

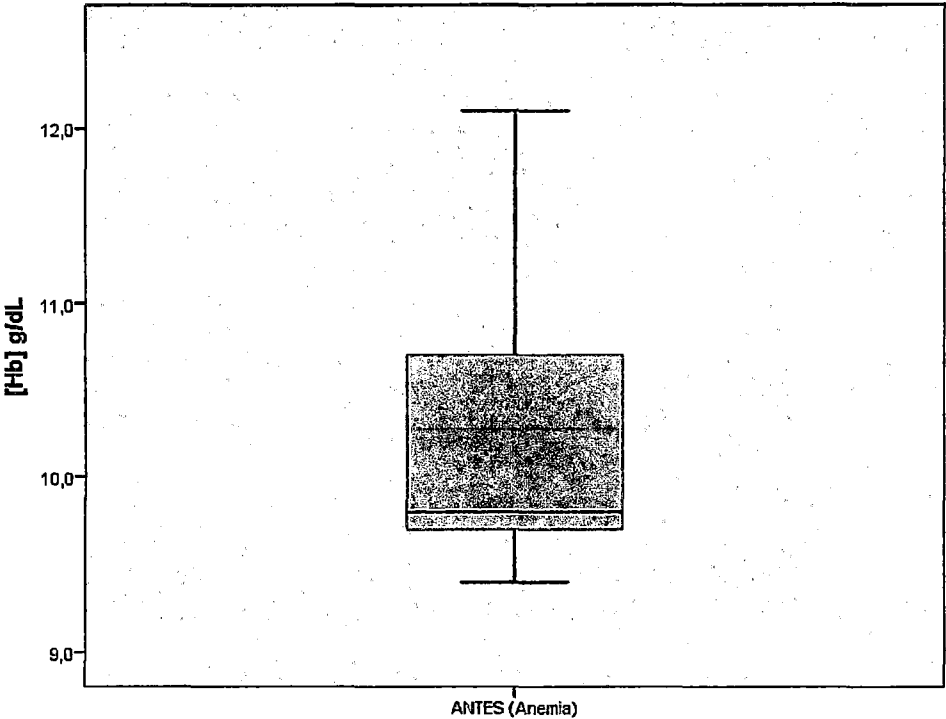
ANEXO 21: Correlaciones de la hemoglobina, antes (anemia) y después del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado

Dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado	N	Correlación	Sig.
[Hb]Después &[Hb] Antes	10	0,370	0,292

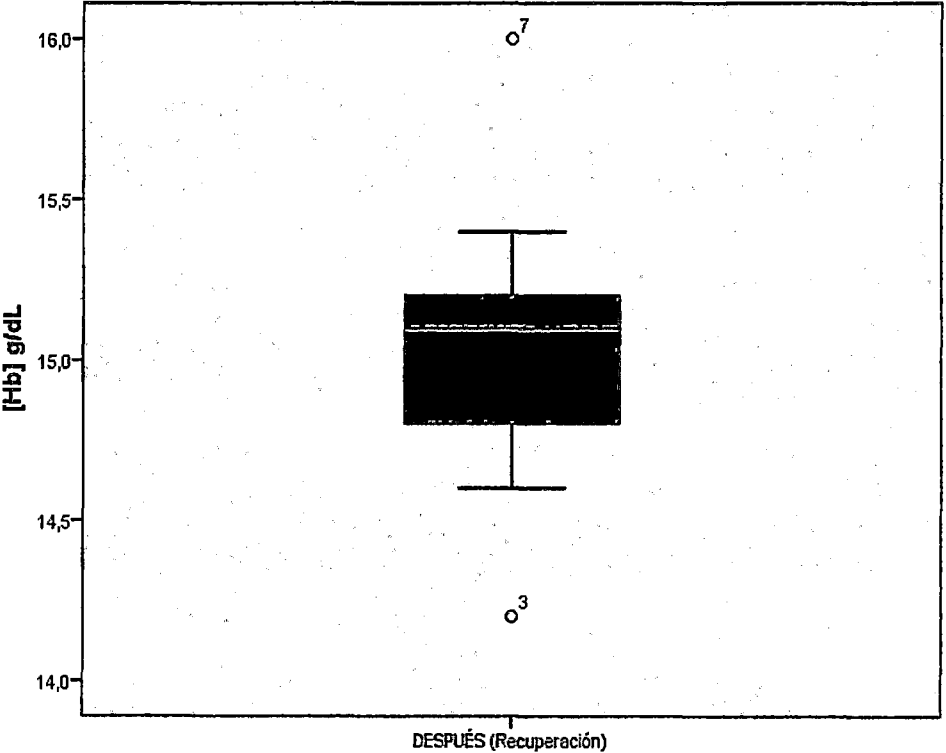
ANEXO 22: Pruebas estadísticas comparativas de la hemoglobina, antes (anemia) y después del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado

Diferencias emparejadas								
Dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado	95% de intervalo							
	Media de			de confianza de la				
	Desviación		error	diferencia		Sig.		
	Media	estándar	estándar	Inferior	Superior	T	gl	(bilateral)
[Hb]Después - [Hb] Antes	4,800	1,210	0,383	3,934	5,666	12,543	9	0,000

ANEXO 23: Representación gráfica de la concentración de la hemoglobina, antes (anemia) y después del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado



DIETA PURIFICADA DEFICITARIA



DIETA PURIFICADA DEFICITARIA MÁS YOGURT FORTIFICADO

ANEXO 24: Consumo diario de la dieta purificada deficitaria de cada animal experimental

Fecha	Consumo (S-(R+D))									
	Código (ratas)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
17/09/14	11,44	12,06	13,16	11,99	13,70	11,60	13,27	9,38	13,06	12,03
18/09/14	9,12	10,36	11,50	11,09	10,06	9,89	10,78	9,57	11,01	11,21
19/09/14	10,77	8,86	12,31	11,18	10,56	7,75	9,54	8,56	12,07	9,92
20/09/14	11,29	9,03	13,03	11,62	10,72	7,80	10,36	8,38	12,68	11,18
21/09/14	10,58	7,64	12,57	10,38	11,37	9,61	8,76	9,34	12,92	11,72
22/09/14	7,38	6,74	8,81	6,95	9,44	7,40	6,93	6,92	9,84	4,57
23/09/14	9,50	7,86	10,26	8,92	9,30	7,58	12,05	10,00	10,48	6,95
24/09/14	10,11	6,86	8,40	9,14	12,38	9,45	10,40	10,71	12,05	9,86
25/09/14	14,15	13,42	13,50	13,44	13,70	13,06	14,26	12,19	14,00	12,55
26/09/14	11,88	9,89	11,35	13,77	14,06	14,84	13,36	12,83	14,85	10,43
27/09/14	11,36	11,83	10,86	14,14	14,85	8,69	11,95	13,90	14,94	10,31
28/09/14	12,46	12,83	11,55	13,71	14,75	4,82	13,32	12,55	14,74	14,36
29/09/14	13,97	14,45	7,64	14,69	14,87	13,34	13,37	14,00	14,84	13,86
30/09/14	10,77	14,77	12,86	14,82	14,92	12,60	13,06	3,96	14,96	10,52
01/10/14	14,73	11,57	14,19	14,84	14,90	14,72	14,69	14,44	14,93	14,91
02/10/14	14,76	11,61	13,57	14,70	14,93	14,70	14,90	14,75	14,80	15,01
03/10/14	15,00	14,98	14,85	14,91	14,35	14,71	14,76	14,93	14,98	14,95
04/10/14	14,94	14,98	12,52	14,97	14,96	14,58	14,85	13,91	14,98	14,96
05/10/14	9,49	14,14	13,27	14,88	14,86	10,83	14,83	14,95	14,94	14,95
06/10/14	14,93	14,89	11,73	14,90	14,95	14,86	14,79	13,32	14,95	14,93
07/10/14	14,90	14,91	12,96	14,98	13,18	11,46	14,85	11,36	14,92	14,99
08/10/14	14,56	14,92	11,50	14,63	14,88	14,85	14,74	14,34	14,87	14,98
09/10/14	14,92	14,98	10,68	6,99	15,02	14,95	14,98	13,17	15,01	14,98
10/10/14	14,94	14,80	10,81	14,83	14,98	14,90	14,88	12,78	14,92	15,00
11/10/14	14,74	14,90	13,24	14,85	14,90	14,92	14,82	12,43	14,93	15,01
12/10/14	14,91	14,94	13,70	14,92	14,90	14,87	14,91	11,08	14,94	14,91
13/10/14	14,95	14,94	14,78	14,77	14,92	14,93	14,82	12,60	14,92	14,89
14/10/14	14,94	14,84	14,87	14,82	14,92	14,91	14,78	14,90	14,96	14,98
15/10/14	14,96	13,78	14,94	14,86	14,97	13,34	14,79	13,54	13,96	14,99
16/10/14	14,96	14,94	14,95	14,69	14,92	13,24	14,82	14,88	14,98	15,00
17/10/14	14,94	14,94	14,96	14,77	14,97	14,99	14,81	14,27	14,99	14,95
18/10/14	14,98	14,99	14,97	14,70	14,93	14,96	15,01	14,05	14,98	15,03
19/10/14	14,95	14,71	13,62	14,98	14,87	11,34	14,79	14,28	14,86	14,67
20/10/14	14,98	14,93	14,90	14,84	14,92	14,98	14,80	14,88	14,91	14,99
21/10/14	14,93	14,90	14,94	14,71	14,92	14,94	14,86	13,65	14,83	15,00

Fuente: Resultados experimentales (setiembre a octubre, 2014).

Consumo; resultado de la cantidad suministrada menos el residuo y el desperdicio.

Dieta suministrada (S); 15 a 15,05 gramos por día.

Residuo (R); alimento sobrante en sus comederos.

Desperdicio (D); alimento desechado fuera de sus comederos.

**ANEXO 25: Análisis descriptivo del consumo de la dieta purificada deficitaria por
cada animal experimental**

Código (ratas)	Consumo de la dieta deficitaria	Estadístico	Error estándar
1	Media	12,679	0,335
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior Límite superior	
		11,997 13,359	
	Mediana	13,030	
	Varianza	3,933	
	Desviación estándar	1,983	
	Mínimo	7,640	
	Máximo	14,970	
	Rango	7,330	
2	Media	13,511	0,356
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior Límite superior	
		12,787 14,235	
	Mediana	14,780	
	Varianza	4,440	
	Desviación estándar	2,107	
	Mínimo	6,930	
	Máximo	15,010	
	Rango	8,080	
3	Media	14,143	0,243
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior Límite superior	
		13,649 14,637	
	Mediana	14,910	
	Varianza	2,070	
	Desviación estándar	1,439	
	Mínimo	9,840	
	Máximo	15,010	
	Rango	5,170	
4	Media	12,891	0,465
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior Límite superior	
		11,947 13,835	
	Mediana	14,710	

“Continuación”

	Varianza		7,556	
	Desviación estándar		2,749	
	Mínimo		6,740	
	Máximo		14,990	
	Rango		8,250	
	Media		13,411	0,401
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	12,597	
		Límite superior	14,223	
5	Mediana		14,700	
	Varianza		5,614	
	Desviación estándar		2,369	
	Mínimo		6,950	
	Máximo		14,980	
	Rango		8,030	
	Media		13,881	0,304
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	13,262	
		Límite superior	14,499	
6	Mediana		14,880	
	Varianza		3,244	
	Desviación estándar		1,801	
	Mínimo		9,300	
	Máximo		15,020	
	Media		13,253	0,400
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	12,439	
		Límite superior	14,067	
7	Mediana		14,930	
	Varianza		5,612	
	Desviación estándar		2,3689	
	Mínimo		6,820	
	Máximo		15,030	
	Rango		8,210	
	Media		12,783	0,397
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	11,977	
		Límite superior	13,590	
8	Mediana		14,180	
	Varianza		5,514	
	Desviación estándar		2,3482	

“Continuación”				
	Mínimo		7,960	
	Máximo		14,930	
	Rango		6,970	
9	Media		13,869	0,312
	95% de intervalo de	Límite inferior	13,234	
	confianza para la	Límite superior	14,504	
	media			
	Mediana		14,770	
	Varianza		3,413	
	Desviación estándar		1,848	
	Mínimo		9,440	
	Máximo		14,990	
	Rango		5,550	
10	Media		13,205	0,387
	95% de intervalo de	Límite inferior	12,419	
	confianza para la	Límite superior	13,991	
	media			
	Mediana		14,740	
	Varianza		5,232	
	Desviación estándar		2,287	
	Mínimo		7,380	
	Máximo		15,000	
	Rango		7,620	

**ANEXO 26: Consumo diario de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado de
cada animal experimental**

Fecha	Consumo (S-(R+D))									
	UE-1	UE-2	UE-3	UE-4	UE-5	UE-6	UE-7	UE-8	UE-9	UE-10
22/10/14	20,01	19,99	20,02	19,88	19,85	19,87	19,79	17,97	19,73	20,00
23/10/14	19,31	19,54	17,92	16,37	19,79	16,17	15,49	16,45	19,93	18,25
24/10/14	19,93	14,02	19,78	19,42	19,93	19,24	19,79	14,45	19,97	15,51
25/10/14	19,92	17,01	19,91	19,73	19,91	17,00	19,87	15,41	19,99	18,71
26/10/14	19,95	17,21	19,97	19,83	19,97	19,68	19,86	14,40	19,96	19,97
27/10/14	19,97	14,93	18,22	19,84	19,93	16,20	19,88	12,10	19,96	16,73
28/10/14	17,21	19,99	19,99	19,92	19,97	19,66	19,96	14,17	19,98	20,00
29/10/14	20,03	15,72	20,01	19,86	19,99	17,25	19,89	12,44	19,99	19,94
30/10/14	20,01	15,19	19,96	19,90	19,98	18,80	19,83	14,17	19,93	16,94
31/10/14	20,00	15,96	19,25	19,90	19,98	16,45	19,88	13,84	20,00	15,41
01/11/14	19,96	17,12	19,95	19,91	19,46	19,82	19,71	13,95	19,97	15,35
02/11/14	19,97	19,49	19,98	19,91	19,99	19,94	19,96	19,98	20,00	19,94
03/11/14	19,89	14,91	19,85	19,74	19,94	19,86	19,89	14,67	19,94	19,03
04/11/14	19,94	17,32	20,03	19,89	19,98	19,92	19,95	15,75	19,97	17,35
05/11/14	18,98	16,32	20,04	19,98	20,00	19,23	19,97	14,65	19,99	14,87
06/11/14	19,99	15,28	20,01	19,82	19,35	19,94	19,82	14,07	19,94	15,15
07/11/14	19,94	16,52	19,84	19,88	19,91	19,91	19,89	16,97	19,95	17,78
08/11/14	19,94	18,46	19,96	19,90	19,93	19,78	19,86	17,10	19,92	15,18
09/11/14	19,91	14,55	19,77	19,82	18,14	16,60	15,62	17,96	20,01	17,40
10/11/14	18,14	16,20	20,02	19,58	19,91	19,90	15,42	12,90	19,68	12,19
11/11/14	18,82	15,53	19,67	19,98	19,90	19,92	19,23	15,21	19,92	15,88
12/11/14	16,67	18,14	19,97	19,92	19,92	19,56	19,45	14,54	19,96	15,75
13/11/14	15,73	18,62	16,89	19,82	19,98	19,17	16,69	18,47	19,96	18,62
14/11/14	17,23	15,58	16,71	19,81	19,96	18,66	18,55	12,02	19,97	18,39
15/11/14	15,35	14,99	15,65	19,86	17,94	16,62	15,16	13,44	19,97	15,90
16/11/14	18,95	17,43	16,20	19,89	17,43	15,79	16,95	15,27	19,94	13,54
17/11/14	17,10	15,02	16,03	19,95	16,03	15,70	19,99	11,14	17,66	16,44
18/11/14	18,92	17,72	16,85	19,48	16,81	15,67	14,10	15,83	19,92	15,43

Fuente: Resultados experimentales (octubre a noviembre, 2014).

Consumo; resultado de la cantidad suministrada menos el residuo y el desperdicio.

Dieta suministrada (S); 20 a 20,05 gramos por día.

Residuo (R); alimento sobrante en sus comederos.

Desperdicio (D); alimento desechado fuera de sus comederos.

ANEXO 27: Análisis descriptivo del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado de cada animal experimental

Código (ratas)	Consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado		Estadístico	Error estándar
UE-1	Media		18,992	0,269
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	18,438	
		Límite superior	19,545	
	Mediana		19,915	
	Varianza		2,038	
	Desviación estándar		1,428	
	Mínimo		15,350	
	Máximo		20,030	
	Rango		4,680	
UE-2	Media		16,741	0,328
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	16,068	
		Límite superior	17,415	
	Mediana		16,420	
	Varianza		3,020	
	Desviación estándar		1,738	
	Mínimo		14,020	
	Máximo		19,990	
	Rango		5,970	
UE-3	Media		19,016	0,284
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	18,434	
		Límite superior	19,598	
	Mediana		19,880	
	Varianza		2,251	
	Desviación estándar		1,500	
	Mínimo		15,650	
	Máximo		20,040	
	Rango		4,390	
UE-4	Media		19,707	0,126
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	19,448	
		Límite superior	19,966	
	Mediana		19,870	
	Varianza		0,446	
	Desviación estándar		0,668	
	Mínimo		16,370	
	Máximo		19,980	

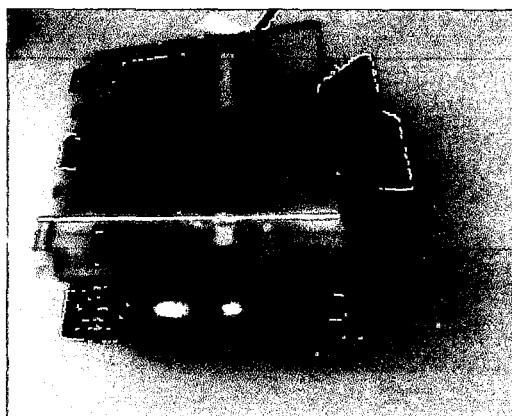
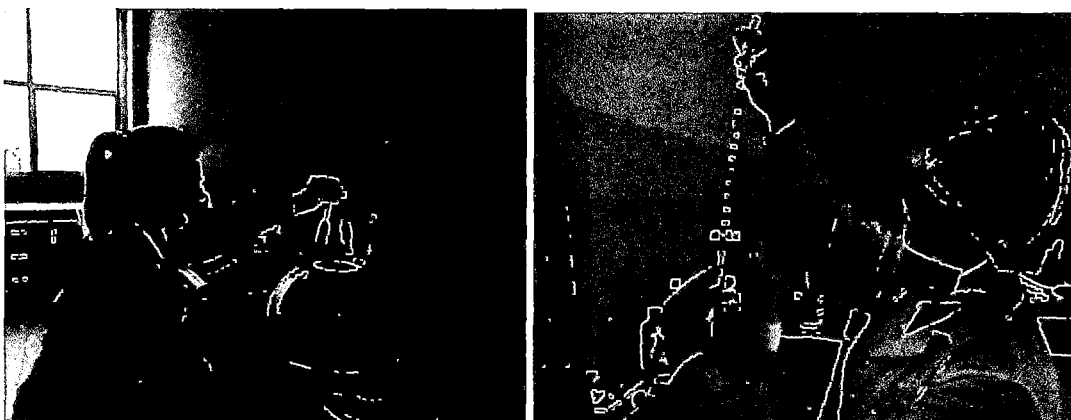
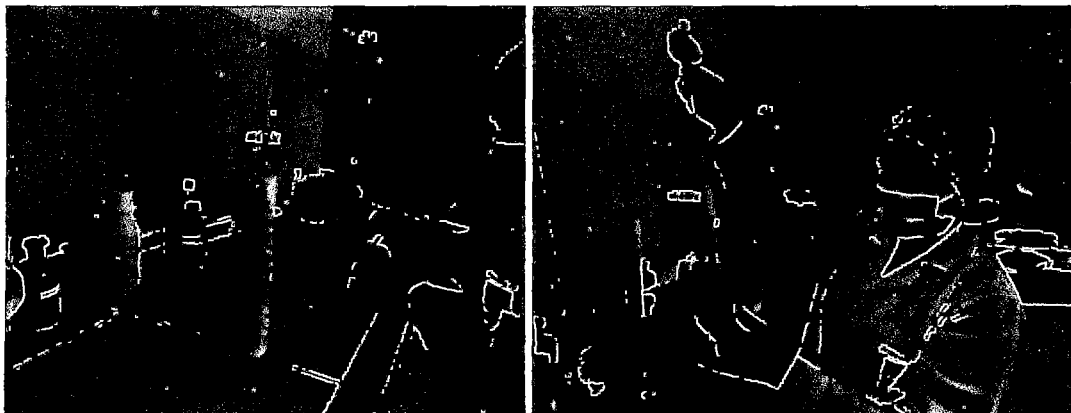
“Continuación”

	Rango	3,610	
	Media	19,424	0,205
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior Límite superior	19,003 19,845
	Mediana	19,925	
UE-5	Varianza	1,178	
	Desviación estándar	1,085	
	Mínimo	16,030	
	Máximo	20,000	
	Rango	3,970	
	Media	18,439	0,312
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior Límite superior	17,799 19,080
	Mediana	19,235	
UE-6	Varianza	2,730	
	Desviación estándar	1,652	
	Mínimo	15,670	
	Máximo	19,940	
	Rango	4,270	
	Media	18,730	0,359
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior Límite superior	17,995 19,466
	Mediana	19,825	
UE-7	Varianza	3,601	
	Desviación estándar	1,897	
	Mínimo	14,100	
	Máximo	19,990	
	Rango	5,890	
	Media	14,976	0,395
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior Límite superior	14,166 15,785
	Mediana	14,595	
UE-8	Varianza	4,360	
	Desviación estándar	2,088	
	Mínimo	11,140	
	Máximo	19,980	

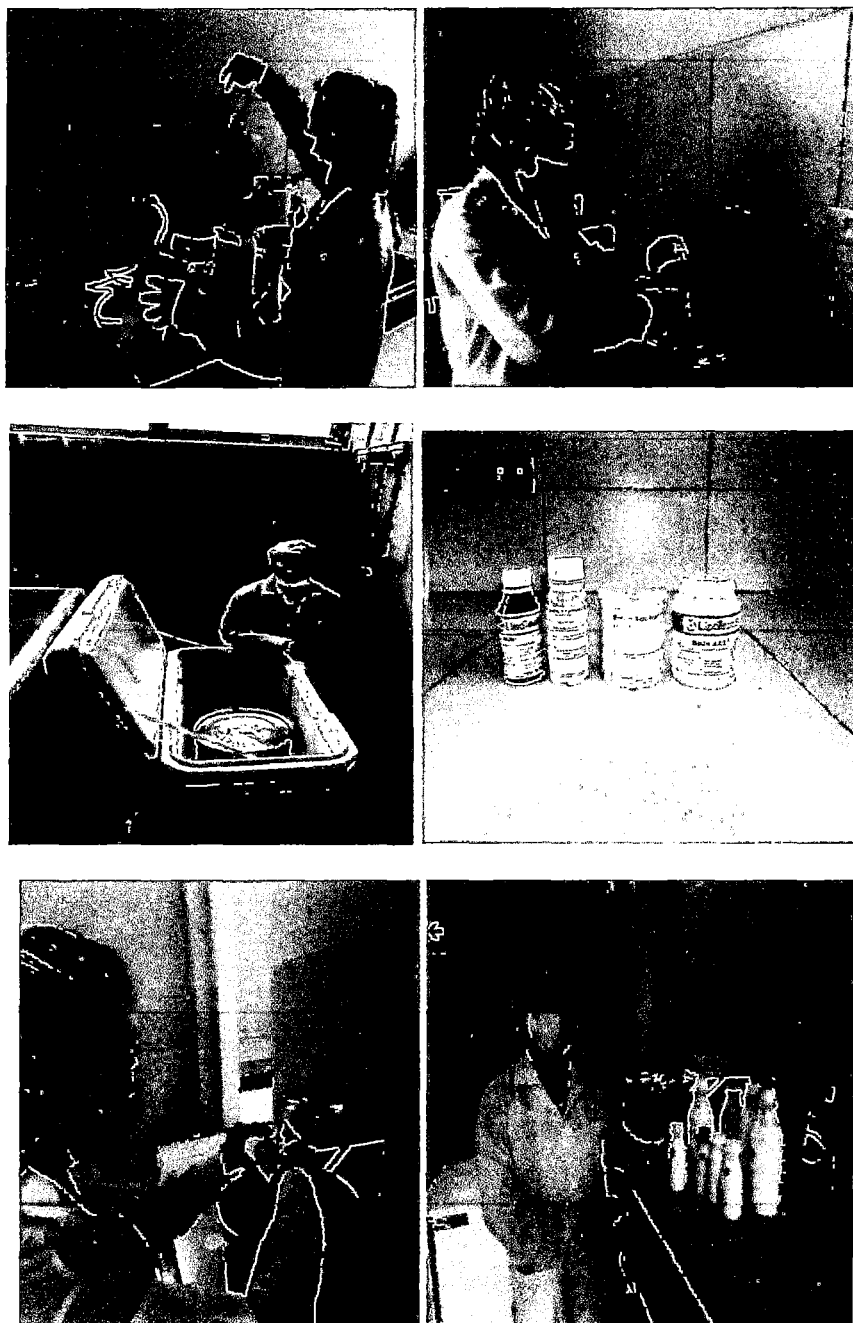
“Continuación”

	Rango		8,840	
	Media		19,861	0,083
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	19,692	
		Límite superior	20,031	
	Mediana		19,960	
UE-9	Varianza		,191	
	Desviación estándar		,437	
	Mínimo		17,660	
	Máximo		20,010	
	Rango		2,350	
	Media		16,988	0,397
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	16,174	
		Límite superior	17,801	
	Mediana		16,835	
UE-10	Varianza		4,403	
	Desviación estándar		2,098	
	Mínimo		12,190	
	Máximo		20,000	
	Rango		7,810	

ANEXO 28: Análisis de la leche fresca



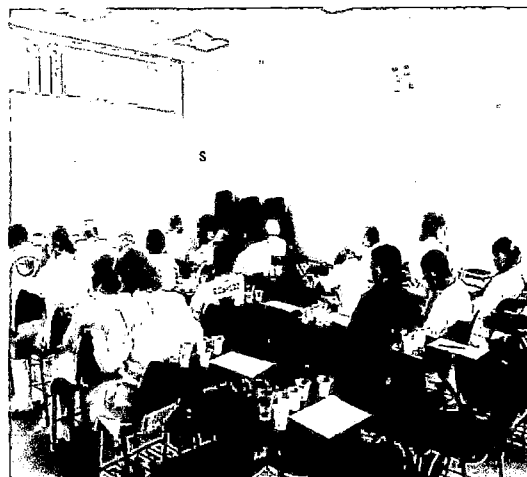
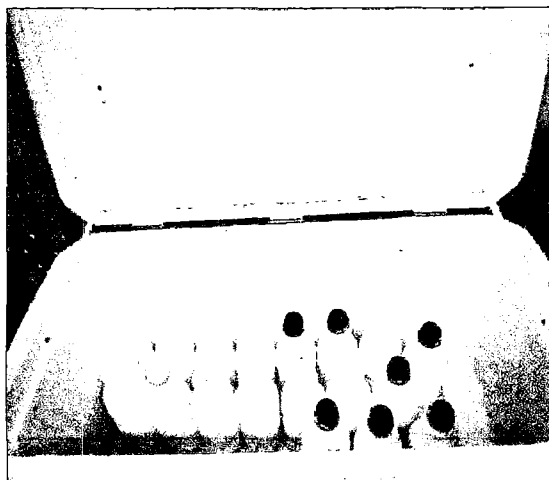
ANEXO 29: Elaboración del yogurt fortificado



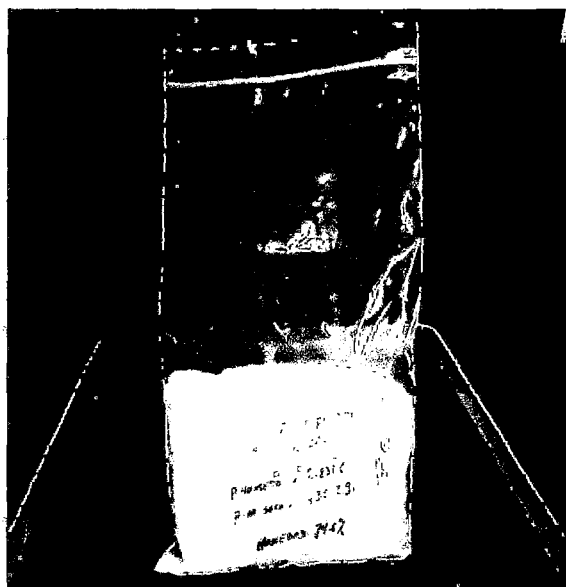
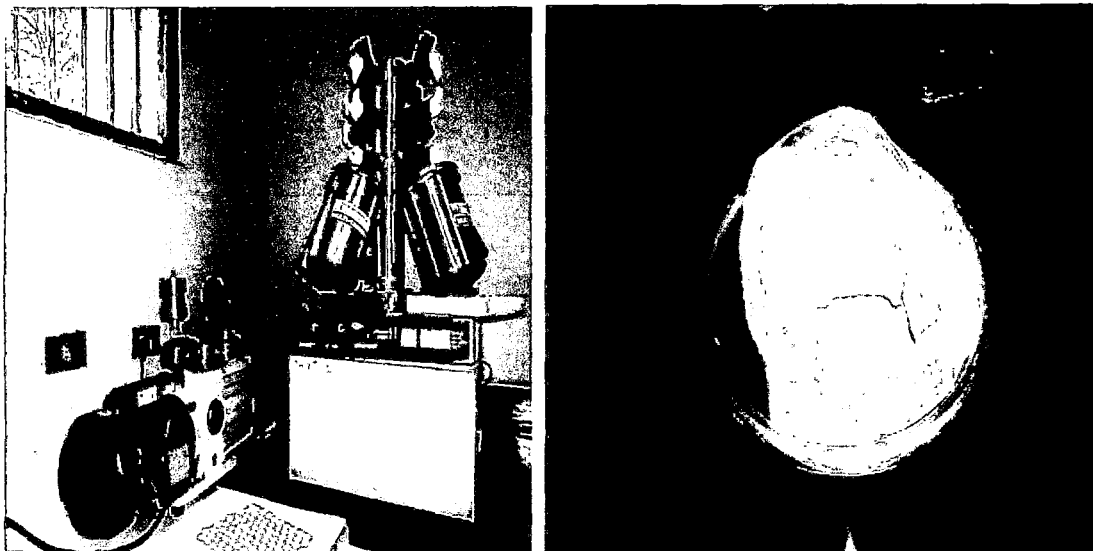
ANEXO 30: Análisis del yogurt fortificado



ANEXO 31: Evaluación sensorial del yogurt fortificado



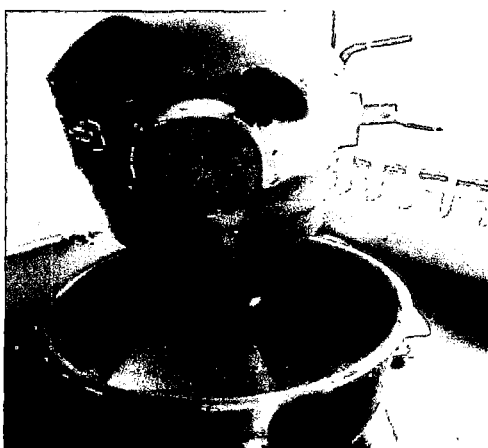
(IIN)



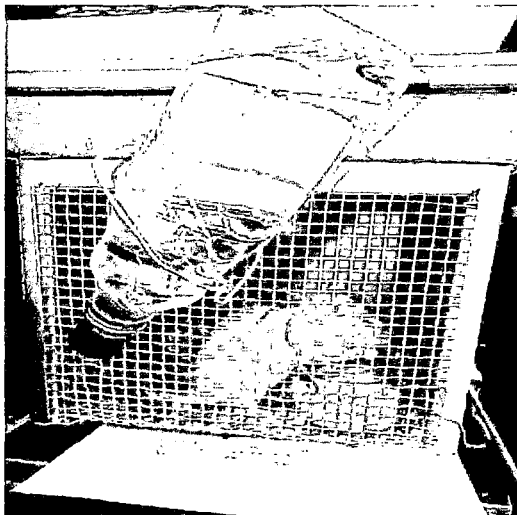
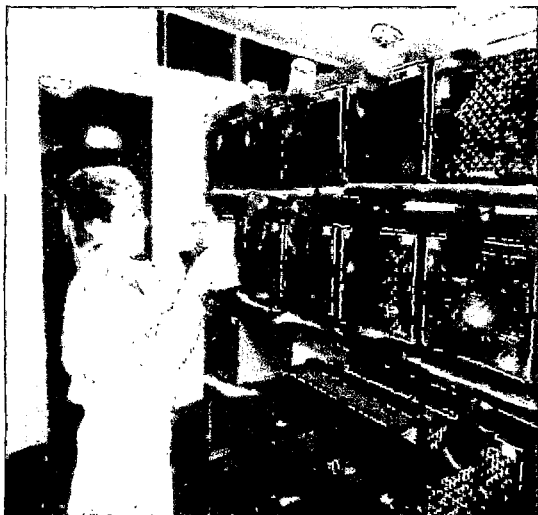
ANEXO 33: Insumos empleados y pesado para la preparación de las dietas



ANEXO 34: Preparación de las dietas



ANEXO 35: Cuidado, suministro de alimentos, pesado de residuos y desperdicios de los animales experimentales



**ANEXO 36: Determinación de la hemoglobina en el Laboratorio de Patología Clínica de
la Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

