

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure of a man in a red and white robe, possibly a saint or scholar, holding a book. Above him is a golden crown with a cross on top. To the left and right are golden lions rampant. Below the central figure is a landscape with green hills and a white path. A figure in a blue and yellow outfit is riding a white horse along the path. The entire scene is set against a light blue background. The seal is surrounded by a grey border containing the Latin text "CAROLINA ACADEMIA COACTEMALENSIS INTER CAETERAS ORBS CONSPICUA".

**ESTUDIO DE LA ESTABILIDAD DE LA VITAMINA A EN LA PREMEZCLA
VITAMÍNICA UTILIZADA PARA FORTIFICAR UNA BEBIDA A BASE DE
HARINAS DE MAÍZ Y SOYA**

**FRANCISCO JOSÉ MARTÍNEZ CASTELLANOS
QUÍMICO**

GUATEMALA, JUNIO DE 2016

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central shield with a figure holding a staff, surrounded by various heraldic symbols including a crown, a lion, and a cross. The shield is set against a background of green hills and a blue sky. The entire seal is encircled by a grey border containing the Latin motto "SICUT ERAS CONSPICUA CAROLINA ACADEMIA COACTEM" in gold letters.

**ESTUDIO DE LA ESTABILIDAD DE LA VITAMINA A EN LA PREMEZCLA
VITAMÍNICA UTILIZADA PARA FORTIFICAR UNA BEBIDA A BASE DE
HARINAS DE MAÍZ Y SOYA**

Informe de tesis

PRESENTADO POR

**FRANCISCO JOSÉ MARTÍNEZ CASTELLANOS
PARA OPTAR AL TÍTULO DE**

QUÍMICO

GUATEMALA, JUNIO DE 2016

JUNTA DIRECTIVA

Dr. Rubén Daniel Velásquez Miranda	Decano
Licda. Elsa Julieta Salazar Meléndez de Ariza, M.A.	Secretaria
MSc. Miriam Carolina Guzmán Quillo	Vocal I
Dr. Juan Francisco Pérez Sabino	Vocal II
Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera	Vocal IV
Br. Andreina Delia Irene López Hernández	Vocal IV
Br. Carol Andrea Betancourt Herrera	Vocal V

ÍNDICE

I.	Resumen.....	1
II.	Introducción.....	3
III.	Antecedentes	5
	A. Estudios de estabilidad.....	5
	B. Factores que afectan el deterioro de alimentos.....	5
	C. Estabilidad de vitaminas.....	7
	D. Cinética de degradación de alimentos.....	8
	E. Cromatografía líquida de alta eficacia	10
	F. Estudios realizados.	11
	G. Descripción química de la vitamina A.....	14
	H. Fuentes de vitamina A.....	15
	I. Absorción de la vitamina A	15
	J. Metabolismo de la vitamina A.....	19
	K. Mecanismo bioquímico de las funciones de vitamina A	22
	L. La vitamina A en la salud	25
IV.	Justificación.....	28
V.	Objetivos	30
	A. General.....	30
	B. Específico.....	30
VI.	Hipótesis.	31

VII.	Materiales y Métodos	
	A. Materiales	32
	B. Metodología.....	34
	C. Diseño de la Investigación.....	36
VIII.	Resultados.	38
IX.	Discusión de Resultados.....	41
X.	Conclusiones.....	44
XI.	Recomendaciones.....	45
XII.	Referencias.	46
XIII.	Anexos.	50
	Anexo 01: Figura 07 Repetibilidad de vitamina A en la premezcla vitamínica	50
	Anexo 02: Figura 08 Cromatograma del estándar secundario de vitamina A	50
	Anexo 03: Tabla No. 7 Concentración de vitamina A con 0 días de almacenamiento	51
	Anexo 04: Tabla No. 8 Datos estadísticos iniciales.....	51
	Anexo 05: Figura 09 Cromatograma de vitamina A con 0 días de almacenamiento.....	51
	Anexo 06: Tabla No. 9 Concentración de vitamina A con 15 días de almacenamiento a diferentes temperaturas	52

Anexo 07: Tabla No. 10 Datos estadísticos con 15 días de almacenamiento	52
Anexo 08: Tabla No. 11 Concentración de vitamina A con 30 días de almacenamiento a diferentes temperaturas	53
Anexo 09: Tabla No. 12 Datos estadísticos con 30 días de almacenamiento	53
Anexo 10: Tabla No. 13 Concentración de vitamina A con 45 días de almacenamiento a diferentes temperaturas	54
Anexo 11: Tabla No. 14 Datos estadísticos con 45 días de almacenamiento	54
Anexo 12: Figura 10 Cromatograma de vitamina A con 45 días de almacenamiento	54
Anexo 13: Tabla No. 15 Concentración de vitamina A con 60 días de almacenamiento a diferentes temperaturas	55
Anexo 14: Tabla No. 16 Datos estadísticos con 60 días de almacenamiento	56
Anexo 15: Despeje y eficacia de fórmula de cinética de degradación	56
Anexo 16: Tabla No. 17 Tiempo de vida de la vitamina A según las temperaturas de almacenamiento	57

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla No. 1: Órdenes de Reacción	09
Tabla No. 2: Condiciones de almacenamiento	36
Tabla No. 3: Concentración de vitamina A en premezcla vitamínica almacenada a diferentes temperaturas	38
Tabla No. 4: Coeficiente de regresión lineal de cinéticas químicas de primer orden y orden cero para la degradación de vitamina A	38
Tabla No. 5: Tiempos de vida de la premezcla vitamínica almacenada a diferentes temperaturas	40
Tabla No. 6: Resultados estadísticos para la repetibilidad del método	40
Tabla No. 7: Concentración de vitamina A con 0 días de almacenamiento ...	51
Tabla No. 8: Datos estadísticos iniciales	51
Tabla No. 9: Concentración de vitamina A con 15 días de almacenamiento a diferentes temperaturas	52
Tabla No. 10: Datos estadísticos con 15 días de almacenamiento	52
Tabla No. 11: Concentración de vitamina A con 30 días de almacenamiento a diferentes temperaturas	53
Tabla No. 12: Datos estadísticos con 30 días de almacenamiento	53
Tabla No. 13: Concentración de vitamina A con 45 días de almacenamiento a diferentes temperaturas	54
Tabla No. 14: Datos estadísticos con 45 días de almacenamiento	54
Tabla No. 15: Concentración de vitamina A con 60 días de almacenamiento a diferentes temperaturas	55
Tabla No. 16: Datos estadísticos con 60 días de almacenamiento	56
Tabla No. 17: Tiempo de vida de la vitamina A según las temperaturas de almacenamiento	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 01: Conversión de provitamina A retinal.....	18
Figura 02: Cuadro esquemático de las reacciones metabólicas de la vitamina A.....	19
Figura 03: Rutas metabólicas del retinol	21
Figura 04: Isomerización del retinol.....	22
Figura 05: Rhodospina	23
Figura 06: Vitamina A en el ciclo visual.....	23
Figura 07: Repetibilidad de vitamina A en la premezcla vitamínica.....	50
Figura 08: Cromatograma del estándar secundario de vitamina A.....	50
Figura 10: Cromatograma de vitamina A con 45 días de almacenamiento	54

I. RESUMEN

La vitamina A, es uno de los micronutrientes necesarios para el desarrollo de la vista y el desarrollo y crecimiento de los huesos. Debido a esta importante función, la vitamina es administrada en diferentes productos por medio de premezclas vitamínicas

Debido a las exigencias de las normativas de etiquetado, las exigencias de los mercados y las buenas prácticas de manufactura que aseguran la calidad de los productos, cada día es más la demanda en la calidad de los productos así como la necesidad de optimizar los procesos productivos. Por ello fue necesario realizar un estudio de estabilidad de la vitamina A a la premezcla vitamínica utilizada en una de las principales bebidas fortificadas que se encuentran en el país.

Este trabajo de investigación se desarrolló para determinar el tiempo de vida de la premezcla vitamínica utilizada en una bebida fortificada a base de harina de maíz y soya, tomando como referencia la concentración de vitamina A. Para dicho estudio, se realizó la cuantificación de vitamina A por medio de cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), la muestra fue almacenada durante 60 días a cuatro diferentes temperaturas, y se analizaron cada 15 días. Ya que la vitamina A se encontraba como acetato de retinol (hidrosoluble) y no como palmitato de retinol (hidrofilico), se realizó una hidrólisis ácida y luego una extracción con hexano para obtener el analito aislado, el cual fue analizado con una fase normal en HPLC utilizando un detector UV a 325nm.

La metodología utilizada se estandarizó para la cuantificación de la vitamina A en la premezcla vitamínica, por la empresa fabricante, así mismo se realizó un ensayo de repetibilidad, para asegurar los resultados del análisis. Se obtuvo un coeficiente de variación de 3,10%, debajo del 5% aceptado para análisis en

alimentos. Se determinó que la vitamina seguía un modelo cinético de primer orden y utilizando el modelo de Arrhenius se determinó que el tiempo de vida necesario para que la vitamina A se degrade al 100% es de 7 meses a una temperatura de almacenamiento de 25°C.

II. INTRODUCCIÓN

En Guatemala se utiliza la fortificación de alimentos como una de las principales intervenciones para prevenir las consecuencias de deficiencias de micronutriente, siendo una de estas la deficiencia de vitamina A.

A nivel general, cuatro de cada diez niños y niñas menores de cinco años y ocho de cada diez niños indígenas presentan desnutrición crónica, lo que provoca menor productividad, mayor inasistencia escolar, propensión a adquirir enfermedades y hasta pérdida del coeficiente intelectual, los cuales son efectos irreversibles durante toda la vida. La crisis económica global y los efectos del cambio climático, especialmente sequías, están afectando aún más la economía guatemalteca y la subsistencia de las familias indígenas, siendo los niños los más afectados.

La vitamina A ayuda a prevenir enfermedades como diarrea, enfermedades respiratorias, tuberculosis, malaria, infecciones a los oídos y también ayuda a prevenir la transmisión del SIDA de madre a hijo (Grain, 2000, p.10). Siendo la deficiencia de esta vitamina una de las causas principales de la desnutrición por insuficiencia de micronutrientes en los países en vías de desarrollo. Los países latinoamericanos fortifican alimentos con vitamina A para ayudar a mejorar las condiciones alimenticias siendo necesario el análisis del contenido de vitamina A en complementos y suplementos ya que su degradación es inevitable.

En el presente trabajo de investigación se estudió la estabilidad de la vitamina A en una premezcla vitamínica, base de la fortificación de una bebida de harina de maíz y soya, de uso popular en Guatemala, alimento altamente nutritivo de bajo costo que se utiliza para combatir la desnutrición y que contiene dentro de su formulación los macronutrientes y micronutrientes necesarios para ello.

Para realizar dicho estudio, se almacenaron muestras bajo cuatro diferentes condiciones de temperatura (25°C, 34°C, 37°C y 41°C) que favorecieron la degradación del mismo, en cámaras de temperatura y humedad relativa controladas. Se cuantificó por medio de cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) y aplicando modelos matemáticos de Arrhenius se determinó el tiempo de vida de la premezcla vitamínica en base a la concentración de vitamina A.

III. ANTECEDENTES

A. Estudios de estabilidad

La estabilidad de un producto en su envase primario así como la de sus principios activos es una característica fundamental que debe evaluarse tras la conservación del producto en distintas condiciones ambientales. El estudio de la estabilidad acelerada se usa para determinar el envejecimiento del producto a elevadas temperaturas (EUROFINS, 2010, p.01).

La vida útil de un alimento es el período de tiempo en el que, bajo condiciones definidas, el producto mantiene parámetros de calidad específicos. El concepto de calidad engloba aspectos organolépticos o sensoriales, como el sabor o el olor, nutricionales, como el contenido de nutrientes, o higiénico-sanitarios, relacionados de forma directa con el nivel de seguridad alimentaria. Estos aspectos hacen referencia a los distintos procesos de deterioro: físicos, químicos y microbiológicos, de tal manera que en el momento en el que alguno de los parámetros de calidad se considera inaceptable, el producto habrá llegado al fin de su vida útil (Pelayo, 2010, p.01).

B. Factores que afectan el deterioro de alimentos

1. Factores intrínsecos:

- a) Calidad microbiológica de las materias primas: La materia prima que ingresa a las industrias de alimentos, representa una fuente potencial de contaminación microbiológica. El crecimiento potencial de agentes patógenos se verá afectada por el nivel inicial de contaminación y la eficacia de los procesos de eliminación de bacterias en el procesamiento (Valero, 2012, p.06).

- b) pH y acidez: El pH es una medida de la acidez del producto y es una función de la concentración de iones de hidrógeno en el alimento. Las bacterias normalmente crecen con mayor rapidez en un rango de pH de 6,0 a 8,0; levaduras de pH 4,5 a 6,0 y los hongos de pH 3,5 a 4,0 (Valero, 2012, p.07).
- c) Actividad de agua (a_w): La actividad de agua está definida como el agua libre o disponible en un producto alimenticio, y que puede participar en reacciones químicas/bioquímicas y promover el crecimiento microbiano. Así como el pH, el control de la actividad de agua es requerido para la preservación de la matriz alimentaria (Valero, 2012, p.07).
- d) Potencial Redox (E_h): el potencial de oxido-reducción de un alimento es la facilidad con la que gana o pierde electrones. El potencial redox en el que los microorganismos crecerán determina si requieren oxígeno o no para crecer (Valero, 2012, p.08).
- e) Estructura biológica: La superficie natural de los alimentos generalmente provee alta protección contra el ingreso y subsecuente daño de organismos deteriorativos. Ejemplos de estructuras biológicas son las capas externas de las semillas, la cubierta externa de las frutas y la cáscara de huevo. Las estructuras biológicas pueden ser penetradas por organismos por los siguientes factores: grado de madurez de frutas y verduras, daños físicos y procesos de preparación de alimentos (Valero, 2012, p.08).

2. Factores extrínsecos:

- a) Condiciones de tiempo y temperatura: Todos los microorganismos tienen un rango de temperatura en el que crecen. La velocidad de crecimiento incrementa con el aumento de temperatura, y disminuye rápidamente después de que la temperatura óptima de crecimiento ha sido alcanzada. El tiempo puede facilitar (largo tiempo) o evitar (corto tiempo) el crecimiento de

microorganismos durante el almacenamiento del alimento (Valero, 2012, p.09).

- b) Composición de gas: La disponibilidad de oxígeno (O₂) juega un papel importante en el empaque del alimento junto con la concentración de dióxido de carbono (CO₂). Un empaque adecuado puede extender la vida de anaquel de un producto sin afectar sus propiedades sensoriales (Valero, 2012, p.10).
- c) Humedad Relativa (HR): La Humedad Relativa es la cantidad de humedad en la atmósfera que rodea el producto alimenticio, empacado o no. Se calcula como el porcentaje de humedad requerida para saturar por completo la atmósfera. Típicamente, existirá un intercambio de humedad entre el alimento y la atmósfera que continuará hasta alcanzar el equilibrio. Es importante asegurar que el producto sea almacenado en un ambiente donde la HR prevenga cambios en la actividad de agua para asegurar la calidad e inocuidad del mismo (Valero, 2012, p.10).

C. Estabilidad de las vitaminas

Uno de los pocos atributos que tienen las vitaminas en común es que ninguna es completamente estable. Los factores más importantes que afectan la estabilidad de las vitaminas son calor, humedad, oxígeno, pH y luz. Otros factores que afectan la estabilidad de las vitaminas son agentes de oxidación/reducción, presencia de iones metálicos, otros componentes en la matriz como dióxido de azufre, presencia de otras vitaminas y cualquier combinación de los factores anteriores. La degradación de las vitaminas puede tener lugar naturalmente durante el almacenamiento y pueden ocurrir pérdidas durante el procesamiento y preparación de alimentos, particularmente durante tratamientos térmicos (Ottaway, 2010, p.541).

Una de las vitaminas más lábiles y que se considera la menos estable es la vitamina A. La presencia de enlaces dobles en su estructura la hace sujeta a isomerización, particularmente en medios acuosos de pH ácido y es relativamente estable en soluciones alcalinas. La Vitamina A es sensible al oxígeno, por lo que en las matrices alimenticias en las que se encuentra por lo general incluyen algún antioxidante. Su descomposición es catalizada por la presencia de trazas de minerales (Ottaway, 2010, p.542).

D. Cinética de degradación de alimentos

En general, la velocidad de cambio de la calidad de los alimentos puede ser expresada como función de los factores de composición o intrínsecos y los ambientales, mediante la siguiente ecuación:

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

Donde C_i son los factores de composición, como la concentración de componentes reactivos, catalizadores inorgánicos, inhibidores de reacciones, pH, actividad de agua y poblaciones microbianas; y E_j son los factores ambientales, como la temperatura, humedad relativa, presión total y parcial de diferentes gases, luz y estrés mecánico (Valentas, 1997, p.368).

La metodología establecida consiste en identificar la reacción química o biológica que influye en la calidad e inocuidad del alimento. Luego, se deben determinar los factores que tienen mayor impacto en el deterioro del alimento. Asumiendo que los factores ambientales (E_j) son constantes, se logra una ecuación más simple que expresa el efecto de la concentración de los factores de composición en la degradación (Valentas, 1997, p.368).

Las reacciones importantes en los alimentos que afectan la calidad de los mismos, siguen reacciones de orden cero o de primer orden, de acuerdo a la tabla No. 1.

Tabla No. 1 Órdenes de Reacción

Orden de Reacción	Reacciones de pérdida de calidad en los alimentos
Orden Cero	Calidad de alimentos congelados (general) Pardeamiento no-enzimático Pérdida de Vitaminas
Primer Orden	Crecimiento/pérdida microbiana Pérdida de color por oxidación Pérdida de textura por procesamientos térmicos

Fuente: Valentas, Rotstein & Singh, 1997

El orden de reacción es el factor exponencial que acompaña a la concentración (o cualquier propiedad que se está midiendo) en la ecuación de velocidad. El orden cero significa que la velocidad de reacción no es afectada por la concentración de una especie al pasar el tiempo, ninguna reacción bioquímica tiene orden global cero, por lo que:

$$\frac{dA}{dt} = -k$$

Donde k es la constante de la velocidad de la reacción (Gómez, 2010, p.07).

La cinética de degradación de la mayoría de vitaminas es de primer orden, por lo que es posible utilizar el modelo de Arrhenius para la predicción de vida de anaquel (Ottaway, 2010, p.541). Los métodos acelerados de estimación de la vida de anaquel de alimentos se basan en la aplicación de los principios de la cinética química sobre el efecto que las condiciones ambientales como temperatura,

presión, humedad, gases de la atmósfera y luz, tienen sobre la velocidad de reacción. Para la estimación, se puede aplicar la ecuación de Arrhenius, expresando el cambio de los constituyentes relacionados con la calidad del alimento, como función del tiempo mediante la siguiente ecuación:

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

Donde A es un factor físico, químico, microbiológico o sensorial de la calidad, n es el orden aparente de reacción, k es la constante de velocidad que representa la pendiente que se genera de la gráfica de A versus tiempo t . En general, las reacciones de deterioro de los alimentos pueden ser tratadas globalmente como reacciones de orden aparente cero, uno o dos (Ocampo, 2010, p.23).

E. Cromatografía líquida de alta eficacia

La cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC, por sus siglas en inglés) es una técnica utilizada para separar y cuantificar diferentes componentes de una muestra. La muestra es forzada por una fase móvil líquida a través de una fase estacionaria (columna) a alta presión. El tamaño de partícula de la fase estacionaria más utilizada es de 3 a 5 μm . Con esta técnica, la separación de los diferentes componentes se da de acuerdo a su polaridad (Preedy, 2012, p.538).

La HPLC puede ser de 2 tipos: fase normal (fase móvil no-polar y fase estacionaria polar) y fase reversa (fase móvil polar y fase estacionaria no-polar). De acuerdo a la naturaleza del compuesto de interés, se debe seleccionar el método y columnas que sean necesarios (Preedy, 2012, p.5.8).

F. Estudios realizados

Basados en el programa Guatemalteco de fortificación de vitamina A en el azúcar, Arroyave G, Mejía LA, Aguilar JR, en 1981, realizaron una evaluación longitudinal de los niveles de retinol en el suero de niños de edad preescolar. Donde se ejecutaron 5 encuestas consecutivas cada 6 meses, considerando solo niños que fueron encuestados más de una vez. Por lo tanto, se evaluó el retinol sérico después de la intervención. La dieta natural de vitamina A se mantuvo a través del tiempo. La adición de palmitato de retinil al azúcar incremento considerablemente la ingesta. Después de 1 año de fortificación el 76% de los niños experimento una elevación en sus niveles de retinol. Todos aquellos con valores iniciales de $<20 \mu\text{g}/\text{diarios}$ mostraron un incremento. Los valores medidos incrementaron significativamente, particularmente para aquellos niños con valores menores de $20 \mu\text{g}/\text{diarios}$ cuyos niveles cambiaron de $16,2 \pm 2,9$ a $30,2 \pm 9,7$. Aquellos entre $20-29 \mu\text{g}/\text{diarios}$ incrementaron de $24,9 \pm 3,2$ a $30,1 \pm 8,1$. Resultados similares fueron obtenidos después de 2 años. Estos resultados demostraron la efectividad del programa para aumentar los niveles séricos de retinol

En el año 1998; Krause VM, Delisle H, Solomons NW.; realizaron un estudio sobre la ingesta de vitamina A de fuentes de alimentos, no incluyendo la leche materna, la cual se determinó de 55 niños (promedio 20,8 meses) muestreados cada 24 horas de dos comunidades de bajos recursos de Guatemala. No incluyendo la vitamina A derivada del azúcar fortificado o de la leche materna, la ingesta media fue de 194 equivalentes de retinol (RE). Incluyendo la vitamina A del azúcar fortificada pero no incluyendo la derivada de la leche materna, la media ingesta total fue de 338 RE de los cuales el 78% fue retinol preformado y un 22% de provitamina A. Más del 90% de la ingesta total de alimentos, excluyendo la leche materna, fue obtenida de solo 10 artículos, y más de la mitad de la fuente son tres alimentos fortificados: azúcar fortificada, Incaparina y margarina. Las

muestras de 91 amas de casas en 1991 tienen una media de 3,3 RE/g (rango de 0,0-29,9 RE/g) menos del 25 % tiene el nivel objetivo (13-17 RE/g); sin embargo, el azúcar provee cerca del 25% del total de la ingesta de vitamina A (81 RE/g) de lo recomendado según la FAO/WHO (400 RE/g). Estos resultados demuestran que los alimentos fortificados hacen una importante contribución hacia la ingesta de vitamina A.

En 1982, Mejía LA y Arroyave G, realizaron el estudio sobre el efecto en el mejoramiento en el estado nutricional de vitamina A y los indicadores bioquímicos de la nutrición de hierro durante la fortificación nacional de vitamina A en el azúcar. Se realizó en cuatro “subgrupos pareados de comparación” de preescolares, que se dividieron de la siguiente manera: antes de la fortificación (encuesta I) y respectivamente a los 6 meses (encuesta I vrs. II), al año (encuesta I vrs. III), al año y medio (encuesta I vrs. IV) y a los 2 años (encuesta I vrs. V) después que la fortificación empezó. Comparando I contra II se obtuvo una correlación positiva, entre los cambios en retinol en suero o proteína de unión a retinol y los cambios en el hierro, la capacidad total de fijación del hierro y porcentaje de saturación de transferrina. Por el contrario, se obtuvo una correlación negativa en los cambios de la ferritina sérica. La comparación de V con I el retinol, la proteína de unión al retinol, el hierro, y el porcentaje de saturación transferrina aumentó, por lo que la ferritina también aumentó. En consecuencia, la distribución de los valores de hierro y ferritina en suero de los niños mejoró. Debido a que el hierro en la dieta no cambió a través del período de estudio, los resultados sugieren que la fortificación con vitamina A tuvo un efecto favorable sobre el metabolismo del hierro y el estado nutricional.

En el año 2000, Y-S. Kim E. Strand, R. Dickmann y J. Warthesen; realizaron el estudio de la degradación de palmitato de vitamina A en Corn Flakes

fortificados. Se determinó la degradación de la vitamina durante el almacenaje a dos diferentes condiciones: a temperatura ambiente (23°C) y a temperatura elevada (45°C). Se encontraron dos diferentes isómeros: 9-cis y 13-cis. La vitamina inicial consistía de un 5% de 13-cis y menos del 1% de 9-cis, con todos los demás trans-. En cualquier cereal fortificado, ya sea una mezcla completa de vitaminas o únicamente una fortificación con palmitato de vitamina A, la distribución de estos compuestos fue casi constante a través del almacenamiento independientemente de la muestra y las condiciones de almacenamiento. La constante de velocidad de la reacción y la cinética de la degradación del palmitato de vitamina A también fue obtenida, después de 6-8 semanas de almacenamiento más del 90% del palmitato de vitamina A se perdió en todas las muestras, excepto en los Corn Flakes fortificados con la mezcla completa de vitaminas y almacenada a temperatura ambiente. La presencia de otras vitaminas incluyendo las vitaminas B1, B6, B12, C y D reducen la pérdida de vitamina A, pero aun así la pérdida fue sustancial.

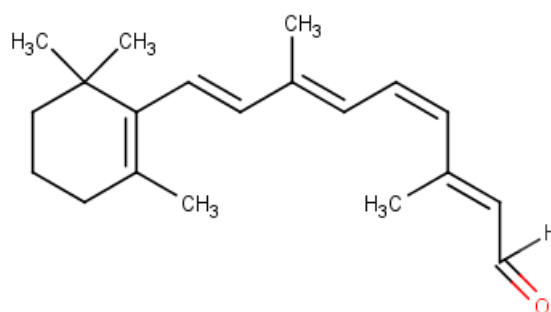
INCAP en 1969, realiza el “Estudio longitudinal sobre crecimiento y desarrollo en comunidades rurales en el nororiente de Guatemala”. Los destinatarios del estudio fueron niños menores de 7 años y mujeres embarazadas o en período de lactancia. Los recién nacidos fueron incluidos desde su nacimiento y se les dio seguimiento a algunos hasta los siete años y a otros hasta la finalización del estudio. Se proporcionaron a libre demanda y gratuitamente, a cada comunidad, uno de dos tipos de suplemento consistente en una bebida proteica energética alta (INCAPARINA) y una bebida baja en calorías y sin proteína (fresco). Con un programa de educación en salud y actividades médicas asistenciales se instruyó a toda la población, especialmente al segmento materno infantil. Este diseño permitió comprobar la hipótesis que una mejor nutrición en los primeros años de vida da lugar a un acelerado crecimiento físico y desarrollo mental de los niños en edad preescolar. Ya que en los años 1988-89 se llevó a cabo el estudio de seguimiento titulado “Las repercusiones a largo plazo de la

desnutrición en la niñez temprana”, cuando los sujetos suplementados tenían entre 10 y 26 años. Se investigaron los efectos de una mejor nutrición en la niñez temprana y su posterior efecto en mejorar el capital humano. El estudio de los efectos generacionales de la desnutrición, se realizó entre 1991-1999 para hacer un seguimiento a los embarazos y a los niños de las mujeres que habían sido suplementadas en su niñez, con el propósito de vincular dicha suplementación con el crecimiento y desarrollo de la siguiente generación (INCAP, 1991, p.23).

Debido a lo específico de cada formulación de bebidas fortificadas no encontraron reportes o estudios que indiquen la estabilidad de las vitaminas en las premezclas utilizadas para fortificación.

G. Descripción química de la vitamina A

1. Estructura Química



2. Nombre IUPAC

(2E,4E,6E,8E)-3,7-dimetil-9-(2,6,6-trimetilciclohex-1-en-1-il)nona-2,4,6,8-tetraen-1-ol (Retinol)

3. Fórmula química

$C_{20}H_{30}O$

4. Peso molecular de la base

286,4516 g/mol

5. Otros parámetros

Número CAS 11103-57-4

H. Fuentes de vitamina A

La vitamina A existe en diferentes formas en los productos naturales. Existe como retinoides preformados, los cuales son almacenados en tejidos animales, y como carotenoides de provitamina A, los cuales son sintetizados como pigmentos por muchas plantas y que se encuentran en los tejidos vegetales verdes, anaranjados y amarillos. En la leche, carne y huevo, la vitamina A existe en diferentes formas, principalmente como ácidos grasos de cadenas largas de esteroides de retinol, siendo el predominante el retinil palmitato. Los carotenoides están presentes en alimentos vegetales y animales. En productos animales, se encuentran debido a la exposición que tiene el animal. Los pigmentos del carotenoide están extendidos entre diversas especies animales, con más de 500 compuestos diferentes aproximadamente. Cerca de 60 tienen actividad de provitamina A, pero en la realidad, solo 5 o 6 de estas provitaminas se encuentran con frecuencia. Por lo tanto, la ingesta actual de vitamina A depende en los patrones de consumo de productos de origen animal o vegetal que la contengan, los cuales están relacionados a la disponibilidad y hábitos alimenticios (FAO, 2001, p.18)

I. Absorción de la Vitamina A

1. Absorción de retinoides

La mayor cantidad de la vitamina A preformada, en la dieta está en la forma de esteroides de retinol. Los esteroides de retinol son hidrolizados en el lumen del intestino para producir retinol, este paso es catalizado por la hidrolasa producida en el páncreas y situada en la mucosa alrededor los bordes del cepillo o intrínsecamente en borde del cepillo. Los retinil esteroides, así como los

carotenoides, son hidrofóbicos, por lo que depende de la solubilización micelar para su dispersión en el ambiente acuoso del pequeño lumen intestinal. Por esta razón, la vitamina A es pobremente utilizada de las dietas bajas en grasas. La solubilización micelar facilita el acceso de las enzimas hidrolíticas solubles para su sustracción y proporciona un medio para la posterior presentación del retinol a la superficie mucosal por la cual el retinil libre y el β -caroteno intacto se pueden difundir pasivamente en las células epiteliales de la mucosa. La absorción global del retinol de retinil esterres se calcula que es del 75%, este proceso parece ser afectado mínimamente por la cantidad y tipo de dieta, aunque la absorción es notablemente menos eficiente a concentraciones altas de vitamina A (Gerald. 2012, p.99).

2. Absorción de Carotenoides

La mayor fuente de vitamina A para las poblaciones es la provitamina A o carotenoides. Su utilización involucra 3 pasos:

- a) Liberación de la matriz: el mayor factor limitante para la utilización de carotenoides de los alimentos es la liberación de los mismos de las matrices físicas en las que viene. Los carotenoides pueden estar en complejos cristalinos citosólicos o en cromoplastos y cloroplastos, donde pueden ser asociados con proteínas, polisacáridos, fibras y compuestos fenólicos. Muchos carotenoides son resistentes a la digestión sin un tratamiento térmico (Gerald. 2012, p.99).
- b) Solubilización micelar en el lumen intestinal: la absorción de carotenoides depende en su solubilización con lípidos miceliales, lo que requiere el consumo y digestión de los lípidos. La absorción, particularmente de los carotenoides menos polares, puede resultar con la presencia de lípidos o por poliésteres de sucrosa en el lumen intestinal. La acidez gástrica también puede ser un factor, ya que algunos pacientes con una producción

de ácido gástrico mayor mostraron una disminución a la respuesta de β -caroteno (Gerald. 2012, p.100).

- c) Absorción por la mucosa intestinal: se cree que la liberación de los carotenos de los micelios involucra la difusión directa a través de las membranas plasmáticas de los enterocitos. Este proceso parece estar afectado por la fibra dietética soluble y probablemente por otros factores que interfieren con el contacto del micelio con el cepillo del borde mucosal. Poca evidencia sugiere que los carotenoides pueden ser competitivos entre ellos para la absorción. Por ejemplo, altas dosis de cantoxantin o licopeno han demostrado reducir la absorción del β -caroteno. Por estas razones, ha sido dificultoso técnicamente estimar cuantitativamente la eficiencia de absorción del carotenoide intacto (Gerald. 2012, p.100).

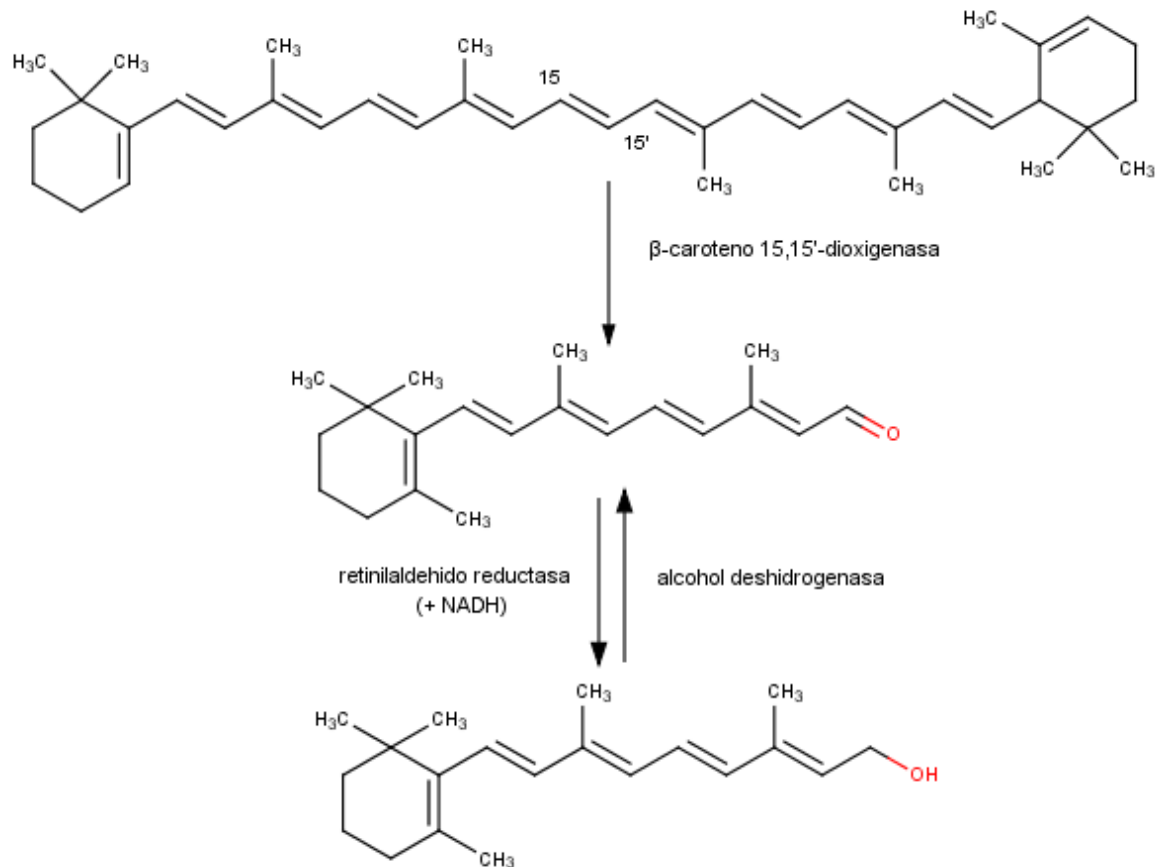
i. Metabolismo del Carotenoide asociado a la absorción

La absorción del carotenoide típicamente resulta en la acumulación sobre todo del trans- β -caroteno que del 9-cis- β -caroteno en los enterocitos. Esto sugiere que la isomerización cis-trans depende de la capacidad enterocítica, el cual también es un indicador que los humanos debido al 9-cis- β -caroteno muestran niveles detectables del 9-trans-retinol en su plasma. La capacidad de isomerización serviría para limitar la distribución del 9-cis-retinoides al tejido y hacer que ambos isómeros β -carotenos sean capaces de ser metabolizables al retinol (Gerald. 2012, p.100).

Los carotenoides son provitaminas A cuando son convertidos en retinal. Este metabolismo es catalizado por la caroten oxigenasa. (Figura 1). La mayor parte de esta bioconversión ocurre a través de la hendidura de la fracción del polieno predominantemente por la enzima citosólica β -caroten-15,15'-oxigenasa (BCO1), encontrada en la mucosa intestinal. La enzima requiere hierro como un cofactor, estudios han demostrado que esta

actividad responde a la ingesta de hierro así como a los factores que afectan la utilización del hierro por parte del organismo (ejemplo: cobre, fructosa) (Gerald. 2012, p.100).

Figura 01: Conversión de provitamina A retinal



Fuente: Gerald. & Combs, 2012,

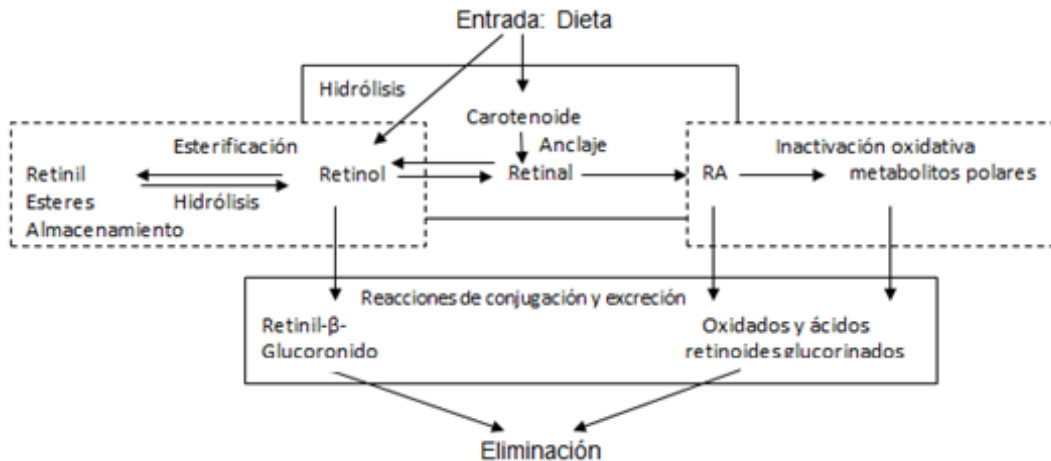
La reacción requiere oxígeno molecular, el cual reacciona con 2 átomos de carbono central (C-15 y C-15') seguido por la formación del enlace C-C. Es inhibido por el grupo sulfidril y por quelantes como el ion ferroso (Fe^{2+}). La enzima ha sido encontrado en una gran variedad de especies animales, donde la mayor actividad fue en animales herbívoros, omnívoros intermediarios (gallina, tortuga y pescado) y ausente en el único

carnívoro estudiado (gato). La actividad de la enzima es mejorada por el consumo de triglicéridos, debido a que su regulación involucra cadenas largas de ácidos grasos. Esta disminución de altos consumos de β -caroteno y privación de proteínas, es inducida por la deficiencia de vitamina A y puede ser inhibida por la quercetina u otro flavonoide (Gerald. 2012, p.100).

J. Metabolismo de la vitamina A

El metabolismo de la vitamina A (figura 3) se centra en la forma del retinol y en las diferentes rutas de conversión disponible para su, esterificación, conjugación, oxidación e isomerización. En la figura 2 se encuentra el cuadro esquemático de las reacciones del metabolismo de la vitamina A.

Figura 02: Cuadro esquemático de las reacciones metabólicas de la vitamina A



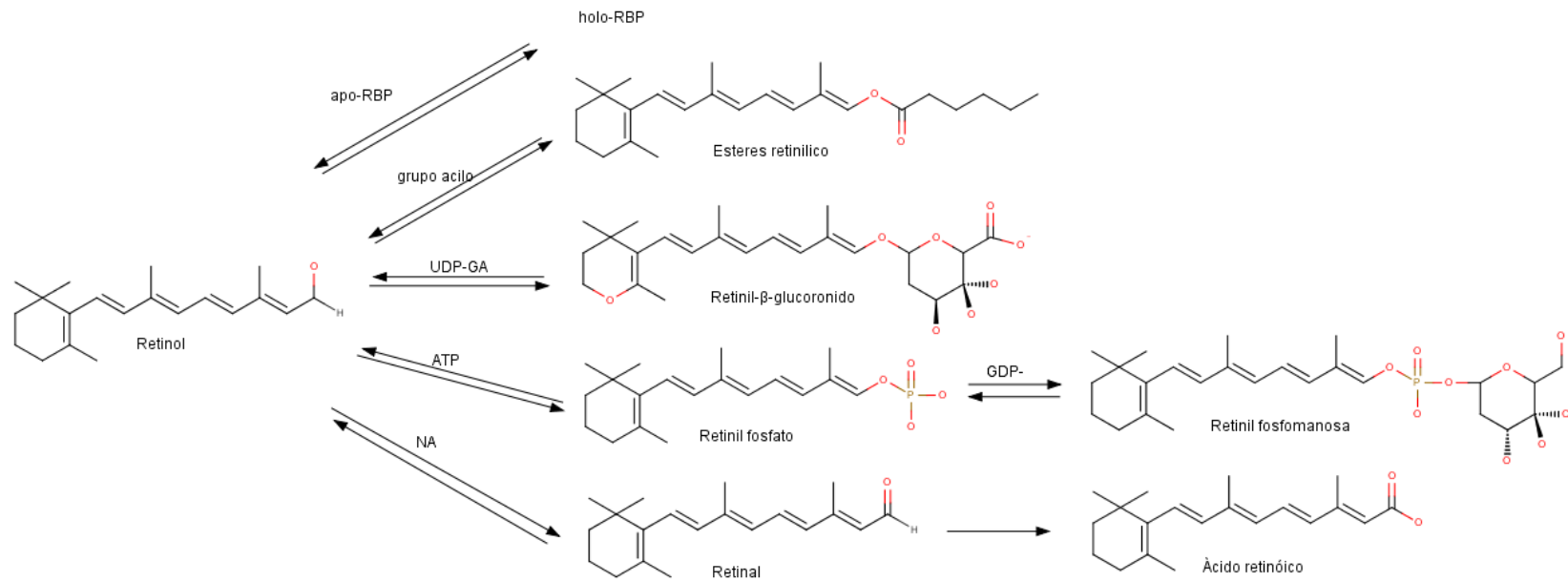
Fuente: Ross, 2013

- a) Esterificación: el retinol es esterificado en las células del intestino y en muchos otros tejidos por medio de enzimas del retículo endoplasmático, la cual usa un grupo acil- ya sea de fosfatidilcolina (lecitin-retinol aciltransferasa, LRAT) o de la coenzima A acilada (acil-CoA:retinol aciltransferasa, ARAT). Este sistema muestra especificidades marcadas

para ácidos grasos saturados, en particular el ácido palmítico, por lo que el producto con mayor abundancia es el retinil palmitato (Gerald. 2012, p.109).

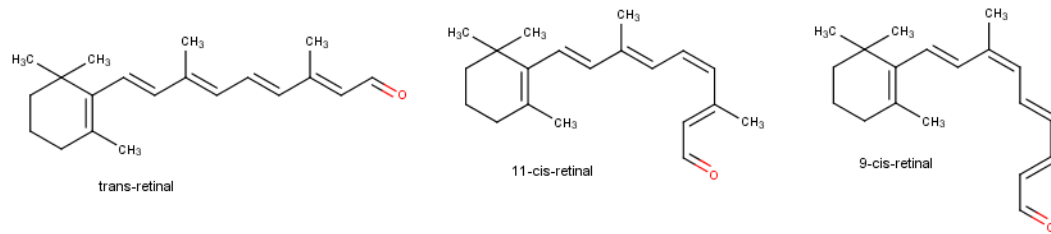
- b) Conjugación: el retinol también puede ser conjugado por cualquier de estas dos formas: la primera establece que la reacción catalizada por el retinol-UDP-glucorodinasa, presente en el hígado y probablemente en otros tejidos, que produce retinil β -glucoronido, un metabolito que es excretado en la bilis. La segunda ruta de la conjugación involucra la dependencia de la fosforilización del ATP para producir retinil fosfato catalizado por el retinol fosforilasa. Este producto en presencia de la guanosina difosfomanosa (GDP-man) puede ser convertido al glucosido retinil fosfomanosa, la cual puede transferir el resto de azúcar a glicoproteínas receptoras (Gerald. 2012, p.110).
- c) Oxidación: el retinol también puede ser oxidado reversiblemente a retinal por NADH o el retinol deshidrogenasa dependiente-NADPH los cuales también son dependientes del zinc. Estas actividades citosólicas y microsomáticas se encuentran en muchos tejidos. Una pequeña cadena de alcohol deshidrogenasa ha sido descrito que puede oxidar el 9-cis y el 11-cis-retinol a su aldehído correspondiente. Esta actividad ha sido identificada en varios tejidos, incluyendo el pigmento retinal epitelial, hígado, glándulas mamarias y los riñones. El 9-cis-retinol puede ser convertido a ácido 9-cis-retinoico y se confirma por el descubrimiento del 9-cis-retinol deshidrogenasa (Gerald. 2012, p.110).
- d) Isomerización: es la interconversión de la mayoría de todas las formas trans de la vitamina A y algunas formas cis que ocurre en el ojo, y es un aspecto clave para la función visual de la vitamina, ya que el cambio de conformación causado por la isomerización altera la afinidad de unión del retinal con los pigmentos visuales de la proteína opsina. En el ojo, la luz induce la conversión del 11-cis-retinal a todas las formas trans-retinal (Figura 3). (Gerald, 2012, p.111).

Figura 03: Rutas metabólicas del retinol



Fuente: Gerald & Combs, 2012

Figura 04: Isomerización del retinol



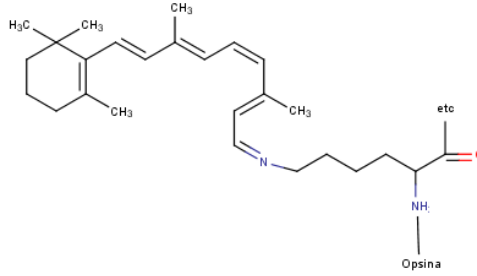
Fuente: Gerald & Combs, 2012

K. Mecanismo bioquímico de las funciones de vitamina A

La vitamina A funciona en dos niveles en el cuerpo. Primero es en ciclo visual en la retina del ojo y la segunda es en todo el tejido del cuerpo, sistemáticamente para mantener el crecimiento y solvencia de células.

En el sistema visual, el retinol es transportado por el tejido ocular y a la retina por las uniones intracelulares y el transporte de proteínas. La rhodospina, el pigmento visual crítico para la visión, es formado en las células después de la conversión de todo el retinol trans a retinaldehido, isomerización a la forma 11-cis y la unión con cualquiera de 3 posibles iodospinas (usualmente la opsina) (Figura 4). La alteración de la rhodospina a través de una cascada de reacciones fotoquímicas resulta en la habilidad de ver objetos. La velocidad a la que la rhodospina es regenerada está relacionada en la disponibilidad de retinol. La ceguera nocturna es usualmente un indicador de la inadecuada disponibilidad de retinol, pero puede ser provocado a un déficit de otros nutrientes, los cuales son críticos para la regeneración de rhodospina, como proteínas y zinc. (FAO, 2001, p.88)

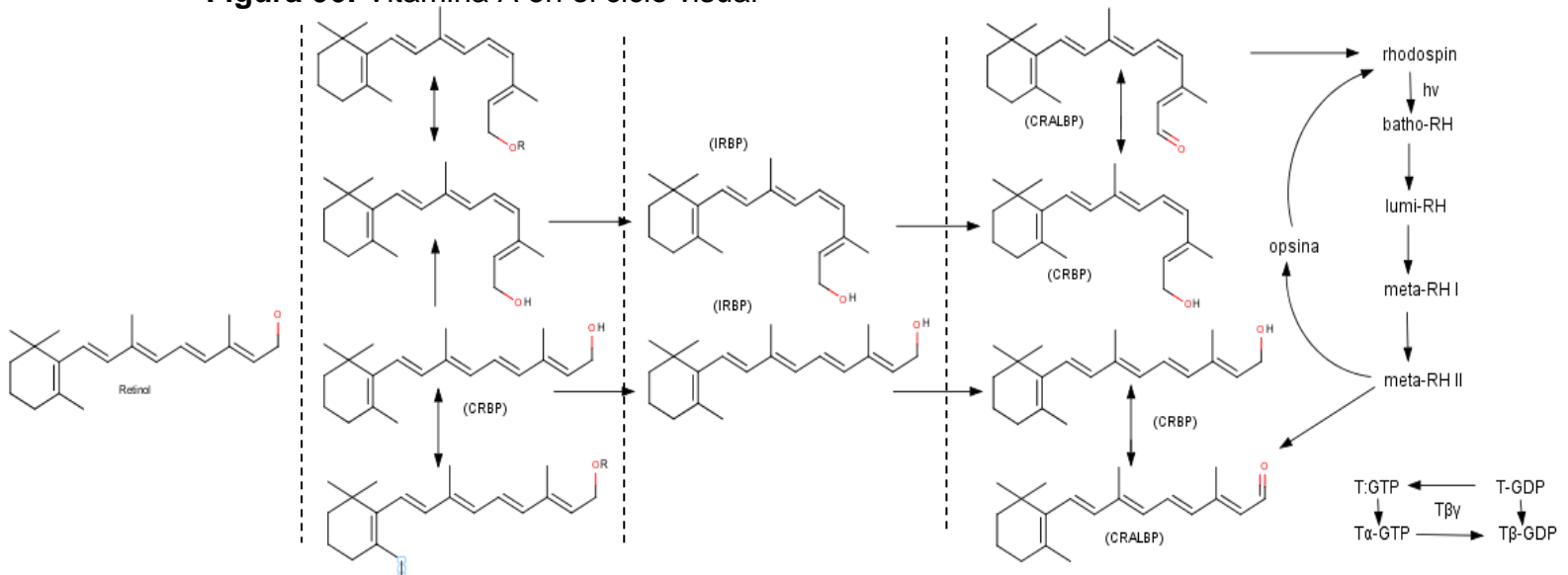
Figura 05: Rhodospina



Fuente: Gerald & Combs, 2012

Las funciones visuales de la rhodospina y los iodospinos defieren únicamente a sus propiedades para absorber la luz, las cuales son conferidas por las diferentes opsinas involucradas. En cada una, la fotorecepción es afectada por la rápida isomerización del 11-cis-retinal a su forma trans, inducida por la luz. Este producto se presenta como una base de Schiff protonada, que produce una conformación altamente tensa, por lo que resulta en la disociación del retinoide del complejo opsina. Este proceso es una serie de reacciones complejas, que involucran progresiones del pigmento a través de intermediarios inestables de diferentes conformaciones, y por último, a N-retiniliden opsina, la cual disocia a todos trans-retinal a opsina (Figura 5) (Gerald. 2012, p.114).

Figura 06: Vitamina A en el ciclo visual



Fuente: Gerald & Combs, 2012

El blanqueamiento de la rhodospina provoca el cierre de los canales de sodio (Na^+), lo que conduce a la hiperpolarización de la membrana. Este cambio en el potencial de la membrana es transmitido como un impulso nervioso por todas las neuronas ópticas. El proceso visual es cíclico, en donde todos sus constituyentes son regenerados. Todos los trans-retinal pueden ser convertidos enzimáticamente a la forma 11-cis. Después del blanqueo, todos los trans-retinal son rápidamente reducidos a trans-retinol. El último es transferido en las células epiteliales del pigmento retinal, donde es esterificado (predominantemente por el ácido palmítico) y almacenado en la mayor parte de las células lipídicas. La regeneración del rhodospin, involucra la hidrólisis simultánea y la isomerización del retinil éster para producir 11-cis-retinol y luego 11-cis-retinal (Gerald, 2012, p.114).

El crecimiento y la diferenciación de células epiteliales a través de todo el cuerpo son afectadas especialmente por la deficiencia de vitamina A (VAD). Las células calciformes son reducidas en el tejido epitelial. La consecuencia es que las secreciones mucosas con sus componentes antimicrobianos disminuyen y las células que recubren el tejido fallan en regenerar y diferenciar. Ambos factores, la disminución en las secreciones mucosas y la pérdida de la integridad celular, disminuye la resistencia a una posible invasión por un potencial organismo patógeno. El sistema inmune también está directamente comprometido por la interferencia con la producción de algunos tipos de secreciones y células de protección. Síntomas clásicos de xerosis y descamación de las células muertas de la superficie, como en el tejido ocular, son la evidencia externa de los cambios que también ocurren en diversos grados en los tejidos del epitelio interno (Gerald. 2012, p.115).

La comprensión actual del mecanismo de las acciones de la vitamina A fuera del ciclo visual, es que las funciones celulares están mediadas a través de receptores nucleares específicos. Estos receptores son activados por la unión con

isómeros específicos de ácido retinoico. Receptores activados se unen a elementos de respuesta de ADN localizados arriba de genes específicos para regular el nivel de expresión de dichos genes. La síntesis de una gran cantidad de proteínas vitales para mantener funciones fisiológicas normales está regulada por estos genes activados (Gerald, 2012, p.115).

L. La Vitamina A en la salud

1. Deficiencia de Vitamina A

La deficiencia de vitamina A (DVA) constituye una de las causas principales de la desnutrición por insuficiencia de micronutrientes en los países en vías de desarrollo. La importancia de la vitamina A en la prevención de la ceguera está históricamente reconocida y, más recientemente, se ha descubierto el papel que desempeña en apoyo al combate de las infecciones. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), hay cerca de 2,8 millones de niños menores de cinco años en el mundo que presentan síntomas clínicos de una insuficiencia severa de vitamina A denominada xeroftalmia. Ya está demostrado que la vitamina A, podría llegar a reducir la mortalidad infantil en muchos lugares del mundo en vías de desarrollo, hasta en un tercio de los índices actuales. La DVA está considerada como un problema grave de salud pública y ya se han lanzado varias iniciativas tendientes a su erradicación en el año 2000, pero la meta está lejos aunque se han producido avances en ese camino (Grain, 2000, p.11).

Es muy poco usual que se presente déficit de un solo micronutriente aislado. En muchos países la desnutrición está ocasionada por insuficiencias de zinc, vitaminas C y D, ácido fólico, riboflavina, selenio y calcio, además de las insuficiencias en los tres micronutrientes que actualmente reciben tanta atención (vitamina A, hierro y yodo), con graves consecuencias para la salud.

La deficiencia de la vitamina A se manifiesta principalmente en ambientes de pobreza, carencias e inequidad social, y está considerada como uno de los componentes del síndrome de desnutrición. En un contexto de interrelaciones e insuficiencias múltiples de nutrientes, por lo tanto, no tiene mucho sentido emplear un solo micronutriente para combatir la desnutrición por insuficiencia de varios de ellos. La vitamina A, también denominada retinol, solamente se encuentra en alimentos de origen animal, tales como el hígado, la leche y los huevos. Las frutas y las verduras contienen provitaminas A, tales como el beta-caroteno y otros carotenoides que deben ser primero transformados en retinol antes que el cuerpo pueda utilizarlos. Es posible rastrear el origen de la insuficiencia infantil de vitamina A en las condiciones alimenticias de la madre durante el embarazo y la lactancia, y en la ingestión deficitaria de alimentos ricos en vitamina A o provitaminas A por el niño (Grain, 2000, p.11).

2. Toxicidad Vitamina A e hipervitaminosis

La hipervitaminosis es una rara pero seria condición, y en algunas ocasiones puede ser fatal. Puede presentarse de forma aguda tras el consumo de grandes cantidades de vitamina A preformada, o lentamente después del consumo persistente de menor, pero aun excesivas, cantidades de vitamina A preformada. Muchos casos han tenido resultados del uso de suplementos vitamínicos que contienen vitamina A, mientras que síntomas similares se han presentado en pacientes que consumen retinoides bajo prescripción médica para terapia. Los signos clínicos de la toxicidad de vitamina A incluyen náuseas y vómitos, dolores de cabeza, mareos, visión borrosa, falta de coordinación muscular, funciones anormales del hígado y dolor en huesos y articulaciones. Hay muy poco que se puede hacer para el tratamiento del intoxicamiento por vitamina A aparte de eliminar el consumo de vitamina A o el uso de retinoides. Individuos que consumen grandes cantidades de alimentos o jugos ricos en carotenoides pueden desarrollar una piel amarillenta (carotenodermia),

especialmente en tejidos grasos y en las palmas de las manos (Ross, 2013, p.337).

3. Vitamina A, Carotenoides e incidencia en el cáncer

Existen varias líneas de evidencias que sugieren que existe una relación entre la vitamina A y el cáncer. Primero, los retinoides son reguladores normales de la diferenciación y proliferación de las células, y ya que la carcinogénesis es un desorden de la diferenciación celular, es muy probable que el nivel de los retinoides de una célula influencie su potencial para la transformación a ser una célula maligna. De hecho, varios estudios con animales de laboratorio, indican que la dieta de vitamina A y carotenoides pueden interferir con la progresión de la transformación neoplástica inducida químicamente (Ross, 2013, p.337).

Hay evidencia de estudios epidemiológicos, que el nivel de retinoides de una persona puede ser un determinante importante del riesgo del desarrollo del cáncer. La razón fundamental para las pruebas con retinoides y carotenoides en el tratamiento para el cáncer están basadas parcialmente en el estudio epidemiológico que muestra que alimentos ricos en vitamina A y carotenoides pueden proteger contra algunas formas de cáncer, pero también en los muchos reportes in vitro y en animales de laboratorio que indican que los retinoides pueden interferir con la carcinogénesis y que pueden controlar la diferenciación y proliferación de células neoplásticas. Otra motivación es el hecho de que los retinoides son unos de los reguladores más importantes del crecimiento y diferenciación celular (Ross, 2013, p.338) (Blomhoff, 1994, p.689).

IV. JUSTIFICACIÓN

Actualmente en el mundo el problema de la desnutrición ha tomado grandes proporciones. Se estima que el 35% de las muertes en niños, menores de 5 años y 11% de la carga global de enfermedad, puede ser atribuida a las deficiencias nutricionales en su conjunto. Sólo en países en desarrollo se reportan anualmente entre 10 y 13 millones de muertes infantiles por causas prevenibles; estando la desnutrición relacionada directa o indirectamente con el 55% de los casos (Grisby, 2003, p. 03)(SESAN, 2004, p.14).

La desnutrición crónica es el trastorno del crecimiento más común en América Latina y el Caribe. Cerca de nueve millones de niños menores de 5 años sufren de desnutrición crónica. Además, 22,3 millones de niños preescolares, 33 millones de mujeres en edad fértil y 3,6 millones de embarazadas padecen de anemia. Estas son cifras éticamente inaceptables para una región cuya capacidad de producir alimentos supera en 30% lo necesario para satisfacer adecuadamente los requerimientos de toda su población (UNICEF, 1998, p.03). Una consecuencia de la inseguridad alimentaria y nutricional de la población se refleja en el bajo peso al nacer, que afecta al 12% de los neonatos (SESAN, 2004, p.04). Esta problemática también se manifiesta en la presencia de desnutrición crónica en menores de 5 años, según datos del año 2002, el promedio nacional es de 49,3%; lo cual representa aproximadamente un millón de niños y niñas; cabe indicar que la incidencia de la problemática se duplica en relación con la niñez indígena (69,5%), en comparación con la no indígena (35,7%); la media de desnutrición crónica en las áreas rurales es de 55,5%. Por otra parte, 5 de cada 10 niñas y niños en edad escolar presentan desnutrición crónica y el 14,8% presenta un retardo severo de crecimiento. De acuerdo con la presencia de desnutrición crónica en escolares, 57 municipios son clasificados de muy alta vulnerabilidad y 118 de alta vulnerabilidad nutricional. A lo anterior se suma la alta incidencia de

anemia por deficiencia de hierro y de vitamina A, principalmente entre las edades de 6 a 35 meses en el área rural (INE, 2008; SESAN, 2004).

Guatemala, cuenta con uno de los mejores productos nutricionales a bajo costo, la cual es una bebida fortificada, tipo atol, que está hecha a partir de harina de maíz y soya. Este producto aporta los tres macro nutrientes necesarios para una alimentación sana: proteínas, hidratos de carbono y grasas. Además, aporta fibra dietética, minerales y vitaminas, incluyendo vitaminas B y vitamina A, provenientes de la premezcla vitamínica. La vitamina A es fundamental para la visión y necesaria para el crecimiento y desarrollo de los huesos, y ya que es una de las vitaminas más propensas a la degradación, fue necesario realizar un estudio de estabilidad de vida acelerada. Esto se realizó colocando las muestras en 4 diferentes ambientes controlados a diferentes temperaturas y cuantificando la concentración de vitamina en intervalos de tiempo durante 60 días. La información obtenida se analizó por modelos matemáticos para determinar el tiempo de vida y la ecuación de degradación de dicha vitamina.

V. OBJETIVOS

A. General:

1. Determinar el tiempo de vida aproximado de la premezcla vitamínica, utilizada para fortificar una bebida a base de harina de maíz y soya, en base a la degradación de la concentración de vitamina A.

B. Específicos

1. Cuantificar la vitamina A en la premezcla vitamínica utilizada para fortificar una bebida a base de harina de maíz y soya, bajo condiciones de temperatura controlada en intervalos de tiempo durante un lapso de 60 días.
2. Determinar la ecuación de la velocidad de reacción de la degradación de vitamina A en la premezcla vitamínica.

VI. HIPÓTESIS

Utilizando el modelo de Arrhenius se podrá determinar el tiempo de vida útil de la premezcla vitamínica con base en la concentración de vitamina A.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Materiales

1. Universo y muestra

- a) Universo: Premezcla vitamínica utilizada para la fortificación de la bebida.
- b) Muestra: premezcla vitamínica almacenadas en las diferentes condiciones de temperatura y humedad relativa controladas.

2. Recursos

a) Humanos

- Asesor Interno: Licenciada Eduardo Robles
- Asesor Externo: Licenciado Alexander López
- Revisora: Licenciada Patricia Navas
- Revisor: Licenciado Oswaldo Martínez

b) Institucionales

- Laboratorio de Análisis RGH, S.A.
- Alimentos S.A.

3. Materiales y Reactivos

a) Instrumentos y Equipo

- i. Balanza analítica Sartorius

- ii. Bomba de cromatografía líquida HITACHI LaChrom L7100
- iii. Detector UV-Vis de cromatografía líquida HITACHI LaChrom L7400
- iv. Interfase HITACHI LaCron D7000
- v. Plancha agitadora Yamato SOU-300
- vi. Columna para cromatografía líquida Lichrosorb si 250 (5 μm)
- vii. Cámara de Temperatura elevada

b) Reactivos

- i. Hexano grado cromatográfico
- ii. Dioxano grado cromatográfico
- iii. Ácido clorhídrico 0,01 N
- iv. Etanol Absoluto
- v. Premezcla Vitamínica (Acetato de vitamina A, Tiamina, Niacinamida, Rivo flavina, Ácido Fólico, Vitamina B12, Hierro, Zinc)

c) Cristalería

- i. Balones aforados de 100, 50 y 25 mL
- ii. Beakers de 300 mL
- iii. Erlenmeyer de 250 mL
- iv. Bureta 50 mL
- v. Tubos de ensayo
- vi. Probeta de 100 mL
- vii. Pipetas volumétricas de 25 y 20 mL
- viii. Espátula

B. Metodología

1. Cuantificación de estándares y muestras

En esta etapa se cuantificaron los estándares y muestras utilizando el método y condiciones cromatográficas que se describen a continuación (DSM, 2012, p.03)

Fase Móvil:	N-hexano:dioxano 97:3
Flujo:	1,0 mL/min
Columna:	Lichrosorb si 250 (5 µm)
Detección:	UV a 325 nm
Volumen de inyección:	20 µL

a) Procedimiento

i) Preparación de la fase móvil

Se mezcló en un beacker de 1000 mL, 970 mL de Hexano y 30 mL de Dioxano y se filtró a través de membrana milipore fh de 0,5 µm.

ii) Preparación de la solución estándar

- Se pesó 23 mg hasta una tolerancia del 10% del estándar, en un matraz volumétrico de 100 mL.
- Se adicionaron 20 ml de ácido clorhídrico 0.1N y se agitó.
- Se aforó con etanol absoluto
- Se tomó una alícuota de 25 ml con pipeta volumétrica y se colocó en un matraz volumétrico de 250 ml
- Se adicionaron, con pipeta volumétrica, 25 mL hexano y 17 mL de solución de ácido clorhídrico 0.01N

- Se agitó mecánicamente durante 10 minutos y se dejó en reposo otros 10 minutos.
- Se tomó una alícuota de 2 mL de la fase orgánica se llevó a un matraz volumétrico de 50 mL, Se aforó con Hexano HPLC.
- Al momento de inyectar, se filtró a través de acrodisc 0,45 µm PTFE.

iii) Preparación de la solución muestra

- Para cada muestra se pesó 1,0000 g ± 5 % de la premezcla vitamínica por duplicado
- Se adicionaron 30 mL de ácido clorhídrico 0,01N y se agitó
- Enfriar en baño frío a 5 °C
- Se adicionaron 25 mL de la solución anterior aun matraz ámbar de 250 mL.
- Se adicionaron 25 mL de Hexano y 17 mL de solución de ácido clorhídrico 0,01 N y se agitó mecánicamente por 10 minutos
- Se dejó reposar 10 minutos
- Se tomó una alícuota de 2,5 mL de la fase orgánica y se aforó a 50 mL con Hexano HPLC.
- Se filtró a través de acrodisc de 0,45 µm PTFE y se inyectó

b) Cálculos

Las áreas o alturas resultantes de los picos en la muestra se compararon con los picos de la solución estándar.

$$\text{MUI/kg de vitamina A} = \frac{A_{pb} \cdot C_{std}}{A_{std} \cdot W_{pb}} \cdot Fd \cdot 1000$$

Donde:

A_{pb} = altura o área del pico de la solución problema

A_{std} = altura o área del pico de la solución estándar

W_{pb} = peso de la muestra en g.

C_{std} = concentración de la solución estándar, en UI/mL (UI = unidades internacionales)

Fd = factor de dilución

C. Diseño de la investigación

Es un estudio experimental del tipo cuantitativo por cromatografía líquida de alta eficacia en donde se realizó la cuantificación de la vitamina A en la premezcla vitamina almacenada bajo cuatro diferentes condiciones, utilizando como referencia un estándar de vitamina, el cual se inyectó por triplicado hasta obtener un CV \leq 3%.

Se almacenaron cuatro muestras por separado a diferentes temperaturas como muestra la tabla siguiente:

Tabla No. 2 Condiciones de almacenamiento

Cabina	Condiciones de almacenamiento
1	25°C \pm 1°C
2	34°C \pm 1°C
3	37°C \pm 1°C
4	41°C \pm 1°C

Cada muestra se analizó por triplicado a los 0, 15, 30, 45 y 60 días de almacenamiento, bajo condiciones favorables para simular la degradación de la vitamina A. Se inyectó por triplicado cada muestra para tener un nivel de

significancia del 0,05. Con los resultados obtenidos se graficó y se aplicó el modelo de Arrhenius para obtener la constante de la velocidad de degradación de la vitamina A y la ecuación de la velocidad.

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

Donde A es el factor de la temperatura, n es el orden aparente de reacción, k es la constante de velocidad que representa la pendiente que se genera de la gráfica de A versus tiempo t . Con lo cual se estimó el tiempo de vida útil para la premezcla vitamínica.

VIII. RESULTADOS

Tabla No. 3 Concentración de vitamina A en premezcla vitamínica, almacenada a diferentes temperaturas.

Días de almacenamiento	Temperatura (°C)			
	25°C	34°C	37°C	41°C
0	4,9557	4,9557	4,9557	4,9557
15	4,2152	4,2529	4,2989	4,3224
30	3,7704	3,7034	3,5442	3,2942
45	3,2524	3,0501	2,8943	2,5847
60	3,1816	2,9285	2,5832	2,2495

Fuente: Experimental Laboratorio RGH S.A. datos promedio de tablas

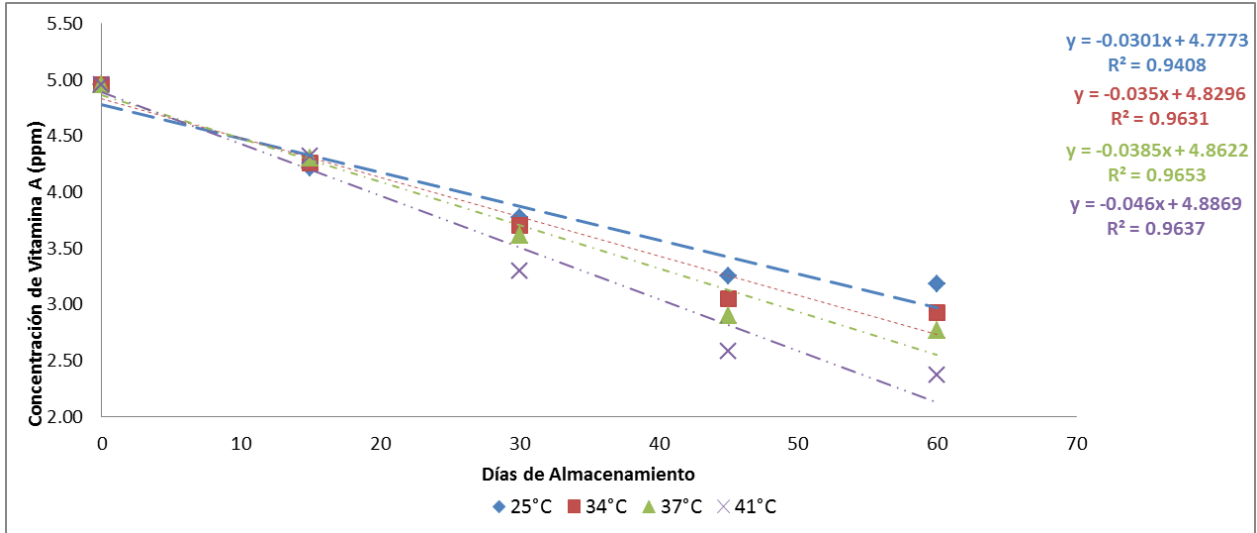
Anexos 3-14

Tabla No. 4 Coeficiente de regresión lineal de cinéticas químicas de primer orden y orden cero para la degradación de vitamina A

Temperatura (°C)	Orden cero		Primer orden	
	R	R ²	R	R ²
25	-0,9699	0,9407	-0,9792	0,9589
34	-0,9813	0,9631	-0,9870	0,9743
37	-0,9800	0,9605	-0,9856	0,9715
41	-0,9816	0,9636	-0,9879	0,9759

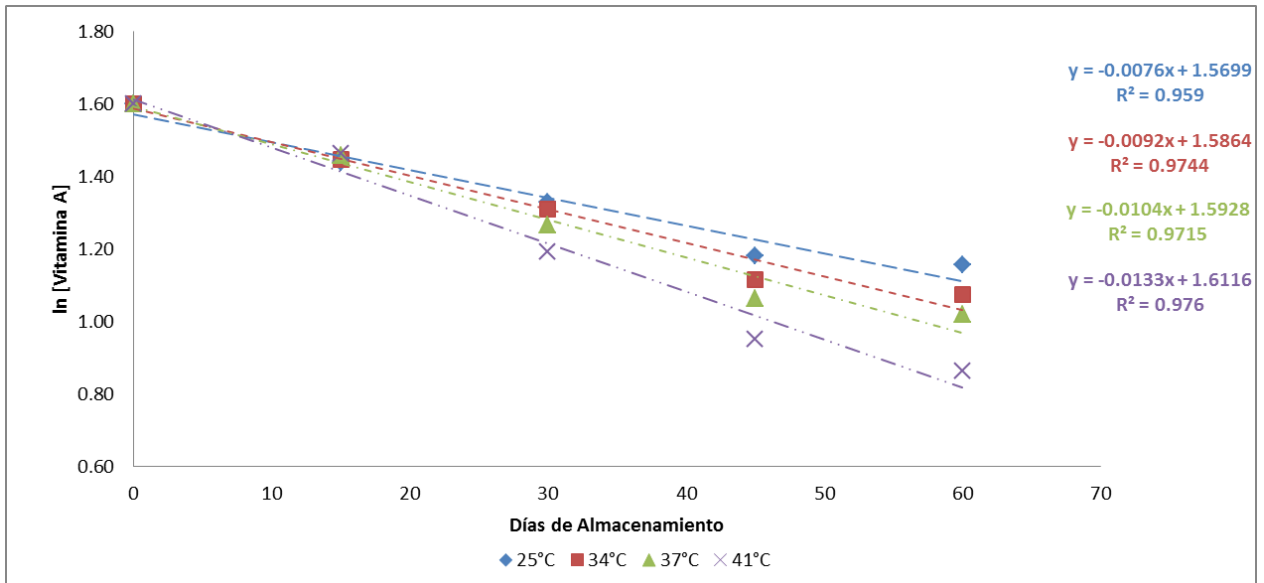
Fuente: Experimental Laboratorio RGH S.A.

Gráfica No. 1 Gráfica de orden 0 de la degradación de Vitamina A diferentes temperaturas



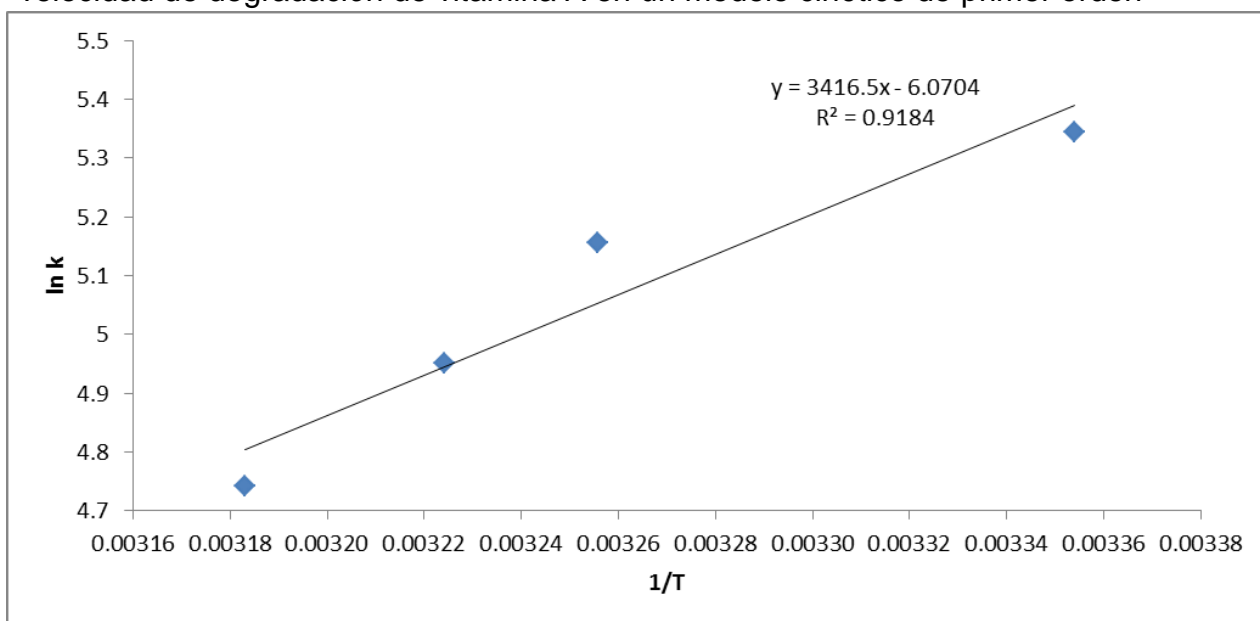
Fuente: Experimental Laboratorio RGH S.A.

Gráfica No. 2 Gráfica de primer orden de la degradación de Vitamina A diferentes temperaturas



Fuente: Experimental Laboratorio RGH S.A.

Gráfica No. 3 Efecto de la temperatura (25°C, 34°C, 37°C y 41°C) sobre la velocidad de degradación de vitamina A en un modelo cinético de primer orden



Fuente: Experimental Laboratorio RGH S.A.

Tabla No. 5 Tiempos de vida de la premezcla vitamínica almacenadas a diferentes temperaturas

T (°C)	T (K)	t (días)	t (mes)
25	298,15	218	7
34	307,15	162	5
37	310,15	147	5
41	314,15	130	4

Fuente: Experimental Laboratorio RGH S.A. datos obtenido de Anexo 16

Tabla No. 6 Resultados estadísticos para la repetibilidad del método

Nombre	Área	Desv. Estándar	% Desv. Estándar	Varianza
Vitamina A	736041	2.28 E04	3.10	5.2E08

Fuente: Experimental Laboratorio RGH S.A.

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La determinación del estudio de estabilidad de la vitamina A se realizó mediante el análisis cuantitativo en una premezcla vitamínica almacenada en cuatro diferentes temperaturas. Esto se realizó con el objetivo de acelerar la degradación de la vitamina y utilizar modelos matemáticos de Arrhenius para estimar el tiempo en el cual la concentración de vitamina A llegará a cero. El análisis cuantitativo fue realizado en HPLC con fase normal, utilizando hexano y dioxano en una relación de (97:3) debido a la apolaridad de la vitamina A. Se puede observar en los cromatogramas que se obtiene una separación adecuada para la cuantificación en el estándar (Anexo 02) y en las muestras analizadas (Anexo 05), con picos simétricos y buena resolución.

Se utilizó el método estandarizado por la empresa DSM para la cuantificación de vitamina A y se evaluó la repetitividad del método siguiendo los criterios de aceptación según la Oficina Guatemalteca de Acreditación (OGA) obteniendo un coeficiente de variación menor al 5% (Tabla No. 6).

La concentración de vitamina A inicial en la premezcla vitamínica fue de 4,95 ppm, para motivos de estudio esta concentración es considerada a 0 días de almacenamiento. Durante los primeros 15 días de almacenamiento, se observó que la vitamina A se degradó casi a la misma velocidad en las diferentes temperaturas de almacenamiento, luego de este período de almacenamiento se observó que la velocidad de degradación aumentó proporcionalmente a la temperatura de almacenamiento. Se pudo observar que a los 60 días de almacenamiento, la concentración de vitamina A a 41°C se degradó un 54,61% con relación de la concentración inicial, mientras que para la temperatura de almacenamiento de 25°C se degradó a 35,79%.

Ya que los alimentos se degradan siguiendo una cinética química de primer orden o de orden cero, se realizaron los cálculos necesarios para evaluar e identificar el orden de reacción que mejor corresponde la degradación de la vitamina A. La premezcla vitamínica mostró un coeficiente de regresión lineal (R^2) para la reacción de primer orden de 0,96 para la temperatura de 25°C, mientras que para la reacción de orden cero fue de 0,94. El R^2 para la reacción de primer orden a 34°C fue de 0,97 y de 0,96 para la de orden cero, escenario que se pudo observar para las demás temperaturas. Para determinar el orden de reacción que sigue la degradación de la vitamina A se debe de comparar los coeficientes de correlación lineales de cada temperatura. Con los resultados obtenidos se puede observar que en todas las temperaturas el coeficiente de correlación lineal es más cercano a 1 en los modelos de primer orden (Tabla No.4). Con esta información se confirma que la vitamina A, en específico, siguen un orden de reacción uno (Valentas, 1997, p.368). También se puede observar que la degradación de la temperatura es proporcional a la temperatura de almacenamiento, a mayor temperatura de almacenamiento la concentración de vitamina A se degrada con mayor velocidad.

En la Gráfica No. 3, se representa la ecuación de Arrhenius para la degradación de la vitamina A en la premezcla vitamínica en un modelo cinético de primer orden. Con esta ecuación se calculó el tiempo de vida aproximado en la cual la vitamina A se degrada en un 100%, siendo este tiempo 7 meses a 25°C. (Tabla No. 5). Esta rápida degradación se puede deber a dos factores importantes; el primero es que el estudio fue realizado en la premezcla vitamínica y no al producto terminado, al estar la vitamina A en una matriz menos compleja sin ningún porcentaje de grasa presente, la velocidad a la que se degrada aumenta, ya que no existe el efecto protector que otorga la grasa (Lau, 1986, p.2055). Estos resultados también se observan en un estudio realizado a leche UHT, la cual contenía un porcentaje de grasa de 2%. Las pérdidas de vitamina A almacenada durante tres meses a 37°C variaban de 13,7 – 38,5% y aproximadamente del

orden del 60% cuando fueron almacenadas durante 7 meses. (Le Moguer, 1983, p.2452)(Woollard, 1986, p. 17).

La segunda posible causa de la rápida degradación de la vitamina A, puede ser por la presencia de hierro-aminoácido, compuesto que está incluido en la premezcla vitamínica analizada, debido a una reacción oxido-reducción generada por la susceptibilidad de la mayoría de las vitaminas a la oxidación, ya que la presencia en el mismo alimento de compuestos de hierro solubles favorece la aceleración de la degradación de las vitaminas, debido al efecto catalítico del hierro. Los compuestos de hierro insolubles o poco insolubles tienden a reaccionar más lentamente con las vitaminas y en algunos casos, no reaccionan, Sin embargo, la falta de solubilidad de los compuestos de hierro generaría una baja disponibilidad. La oxidación de las vitaminas se generan en presencia de hierro en cualquiera de sus formas (Fe^{+2} ó Fe^{+3}), sin embargo el compuesto hierro-aminoácido de hierro que se encuentra como Fe^{+3} ha demostrado tener un menor efecto catalítico hacia la oxidación de las vitaminas que los compuestos de hierro en su forma Fe^{+2} (Levander, 1980, p.66).

Las pérdidas de la vitamina A en la premezcla vitamínica siguieron un modelo cinético de primer orden en todas las temperaturas, sin embargo, los coeficientes de determinación para la cinética de primer orden como de orden cero fueron muy similares. En las Gráficas No. 1 y 2, se representan la relación entre la degradación de la concentración de la vitamina frente al almacenamiento, expresado en días.

X. CONCLUSIONES

- 10.1 Se determinó que el tiempo de vida de la premezcla vitamínica es de 7 meses a una temperatura de almacenamiento de 25°C, tomando como referencia la degradación de la vitamina A.
- 10.2 Se determinó que la temperatura de almacenamiento tiene un efecto en la velocidad de degradación, siendo a mayor temperatura más rápida la degradación, lo que fundamenta una cinética de orden uno.
- 10.3 Se comprobó que la vitamina A sigue un modelo cinético de primer orden, al presentar un coeficiente de correlación más cercano a 1 en todas las temperaturas.

XI. RECOMENDACIONES

- 11.1 Realizar el estudio de vida acelerada en el producto terminado y comparar las velocidades de degradación para estudiar el efecto protector de la grasa.
- 11.2 Realizar el estudio de vida acelerada utilizando diferentes fuentes de hierro solubles e insolubles para determinar el efecto catalítico que tiene sobre las vitaminas, para comprobar la conclusión 10.2.
- 11.3 Realizar el estudio de estabilidad de la vitamina A a un tiempo más cercano a los 7 meses de vida, para terminar de fundamentar el estudio realizado.

XII. REFERENCIAS

Arroyave, G., Mejía, L. & Aguilar, J. (1981). The effect of vitamin A fortification of sugar on the serum vitamin A levels of preschool Guatemalan children: a longitudinal evaluation. *American Journal of Clinical Nutrition*, 34(1), 41 - 9.

Bellamy, Carol (1998). Estado Mundial de la Infancia 1998. UNICEF. Recuperado de <http://www.unicef.org/spanish/sowc98sp/pdfsp.htm>

Blomhoff, R. (1994). Vitamin A in Health and Disease. (*First Edition*) Marcel Dekker, Inc. 37-235 pp 689.

Comisión Nacional para la Fortificación, Enriquecimiento y/o Equiparación de Alimentos CONAFOR. (2014). Programas de Fortificación de Alimentos. Recuperado de: <http://www.conafor.org/paginas.asp?id=3395&clc=326#.U7IbO5TWWRN>

DSM. (2012). Método Analítico: Determinación de Vitamina A.

Estrategia Humana. (2009, 8 de noviembre). Recuperado de: <http://ehumana.wordpress.com/2009/11/08/incaparina-su-historia/>

EUROFINS. (2010). Estudios de Estabilidad. Barcelona

FAO/WHO. (2001): Human Vitamins and Mineral Requirements. Food and Nutrition Division, FAO Rome. 7 – 25, 67 - 102.

Galdi, M., Carbone, N., Valencia, M.E. (1989). Comparison of ferric glycinate to ferrous sulphate in model infant formula: kinetics of vitamin losses. *J. Food Sci.* 54(6):1530-1539

Gerald, F., Combs, Jr. (2012). The Vitamins (Fourth Edition). *Elsevier*. 3-6, 93-138. DOI 10.1016/B978-0-12-381980-2.00005-0.

Gómez, C. (2010). Cinética Química. Recuperado de: http://ocw.uv.es/ciencias/1-1/teo_cinetica_nuevo.pdf

Grain (2000). Biotecnología: “El caso de la vitamina A”. Recuperado de: <http://www.grain.org/es/article/entries/888-biotecnologia-el-caso-de-la-vitamina-a-ingenieria-genetica-para-combatir-la-desnutricion>

Grisby, D. (2003). Malnutrición. *eMedicine*. Estados Unidos.

Instituto Nutritivo de Centroamerica y Panamá. (1991) Estudio Longitudinal en el Oriente de Guatemala años 1969-1991. Guatemala.

Instituto Nutritivo de Centroamerica y Panamá. (2008). Estudio Longitudinal en el Oriente de Guatemala años 2005-2008. Guatemala.

Instituto Nacional de Estadística, Universidad del Valle de Guatemala. (2008). Encuesta Nacional de Salud Materno Infantil (ENSMI). Guatemala.

Lau, B.L.T., Kakuda, Y., Annot, D.R. (1986). Effect of milk fat on the stability of vitamin A in ultra-high temperature milk. *J. Dairy Sci.* 69(8): 2052:2059.

Levander, O.A., Cheng, L. (1980). Micronutrient interactions: Vitamins, Minerals and Hazardous Elements. N.Y. Acad. Sci. New York.

Le Moguer, I., Jackson, H. (1983). Stability of vitamin A in pasteurized and ultra-high temperature processed milks. *J. Dairy Sci.*, 66:2452-22458.

Ocampo, J. (2010). Determinación de la vida de anaquel del café soluble elaborado por la empresa Decafé S.A. y evaluación del tipo de empaque en la conservación del producto. Universidad Nacional de Colombia.

Ottaway, P. (2010). Chemical Deterioration and Physical Instability of Food and Beverages. *Woodhead Publishing Series in Food Science*. 539 – 560. DOI 10.1533/9781845699260.3.539.

Pelayo, M. (2010). *Vida útil de un alimento: Los estudios para determinar la vida útil de un producto son fundamentales para evaluar cómo afectan los procesos de producción en su estabilidad*. Eroski Consumer.

Preedy, V. (2012). Vitamin A and Carotenoids: Chemistry, Analysis, Function and Effects. (*First Edition*) Royal Society of Chemistry. 583 pp.

Rice, A, Sacco, L, Hyder A. & Black, R (2008). Malnutrition as an underlying cause of childhood deaths associated with infectious diseases in developing countries. Bulletin of World Health Organization.

Ross, A.C. (2013). Vitamin A: Physiology, Dietary Sources and Requirements. *Encyclopedia of Human Nutrition*. (Third Edition), 333 - 339

SESAN (2008). Política Nacional de Seguridad Alimentaria y Nutricional. Guatemala

Valentas, K., Rotstein, E., Singh, R. (1997). *Handbook of Food Engineering Practice*. CRC Press, Boca Ratón New York.

Valero, A., Carrasco, E., García-Gimeno, R. (2012). *Trends in Vital Food and Control Engineering*. InTech.

Vjayaraghavan, K. (2000). *Vitamin A deficiency*. The Lancet, Volume 356, Supplement 1, 541

West, K.P. (2013). Vitamin A: Deficiency and Interventions. *Encyclopedia of Human Nutrition (Third Edition)*, 323 – 332.

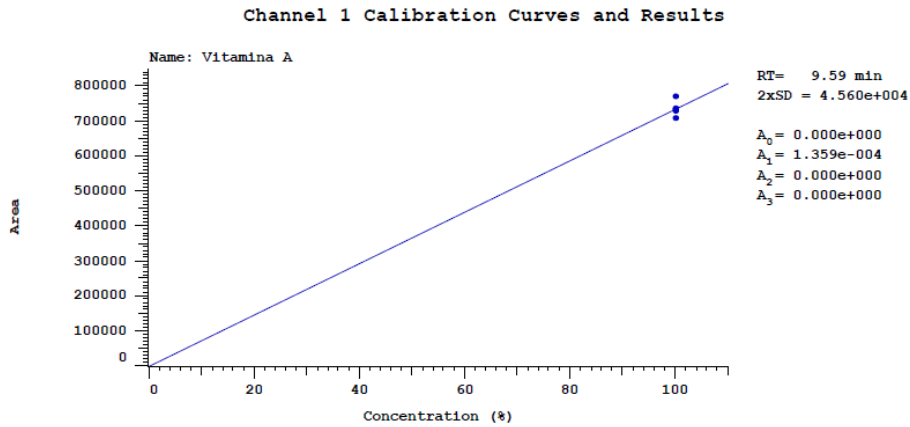
Woollard, D.C., Fairweather, J.P. (1985) The storage stability of vitamin A in fortified ultra-high temperature processed milk. *J. Micronutr. Anal.* 1: 13-21.

Y.-S. Kim, E. Strand, R. Dickmann and J. Warthesen. (2006). Degradation of Vitamin A Palmitate in Corn Flakes During Storage. *Journal of Food Science*, 65(7), 1216 - 1219. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2000.tb10268.x.

XIII. ANEXOS

Anexo 01:

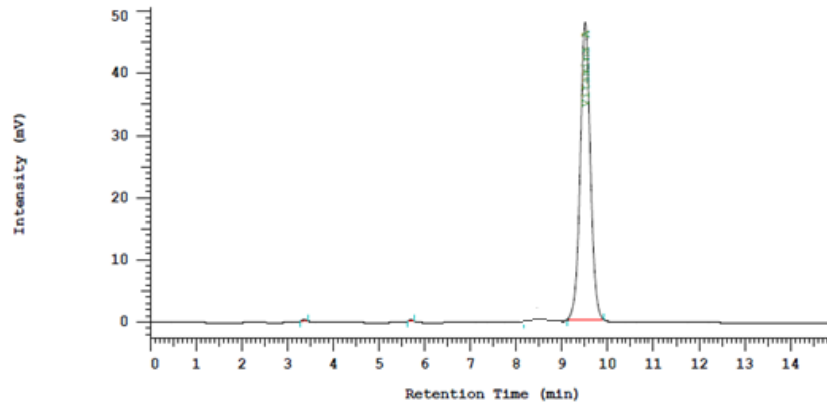
Figura 07: Repetibilidad de vitamina A en la premezcla vitamínica



Fuente: Experimental Laboratorio RGH S.A.

Anexo 02:

Figura 08: Cromatograma del estándar secundario de vitamina A



Fuente: Experimental Laboratorio RGH S.A.

Anexo 03:

Tabla No. 7 Concentración de Vitamina A con 0 días de almacenamiento.

Repetición	Concentración (ppm)
1	4,9967
2	4,9867
3	5,0242
1	4,8420
2	4,9041
3	4,9805

Fuente: Experimental Laboratorio RGH S.A.

Anexo 4:

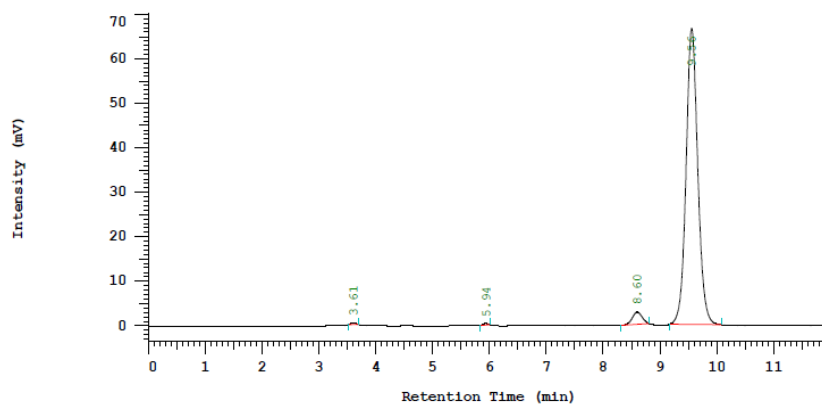
Tabla No. 8 Datos estadísticos iniciales

Días de almacenamiento	Concentración promedio (ppm)	Desviación estándar	Coficiente de variación
0	4,9557	0,0686	1,38

Fuente: Experimental Laboratorio RGH S.A.

Anexo 05:

Figura 09: Cromatograma de vitamina A con 0 días de almacenamiento



Fuente: Experimental Laboratorio RGH S.A.

Anexo 06:

Tabla No. 9 Concentración de Vitamina A con 15 días de almacenamiento a diferentes temperaturas.

Repetición / Temperatura	Concentración (ppm)			
	25°C	34°C	37°C	41°C
1	4,4881	4,1865	4,3953	4,1787
2	4,2340	4,4001	4,5711	4,5052
3	4,0223	4,2720	4,2634	4,3528
1	4,1962	4,3947	4,0110	4,1810
2	4,4060	4,2379	4,3081	4,2750
3	3,9444	4,0260	4,2445	4,4418

Fuente: Experimental Laboratorio RGH S.A.

Anexo 7:

Tabla No. 10 Datos estadísticos con 15 días de almacenamiento

Temperatura (°C)	Concentración promedio (ppm)	Desviación estándar	Coefficiente de variación
25°C	4,2152	0,2108	5,00
34°C	4,2529	0,1402	3,29
37°C	4,2989	0,1847	4,29
41°C	4,3224	0,1353	3,12

Fuente: Experimental Laboratorio RGH S.A.

Anexo 08:

Tabla No. 11 Concentración de Vitamina A con 30 días de almacenamiento a diferentes temperaturas.

Repetición/ Temperatura	Concentración (ppm)			
	25°C	34°C	37°C	41°C
1	3,7296	3,6574	3,5050	3,2696
2	3,8042	3,7306	3,5751	3,3349
3	3,6551	3,5843	3,4349	3,2042
1	3,8111	3,7493	3,5834	3,3189
2	3,8874	3,8243	3,6551	3,3853
3	3,7349	3,6743	3,9409	3,2525

Fuente: Experimental Laboratorio RGH S.A.

Anexo 09:

Tabla No. 12 Datos estadísticos con 30 días de almacenamiento

Temperatura (°C)	Concentración promedio (ppm)	Desviación estándar	Coficiente de variación
25°C	3,7704	0,0809	2,14
34°C	3,7034	0,0832	2,24
37°C	3,6157	0,1760	4,86
41°C	3,2942	0,0648	1,96

Fuente: Experimental Laboratorio RGH S.A.

Anexo 10:

Tabla No. 13 Concentración de Vitamina A con 45 días de almacenamiento a diferentes temperaturas.

Repetición/ Temperatura	Concentración (ppm)			
	25°C	34°C	37°C	41°C
1	3,2430	3,0628	2,8224	2,5713
2	3,3078	3,1240	2,8789	2,6227
3	3,1781	3,0015	2,7660	2,5199
1	3,2619	3,0375	2,9663	2,5981
2	3,3271	3,0982	3,0256	2,6501
3	3,1966	2,9767	2,9069	2,5462

Fuente: Experimental Laboratorio RGH S.A.

Anexo 11:

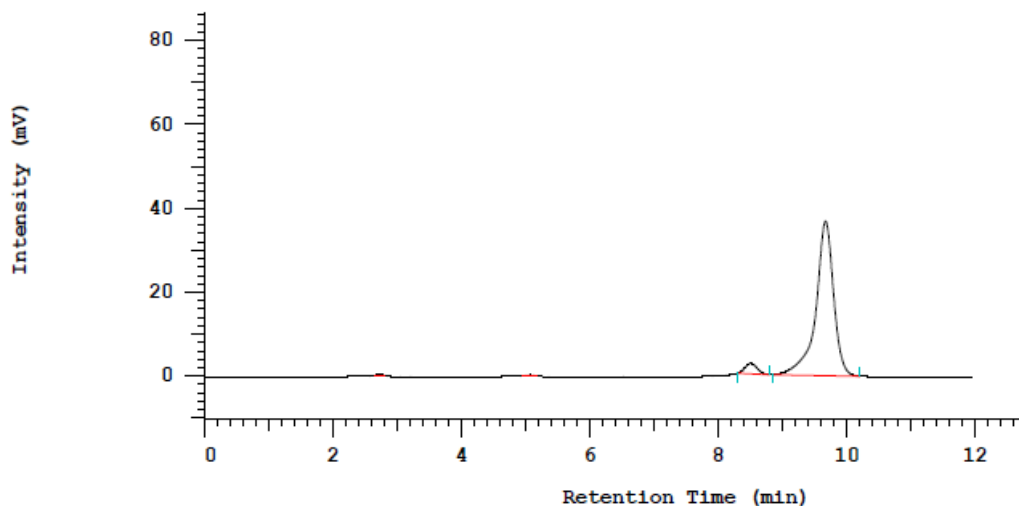
Tabla No. 14 Datos estadísticos con 45 días de almacenamiento

Temperatura (°C)	Concentración promedio (ppm)	Desviación estándar	Coficiente de variación
25°C	3,2524	0,0591	1,81
34°C	3,0501	0,0563	1,84
37°C	2,8943	0,0943	3,25
41°C	2,5847	0,0485	1,87

Fuente: Experimental Laboratorio RGH S.A.

Anexo 12:

Figura 10: Cromatograma de vitamina A con 45 días de almacenamiento



Fuente: Experimental Laboratorio RGH S.A.

Anexo 13:

Tabla No. 15 Concentración de Vitamina A con 60 días de almacenamiento a diferentes temperaturas.

Repetición	Concentración (ppm)			
	25°C	34°C	37°C	41°C
1	3,2721	3,0188	2,5883	2,0895
2	3,3899	2,9784	2,4792	2,3340
3	3,2353	3,0188	2,6646	2,2092
1	3,1589	2,9486	2,6993	2,3997
2	2,9694	2,9050	2,6114	2,3001
3	3,0641	2,7016	2,4566	2,1642

Fuente: Experimental Laboratorio RGH S.A.

Anexo 14:

Tabla No. 16 Datos estadísticos con 60 días de almacenamiento

Temperatura (°C)	Concentración promedio (ppm)	Desviación estándar	Coefficiente de variación
25°C	3,1816	0,1509	4,74
34°C	2,9285	0,1194	4,07
37°C	2,5832	0,0977	3,78
41°C	2,2495	0,1156	5,00

Fuente: Experimental Laboratorio RGH S.A.

Anexo 15: Despeje y eficacia de fórmula de cinética de degradación

$$\frac{dA}{dt} = -k \times A^n \quad n=1$$

$$\frac{dA}{A} = -k \times dt$$

$$\int_{A_0}^A \frac{dA}{A} = -k \int_0^t dt$$

$$\ln \frac{A}{A_0} = -kt$$

$$A = A_0 \times e^{-kt}$$

Al aplicar el modelo de Arrhenius se debe obtener la Gráfica No. 3 (Ver Resultados)

Donde $y = mx + b$

Donde $y = \ln t$ y $x = (1/T)$

$$\ln t = \frac{Ea}{R} \times \frac{1}{T} + b$$

Donde $Ea/R = m$, sustituyendo se obtiene la siguiente tabla

Anexo 16:

Tabla No. 17 Tiempo de vida de la vitamina A según las temperaturas de almacenamiento.

T (°C)	T (K)	x = 1/T	M	B	y = ln t	t (días)	t (mes)
25	298,15	0,00335402	3416,54	-6,0704	5,39	219	7
34	307,15	0,00325574	3416,54	-6,0704	5,05	156	5
37	310,15	0,00322425	3416,54	-6,0704	4,95	141	5
41	314,15	0,00318319	3416,54	-6,0704	4,81	122	4

Fuente: Experimental Laboratorio RGH S.A.

Francisco José Martínez Castellanos
Autor

Lic. Eduardo Robles Aguirre
Asesor

Lic. Alexander Nicolás López
Asesor