

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN NUTRICIÓN PÚBLICA**



**“YOGURT FORTIFICADO CON VITAMINA A, ÁCIDO FÓLICO,
HIERRO Y ZINC EN ANIMALES EXPERIMENTALES CON
ANEMIA INDUCIDA”**

**Presentada por:
MARISOL AYALA REMÓN**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAGISTER SCIENTIAE EN NUTRICIÓN PÚBLICA**

Lima – Perú

2015

DEDICATORIA

A Dios por el don de la vida, salud y por darme
la dicha de ser parte de una gran familia.

A mis queridos padres: Casilda (✝) y Calixto; quienes
hicieron de mí una persona de bien.

A mis hermanos (as): Efraín, Mónica, Edith, Margoth,
Liss y Henry, por ser el pilar de todas las etapas de mi vida,
y cada quien es un modelo a seguir.

A Yony Ayala Suarez, por su amor y comprensión.

A mis Cuñadas (os): Adelina, Máximo y Yuri;
por sus valiosos consejos.

A mis hermosos sobrinos (as): Álvaro Gabriel, Marco Antonio,
José Fernando, Luana Areli y André Leonel; por sus alegrías y
travesuras haciendo mi vida aún más feliz.

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 ésta y todas las etapas de mi formación profesional.

A la Mg. Estad. Luz J. Bullón Camarena y M.S. Walter F. Salas Valerio, patrocinadores de la tesis, por su valiosa asesoría y consejos por elevar el nivel profesional del graduado, así mismo al Mg. Sc. Alberto Huamaní Huamaní y a los miembros del Jurado, Mg. Sc. Elva Ríos Ríos, Mg. Sc. Fanny E. Ludeña Urquizo y Mg. Sc. Gladys Tarazona Reyes, por sus valiosas sugerencias para hacer de éste un trabajo de calidad y a todos los maestros del Posgrado en Nutrición Pública, quienes intervinieron en la adquisición de nuevos conocimientos en el área de la nutrición y un especial agradecimiento a la Asistente Edith Gómez Méndez por su constante apoyo incondicional, Ing. Héctor Alcántara, Mg. Arturo Vergara y al Dr. Daniel López de Romaña por sus valiosos aportes en la mejora del trabajo.

A la Empresa Lipo Tech S.A - Argentina y DSM Nutritional Products S.A - Perú, por las muestras de minerales y vitaminas proporcionadas, un especial agradecimiento al Lic. Edgardo Hager director de la empresa Lipo Tech, Claudia Guzmán (ADIVOS LTDA Colombia), Dra. Gabriela Lock y a la Ing. Cynthia Izaguirre (DSM –Perú).

A todo el personal que labora en la Planta Piloto de leche y en especial al Dr. Fernando Vargas, Ing. José Mayta, María Larrea, Milagros Guillen, Cintya Antezana, Geraldine Hostia y Sairi Paredes.

Al Instituto de Investigación Nutricional por las facilidades brindadas en el uso del liofilizador, especialmente a la Dra. Juana del Valle y Lic. Vilma Llanos.

Al personal del Bioterio del LENA y en especial al Ph. D. Carlos Vílchez Perales por sus valiosas enseñanzas en el empleo del método depleción–repleción de la hemoglobina; al Ing. Jorge Gamarra y al Sr. Mauro Ayala Espinoza; por su supervisión y asistencia técnica en el cuidado de los animales experimentales y a la Dra. Olga Li por permitirme determinar la concentración de hemoglobina en el laboratorio de Patología Clínica de la Universidad Nacional Mayos de San Marcos.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
RESUMEN	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 Anemia	4
2.2 Vitamina A	6
2.2.1 Función	7
2.2.2 Absorción	7
2.2.3 Rol en la hemoglobina	8
2.2.4 Toxicidad	9
2.3 Ácido fólico	9
2.3.1 Función	9
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	14
2.5 Zinc	15
2.5.1 Función	15
2.5.2 Absorción	16
2.5.3 Rol en la hemoglobina	16
2.5.4 Toxicidad	17
2.6 Ingesta diaria recomendada (RDA) en niños (as) en edad escolar	17
2.6.1 Requerimientos de micronutrientes en animales de laboratorio	17
2.7 Interacciones	18
2.7.1 Calcio – minerales	18
2.7.2 Hierro – zinc	18
2.7.3 Caseína – hierro	19

3.7.6	Determinación de la hemoglobina	46
3.8	Instrumentos de colecta de datos	47
3.9	Procedimientos de análisis de datos	47
3.10	Consideraciones éticas	47
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
4.1	Caracterización de la leche	48
4.2	Estandarización del contenido graso en la leche	49
4.3	Estandarización del extracto seco total (EST)	49
4.4	Fermentación	50
4.5	Fortificación	51
4.6	Yogurt fortificado liofilizado	52
4.7	Depleción de la hemoglobina o inducción a anemia	53
4.8	Efecto de la vitamina A, ácido fólico, hierro y zinc en la concentración de la hemoglobina en ratas Holtzman machos con anemia	57
4.8.1	Repleción de la hemoglobina mediante el consumo de la dieta purificada estándar (control)	57
4.8.2	Repleción de la hemoglobina mediante el consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado	60
4.8.3	Comparación de la concentración de la hemoglobina entre el consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado y estándar (control)	64
V.	CONCLUSIONES	67
VI.	RECOMENDACIONES	68
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
VIII.	ANEXOS	79

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1: Concentración de hemoglobina para diagnosticar la anemia	5
Cuadro 2: Ingesta diaria recomendada para niños (as) en edad escolar	17
Cuadro 3: Requerimientos de micronutrientes en ratas de laboratorio por kilogramo de dieta	18
Cuadro 4: Pre mezcla fortificada (programa escolar)	21
Cuadro 5: Composición en 100 gramos de azúcar refinado	27
Cuadro 6: Análisis proximal en 100 gramos de caseína	28
Cuadro 7: Análisis proximal en 100 gramos fibra	28
Cuadro 8: Composición en 100 gramos de manteca vegetal	29
Cuadro 9: Composición en 100 gramos de maicena	29
Cuadro 10: Composición de la mezcla de sales minerales empleada en la formulación de la dieta purificada deficitaria y estándar (control)	30
Cuadro 11: Composición de la mezcla de vitaminas empleada en la formulación de la dieta purificada deficitaria y estándar (control)	31
Cuadro 12: Fortificación del yogurt por porción de 215 gramos para la población escolar	38
Cuadro 13: Insumos en función a la cantidad de yogurt base	39
Cuadro 14: Composición en 100 gramos de dieta purificada deficitaria	42
Cuadro 15: Composición en 100 gramos de dieta purificada estándar (control)	43
Cuadro 16: Composición en 100 gramos de dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado	44
Cuadro 17: Características fisicoquímicas de la leche de vaca	48
Cuadro 18: Composición proximal en 100 g de leche de vaca	48
Cuadro 19: pH y acidez del yogurt base	50
Cuadro 20: Análisis proximal y de micronutrientes por cada 100 gramos de yogurt fortificado	51
Cuadro 21: Composición en 100 gramos de yogurt fortificado liofilizado	53
Cuadro 22: Resultado de la prueba estadística comparativa de la hemoglobina, antes y después del consumo de la dieta purificada deficitaria	54
Cuadro 23: Resultado de la prueba estadística comparativa de la hemoglobina,	58

antes y después del consumo de la dieta purificada estándar (control)	
Cuadro 24: Resultado de la prueba estadística comparativa de la hemoglobina, antes y después del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado	61
Cuadro 25: Resultado de la prueba estadística comparativa de la hemoglobina, después del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado y dieta purificada estándar (control)	65

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1: Diseño del método depleción-repleción de la hemoglobina	25
Figura 2: Diagrama de flujo para la elaboración del yogurt fortificado con vitamina A como palmitato, ácido fólico, sulfato ferroso estabilizado con vitamina C y microencapsulado y gluconato de zinc estabilizado	40
Figura 3: Concentración de la hemoglobina, antes (basal) y después de la dieta purificada deficitaria	54
Figura 4: Promedio de la concentración de la hemoglobina, antes (basal) y después de la dieta purificada deficitaria	55
Figura 5: Concentración de la hemoglobina, antes y después del consumo de la dieta purificada estándar (control)	58
Figura 6: Promedio de la concentración de la hemoglobina basal, antes (anemia) y después del consumo de la dieta purificada estándar (control)	59
Figura 7: Concentración de la hemoglobina, antes (anemia) y después de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado	60
Figura 8: Promedio de la concentración de la hemoglobina basal, antes (anemia) y después (recuperación) del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado	61
Figura 9: Concentración de la hemoglobina, después del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado & dieta purificada estándar	65
Figura 10: Promedio de la concentración de la hemoglobina, después del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado & dieta purificada estándar	66

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1: Certificados de análisis de los micronutrientes empleados, estevia y yogurt fortificado	80
Anexo 2: Concentración de la hemoglobina, antes (basal) y después del consumo de la dieta purificada deficitaria	93
Anexo 3: Peso corporal y concentración de la hemoglobina en ratas albinas de la raza Holtzman, antes y después del consumo de la dieta purificada deficitaria	95
Anexo 4: Resultado de la estadística de la hemoglobina, antes (basal) y después (anemia) del consumo de la dieta purificada deficitaria	96
Anexo 5: Resultado de la correlación de la hemoglobina, antes (basal) y después (anemia) del consumo de la dieta purificada deficitaria	96
Anexo 6: Resultado de la prueba estadística comparativa de la hemoglobina, antes (basal) y después (anemia) del consumo de la dieta purificada deficitaria	96
Anexo 7: Representación gráfica de la concentración de la hemoglobina, antes (basal) y después (anemia) del consumo de la dieta purificada deficitaria	97
Anexo 8: Resultado de la estadística del peso corporal, antes y después del consumo de la dieta purificada deficitaria	98
Anexo 9: Resultado de la correlación del peso corporal, antes y después del consumo de la dieta purificada deficitaria	98
Anexo 10: Resultado de la prueba estadística comparativa del peso corporal, después (anemia) y antes (basal) del consumo de la dieta purificada deficitaria	98
Anexo 11: Resultado de la concentración de la hemoglobina al culminar el tratamiento con la dieta purificada estándar (control) y dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado	99
Anexo 12: Resultado del peso corporal y concentración de la hemoglobina en ratas albinas de la raza Holtzman; basal, anemia y después del consumo de la dieta purificada estándar (control)	100
Anexo 13: Resultado de la estadística de la concentración de la hemoglobina antes	100

(anemia) y después del consumo de la dieta purificada estándar (control)	
Anexo 14: Resultado de la correlación de la hemoglobina, antes (anemia) y después del consumo de la dieta purificada estándar (control)	100
Anexo 15: Resultado de la prueba estadística comparativa del peso corporal, antes (anemia) y después del consumo de la dieta purificada estándar (control)	101
Anexo 16: Representación gráfica de la concentración de la hemoglobina, antes (anemia) y después del consumo de la dieta purificada estándar (control)	102
Anexo 17: Resultado de la estadística del peso corporal, antes (anemia) y después del consumo de la dieta purificada estándar (control)	103
Anexo 18: Resultado de la correlación del peso corporal, antes (anemia) y después del consumo de la dieta purificada estándar (control)	103
Anexo 19: Resultado de la prueba estadística comparativa del peso corporal, antes (anemia) y después del consumo de la dieta purificada estándar (control)	103
Anexo 20: Resultado del peso corporal y 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	104
Anexo 21: Resultado de la estadística de la hemoglobina, antes (anemia) y después del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado	105
Anexo 22: Resultado de la correlación de la hemoglobina, antes (anemia) y después del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado	105
Anexo 23: Resultado de la prueba estadística comparativa de la hemoglobina, antes (anemia) y después del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado	105
Anexo 24: Representación gráfica de la concentración de la hemoglobina, antes (anemia) y después del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado	106
Anexo 25: Resultado de la estadística del peso corporal, antes (anemia) y después del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado	107
Anexo 26: Resultado de la correlación del peso corporal, antes (anemia)	107

	y después del consumo de la dieta deficitaria más yogurt fortificado	
Anexo 27:	Resultado de la prueba estadística comparativa del peso corporal, antes (anemia) y después del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado	107
Anexo 28:	Resultado estadístico de la hemoglobina, después del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado y dieta purificada estándar (control)	108
Anexo 29:	Resultado de la prueba estadística comparativa de la hemoglobina, después del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado y dieta purificada estándar (control)	108
Anexo 30:	Resultado estadístico del peso corporal, después del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado y dieta purificada estándar (control)	109
Anexo 31:	Resultado de la prueba estadística comparativa del peso corporal, después del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado y dieta purificada estándar (control)	109
Anexo 32:	Consumo diario de la dieta purificada deficitaria de cada animal experimental	110
Anexo 33:	Resumen del procesamiento de casos del consumo de la dieta purificada deficitaria	112
Anexo 34:	Resultado del análisis descriptivo del consumo de la dieta purificada deficitaria por cada animal experimental	113
Anexo 35:	Consumo diario de la dieta purificada estándar (control) de cada animal experimental	117
Anexo 36:	Resumen del procesamiento de casos del consumo de la dieta purificada estándar (control)	118
Anexo 37:	Resultado de análisis descriptivo del consumo de la dieta purificada estándar (control) por cada animal experimental	118
Anexo 38:	Consumo diario de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado de cada animal experimental	120
Anexo 39:	Resumen del procesamiento de casos del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado	121
Anexo 40:	Resultado del análisis descriptivo del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado de cada animal experimental	122

Anexo 41: Análisis de la leche fresca	125
Anexo 42: Elaboración del yogurt fortificado	126
Anexo 43: Análisis del yogurt fortificado	127
Anexo 44: Liofilizado del yogurt fortificado en el Instituto de Investigación Nutricional (IIN)	128
Anexo 45: Insumos empleados y pesado para la preparación de las dietas	129
Anexo 46: Preparación de las dietas purificadas	130
Anexo 47: Cuidado, suministro de alimentos, pesado de residuos y desperdicios de los animales experimentales	131
Anexo 48: Determinación de la hemoglobina en el Laboratorio de Patología Clínica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM)	132

RESUMEN

En la presente investigación se fortificó el yogurt con vitamina A como palmitato, ácido fólico, sulfato ferroso estabilizado con vitamina C y microencapsulado y gluconato de zinc estabilizado para la población escolar (6 a 11 años), con la finalidad de determinar el efecto en la concentración de la hemoglobina en animales experimentales con anemia inducida, empleándose para tal fin el método depleción-repleción de la hemoglobina. En la fase de depleción se indujo a anemia mediante el suministro controlado de 15 gramos por día de la dieta purificada deficitaria (1.5 por ciento de vitamina A y ácido fólico, 1.2 por ciento de sulfato férrico), a 15 ratas machos de la raza Holtzman de 27 a 28 días de vida durante 35 días. En la fase de repleción, a los animales anémicos se les distribuyó al azar en dos grupos, la primera conformada por 5 animales que recibió 20 gramos por día de la dieta purificada estándar empleada por el Bioterio de la Universidad Nacional Agraria La Molina y la segunda conformada por 10 animales que recibió 20 gramos por día de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado (0.212 mg de retinol, 0.095 mg de ácido fólico, 3.49 mg de hierro y 3.92 mg de zinc; por 100 gramos de alimento), ambos grupos durante 28 días. Obteniéndose en promedio 10.13 g/dL de hemoglobina al finalizar el periodo de inducción; con un aumento significativo en la concentración de la hemoglobina en ambos grupos ($p = 0.000$) al culminar el tratamiento (Hb promedio: 14.70 g/dL y 15.04 g/dL en el primer y segundo grupo respectivamente), no encontrándose diferencia significativa en la hemoglobina entre los grupos ($p = 0.164$), demostrándose en el trabajo el efecto anti anémico del producto fortificado en la raza empleada, basada en los resultados de la concentración de la hemoglobina.

Palabras claves: Fortificación, vitamina A, ácido fólico, hierro y zinc, animal experimental, anemia.

SUMMARY

In this research yogurt was fortified with vitamin A as palmitate, folic acid, ferrous sulfate stabilized with vitamin C and encapsulated micro and gluconate of zinc stabilized for the target school population, with the purpose of determining the effect in the concentration of the hemoglobin in experimental animals with induced anaemia, using for that objective the method depletion-repletion of the hemoglobin. The depletion phase was induced to anaemia by means of the controlled supply of 15 g for day of the deficit purified diet (1.5 % of vitamin A and folic acid, 1.2 % of ferric sulfate), to males 15 rats of the race Holtzman of 27 to 28 days of life during 35 days. In the repletion phase, the anemic animals were randomly distributed into two groups, the first consisting of 5 animals received 20 g per day of standard purified diet used by the Bioterio of the National Agrarian University The Molina and the second made up of 10 animals which received 20 g per day purified diet deficient more fortified yogurt (0.212 mg of retinol, 0.095 mg of folic acid, 3.49 mg of iron and 3.92 mg of zinc; for 100 g of food), both groups for 28 days. It was obtain an average of 10.13 g / dL hemoglobin at the end of the induction period; with a significant increase in the concentration of hemoglobin in both groups ($p = 0.000$) on completion of the treatment (Hb average: 14.70 g / dL and 15.04 g / dL in the first and second group respectively), not significant difference was found in the hemoglobin between the groups ($p = 0.164$), demonstrating in this research anti anemic effect of the fortified product used in the race, based on the results of the concentration of hemoglobin.

Key words: Fortification, vitamin A, folic acid, iron and zinc, experimental animal, anaemia.

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 y en América Latina y el Caribe afecta al 39.5 por ciento (22.3 millones) de niños en edad preescolar (WHO, 2008); según ENDES (2013) 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); por lo tanto si no se revierte los efectos serán adversos sobre el desarrollo cognitivo, la atención, el aprendizaje y la capacidad de trabajo, limitando fuertemente el desarrollo adecuado de una sociedad y por ende la economía de un país (Urdampilleta *et al.*, 2010). Existen evidencias científicas que han demostrado que la deficiencia de hierro en los primeros años de vida está asociado al desarrollo intelectual deficiente, problemas de conducta, deserción escolar, entre otros; 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; según *investigaciones realizadas por el INS (2013), la anemia es responsable de la disminución de cinco puntos en el coeficiente intelectual en niños con antecedentes de esta enfermedad durante el primer año de vida; siendo la causa principal la deficiencia de hierro, por otro lado la población peruana no consume alimentos que poseen ácido fólico, zinc, vitamina A y vitamina B12, lo que contribuye a no absorber el poco hierro consumido;* 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.

La WHO (2014), menciona que la cifra real de la anemia se encuentra oculta en las estadísticas de las tasas generales de mortalidad, hemorragia materna, el rendimiento

escolar reducida y disminución de la productividad; recomienda aumentar la absorción de hierro, entre ellas mediante la fortificación, a la vez controlar las infecciones y mejorar el estado nutricional de otras deficiencias como la vitamina B12, ácido fólico y vitamina A que participan en la síntesis de la hemoglobina.

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, incidiendo 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, viene brindando *servicio alimentario a los escolares el programa Qali Warma, con el fin de contribuir a mejorar la atención en clases, asistencia escolar y de acuerdo a sus hábitos alimenticios*; según la Encuesta Censal de Estudiantes, en segundo grado del nivel primario de las instituciones públicas a nivel nacional, obtuvieron un resultado satisfactorio el 16.8 por ciento en el área de matemática (19.4 y 6.5 por ciento en la zona urbana y rural respectivamente) y 33 por ciento en comprensión lectora (38.5 y 10.4 por ciento en la zona urbana y rural respectivamente) (UMC, 2013).

En el estudio realizado por Munayco *et al.* (2013), hubo una notable reducción en un año de intervención de la prevalencia de anemia de 70.2 a 36.6 por ciento, resultado obtenido mediante el suministro de micronutrientes en polvo en niños de seis a 35 meses de edad que culminaron la suplementación; también existen diversas investigaciones que demuestran la eficacia de la fortificación casera en infantes anémicos proporcionados en porciones de alimentos sólidos o semisólidos siempre en cuanto aseguren el consumo en los usuarios, por estas evidencias el objetivo general del presente estudio fue *determinar el efecto del yogurt fortificado con vitamina A, ácido fólico, hierro y zinc en la concentración de la hemoglobina en animales experimentales con anemia inducida*, empleando para tal fin el método depleción-repleción; siendo el propósito aportar en el requerimiento dietético de los micronutrientes teniendo como vehículo un alimento de gran aceptabilidad por el grupo etáreo, 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).

Los objetivos específicos de la investigación fueron:

- 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 estándar (control) 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 y zinc en la concentración de la hemoglobina en animales experimentales.
- Comparar el efecto del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado respecto a la dieta purificada estándar (control) sobre su concentración de la hemoglobina en animales experimentales con anemia inducida.

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. Las necesidades fisiológicas específicas varían en función a la edad, sexo, altitud, tabaquismo y diferentes etapas del embarazo. 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 (ingerir unos 40 mg por día y kilogramo de peso para mantener el equilibrio adecuado), 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 (100 g de sangre contiene 0.34 g de hemoglobina) es menor que los valores de referencia según edad, sexo y altitud; la disminución de hemoglobina puede tener muchas causas, como deficiencia nutricional de vitamina A, ácido fólico, riboflavina o deficiencia de vitamina B12, infecciones e inflamación. 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. Si bien se han identificado muchas causas de la anemia, la deficiencia nutricional debido a una falta de cantidades específicas de hierro en la alimentación diaria constituye más de la mitad del número total de casos de anemia (ENDES, 2012; Blanco, 2011; Grandy *et al.*, 2010).

Las manifestaciones clínicas de la anemia varían desde palidez generalizada de 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, incremento en el número de infecciones por alteración del sistema inmune y falta de concentración, 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; según Howard (2005) la función cognitiva se incrementa al aumentar la concentración de hemoglobina con el tratamiento; éstos resultados nos lleva a anticiparnos realizando tratamientos preventivos debido a que los costos de prevención de la anemia son altamente costo efectivo respecto al que genera este problema para el estado, siendo S/.18 millones para prevenir la anemia en madres gestantes y niños menores de tres años respecto a S/. 632 millones que genera la anemia al estado peruano (Alcázar, 2012).

Mientras que la anemia reduce el transporte de oxígenos hacia el cerebro, la deficiencia de hierro dentro del sistema nervioso central afecta directamente al metabolismo de los neurotransmisores (Castrillón y Serpa, 2013).

A nivel del mar, la concentración de hemoglobina para diagnosticar la anemia se indica en el Cuadro 1.

Cuadro 1: Concentración de 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). El criterio para indicar anemia en ratas Sprague Dawley según García *et al.* (2010) es cuando la disminución de la hemoglobina sea del 30-50 por ciento de los valores iniciales.

Siendo los determinantes, factores socioeconómicos y culturales (acceso económico, cultural y geográfico a cantidad y calidad de alimentos ricos en hierro, acceso a agua y saneamiento, baja proporción de lactancia materna exclusiva y bajo nivel de educación de los padres), consumo alimentario inadecuado (inadecuada ingesta de hierro, bajo consumo de alimentos ricos en hierro, ingesta de alimentos con hierro de baja biodisponibilidad, bajo consumo de facilitadores de absorción de hierro, requerimientos incrementados en algunas etapas de la vida y condiciones fisiológicas), falta de acceso y uso de servicios de salud y nutrición (acceso y cumplimiento de controles prenatales, atención de parto, controles de crecimiento y desarrollo, atención integral que incluye consejería nutricional y suplementación con hierro y micronutrientes son una oportunidad para disminuir la anemia en etapas de mayor requerimiento). La anemia en mujeres en edad fértil y en gestantes condiciona partos prematuros, niños con bajo peso al nacer y desnutrición crónica, incremento de la morbilidad (infecciones endémicas en niños, parasitosis y enfermedades infecciosas agudas, promueven la respuesta inflamatoria y, por lo tanto, a que las reservas de hierro disminuyan, incrementando el riesgo de anemia), factores biológicos de mayor vulnerabilidad a la anemia (incremento en el requerimiento de hierro, en niños (as) de 6 a 24 meses de edad; en esta etapa es necesario priorizar la lactancia materna, suplementación con hierro, alimentación complementaria con alimentos ricos en hierro, fortificación de alimentos con hierro y facilitadores de absorción de este mineral) (Osorio, 2002 citado por Salinas *et al.*, 2011).

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 alimentos (sobre todo harina y azúcar), productos horneados, bebidas y otros alimentos (DSM, 2014).

Conocida por su propiedad antiinfecciosa y antixeroftálmica. Es sensible a la luz (natural y artificial) de cierta intensidad, sin embargo es resistente al calor (Madrid, 2012).

2.2.1 FUNCIÓN

Entre sus funciones permite desarrollar y diferenciar epitelios como los de huesos, riñón, vellosidades; transporte de oligosacáridos a través de la bicapa de las membranas, que influyen en la espermatogénesis, ovogénesis, lo que permite crecer a la placenta y feto; visión nocturna y captación de colores como retinol, participa en la síntesis de glucoproteínas (acción del ácido retinoico en la promoción de crecimiento y diferenciación de los tejidos). Primera indicación de su deficiencia es una visión nocturna defectuosa (reservas hepáticas casi agotadas), una mayor depleción conduce a queratinización de tejidos epiteliales del ojo, pulmones, vías gastrointestinales y genitourinarias, acoplada con reducción de la secreción mucosa, daño de la córnea y xeroftalmia (Blanco, 2011; Melo y Cuamatzi, 2007).

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 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 deficiencia de retinol perjudica la utilización del hierro, mejorar la condición nutricional de la vitamina A mejorará la condición hematológica de la población. En estudios sobre fortificación de alimentos con hierro y vitamina A se encontraron efectos favorables en el estado nutricional del hierro en los niños pre escolares y mujeres embarazadas. Existe una asociación positiva entre la concentración de retinol y la hemoglobina, en la cual la hipovitaminosis A está asociada con una carencia ferropénica, por lo tanto 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 administración de suplementos a poblaciones anémicas, indican que la vitamina A 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; todavía no se conoce el mecanismo exacto (Bowman y Russell, 2003).

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

Ocurre por consumir suplementos innecesarios cuya dosis no debería ser superior a 900 ug diarios, siendo raro que ocurra por ingestión exagerada de pro vitamina A. Los síntomas incluyen daño hepático, anormalidades óseas, dolores articulares, alopecia, dolores de cabeza, vómitos y descamación de la piel (Blanco, 2011); 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 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 estable en soluciones neutras, ácidos, álcalis y agentes reductores u oxidantes puede causar descomposición. Empleado en alimentos, alimentos para bebés y dietética (DSM, 2014).

Los folatos son un grupo de compuestos sintetizados por plantas y bacterias. Aunque es una vitamina, sus productos de reducción son las coenzimas verdaderas (L-folato y dihidrofólico reductasa, siendo el agente reductor el NADPH) (Melo y Cuamatzi, 2007)

2.3.1 FUNCIÓN

Lucy Wills, en 1931 identificó al folato (componente activo) como necesario para evitar la anemia durante el embarazo. Tres componentes conforman su estructura; pteridina (6-

metilpteridina), ácido para aminobenzoico 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 monoglutamato ácido fólico, ácido 5- metil tetrahidrofólico y/o ácido 5-formil tetrahidrofólico; en el plasma se transporta en su forma activa como metil-tetrahidrofolato, 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 glóbulos rojos al fijar el hierro a la hemoglobina, por lo cual previene ciertas formas de anemia. Un incremento en los reticulocitos ocurre cinco a siete días después de la ingestión de ácido fólico, con incremento de la hemoglobina (Melo y Cuamatzi, 2007; Hernández y Sastre, 1999).

La función principal se observa en la síntesis de ADN, ARN y hemoglobina, su carencia produce anemia megaloblástica. Dada la interrelación de la vitamina B12, B6, B9 y ácido ascórbico; la anemia que se produce en tales enfermedades carenciales es similar y cede al

ser tratada con uno o varios de tales micronutrientes. La complejidad de la interacción de la vitamina B12 y el folato son consecuencias de su participación común en la reacción de la metionina sintetasa. Conviene advertir que si bien con alimentos enriquecidos con ácido fólico se atenúa la anemia perniciosa, únicamente con la vitamina B12 se curan la homocistinuria, la aciduria metilmalónica y los trastornos neurológicos causadas por su deficiencia (Araya y Ruz, 2007; Melo y Cuamatzi, 2007).

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 microencapsulado 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).

Está encapsulado en 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 sustancias que se postulan como inhibidores. En Argentina el nombre comercial es Biofer, contiene 10 mg de vitamina C y 1.5 mg de Fe (Del Pozo *et al.*, 2010).

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), pues el hierro después de la destrucción se reabsorbe. Cumple el papel en la formación de hemoglobina (65 por ciento de hierro), mioglobina (proteína de los músculos esqueléticos, viscerales y del corazón; diez por ciento de hierro) y citocromos (enzimas como catalasa y peroxidasa; cinco por ciento de hierro), por lo que está vinculado al transporte del oxígeno de los pulmones a los tejidos y permitir la oxidación de los nutrientes en los tejidos. La deficiencia da lugar a la baja capacidad de proveer oxígeno y es responsable de una disminución en la tasa de crecimiento, fatiga y apatía característica de la anemia hipocrómica, de eritrocitos pálidos por no formar el grupo Hem de la hemoglobina, acompañada de deficiencia de folatos, vitamina B12, que son factores de maduración de los eritrocitos; su presencia 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 (se almacena en el hígado, bazo y médula ósea, hasta un gramo aproximadamente) 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 hierro hem es agregado como molécula hem al enterocito, mediante el transportador intestinal putativo de hierro hem (HCP1), en el interior es degradado por la enzima hemoxigenasa liberando al hierro para que se una al pool de hierro del enterocito, mientras el hierro no hem es reducido en el borde de las vellosidades a su estado ferroso para ser posteriormente internalizado a la célula por el Transportador de Metal Divalente (DMT1) (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) (Bothwel, 1979; citado por Nemirovsky, 2010). El hierro es liberado cuando los eritrocitos envejecen y se agotan, se absorbe y utiliza varias veces para la producción de nuevos eritrocitos (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; un adulto tiene de cinco a seis gramos de hierro (hemoglobina, mioglobina, enzimas y ferritina), perdiendo 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 reemplazar el hierro perdido en la menstruación (Madrid, 2012; Blanco, 2011; Nemirovsky, 2010).

La tasa de absorción de 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). Sin embargo, en el plasma el hierro vuelve a su estado férrico uniéndose a la transferrina para ser transportado hasta el hígado (almacena como hemosiderina o ferritina). Es una metaloenzima, trabaja como cofactor de la enzima Desoxirribonucleasa, Arginasa, Peroxidasa, Catalasa, Citocromo oxidasa, cumpliendo la función de óxido-reducción. La absorción se desaprovecha por infestaciones parasitarias (uncinariasis, malaria, etc.) (Blanco, 2011).

Se incrementa la absorción en deficiencia del metal, anemias hemolíticas, hipoxia y en presencia del 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. La vitamina C facilita la absorción del hierro al formar quelatos con hierro férrico a un pH ácido que permanece soluble al pH alcalino del duodeno; sin embargo la adición de ésta vitamina al yogurt afecta la calidad debido a su acidez, por ello para su empleo en este alimento se deben micro encapsular a ambos (Kim *et al.*, 2003).

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. Su deficiencia produce la anemia. En el siglo XVIII, se demostró que el hierro es un componente importante de la sangre. En 1932, Castle aportó pruebas convincentes de que el hierro inorgánico podía utilizarse en la síntesis de la hemoglobina. Forma parte de la hemoglobina, mioglobina, citocromos y enzimas (Castrillón y Serpa, 2013; Boccio *et al.*, 2003).

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 (Otten *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).

Único compuesto de zinc protegido, desarrollado e investigado en la actualidad, utilizado ampliamente por la industria Argentina para la fortificación de productos lácteos y en Australia para fortificar diferentes jugos de frutas. Posee una adecuada biodisponibilidad y no produce cambios en las características organolépticas de los alimentos fortificados lo que lo convierte en un compuesto útil desde el punto de vista nutricional y tecnológico-industrial (Boccio y Monteiro, 2004).

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 vitamina A, metabolismo de hormonas, cicatrización de heridas, sentido del gusto y apetito (Blanco, 2011; Grandy *et al.*, 2010; Rossander-Hultén *et al.*, 1991 citado por Pizarro *et al.*, 2005). 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 de zinc interactúa con la deficiencia de la vitamina A, exacerbando la ceguera nocturna (Muñoz, 1990), necesario para mantener las células intestinales, crecimiento óseo, etc. también provoca aumento de las enfermedades respiratorias, digestivas y de la piel por una disminución en la respuesta inmune (Grandy *et al.*, 2010); una grave deficiencia puede producir retraso del crecimiento, alteraciones inmunitarias, afecciones cutáneas, problemas de aprendizaje y anorexia (WHO, 2014). 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 gramos 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 inhibe. La cantidad de hierro puede determinar su efecto sobre la absorción de 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 este elemento por ello el recambio diario es alto y rápido; los micro-pozos de 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 metalotioneina, 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 de zinc de la dieta cuando el aporte fue de 5.5 mg/día y disminuyó a 25 por ciento cuando la carga de 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 2 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 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). En el Cuadro 2, se muestra la ingesta diaria recomendada para los niños (as) en edad escolar.

Cuadro 2: 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 el Cuadro 3, se muestra los requerimientos de la vitamina A, ácido fólico, hierro y zinc

por kilogramo de dieta para las ratas de laboratorio en crecimiento.

Cuadro 3: Requerimientos de micronutrientes en ratas de laboratorio por kilogramo 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 de 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 de hierro no hem, interviene también en la biodisponibilidad del hierro hem. 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 un 50 por ciento. El calcio y el hierro no hem 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 de hierro a partir de una comida estandarizada se reduce significativamente con la ingesta concomitante de carbonato de calcio o de hidroxapatita; 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 de 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).

Ingestas elevadas de suplementos de hierro han sido asociados con la reducción de la absorción de zinc, efecto que es mucho más evidente en soluciones acuosas que en presencia de combinaciones de alimentos. Altas ingestas de zinc han mostrado reducir la absorción de hierro (Araya y Ruz, 2007). Se produce una disminución de biodisponibilidad de 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 Transportador de Metal Divalente (DMT1) (Gaitán *et al.*, 2006; Whittaker, 1998).

La captación del hierro es inhibida por zinc y cobre. Una relación molar de hierro: cobre: zinc de 1:1:1 inhibe la captación de hierro o cobre en un 45 por ciento, por lo que estos resultados muestran que relaciones molares elevadas 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 de hierro, observándose un efecto inhibitorio de la absorción de hierro cuando se administró una dosis farmacológica de zinc (11.71 mg) en una proporción molar respecto al hierro 1:1 (Olivares *et al.*, 2005).

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 (compiten por la absorción).

2.7.3 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 de hierro y de otros minerales, reduciendo la eficiencia de la absorción (West, 1986). Dentro de los compuestos

favorecedores de la absorción de hierro, tienen un papel importante el ácido ascórbico, los aminoácidos de origen cárnico, 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 Fe^{+2}) (Gaitán *et al.*, 2006).

2.8 FORTIFICACIÓN FOCALIZADA

Según la FAO (2012), fortificación es la adición de uno o más nutrientes esenciales a un alimento a fin de mejorar su calidad para las personas que lo consumen, con el objetivo de reducir o controlar una carencia de nutrientes. 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).

La fortificación focalizada es la adición de micronutrientes a los alimentos consumidos por grupos específicos de la población como: Los alimentos complementarios, cereales para niños y los alimentos que forman parte de programas de bienestar social (atención de la salud infantil, almuerzos escolares y programas de asistencia en casos de desastres), en estos últimos procuran 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 por ración (suponiendo dos a tres raciones por día), con la cual el alimento puede considerarse una excelente fuente del micronutriente. 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 la alimentación institucional (escuelas, hospitales, etc.) o distribuidos en situaciones de emergencia. En la fortificación, la vitamina A y el hierro se deben emplear en combinación y no con exclusión; se debe tener cuidado especial de posibles problemas tóxicos con la vitamina A, sobre todo en mujeres embarazadas o que planeen concebir (FAO, 2014).

En el año 1992, en nuestro país fue creado el Programa Nacional de Apoyo Alimentario (PRONAA); 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 (Ravina *et al.*, 2002). La cantidad de los micronutrientes en estudio por ración se muestra en el Cuadro 4.

Cuadro 4: 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 del yogurt cada vez más se viene incrementando, debiéndose esto a su capacidad de diversificación, apariencia natural, características organolépticas, propiedades nutricionales, profilácticas y terapéuticas, con un aumento progresivo del consumo (12 a

16 millones de toneladas) a nivel mundial (Padilla, 2011; Dello, 2004 citado 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 un estudio sobre el consumo del yogurt en las familias de los distritos de San Isidro y Jesús María, concluyen que las familias de ambos distritos incluyen en sus loncheras de sus hijos un aproximado de tres yogures a la semana (Benedetti *et al.*, 2013).

En nuestro país en la lista de los 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 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, 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, matemáticos, 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 comportamiento frente a un factor por parte de un organismo completo. 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); por ello 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).

2.11 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).

Kolsteren *et al.* (1999) citado por 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 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); mientras que 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 Universidad Nacional Agraria La Molina y micronutrientes en el Laboratorio Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C

3.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN

La investigación es aplicada, experimental y explicativo; con medición de la concentración de la hemoglobina en tres momentos (basal, inducción o fase de depleción y recuperación o fase de repleción).

3.3 HIPÓTESIS

3.3.1 HIPÓTESIS GENERAL

H1: El yogurt fortificado con vitamina A, ácido fólico, hierro y zinc aumenta significativamente la concentración de la hemoglobina en los animales experimentales.

3.3.2 HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

H1: La dieta purificada deficiente en vitamina A, ácido fólico y hierro disminuye la concentración de la hemoglobina en los animales experimentales; después de cinco semanas de consumo.

H1: Los animales experimentales con anemia incrementan su concentración de la hemoglobina después de los 28 días de consumir la dieta purificada estándar (control).

H1: Los animales experimentales con anemia incrementan su concentración de la hemoglobina después de los 28 días de consumir la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado.

H1: Los animales experimentales con anemia incrementan su concentración de la hemoglobina después de los 28 días de consumir la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado respecto a la dieta purificada estándar (control).

3.4 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

En el presente estudio se empleó el método depleción-repleción de la hemoglobina, mostrada en la Figura 1.

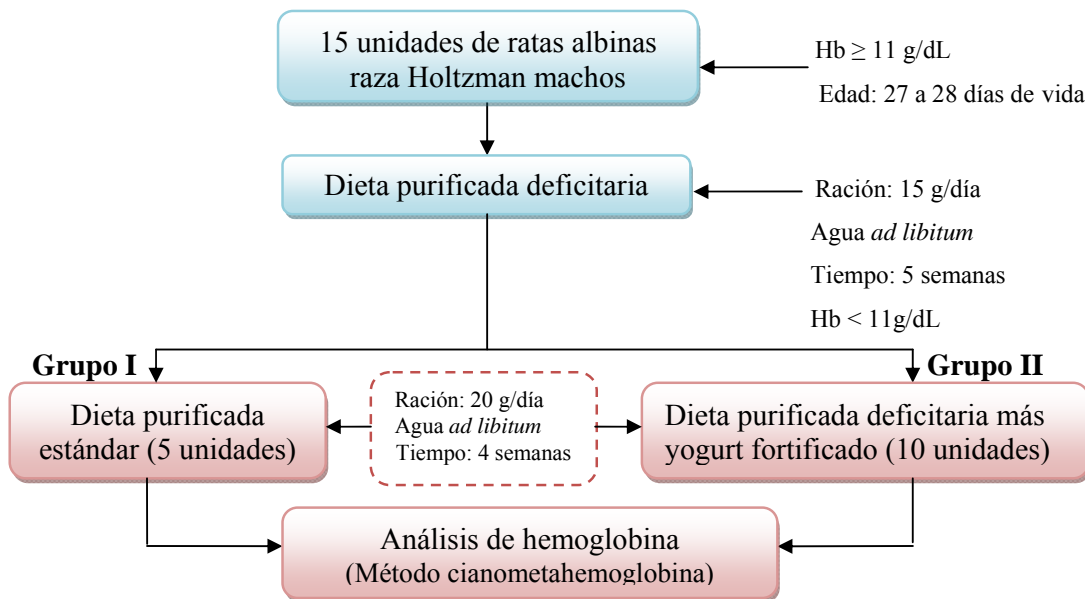


Figura 1: Diseño del método depleción-repleción de la hemoglobina

Fase de depleción (inducción a anemia): ■ Fase de repleción (recuperación): ■

Este método consistió en disminuir la concentración de la hemoglobina por debajo de las cantidades fisiológicas propias de la especie mediante una alimentación basada en una dieta deficitaria en micronutrientes involucrados en la síntesis de hemoglobina (fase de

depleción), mientras que en la fase de repleción se procedió a elevar nuevamente la concentración de hemoglobina hasta valores fisiológicos normales a través del suministro de diferentes fuentes de los micronutrientes deficitarios (García *et al.*, 2013).

3.5 POBLACIÓN Y MUESTRA

3.5.1 POBLACIÓN

Ratas Albinas raza Holtzman.

3.5.2 MUESTRA

Se utilizaron 15 ratas que cumplían con los criterios de inclusión.

- Criterios de inclusión.
 - Animales con nivel de hemoglobina mayor o igual a 11 g/dL.
 - Machos.
 - Edad 27 a 28 días de vida.

3.6 MATERIALES

3.6.1 ANIMALES EXPERIMENTALES

Se empleó 15 ratas albinas de la raza Holtzman machos de 27 a 28 días de vida adquiridos del Bioterio del Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos del Departamento Académico de Nutrición de la Universidad Nacional Agraria La Molina; previa codificación por perforación en las orejas, pesado corporal y evaluación de la concentración de la hemoglobina a 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, estándar y dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado) y agua

ad libitum. Al finalizar el periodo de inducción a anemia (depleción) y recuperación (repleción) se evaluó la concentración de la hemoglobina y peso corporal de cada animal para su comparación dentro y entre grupos.

3.6.2 INSUMOS DE LA DIETA DE LOS ANIMALES EXPERIMENTALES

a. YOGURT FORTIFICADO LIOFILIZADO

En el Cuadro 21, 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 gramos de yogurt fortificado en base húmeda (Cuadro 20) y la humedad del producto liofilizado (NTP 202.137: 2005) en base parcialmente seca (9.87 por ciento).

b. AZÚCAR REFINADO

En el Cuadro 5, se aprecia la composición del azúcar refinado.

Cuadro 5: Composición en 100 gramos de azúcar refinado

Nutrientes	Unidad	Cantidad
Agua	g	0.6
Carbohidratos totales	g	99.2
Cenizas	g	0.2
Zinc	mg	0.00
Hierro	mg	0.10
Retinol	ug	0.0
Energía	Kcal	384.0

FUENTE: Reyes *et al.* (2009)

c. CASEÍNA

En el Cuadro 6, se muestra la composición de la caseína.

Cuadro 6: 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)

d. FIBRA

En el Cuadro 7, se muestra la composición de la fibra.

Cuadro 7: 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)

e. MANTECA VEGETAL

En el Cuadro 8, se muestra la composición de la manteca vegetal.

Cuadro 8: 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)

f. MAICENA

En el Cuadro 9, se muestra la composición de la maicena.

Cuadro 9: 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)

g. SALES MINERALES

En el Cuadro 10, se muestra la composición de la mezcla de sales minerales.

Cuadro 10: Composición de la mezcla de sales minerales empleada en la formulación de la dieta purificada deficitaria y estándar (control)

Minerales	Dieta purificada	
	Deficitaria (%)	Estándar (%)
Sulfato de aluminio	0.017	0.017
Carbonato de calcio	54.293	54.293
Sulfato de cobre	0.090	0.090
Carbonato de magnesio	2.500	2.500
Cloruro de potasio	11.200	11.200
Yoduro de potasio	0.011	0.011
Fosfato de potasio monobásico	21.200	21.200
Fluoruro de sodio	0.100	0.100
Sulfato de manganeso	0.039	0.039
Cloruro de sodio	6.900	6.900
Sulfato de magnesio	1.600	1.600
Sulfato férrico	0.025 ¹	2.050

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

¹ Corresponde a 1.2 por ciento respecto al requerimiento empleado en la dieta purificada estándar (control).

h. VITAMINAS

En el Cuadro 11, se muestra la composición de la mezcla de vitaminas.

Cuadro 11: Composición de la mezcla de vitaminas empleada en la formulación de la dieta purificada deficitaria y estándar (control)

Vitaminas	Dieta purificada	
	Deficitaria (%)	Estándar (%)
Tiamina (B1)	0.025	0.025
Riboflavina (B2)	0.020	0.020
Piridoxina (B6)	0.020	0.020
Pantotenato de calcio	0.200	0.200
Niacina	0.200	0.200
Inositol	1.250	1.250
Menadiona	0.025	0.025
Biotina	0.001	0.001
Cianocobalamina (B12)	0.0001	0.0001
Vitamina E	1.680	1.680
Cloruro de colina	1.200	1.200
Ácido fólico (B9)	0.0002 ^a	0.010
Rovimix (A, B2, D3)	0.02 ^b	1.000
Azúcar impalpable	95.359	94.369

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

^{a, b} Corresponde a 1.5 por ciento respecto al requerimiento empleado en la dieta purificada estándar (control).

3.6.3 MATERIALES EMPLEADOS

3.6.3.1 ELABORACIÓN Y ANÁLISIS DEL YOGURT FORTIFICADO

- **Materia prima:** Leche fresca, proveniente de la Planta Piloto de Leche de la

UNALM.

- **Insumos**

- Ácido cítrico.
- Ácido fólico de grado alimentario.
- Azúcar blanca.
- Colorante piña.
- Cultivo termófilo de yogurt.
- Esencia piña.
- Estevia en polvo.
- Gluconato de zinc estabilizado.
- Leche en polvo descremado (LPD).
- Piña (fruta fresca).
- Pectina.
- Saborizante piña.
- Sorbato de potasio.
- Sulfato ferroso estabilizado con vitamina C y microencapsulado.
- Vitamina A palmitato 250.000UI/g.

- **Materiales**

- Baldes de capacidad 5 y 15 litros.
- Batidor de alambre.
- Bombilla de succión.
- Bureta.
- Butirómetros de Gerber con tapones, de 10 ml y 50 ml.
- Cápsulas metálicas con tapa.
- Cooler.
- Cucharón de palo.
- Cuchillo.
- Desecadores con cloruro de calcio.
- Frascos de polietileno de 200 ml y 1litro.
- Gradilla.

- Jarras de plástico, capacidad de 2 y 5 litros.
 - Lactodensímetro Quévenne con termómetro.
 - Matraz de Erlenmeyer.
 - Micropipetas de plástico.
 - Ollas con tapa, capacidad 6 kilogramos.
 - Paletas de plástico desechables para helados.
 - Pinza y nuez.
 - Pinza de crisol.
 - Pipetas de 1, 10 y 10.75 ml esterilizados.
 - Piseta con agua destilada.
 - Probeta de 250 ml.
 - Soporte universal.
 - Termómetro (0 a 100 °C).
 - Tira reactiva (Charm MRL Beta-lactámicos / Tetraciclina).
 - Tubos de ensayo con tapa, estériles.
 - Vasos de plástico desechables de 3, 5 y 7 onzas y con tapa de 3.25 onzas.
 - Vasos de precipitado.
- **Reactivos**
 - Fenolftaleína al 0.1%.
 - Hidróxido de sodio 0.1 N.
 - Ácido sulfúrico.
 - Alcohol iso – amílico.
 - Azul de metileno.
- **Equipos**
 - Balanza analítica marca Adventurer, capacidad 2 kilogramos.
 - Balanza eléctrica marca Súper – SS, capacidad 5 kilogramos.
 - Cámara de refrigeración (2 a 6 °C).
 - Centrífuga con calentador (65 °C ± 2) de 1000 a 1200 rpm.
 - Cocina.
 - Descremadora marca Primo.

- Estufa.
- Liofilizador marca Virtis, capacidad 2.8 kilogramos.
- Licuadora.
- Potenciómetro digital tipo pHmeter.
- Refractómetro marca ABBE, capacidad entre 0 y 85 °Brix.
- Refrigeradora marca Samsung.
- ROSA incubators.
- Viscosímetro Brookfield modelo RVT, Spindle N° 4 y rotación 10 rpm.

3.6.3.2 PREPARACIÓN DE LAS DIETAS Y CUIDADO DE LOS ANIMALES EXPERIMENTALES

- **Materiales**

- Bandejas metálicas.
- Batería provista de 30 jaulas metálicas de fierro galvanizado.
- Botellas de vidrio de 300 ml (bebederos).
- Brocha.
- Cernidor.
- Cucharones de plástico, capacidad 50 gramos.
- Cuchillo.
- Envases de plástico de 4 kilogramos de capacidad.
- Escobillas de cerdas de 1pulgada para frascos.
- Espátula de acero inoxidable.
- Formatos.
- Frascos de vidrio de 30 gramos (comederos).
- Mesas.
- Táper con tapa de 1, 2 y 2.4 kilogramos.
- Tijera.

- **Reactivos**

- Alcohol de 96%.
- Hipoclorito de sodio marca clorox.

- **Equipos**
 - Balanza de plataforma marca Berkel, capacidad 5 kilogramos.
 - Balanza analítica marca Adventurer, capacidad 1 kilogramo.
 - Mezclador eléctrico marca Hobart, capacidad 5 kilogramos (transmisión de engranes con 3 velocidades para mezclar).
 - Ventilador eléctrico marca Isensi dacgua.
 - Calefactor eléctrico marca Imaco.

3.6.3.3 DETERMINACIÓN DE LA HEMOGLOBINA

- **Materiales**
 - Agua destilada.
 - Algodón.
 - Etiquetas autoadhesivas de colores de 19 * 13 mm y 3*3 pulgadas.
 - Guantes de látex desechables.
 - Gradilla.
 - Lancetas marca Accu-Chek de 0.04 mm.
 - Táper con tapa.
 - Tubos capilares microhematocrito heparinizados con sodio 80 iu/ml, 1.1 a 1.2 mm de diámetro interior.
 - Tubos de ensayo.
 - Pipetas de Sahli de 20 microlitros.

- **Reactivos**
 - Alcohol de 96%.
 - Reactivo Drabkin.

- **Equipos**
 - Espectrofotómetro (Photometer 5010 V5⁺)

3.6.3.4 MATERIALES DE HIGIENE

- Alcohol en gel antibacterial.
- Alcohol de 96 %.

- Ayudín.
- Detergente.
- Escoba, recogedor, tacho y trapeador.
- Jabón líquido.
- Hipoclorito de sodio marca clorox.
- Papel desechable.

3.7 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

3.7.1 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 de batido, 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 (LPD).

3.7.2 DESCRIPCIÓN DE CADA ETAPA Y/O PROCESO

a. PREPARACIÓN DEL CULTIVO

Se pasteurizó un litro de leche fresca a 85°C por 10 minutos, posteriormente se refrigeró hasta 2 a 4 °C; temperatura a la cual se adicionó el cultivo termófilo liofilizado Yo-Flex YF-L812 de 50U de concentración, para luego disolverlo. Se separó en alícuotas según la cantidad de leche a procesar en envases estériles y se almacenó de -5 a -8 °C hasta su uso.

b. CARACTERIZACIÓN DE LA LECHE

Con la finalidad de verificar la calidad de la leche se realizaron los siguientes análisis: pH, densidad relativa, acidez titulable, ensayo de azul de metileno, antibiótico, sólidos totales, humedad, proteína, materia grasa, ceniza y carbohidratos.

c. ESTANDARIZACIÓN DEL CONTENIDO GRASO EN LA LECHE FRESCA

Se normalizó el contenido graso para un yogurt parcialmente descremada (0.6 a 2.9 por ciento), por medio de una máquina centrífuga (Marca Primo de 4 kilogramos de capacidad) sometiendo a la leche a una temperatura de 32 °C obteniéndose en esta etapa dos fracciones, una de leche desnatada o parcialmente desnatada (según el porcentaje de grasa) y otra de crema.

d. ESTANDARIZACIÓN DEL EXTRACTO SECO TOTAL (EST)

Para ajustar el extracto seco total se adicionó leche descremada en polvo (LPD) a una temperatura de 32°C para la cual se tuvo en cuenta los sólidos totales de la leche fresca parcialmente descremada (10.43 por ciento de sólidos totales).

e. PASTEURIZACIÓN

Se realizó a 85°C por 10 minutos y con agitación constante, siendo la finalidad eliminar los microorganismos patógenos presentes, inactivar ciertas enzimas como las lipasas y mejorar la calidad de la leche fermentada.

f. ACONDICIONAMIENTO DE LA TEMPERATURA

Se realizó el enfriamiento hasta 43 °C, que es la temperatura óptima para el desarrollo del cultivo láctico.

g. FERMENTACIÓN

En esta etapa se añadió el sulfato ferroso estabilizado con vitamina C y microencapsulado, con la finalidad de que se homogenice en la mezcla; en ésta etapa también se adicionó 0.047 por ciento de estevia en polvo (95 por ciento de glicósidos de esteviol y 250 veces más dulce que la sacarosa) en base a la leche fresca. El cultivo láctico (*Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* y *Lactobacillus delbruckii subsp. bulgaricus*) previamente descongelado se inoculó,

con el objetivo de lograr la acidificación, consistencia, aroma y sabor deseado; a 43°C en cinco horas de incubación, el yogurt base alcanzó un pH ≤ 4.6. En este proceso se evaluó el pH y acidez.

h. REFRIGERACIÓN

Se enfrió inmediatamente hasta una temperatura entre 4 a 6 °C, esta operación tiene como finalidad controlar la acidez y detener la acción de las enzimas provenientes de los fermentos lácticos, debido a que las bacterias siguen actuando a medida que transcurre el tiempo.

i. BATIDO, FRUTADO Y FORTIFICACIÓN

A la temperatura entre 4 a 6 °C se realizó el batido (tratamiento mecánico suave) hasta lograr una consistencia homogénea. En esta operación se adicionó los micronutrientes (a excepción del hierro) y demás insumos indicados en los Cuadros 12 y 13.

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

Micronutrientes	Ingesta diaria recomendada (100 %)
Ácido fólico (mg)	0.20 (0.30)
Vitamina A palmitato 250 S/N (mg)	8.00 (0.60)
Sulfato ferroso estabilizado con vitamina C y microencapsulado (mg)	152.38 (8.00)
Gluconato de zinc estabilizado (mg)	85.11 (8.00)

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

Cuadro 13: Insumos en función a la cantidad de 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

j. ENVASADO

El yogurt se envasó en botellas de polietileno de alta densidad, color blanco opaco de 1 litro de capacidad. El proceso de elaboración del yogurt fortificado se muestra en la Figura 2.

3.7.3 MÉTODOS

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 azul de metileno, por el método NTP 202.014(2004) (revisada el2013).
- 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).
- 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).

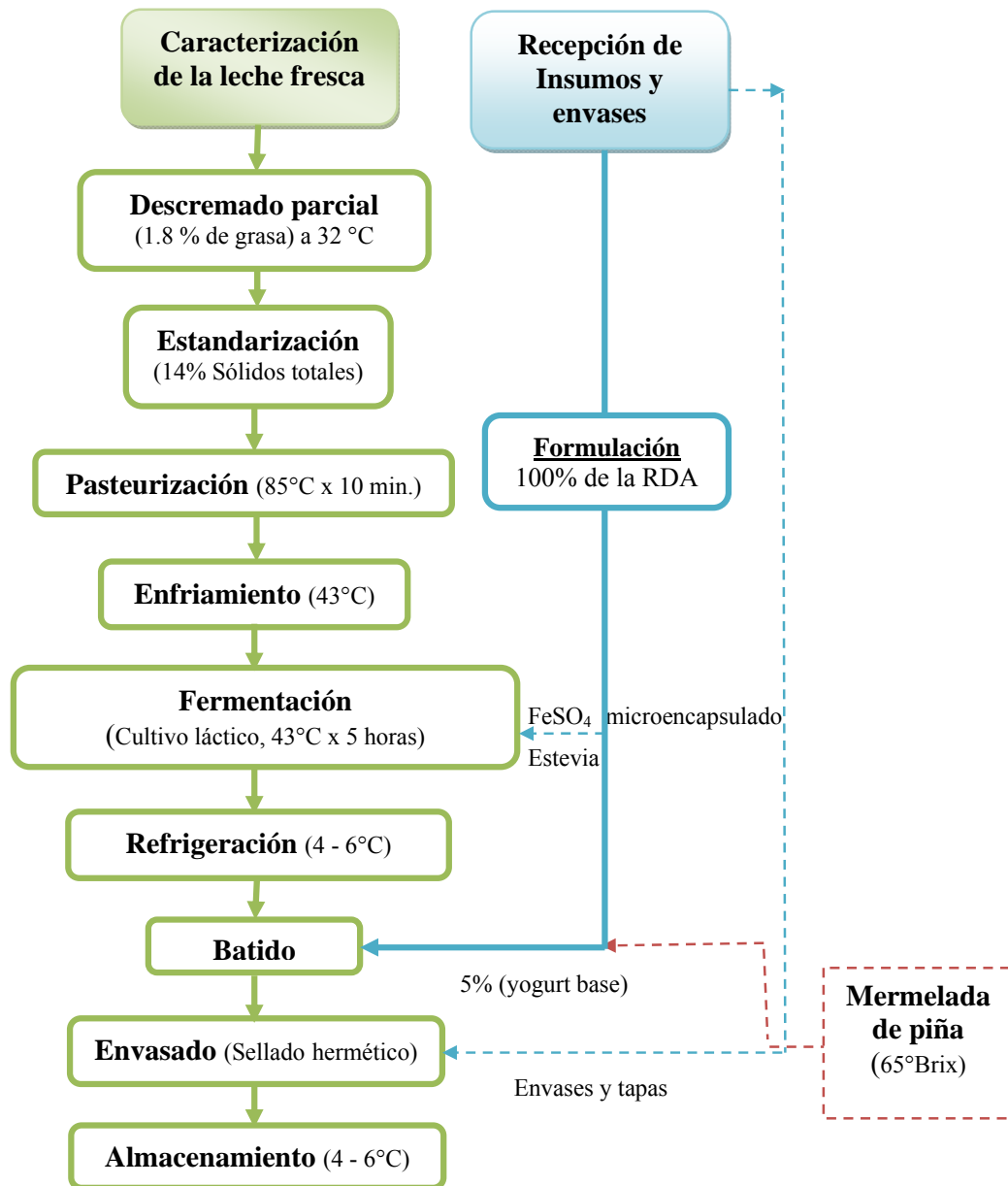


Figura 2: Diagrama de flujo para la elaboración del yogurt fortificado con vitamina A como palmitato, ácido fólico, sulfato ferroso estabilizado con vitamina C y microencapsulado y gluconato de zinc estabilizado

3.7.4 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 para determinar el efecto en la concentración de la hemoglobina de los animales experimentales anémicos.

3.7.5 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).

3.7.5.1 DIETA PURIFICADA DEFICITARIA (INDUCCIÓN A ANEMIA O FASE DE DEPLECIÓN)

Se preparó 7.875 kilogramos de dieta purificada deficitaria en vitamina A, ácido fólico y hierro, cuya composición por 100 gramos se muestra en el Cuadro 14, para dicho fin se empleó sólo el 1.2 por ciento de minerales (sulfato férrico) y 1.5 por ciento de vitaminas (vitamina A como rovimix y ácido fólico) del requerimiento de la raza empleada en la formulación de la dieta purificada estándar por el Bioterio del Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos de la UNALM.

Antes de iniciar la alimentación para la inducción a anemia, se obtuvieron los siguientes datos: Concentración de la hemoglobina y peso corporal 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 cinco semanas.

Se registró el consumo diario de la dieta purificada deficitaria de cada animal en estudio

(Anexo 32). Culminada éste tiempo se registró la concentración de la hemoglobina y peso corporal de cada animal en estudio (Anexo 3).

Cuadro 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		
Zinc	0.000		
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), carbonato de calcio $CaCO_3$ (542.93), sulfato de cobre $CuSO_4$ (0.90), carbonato de magnesio $MgCO_3$ (25), cloruro de potasio KCl (112), yoduro de potasio KI (0.11), fosfato de potasio monobásico PO_4KH_2 (212.0), fluoruro de sodio NaF (1.0), sulfato de manganeso $MnSO_4 \cdot H_2O$ (0.39), cloruro de sodio $NaCl$ (69.0), sulfato de magnesio $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (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.

² Tiamina B1 (0.25), riboflavina B2 (0.20), piridoxina B6 (0.20), pantotenato de calcio (2.0), niacina (2.0), inositol myo $C_6H_{12}O_6$ (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 $(CH_3)_3NClCH_2CH_2OH$ (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.

3.7.5.2 DIETA PURIFICADA ESTÁNDAR O CONTROL (FASE DE REPLECIÓN)

Se preparó 2.8 kilogramos de dieta purificada estándar con todos los requerimientos nutricionales (macro y micronutrientes) para la raza en estudio, cuya composición por 100 gramos se muestra en el Cuadro 15, para dicho fin se empleó la formulación empleada por el Bioterio del Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos de la UNALM.

Cuadro 15: Composición en 100 gramos de dieta purificada estándar (control)

Ingredientes	Porcentaje	Proteína (%)	Valor energético (Kcal)
Caseína	11.360	9.995	41.956
Mezcla de minerales ¹	4.000		0.000
Mezcla de vitaminas ²	5.000		18.119
Grasa	7.000		61.600
Maicena	57.680		202.866
Azúcar	11.000		42.240
Fibra	5.000		13.259
		Total	380.040

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

¹ AlK (SO₄)₂.12 H₂O (0.17), CaCO₃ (542.93), CuSO₄ (0.90), Fe₂ (SO₄)₃.nH₂O (20.50), MgCO₃ (25), Kcl (112), KI (0.11), PO₄KH₂ (212.0), NaF (1.0), MnSO₄.H₂O (0.39), Nacl (69.0), MgSO₄.7H₂O (16.0). Todas las cantidades en gramos por cada kilogramo de mezcla de minerales.

² B1 (0.25), B2 (0.20), B6 (0.20), pantotenato de calcio (2.0), niacina (2.0), C₆H₁₂O₆ (12.50), B9 (0.10), menadiona K (0.25), biotina B uno por ciento (0.01), B12 (0.001), Rovimix (vitamina A, B2 y D3) (10), vitamina E 25 por ciento (16.80), (CH₃)₃NclCH₂CH₂OH (12.0) y azúcar refinada (943.689). 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 a distribuir al azar (Figura 1) empleándose como control a cinco animales (codificados con las letras C-1, C-2, C-3, C-4 y C-5 para su identificación). Los datos de concentración de la hemoglobina obtenida después de la

inducción fue el punto de partida para observar el incremento de la hemoglobina, éste tratamiento se realizó por un periodo de cuatro semanas con un suministro controlado de 20 a 20.05 gramos de la dieta purificada estándar (control). Se registró el consumo diario de la dieta de cada animal experimental (Anexo 35). Culminada el experimento se registró la concentración de la hemoglobina y peso corporal de cada animal experimental (Anexo 12).

3.7.5.3 DIETA PURIFICADA DEFICITARIA MÁS YOGURT FORTIFICADO (FASE DE REPLECIÓN)

Se preparó 5.6 kilogramos de dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado liofilizado, en base a los requerimientos nutricionales de los animales (ratas de laboratorio) en crecimiento (Cuadro 3), cuya composición por 100 gramos de dieta se muestra en el Cuadro 16.

Cuadro 16: 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)₂.12H₂O (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 MgSO₄.7H₂O (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 uno por ciento (0.01), B12 (0.001), vitamina E 25 por ciento (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 a distribuir al azar (Figura 1) empleándose 10 animales para éste tratamiento (codificados con las letras T-1, T-2...T-10, para su identificación). Los datos de la concentración de la hemoglobina obtenida después de la inducción fue el punto de partida para observar el incremento de la hemoglobina, el tiempo de recuperación fue de cuatro semanas con un suministro controlado de 20 a 20.05 gramos de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado. Se registró el consumo diario de la dieta de cada animal experimental (Anexo 38). Culminada el experimento se registró la concentración de la hemoglobina y peso corporal de cada animal experimental (Anexo 20).

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, estándar 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

Cada dieta fue envasada y almacenada en recipientes de plástico herméticos de 4 kilogramos de capacidad, limpios y secos; en un ambiente con suficiente ventilación (22 a 23 °C) a fin de garantizar la conservación del alimento durante su consumo.

3.7.6 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 todo el residuo de sangre. La muestra se transvasó a los tubos de ensayo previamente rotulados, con un contenido de 5 ml del 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.

$$\text{Factor} = 37$$

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

3.8 INSTRUMENTOS DE COLECTA DE DATOS

Los datos de la concentración de la hemoglobina de las unidades experimentales fueron registrados en formatos (Anexos 3, 12 y 20).

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 y dieta purificada estándar).

3.9 PROCEDIMIENTOS DE ANÁLISIS DE DATOS

Para comparar la diferencia de medias de las concentraciones de la hemoglobina de los grupos experimentales antes y después de la administración de las dietas purificadas se empleó la prueba T de Student para muestras relacionadas (diseño de estudio antes y después) e independientes (comparar dos tratamientos para determinar si son diferentes o no; concentraciones de hemoglobina después de la administración de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado y dieta purificada estándar). El *software* empleado para el análisis de datos fue el SPSS versión 22; para denotar las diferencias observadas como significativas se utilizó un nivel del cinco por ciento.

3.10 CONSIDERACIONES ÉTICAS

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.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CARACTERIZACIÓN DE LA LECHE

En los Cuadros 17 y 18, se muestran los resultados de los análisis fisicoquímicos y la composición proximal de la leche fresca de vaca.

Cuadro 17: Características fisicoquímicas de la leche de vaca

Análisis	Unidad	Resultado			
		1	2	3	Promedio
Color	-				Característico
Olor	-				Característico
Sabor	-				Característico
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

Cuadro 18: 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

Valores dentro del rango a lo reportado por la NTP 202.001 (2010) que señala que la densidad a 15 °C de la leche fresca debe estar en un rango de 1.029 a 1.034 g/ml, acidez 0.13 a 0.17 gramos 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 una temperatura de $37 \pm 1^\circ\text{C}$ de 5 horas, buena a regular calidad 2 a 4 horas y menor calidad menor a 2 horas (NTP 202.014:2004). Reyes, *et al.* (2009) indicaron un contenido de proteínas de 3.1 gramos, grasa total 3.5 gramos, carbohidratos disponibles 4.9 gramos y agua 87.8 gramos; todos estos componentes en 100 gramos de leche fresca de vaca, por lo tanto la leche fresca empleada fue adecuada para su procesamiento conforme los requisitos exigidos por la bibliografía en mención.

4.2 ESTANDARIZACIÓN DEL CONTENIDO GRASO EN LA LECHE

El yogurt elaborado empleando la leche fresca (3.4 por ciento de grasa) se estandarizó a 1.8 por ciento de grasa. Según la NTP 202.092 (2008) considera un yogurt parcialmente descremada cuando el contenido de la materia grasa láctea esté entre 0.6 a 2.9 por ciento; por lo que en la lista de alimentos saludables recomendados para su expendio en quioscos escolares en nuestro país están considerados los yogures parcialmente descremados con bajo contenido de azúcar, considerado bajo contenido de azúcar a 1 $\frac{1}{4}$ cucharadita ó 6.25 gramos por vaso de 250 ml para alimentos líquidos (MINSA, 2012), por ésta razón el yogurt elaborado en el presente estudio también fue parcialmente edulcorado empleando para tal fin la estevia en polvo con un contenido de 95 por ciento de glicósidos de esteviol (UMSA, 2012) (Anexo1), posee un alto poder edulcorante (250 a 300 veces más que la sacarosa), estable a altas temperaturas y pH ácido, no fermentable, no cariogénico, no aporta calorías y no afecta los niveles de la glucosa en la sangre (Lemus *et al.*, 2012 citado por Reyes, 2014).

4.3 ESTANDARIZACIÓN DEL EXTRACTO SECO TOTAL (EST)

La leche fresca parcialmente descremada con un contenido de sólidos totales de 10.34 por ciento y 8.54 por ciento de sólidos no grasos, se estandarizó con leche en polvo descremado (LPD), obteniéndose un yogurt fortificado con 15.8 por ciento de sólidos totales y 14.3 por ciento de sólidos no grasos (Cuadro 20); sobre ello la NTP 202.092

(2008) indica que los sólidos no grasos en un yogurt parcialmente descremado debe ser como mínimo 8.2 por ciento y la FAO (2013) señala que un yogurt debe contener un extracto seco total de 14 por ciento.

Según Puhan (1987) el contenido de sólidos no grasos en la leche no debe ser menor a 8 por ciento, siendo los métodos más empleados para incrementar los sólidos totales, la adición de leche entera en polvo o leche en polvo parcialmente descremada, concentración de la leche por evaporación, adición de leche descremada, etc.

4.4 FERMENTACIÓN

El resultado de la fermentación (43 °C por cinco horas) referente al pH y acidez fueron de 4.59 y 0.62 respectivamente, cuyos datos se muestran en el Cuadro 19; llevándose a cabo principalmente en este proceso la transformación del azúcar de la leche en ácido láctico con una notable disminución del pH del medio hasta valores que inhiben el crecimiento de los microorganismos patógenos y alterantes.

Cuadro 19: 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

Los valores del pH y acidez se encuentran dentro del rango establecido por la NTP 202.092 (2008) que indica que el yogurt debe presentar una acidez entre 0.6 a 1.5 gramos de ácido láctico en 100 gramos de alimento y un pH \leq 4.6; mientras que Codex Alimentarius (2011) menciona que debe ser como mínimo 0.6 por ciento de ácido láctico. Early (2000) indica que al disminuir el pH se desestabilizan las micelas, hasta llegar al punto isoeléctrico de las caseínas, en el que la micela desaparece por la desmineralización y la caseína precipita completamente debido a la pérdida de la acción protectora de Kappa. La fermentación láctica es producida por dos bacterias lácticas específicas y asociadas, siendo éstas el *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* (producción de aroma) y *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (producción de acidez) cuya relación varía desde 1:2 a 2:1 para yogurt natural, hasta 10:1 para yogurt frutado (Veisseyre, 1980 y Boudier, 1993);

éstos cultivos de microorganismos serán viables, activos y abundantes en el producto durante su vida útil (NTP 202.092:2008). Durante la fermentación, la lactosa es hidrolizada por las bacterias que poseen la enzima B-D galactosidasa hasta D-glucosa y B-D galactosa (Boudier, 1993).

4. 5 FORTIFICACIÓN

En cuanto al contenido en micronutrientes para la fortificación, se empleó la ingesta diaria recomendada para niños (as) en edad escolar por Otten *et al.* (2006) de 600 ug de retinol, 300 ug de folato, 8 mg de hierro y 8 mg de zinc por día de consumo; siendo la forma química de los fortificantes empleados: Vitamina A como palmitato (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), cada uno de los micronutrientes fue calculado en base a una ración de 215 gramos de yogurt, obteniéndose como resultado final lo mostrado en el Cuadro 20, cuyos valores de los micronutrientes se encuentran dentro de los requerimientos por el grupo etéreo.

Cuadro 20: 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
Energía total	Kcal	67.100

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, 105 mg de calcio, 0.67 mg de zinc, 0.05 mg de hierro, 12 ug de retinol y 0.53 mg de vitamina C, toda ésta 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 a lo reportado por Reyes *et al.* (2009), con una ligera a moderada variación en lo referente a cenizas, grasa láctea y humedad; siendo la mitad el contenido en carbohidratos (edulcorado con estevia en polvo) y nula la fibra cruda debido a que sólo se empleó un cinco por ciento de mermelada de piña.

4.6 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, 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 evitan la desnaturalización de proteínas; siendo la principal ventaja la calidad superior y la longevidad del producto (Ramírez, 2006), mientras que 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 composición del producto fortificado liofilizado se muestra en el cuadro 21.

Cuadro 21: 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

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 éstos no adiestrados a consumir yogurt en su forma natural.

4.7 DEPLECIÓN DE LA HEMOGLOBINA O INDUCCIÓN A ANEMIA

En la Figura 3 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.

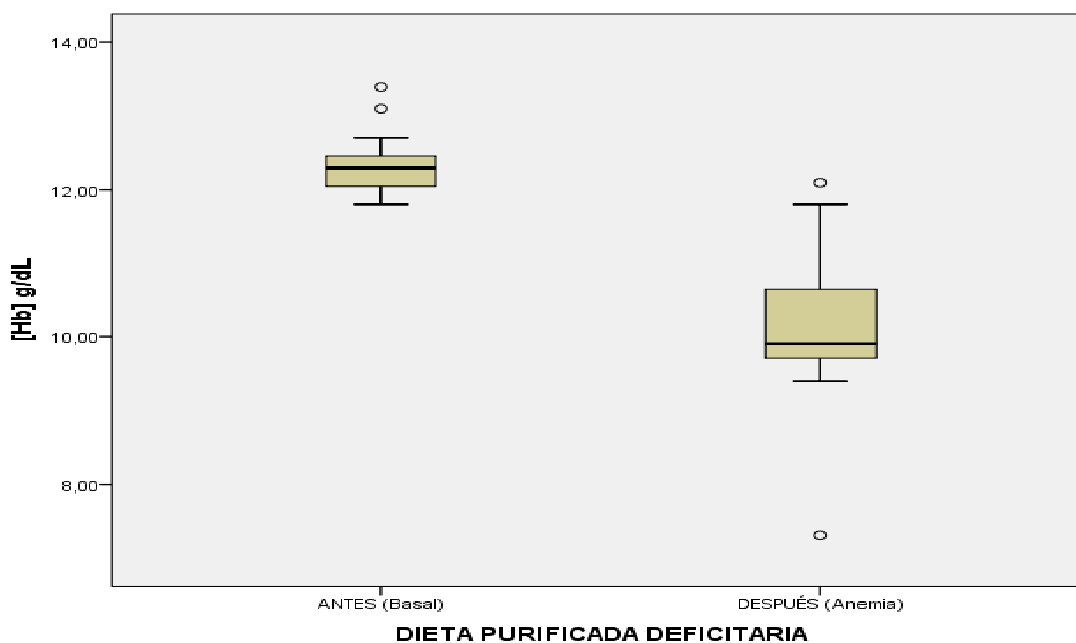


Figura 3: Concentración de la hemoglobina, antes (basal) y después de la dieta purificada deficitaria

Los resultados del Cuadro 22, 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).

Cuadro 22: Resultado de la prueba estadística comparativa 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)	12.353	15	0.4502	2.2200	7.395	0.000
Después (Anemia)	10.133	15	1.1715			

En la figura 4, se aprecia que los animales experimentales anémicos presentaron en promedio 10.1 g/dL de hemoglobina respecto al basal ($Hb = 12.4$), como efecto de la dieta purificada deficitaria en vitamina A, ácido fólico y hierro.

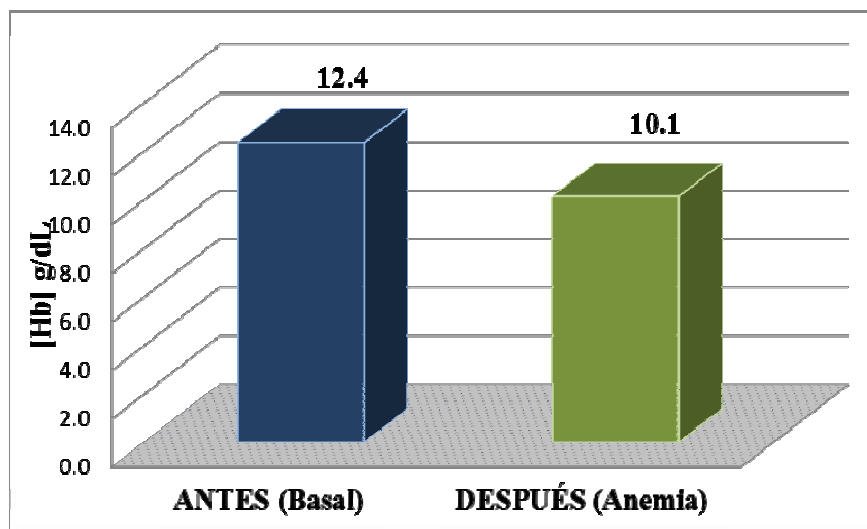


Figura 4: Promedio de la concentración de la hemoglobina, antes (basal) y después de la dieta purificada deficitaria

En el Anexo 3, se muestra los resultados de la concentración de la 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 12.31 gramos (rata 15) y máximo de 14.14 gramos (rata 5) (Anexo 34); en base al consumo controlado se obtuvo 10.1 g/dL de hemoglobina promedio respecto al basal (12.4 g/dL), siendo el valor máximo al final del periodo de inducción de 12.1 g/dL y mínimo de 7.3 g/dL (Anexo 3) y gráficamente se aprecia en la Figura 3; mientras que en el estudio realizado por García *et al.* (2013) la concentración promedio de hemoglobina va desde 12.73 a 8.73 antes y después de las ocho semanas de inducción a anemia.

Con respecto al peso corporal, al final del periodo de inducción con la dieta purificada deficitaria en vitamina A, ácido fólico y hierro se evidenció diferencia significativa (p -valor < 0.05) con un incremento significativo en el grupo (Anexo 10).

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 (12 ratas machos) respecto al punto de corte (anemia, hemoglobina menor a 11 g/dL), empleándose en la dieta sulfato férrico como fuente de

hierro, rovimix (A, B2 y D3) como fuente de vitamina A, ácido fólico y 10 por ciento de caseína (Cuadro 14), correspondiente al 1.2 por ciento de minerales y 1.5 por ciento de vitaminas respecto al requerimiento de la formulación de la dieta purificada estándar empleada por el Bioterio del Laboratorio de Evaluación Nutricional de la UNALM, 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 de hierro por kilogramo 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 fue el Holtzman machos de 27 a 28 días de vida (20 a 21 días de destete), siendo los animales en estudio con mayor tiempo de vida en comparación a los animales inducidos por otros autores (posterior al destete) siendo éstos últimos más vulnerables a caer anémicos por el suministro deficitario de micronutrientes que participan en la síntesis de la 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 de la 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 raza: 15 por ciento de proteínas, 35 mg de hierro, 0.7 mg de vitamina A (retinol) y 1 mg ácido fólico, todos por kilogramo de dieta (National Academy Press, 1995); a pesar de que en el estudio realizado por Campos *et al.* (1996) la dieta empleada haya sido a base de 20 por ciento de proteínas, 50 por ciento de sacarosa y 15 por ciento de almidón de maíz, se logró inducir a los animales a anemia en seis semanas.

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.

En el estudio, se consideró a los 15 animales para la fase de repleción, 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 3.

El código de Nuremberg y la declaración de Helsinki señalan que cualquier experimento hecho en seres humanos debe estar diseñado a partir de los resultados de investigación animal. Según Cardozo *et al.* (2007), los efectos biológicos se realizan en modelos animales experimentales por sus semejanzas anatómicas, fisiológicas, neurológicas, bioquímicas, farmacológicas y comportamiento; por ésta razón en el presente estudio se empleó el modelo animal en la que la calidad genética y ambiental ha sido controlada, cuyos efectos están basados en reacciones y comportamiento frente a un factor por parte de un organismo monogástrico; cuyos resultados servirán de base para diseñar posteriormente pruebas en seres humanos.

4.8 EFECTO DE LA VITAMINA A, ÁCIDO FÓLICO, HIERRO Y ZINC EN LA CONCENTRACIÓN DE LA HEMOGLOBINA EN RATAS HOLTZMAN MACHOS CON ANEMIA

4.8.1 REPLECIÓN DE LA HEMOGLOBINA MEDIANTE EL CONSUMO DE LA DIETA PURIFICADA ESTÁNDAR (CONTROL)

En la Figura 5, se representa gráficamente los resultados individuales; en la cual se aprecia el incremento de la concentración de la hemoglobina de los animales experimentales anémicos posterior al consumo de la dieta purificada estándar (14.3 a 15.4 g/dL, n = 5).

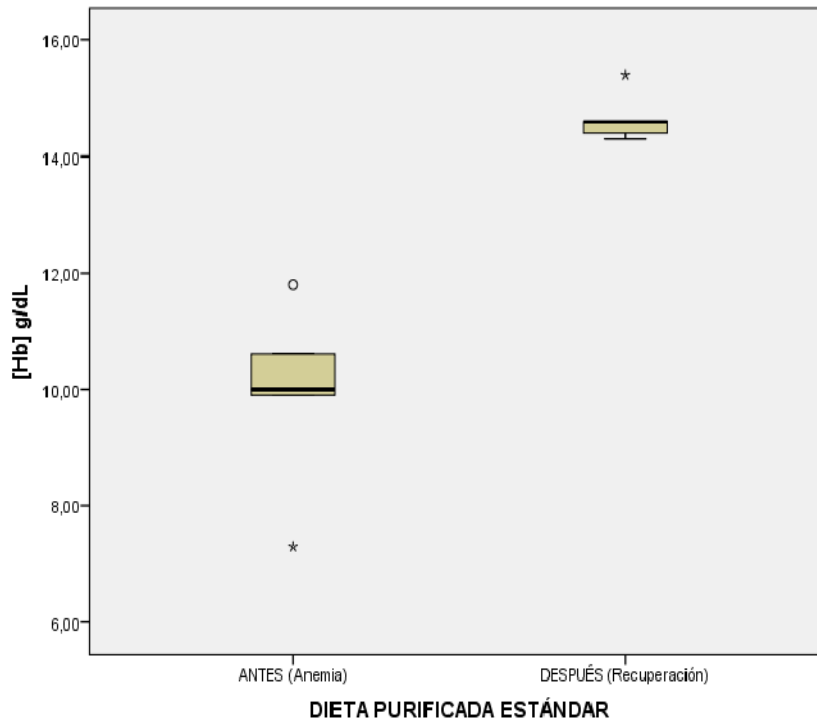


Figura 5: Concentración de la hemoglobina, antes y después del consumo de la dieta purificada estándar (control)

Los resultados del cuadro 23, 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 estándar (p-valor < 0.05).

Cuadro 23: Resultado de la prueba estadística comparativa de la hemoglobina, antes y después del consumo de la dieta purificada estándar (control)

Dieta purificada Estándar	Diferencias			Prueba T	P-valor	
	Hemoglobina promedio	N	Desviación estándar			
Después (Recuperación)	14.660	5	0.4336	4.7400	5.1455	0.0068
Antes (Anemia)	9.920	5	1.6483			

En la Figura 6, se aprecia la recuperación de la anemia de los animales experimentales (Hb promedio = 14.7 g/dL) con la dieta purificada estándar.

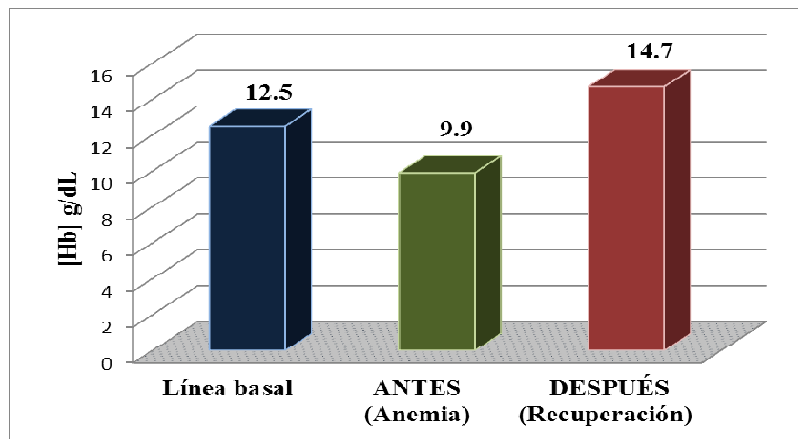


Figura 6: Promedio de la concentración de la hemoglobina basal, antes (anemia) y después del consumo de la dieta purificada estándar (control)

En el Anexo 12, se muestra los resultados de la concentración de la hemoglobina antes (anemia) y después de los 28 días de recibir la dieta purificada estándar, formulado de acuerdo a los requerimientos de la raza en crecimiento y empleada en experimentos por el Bioterio del Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos de la UNALM (Cuadro 15). Siendo la ración diaria controlada, con un suministro de 20 a 20.05 gramos diarios por cada animal experimental; con un consumo promedio mínimo de 14.04 gramos (C-4) y máximo de 18.85 gramos (C-5) (Anexo 37). En promedio la concentración de la hemoglobina se incrementó de 9.9 a 14.7 g/dL correspondiendo a antes (anemia) y después de los 28 días, respectivamente, observándose la recuperación de la anemia del 100 por ciento de los animales experimentales, por lo tanto la dieta empleada por el Bioterio es efectiva, siendo ésta utilizada en el presente trabajo como control a efectos de comparar con la efectividad del producto fortificado; la National Academies Press (1995) indica que un animal de laboratorio se encuentra en buen estado nutricional si consume una dieta equilibrada apropiada de acuerdo a sus requerimientos dietéticos, influyendo éste en su habilidad de alcanzar su potencial genético para el crecimiento, reproducción y longevidad.

Con respecto al peso corporal, al término del periodo tratamiento con la dieta purificada estándar se encontró diferencia significativa (p -valor < 0.05) con un incremento significativo

en el grupo (Anexo 19).

4.8.2 REPLECIÓN DE LA HEMOGLOBINA MEDIANTE EL CONSUMO DE LA DIETA PURIFICADA DEFICITARIA MÁS YOGURT FORTIFICADO

En la Figura 7, se representa gráficamente los resultados individuales; en la cual se aprecia 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 experimental, la cual consistió de 20 a 20.05 gramos de dieta suministrada por día, con un consumo promedio mínimo de 14.98 gramos (T-8) y máximo de 19.86 gramos (T-9) (Anexo 40); 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 Anexo 20, después de los 28 días de tratamiento; por lo tanto el yogurt fortificado con los cuatro micronutrientes presenta un efecto anti anémico.

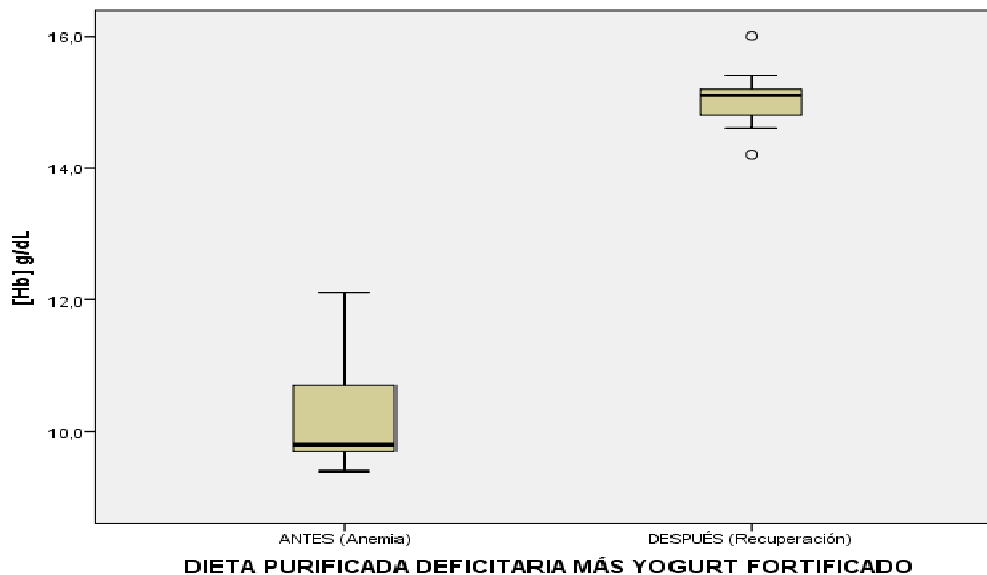


Figura 7: Concentración de la hemoglobina, antes (anemia) y después de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado

En la Figura 8, se aprecia la recuperación de la anemia de los animales experimentales con la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado; siendo este 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).

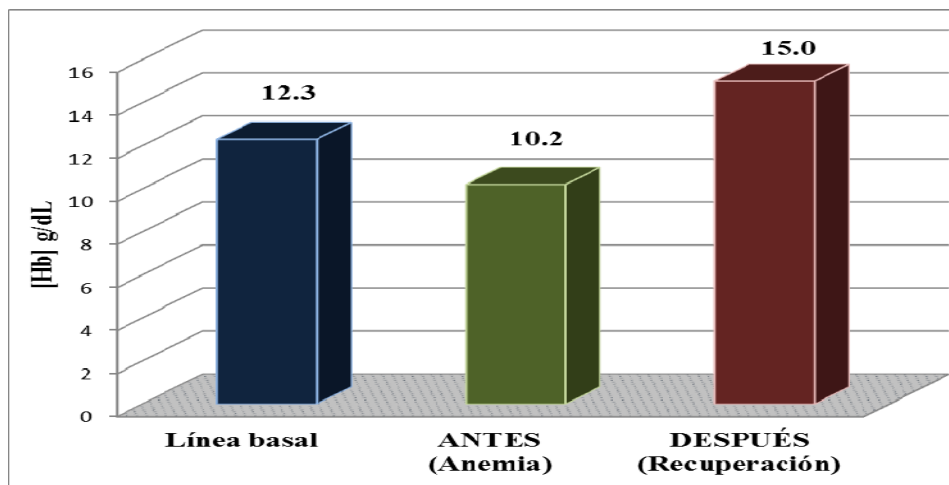


Figura 8: Promedio de la concentración de la hemoglobina basal, antes (anemia) y después (recuperación) del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado

Los resultados del Cuadro 24, 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).

Cuadro 24: Resultado de la prueba estadística comparativa 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			

Al culminar el periodo de tratamiento con la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado se obtuvo un incremento significativo del peso corporal, sin observarse diferencia significativa en el grupo (p -valor < 0.05) tal como se muestra en el Anexo 27.

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 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 porque las familias incluyen es su lonchera de sus hijos un aproximado de tres yogures a la semana (Benedetti *et al.*, 2013), incrementándose su producción nacional año tras año, siendo el año 2009 de 116.03 millones de kilogramos con un aumento de 15.5 por ciento respecto a la producción del año anterior (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; cabe destacar que la adición directa de la vitamina C al yogurt afecta la calidad debido a su acidez, por ello Kim *et al.* (2003) recomienda micro encapsular a ambos para su uso en los alimentos; por ello se empleó en el estudio al sulfato ferroso estabilizado con vitamina C y microencapsulado (la vitamina C, facilita la absorción del hierro al formar quelatos con hierro férrico a un pH ácido que permanece soluble al pH alcalino del duodeno), existen evidencias de que el hierro inorgánico se utiliza en la síntesis de 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), con una mayor absorción en

deficiencia del metal, anemias hemolíticas, etc., debido a que el hierro participa en la formación de los glóbulos rojos en la médula ósea, junto con cobalto, cobre, proteínas y vitaminas, cumpliendo un rol primordial en la formación de la hemoglobina con un 65 por ciento de participación, por lo que está vinculado al transporte de oxígeno de los pulmones a los tejidos, siendo esta una metaloenzima que trabaja como cofactor de las enzimas (Blanco, 2011); se empleó como vehículo en el presente estudio el yogurt ($\text{pH} \leq 4.6$) siendo uno de sus componentes el ácido láctico promovedor de la absorción del hierro.

Se empleó el ácido fólico por que fija el hierro a la hemoglobina y previene la anemia megaloblástica; un incremento en los reticulocitos ocurre cinco a siete días después de la ingestión de ácido fólico, con incremento de la hemoglobina (Hernández y Sastre, 1999; Melo y Cuamatzi, 2007), mientras 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); y está involucrada en la movilización del hierro desde el hígado, ya que el retinol y el ácido retinoico (formas activas de la vitamina A) son esenciales para la producción de la transferrina (proteína que transporta al hierro); mejorando su absorción en el intestino delgado (Quiroz, 2009; Devil, 2006; Castrillón y Serpa, 2013).

Se empleó el zinc como uno de los fortificantes, debido a que cumple un rol fundamental como parte del sistema inmunitario y es promovedor de la absorción de la vitamina A (Blanco, 2011; Piñeiro, 2014); siendo una de las manifestaciones clínicas de la anemia el incremento en el número de infecciones por alteración del sistema inmune (Secretaría de salud, 2003; Lozoff *et al.*, 1991 citado por Nemirovsky, 2010), también se ha establecido a partir de la administración de suplementos a poblaciones anémicas, que la vitamina A 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 éste efecto es mediado a través de la síntesis de transferrina y sus receptores, de ahí mejoran la movilización y el ingreso del hierro a los tejidos eritropoyéticos (Bowman y Russell, 2003; Quiroz, 2009).

El efecto del incremento de la hemoglobina ha sido demostrado en varios estudios tanto en animales experimentales como en humanos; entre ellos está, en los estudios reportados 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 hemoglobina

sérica (Hb promedio 13.53 g/dL) en ratas variedad albina con anemia; mientras que Kolsteren *et al.* (1999) citado por Bowman y Russell (2003), señalan que en las mujeres anémicas, la hemoglobina aumenta más cuando se le proporciona suplementos de hierro conjuntamente con la vitamina A y zinc.

Alfaro y Carvajal (2001) indican que las mujeres embarazadas que recibieron suplementos con hierro y vitamina A, la hemoglobina se incrementó de 10.8 a 14.7 g/dL, 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 poli micronutrientes juntos, mejoraron más en todas las pruebas sobre el desempeño neuropsicológico (Sandstead *et al.*, 1998; citado por Bowman y Russell, 2003) debido a que la función cognitiva incrementa al aumentar la concentración de hemoglobina con el tratamiento (Howard, 2005). Por otro lado, en los estudios sobre la fortificación de alimentos con hierro y vitamina A se encontraron efectos favorables en el estado nutricional del hierro en los niños pre escolares y mujeres embarazadas (Alfaro y Carvajal, 2001; Ortiz *et al.*, 2000 y Latham, 2002 citados por Papale, 2008); debido a que la vitamina A alimentaria (preformada o como provitamina A), incrementa la biodisponibilidad del hierro inorgánico al contrarrestar la inhibición debida al ácido fítico (Bowman y Russell, 2003).

4.8.3 COMPARACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE LA HEMOGLOBINA ENTRE EL CONSUMO DE LA DIETA PURIFICADA DEFICITARIA MÁS YOGURT FORTIFICADO Y ESTÁNDAR (CONTROL)

En la Figura 9, se representa gráficamente los resultados individuales; en la cual se aprecia el incremento de la concentración de la hemoglobina con la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado (14.2 a 16.0 g/dL, n = 10) y dieta purificada estándar (14.3 a 15.4 g/dL, n = 5)

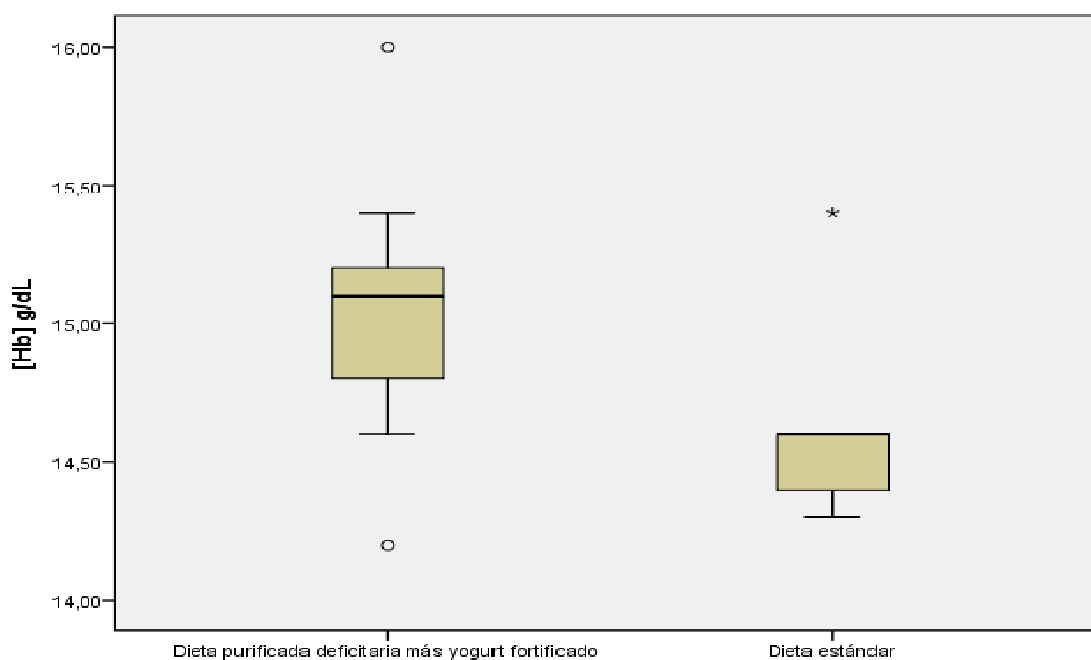


Figura 9: Concentración de la hemoglobina, después del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado & dieta purificada estándar

Los resultados del Cuadro 25, nos indica que no hay suficiente evidencia estadística para afirmar que hubo diferencia significativa entre el promedio de la concentración de la hemoglobina con la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado respecto a la dieta purificada estándar (p-valor > 0.05).

Cuadro 25: Resultado de la prueba estadística comparativa de la hemoglobina, después del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado y dieta purificada estándar (control)

Dieta	N	Hemoglobina promedio	Desviación estándar	Diferencias de	
				medias independientes	Prueba T P-valor
Purificada deficitaria más yogurt fortificado	10	15.04	0.486	0.154	1.475 0.164
Purificada estándar	5	14.66	0.434	0.194	

En la Figura 10, se aprecia una distribución proporcional similar en la concentración de la hemoglobina en los animales experimentales sin anemia (recuperación) con ambas dietas.

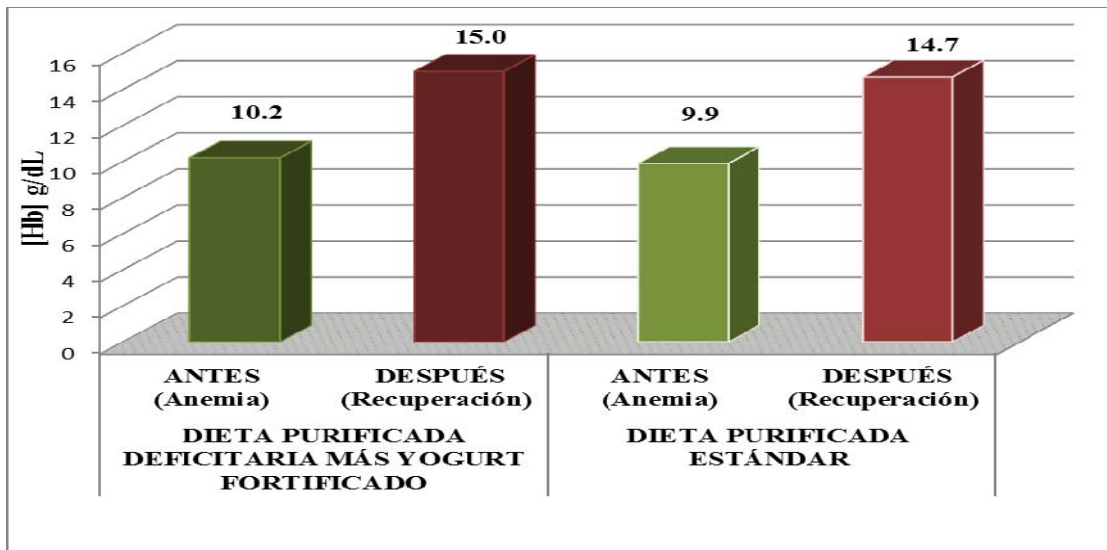


Figura 10: Promedio de la concentración de la hemoglobina, después del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado & dieta purificada estándar

Al término del periodo de tratamiento no se encontró diferencia significativa del peso corporal entre el grupo que consumió la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado y la dieta purificada estándar (p -valor > 0.05) tal y como se muestra en el Anexo 31.

V. CONCLUSIONES

- La dieta purificada deficitaria (1.5 por ciento de vitamina A y ácido fólico, 1.2 por ciento de sulfato férrico, de la formulación de la dieta purificada estándar), 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).
- La dieta purificada estándar (control) empleada en el Bioterio de la UNALM, fue efectiva sobre la anemia (Hb promedio 9.9 g/dL), sustentado por el incremento en la concentración de la hemoglobina (Hb promedio: 14.7 g/dL).
- El tratamiento con 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 alimento; tuvo un efecto anti anémico, basada en la concentración de la hemoglobina (Hb promedio: 15.04 g/dL).
- No se encontró diferencia significativa en la concentración de la hemoglobina en los animales experimentales que consumieron la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado respecto al grupo que consumió la dieta purificada estándar (control) (p -valor > 0.05), basada en el incremento de la concentración de la hemoglobina; siendo ambas dietas efectivas en la recuperación de la anemia.

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 antianémico demostrado en un modelo animal.
- Realizar una evaluación económica financiera que demuestre la factibilidad de la producción comercial del yogurt fortificado con vitamina A, ácido fólico, hierro y zinc.
- 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

- Alcázar, L. 2012. Impacto económico de la anemia en el Perú. Lima: GRADE; acción contra el hambre. Perú. 84 p.
- 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).
- 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.
- Arredondo, M; Le Blanc, S; Silva, C; Pizarro, F. 2005. Interacciones negativas entre hierro, cobre y zinc. INTA. Chile.
- Benedetti, MP; Salas, J; Merino, M; Cussianovich, LF. 2013. Consultado el 11 jun. 2014. Disponible http://prezi.com/tazh8-_dpeej/lonchera-escolar-yogures/
- Benjamín, MM. 1984. Manual de patología clínica en veterinaria. Editorial Limusa. 1 ed. México.
- Blanco, T. 2011. Alimentación y nutrición. Fundamentos y nuevos criterios. 1 ed. Perú.
- Boccio, J; Monteiro, J. 2004. Fortificación de alimentos con hierro y zinc: pros y contras desde un punto de vista alimenticio y nutricional. Rev. Nutr. 17 (1).
- 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.

- Boudier, J. 1993. Leche y productos frescos. Editorial Acribia. Zaragoza – España.
- Bowman, BA y Russell, RM. 2003. Conocimientos actuales sobre nutrición. 8 ed. Washington, EUA.
- Campos, MS; Pallares, DI; Moratalla, A; López-Aliaga, I; Gómez-Ayala, AE; Hartiti, S. 1996. Bioavailability of Fe, Ca, P and Mg in Fe deficient rats treated with different sources of dietary iron. Nutr Res. 16(4): 683-96.
- 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.
- 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.
- Codex Alimentarius. 2011. Leche y productos lácteos. FAO y OMS. Roma. 2 ed. Consultado 2 set. 2013. Disponible <http://www.fao.org/docrep/015/i2085s/i2085s00.pdf>
- Codex Alimentarius. 1997. Guidelines for Use of Nutrition Claims. CAC/GL 23.
- 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.
- 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.
- Charm Sciences INC. 2014. Consultado 28 jun. 2014. Disponible <http://www.charm.com/>.

- Charm, SE. 1981. The Fundamentals of Food Engineering. 3 ed. 660 p.
- Del Pozo, S; Ávila, JM; Cuadrado, C; Ruiz, E; Moreiras, O. 2010. Fundación Española de la Nutrición: Evaluación del consumo de alimentos enriquecidos/fortificados en España a través del Panel de Consumo Alimentario. España. 103 p.
- Devil, T. 2006. Bioquímica: libro de texto aplicaciones clínicas. España: Reverte, S.A.
- 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>
- Duarte, TR; Carvalho, SM; Sgarbieri, VC. 1999. Bovine Blood components: Fractionation, Composition, and Nutritive value. J Agric Food Chem. 47 (1): 231-6.
- Early, R. 2000. Tecnología de productos lácteos. Editorial Acribia S.A. Zaragoza-España.
- 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>
- ENDES (Encuesta Demográfica y de Salud Familiar, PE). 2013. Perú. Consultado 8 jun. 2014. Disponible <http://proyectos.inei.gob.pe/web/biblioineipub/bancopub/Est/Lib1075/index.html>
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, RO). 2014. Micronutrientes. Roma. Consultado 17 jul. 2014. Disponible <http://www.fao.org/docrep/006/w0073s/w0073s10.htm>
- 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>

- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, RO). 2012. Procesamiento y fortificación de los alimentos. Roma. Consultado 20 oct. 2013. Disponible <http://www.fao.org/docrep/006/w0073s/w0073s10.htm>
- Fellows, P. 2000. Food Processing Technology: Principles and Practice. 2 ed.
- 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.
- 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.
- 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.
- [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.](#)
- [García, Y; González, R; Cárdenas, R; Carmona, A. 2010. Desarrollo de un biomodelo de ratas anémicas mediante dos tipos de dieta de caseína. Rev. Cub. Aliment. Nutr. 20\(1\): 26-34.](#)
- 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.
- Grandy, G; Weisstaub, G; López, D. 2010. Deficiencia de hierro y zinc en niños. Rev.

Soc. Bol. Ped. 49 (1): 25-31.

- 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
- Hallberg, L.1998. Does calcium interfere with iron absorption. Am. J. Clin. Nutr. v. 3, 68 p.
- Hernández, M. y Sastre, A. 1999. Tratado de Nutrición. Ediciones Díaz de Santos, S.A. Madrid.
- Howard, MD. 2005. Nutrition and Student Performance at School. Journal of School Health. California. 75 (6): 199-213
- INS (Instituto Nacional de Salud, PE). 2013. Anemia afecta el aprendizaje de escolares. Consultado 20 may. 2014. Disponible www.ins.gob.pe/portal/noticias/noticia/0/894/anemia-afecta-el-aprendizaje-de-escolares-advierten-especialistas
- Kaneko, JJ. 1989. Clinical biochemistry of domestic animals. Academic Press Inc. 894 p.
- Kim, SJ; Ahn, J; Seok, JS; Kwak, HS. 2003. Microencapsulated Iron for Drink Yogurt Fortification. Asian Australasian Journal of Animal Science. 16 (4). Korea.
- Lage Comercial S.A.C. 2012. Pre-mezclas vitamínicas e insumos para la industria alimentaria. Perú.
- [LipoTech. 2014. Especificación de Sulfato ferroso estabilizado con vitamina C y micro encapsulado. Argentina.](#)
- 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.

- Melo, V; Cuamatzi, O. 2007. Bioquímica de los Procesos Metabólicos. 2 ed. Editorial Reverté, S.A. México. 406 p.
- MINAG (Ministerio de Agricultura, PE). 2009. Consultado 11 jun. 2014. Disponible http://www.infolactea.com/p_informacion.php.
- 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.
- 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.
- Muñoz, AM. 1990. Alimentación y Nutrición. Perú. 1 ed.
- Murray, RK; Granner, DK; Mayes, PA; Rodwell, VW. 1994. Bioquímica de Harper. 13 ed. México. El Manual Moderno. 961 p.
- National Academy Press. 1995. Nutrient Requirements of Laboratory Animals. Washington, D.C.
- 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.
- Olivares, M; Pizarro, F; Ruz, M. 2005. Inhibición de la absorción de hierro por el zinc: Efecto de dosis fisiológico y Farmacológicos. INTA. Chile.
- OPS (Organización Panamericana de la Salud, WA). 2002. Compuestos de hierro para la

fortificación de alimentos. Guía para América latina y el Caribe. Washington.

- 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.
- Padilla, A. 2011. El rol de los lácteos en las nuevas tendencias del retail. Chile. Zenith International.
- Palafox, GM. 2003. Vitamin A deficiency, iron deficiency, and anemia among preschool children in the republic of the Marschall Islands. Nutrition. 19(5): 405-408.
- 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.
- 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.
- Paredes, G y Bolaños, R. 2009. Biodisponibilidad del zinc. Rev. Perú. Pediatr. 62 (2).
- Penland, JG. 2000. Behavioral data and methodology issues in studies of zinc nutrition in humans. Journal of Nutrition. p. 361-64.
- Piñeiro, R. 2014. Micronutrientes y desarrollo cognitivo. Cuba. Consultado 15 jun. 2014. Disponible portal.oas.org/.../Pineiro,%20nutricion%20desarrollo%20cognitivo.ppt.
- 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).
- Programa Nacional de Alimentación Escolar QALI WARMA (MIDIS). 2013. Perú. Consultado 18 jun. 2014. Disponible <http://www.qaliwarma.gob.pe/>.
- Puhan, Z. 1987. Treatment of milk prior fermentation. Bolletin of the IDF 227. Dinamarca.
- 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.

- Ramírez, JS. 2006. Liofilización de alimentos. Colombia. *ReCiTeIA* 6(2): 36 p.
- Ramírez, JS y Cañizares, J. 2003. Deshidratación de la papa mediante liofilización atmosférica. Universidad Central del Ecuador, Escuela de Ingeniería Química. Ecuador.
- 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-foncodess-y-el-programa-de-alimentacion-escolar-del-pronaa.pdf>.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Salinas, W; Valenzuela, R; Valdivia, SS; Blitchtein, D; Flores, ME; Lino, J; Cuevas, C; Munayco, C; Sachún, M; Campos, J. 2011. Lineamientos de gestión de la estrategia sanitaria de alimentación y nutrición saludable. Documento técnico. Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud. Perú. 54p.

- 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>
- Soemantri, AG; Pollit, E; Kim, I. 1985. Iron Deficiency Anemia and Educational Achievement. American Journal of Clinical Nutrition. 42 (6): 1221-1228.
- 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).
- UMC (Unidad de medición de la calidad educativa, PE). 2013. Evaluación Censal de Estudiantes (ECE 2013). Ministerio de educación. Consultado 16 feb. 2014. Disponible <http://umc.minedu.gob.pe/?p=1405>.
- 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.
- Veisseyre, R. 1980. Lactología técnica. Editorial Acribia. 3 ed. España.
- Wedner, S. y Ross, D. 2008. Vitamin A deficiency and its prevention. International Encyclopedia of Public Health. 532 p.
- West, DW. 1986. Structure and function of the phosphopyrilated residues of casein. J. Dairy Sci. 53: 333-352.
- Whittaker, P. 1998. Iron and zinc interactions in humans. Am. J. Clin. Nutr. 68(2): 442-446.
- WHO (Organización Mundial de la Salud, GI). 2014. Deficiencias de micronutrientes. Consultado 13 jul. 2014. Disponible <http://www.who.int/nutrition/topics/ida/en/>

- 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.
- 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

VIII. ANEXOS

ANEXO 1: Certificados de análisis de los micronutrientes empleados, estevia y yogurt fortificado



LipoTech s.a.

Domicilio Legal y Administración:
 Av. Santa Fe N° 5355, Piso 2° Dto A
 C1425BC Capital Federal, ARGENTINA
 Tel: (+54 11) 4773 3930
 Fax: (+54 11) 4777 0245

Bio-Zn A.A.S.®

Laboratorio y Planta Industrial:
 Alberti N° 1751 - La Tablada, B1706OH
 Pto. de Buenos Aires, ARGENTINA
 Tel/Fax: (+54 11) 4699 7182 / 6509

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 ± 1,0 (5,5 a 7,5)
ZINC	Como zinc (% p/p): 10,5 ± 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.


 LIPOTECH S.A.
 Ux. EDGARDO HAGER
 DIRECTOR

CERTIFICADO DE ANÁLISIS

N°: 3012

Producto: **Bio-Zn A.A.S.®**
Código: 230
Lote N°: 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
 BIOC. M. P. 6408
 JEFA 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): 6.60 ± 0.30 (6.30 to 6.90)
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

- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • 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.


 Lic. EDGARDO HAGER
 DIRECTOR

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

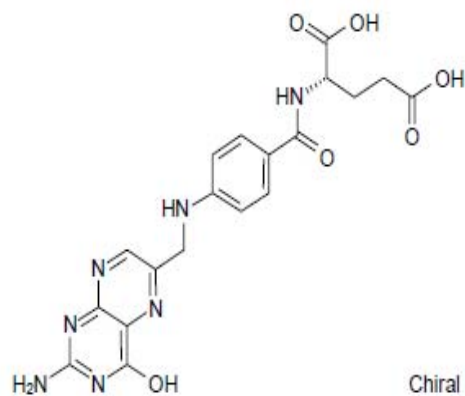
Synonyms: pteroylglutamic acid (PGA); vitamin B₉; folacin

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%



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.

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

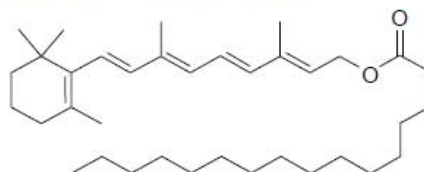
Synonyms: retinyl palmitate; all-*trans*-vitamin A palmitate; vitamin A palmitate

CAS No.: 79-81-2

EINECS No.: 201-228-5

Empirical formula: C₃₆H₆₀O₂

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 2 de 5

Página 1 de 5

INFORME DE ANALISIS

Parámetro	Muestra	Valores según NB	Método de ensayo
	Stevie-Linea Dorada	NB 37013	
1. Empresa:	MAJOTA.		NB 37017
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-Linea Dorada. En frascos de 20 g.		
5. Resultados:			

Requisitos organolépticos

Parámetro	Muestra	Valores según NB	Método de ensayo
	Stevie-Linea 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-Linea 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

Requisitos microbiológicos

Parámetro	Muestra	Valores según NB 37013	Método de ensayo
Parámetro	Muestra	Valores según NB 37013	Método de ensayo
Recuento total de microorganismos aerobios mesófilos	Stevie-Linea Dorada	Menor a 10 ⁶ ufc/g	NB 37017
Glicósidos de esteviol (%)	95	Mínimo permitido 95 %	NB 32005
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

stevia en polvo - Requisitos de identificación y pureza para los aditivos alimentarios.

En cuanto se informa para fines correspondientes.

Dr. Yedy Flores
Analista

Analista

Dr. Luis Gabriel Canavari
Jefe de Lab. Serv. Análisis



Requisitos microbiológicos

Parámetro	Muestra Stevie-Linea Dorada	Valores según NB 37013	Método de Ensayo
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 1×10^2 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. Yanny Flores
Analista

Lic. Marcela Velgarejo
Analista

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

Muestra: Industrias MENDITA Stevie Linea Dorada. Iglicósidos de stevia
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. B 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	9,34
2 - Cenizas (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 - Grasa (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 Grasa	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 LABORATORIOS:

- 1.- Por Diferencia MS-INN Collazos 1993
- 2.- AOAC 945.46 Cap. 33 Ed. 19 Pág. 10 2012
- 3.- Por Cálculo MS-INN Collazos 1993
- 4.- FIL-IDF 116A 1987
- 5.- FIL-IDF 151 1991
- 6.- NTP 202.119 1998
- 7.- Por Cálculo MS-INN Collazos 1993
- 8.- Por Cálculo MS-INN Collazos 1993
- 9.- Por Cálculo MS-INN Collazos 1993
- 10.- NTP 205.003 (Revisada el 2011) 1980

CONTINÚA INFORME DE ENSAYOS N° 006310-2014

Pág 1/2

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA



Av. La Universidad 595 La Molina Lima - Perú
 Telefaxes: (511) 3495640 - 3492507 - 3495794 - 3492191
 E-mail: calitot@infonegocio.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 muestreo, las condiciones de muestreo, 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, 29 de Agosto del 2014



LA MOLINA CALIDAD TOTAL LABORATORIOS
M. Sc. Jorge Chávez Pérez
Ingeniero Técnico
DIP N° 2503



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA



Av. La Universidad 595 La Molina Lima - Perú
Telefaxes: (511) 3495640 - 3492507 - 3495794 - 3492191
E-mail: calitot@infonegocio.net.pe / mktg@lamolina.edu.pe
Página Web: www.lamolina.edu.pe/calidadtotal

Pág. 2/2



Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C.

JR. ALMIRANTE GUISSÉ N° 2580 - 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 liquido denso / Refrigerado
PRESENTACIÓN : Botella de plastico cerrado con tapa, sin litografiar
CANTIDAD DE MUESTRA : 1000 Mililitros
CANTIDAD DE MUESTRA DIRIMENTE : Ninguna (A solicitud del cliente)

Servicio	Vía / Resultado
(*) Acido Folico (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 MÉTODOS INDICADOS NO HAN SIDO ACREDITADOS POR INDECOPI-SNA

MÉTODOS

(*) Acido Folico : AOAC 944.12 (2005) Cap. 45 Ed. XVIII 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, 1916, Ed. (2012); Vitamina 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 nuestro laboratorio. Válido únicamente para la muestra proporcional. Queda absolutamente prohibida toda reproducción parcial del presente informe sin la autorización escrita de SAT S.A.C. Este documento es válido solo en original.

QUIM. CLAYDE HUAPAYA HERRERA
JEFE DIVISION TÉCNICA
C.Q.P. N° 296



ANEXO 3: Peso corporal y concentración de la hemoglobina en ratas albinas de la raza Holtzman, antes y después del consumo de la dieta purificada deficitaria

Código (Ratas)	Peso corporal (g)		Concentración de la hemoglobina (g/dL)	
	Basal	Anemia	Basal	Anemia
1	74.0	173.5	12.3	11.8
2	76.0	174.0	12.0	9.6
3	67.5	187.0	12.4	7.3
4	71.0	162.0	13.1	12.1
5	80.0	187.0	11.8	9.7
6	71.5	154.0	12.7	9.8
7	71.0	161.0	12.5	10.7
8	80.0	180.0	11.8	9.9
9	59.0	165.5	12.1	9.4
10	66.0	153.0	11.9	10.0
11	66.5	165.0	12.4	9.8
12	76.0	173.0	12.2	11.7
13	56.5	158.0	13.4	9.9
14	62.5	165.0	12.4	10.6
15	77.0	163.5	12.3	9.7

FUENTE: Resultados experimentales (setiembre a octubre, 2014)

ANEXO 4: Resultado de la estadística de la hemoglobina, antes (basal) y después (anemia) del consumo de la dieta purificada deficitaria

Dieta purificada deficitaria	Media	N	Desviación	Media de error
			estándar	estándar
Hb Basal	12.353	15	0.450	0.116
Hb Anemia	10.133	15	1.172	0.303

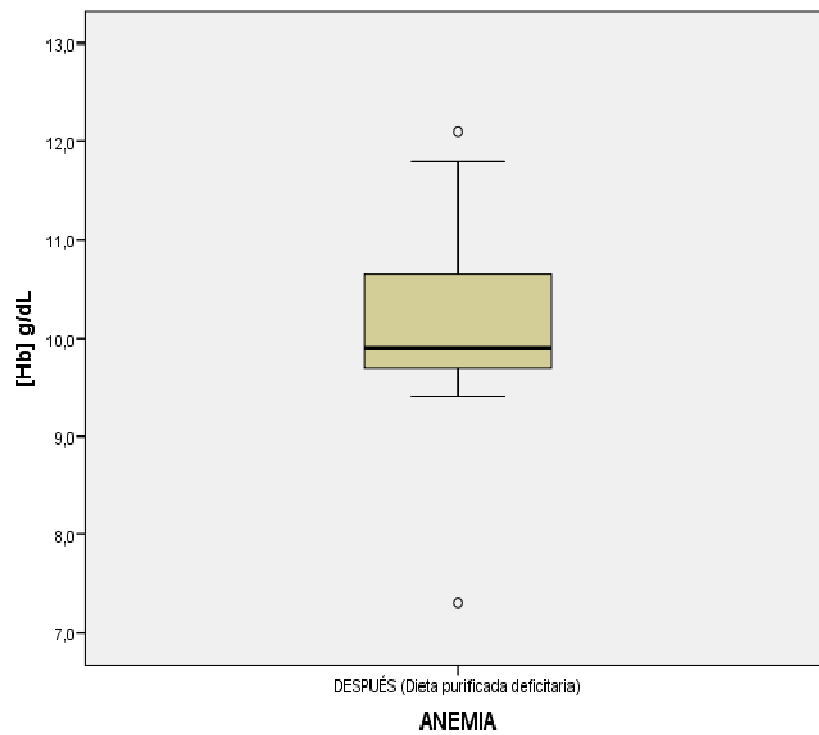
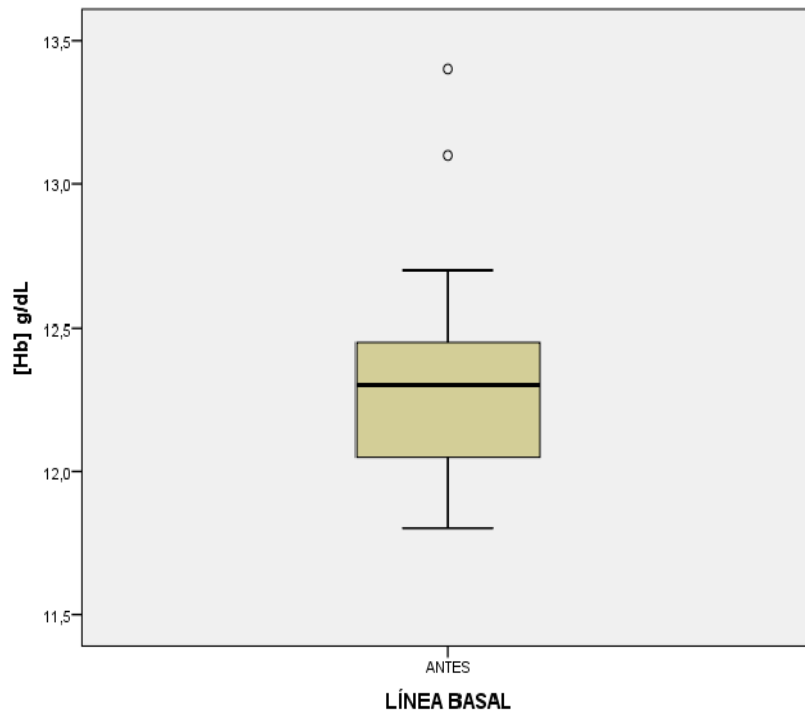
ANEXO 5: Resultado de la correlación de la hemoglobina, antes (basal) y después (anemia) del consumo de la dieta purificada deficitaria

Dieta purificada deficitaria	N	Correlación	Sig.
Hb Basal & Hb Anemia	15	0.212	0.449

ANEXO 6: Resultado de la prueba estadística comparativa de la hemoglobina, antes (basal) y después (anemia) del consumo de la dieta purificada deficitaria

Diferencias emparejadas								
Dieta purificada deficitaria	Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia		T	gl	Sig. (bilateral)
				Inferior	Superior			
Hb Basal - Hb Anemia	2.220	1.163	0.300	1.576	2.864	7.395	14	0.000

ANEXO 7: Representación gráfica de la concentración de la hemoglobina, antes (basal) y después (anemia) del consumo de la dieta purificada deficitaria



ANEXO 8: Resultado de la estadística del peso corporal, antes y después del consumo de la dieta purificada deficitaria

Dieta purificada deficitaria	Dieta purificada deficitaria		Desviación estándar	Media de error estándar
	Media	N		
Peso Después	168.100	15	10.716	2.767
Peso Antes	70.300	15	7.240	1.869

ANEXO 9: Resultado de la correlación del peso corporal, antes y después del consumo de la dieta purificada deficitaria

Dieta purificada deficitaria	N	Correlación	Sig.
Peso (g) Después & Peso (g) Antes	15	0.497	0.059

ANEXO 10: Resultado de la prueba estadística comparativa del peso corporal, después (anemia) y antes (basal) del consumo de la dieta purificada deficitaria

Dieta purificada deficitaria	Diferencias emparejadas						T	gl	Sig. (bilateral)
	Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia					
				Inferior	Superior				
Peso (g) Después – Peso (g) Antes	97.800	9.492	2.451	92.543	103.057	39.905	14	0.000	

ANEXO 12: Resultado del peso corporal y concentración de la hemoglobina en ratas albinas de la raza Holtzman; basal, anemia y después del consumo de la dieta purificada estándar (control)

Código (ratas)	Peso corporal (g)			Concentración de la hemoglobina (g/dL)		
	Basal	Anemia	Recuperación	Basal	Anemia	Recuperación
C-1	67.5	187.0	279.0	12.4	7.3	15.4
C-2	74.0	173.5	265.5	12.3	11.8	14.4
C-3	56.5	158.0	253.0	13.4	9.9	14.6
C-4	62.5	165.0	208.0	12.4	10.6	14.3
C-5	66.0	153.0	252.0	11.9	10.0	14.6
Promedio	65.3	167.3	251.5	12.5	9.9	14.7

FUENTE: Resultados experimentales (setiembre a noviembre 2014)

Sexo (M), edad al iniciar el experimento (27 a 28 días de vida), edad al culminar la inducción (63 a 64 días de vida), edad al finalizar el experimento (92 a 93 días de vida).

ANEXO 13: Resultado de la estadística de la concentración de la hemoglobina, antes (anemia) y después del consumo de la dieta purificada estándar (control)

Dieta purificada estándar	Media	N	Desviación	Media de error
			estándar	estándar
[Hb] Después	14.660	5	0.434	0.194
[Hb] Antes	9.920	5	1.648	0.737

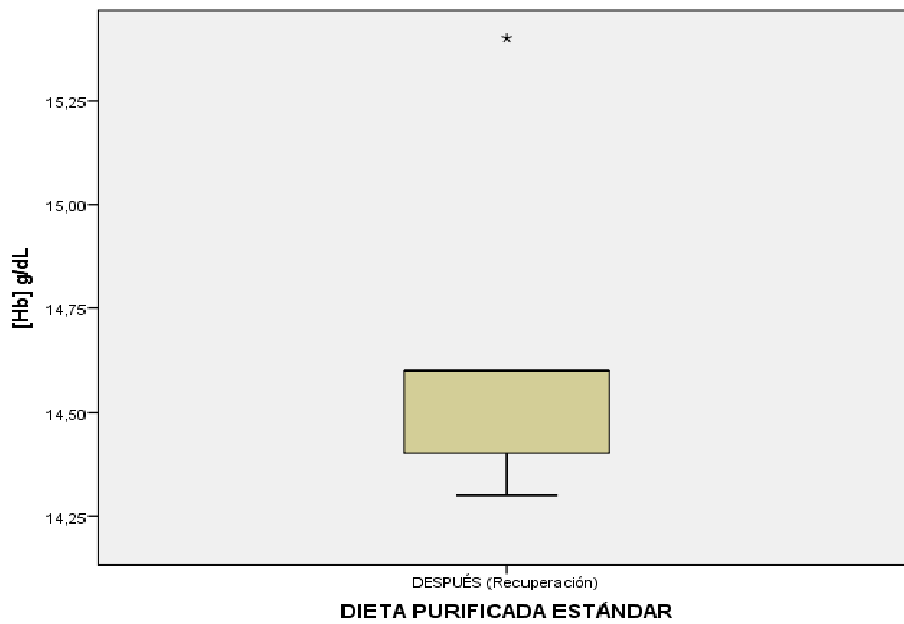
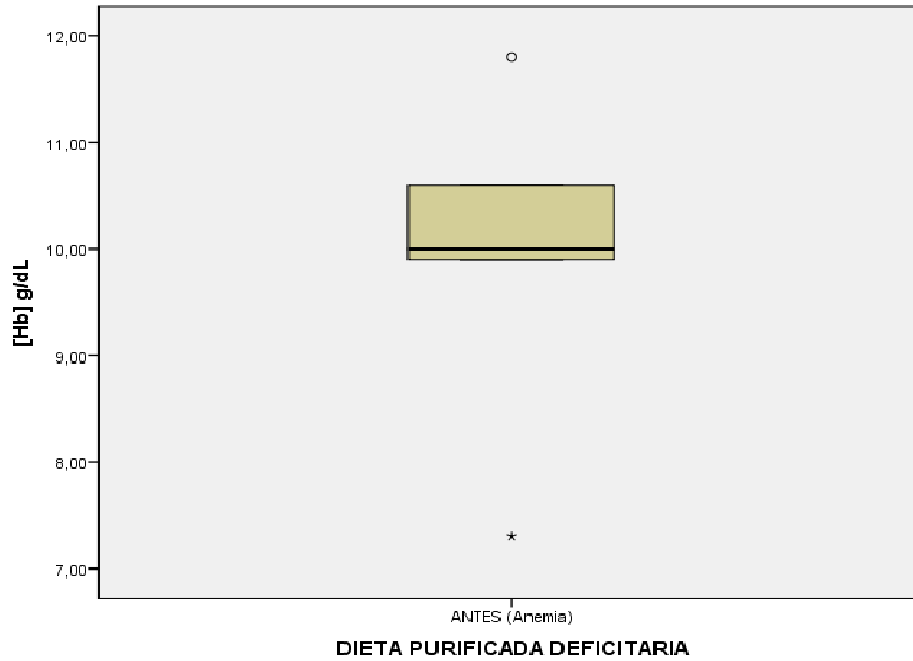
ANEXO 14: Resultado de la correlación de la hemoglobina, antes (anemia) y después del consumo de la dieta purificada estándar (control)

Dieta purificada estándar	N	Correlación	Sig.
[Hb] Después & [Hb] Antes	5	0.936	0.019

ANEXO 15: Resultado de la prueba estadística comparativa del peso corporal, antes (anemia) y después del consumo de la dieta purificada estándar (control)

Diferencias emparejadas								
Dieta purificada estándar	Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia		T	gl	Sig. (bilateral)
				Inferior	Superior			
[Hb] Después - [Hb] Antes	4.740	2.059	0.921	2.182	7.298	5.146	4	0.006766

ANEXO 16: Representación gráfica de la concentración de la hemoglobina, antes (anemia) y después del consumo de la dieta purificada estándar (control)



ANEXO 17: Resultado de la estadística del peso corporal, antes (anemia) y después del consumo de la dieta purificada estándar (control)

Dieta purificada estándar			Desviación estándar	Media de error estándar
	Media	N		
Peso (g) Después	251.500	5	26.679	11.931
Peso (g) Antes	167.300	5	13.443	6.012

ANEXO 18: Resultado de la correlación del peso corporal, antes (anemia) y después del consumo de la dieta purificada estándar (control)

Dieta purificada estándar	N	Correlación	Sig.
Peso (g) Después & Peso (g) Antes	5	0.493	0.399

ANEXO 19: Resultado de la prueba estadística comparativa del peso corporal, antes (anemia) y después del consumo de la dieta purificada estándar (control)

Dieta purificada estándar	Diferencias emparejadas						T	gl	Sig. (bilateral)
	Media	Desviación estándar	de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia					
				Inferior	Superior				
Peso (g) Después - Peso (g) Antes	84.200	23.209	10.379	55.381	113.019	8.112	4	0.001	

ANEXO 20: Resultado del peso corporal y 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)	Peso corporal (g)			Concentración de la hemoglobina (g/dL)		
	Basal	Anemia	Recuperación	Basal	Anemia	Recuperación
T-1	59.0	165.5	279.5	12.1	9.4	15.2
T-2	71.0	162.0	259.0	13.1	12.1	14.8
T-3	71.0	161.0	282.5	12.5	10.7	14.2
T-4	71.5	154.0	272.0	12.7	9.8	15.1
T-5	80.0	180.0	290.5	11.8	9.9	14.8
T-6	66.5	165.0	269.0	12.4	9.8	14.6
T-7	76.0	174.0	276.0	12.0	9.6	16.0
T-8	77.0	163.5	238.5	12.3	9.7	15.4
T-9	80.0	187.0	295.5	11.8	9.7	15.2
T-10	76.0	173.0	258.0	12.2	11.7	15.1
Promedio	69.8	168.5	272.05	12.2	10.1	15.0

FUENTE: Resultados experimentales (setiembre a noviembre 2014)

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

Dieta deficitaria más yogurt fortificado	Media		N	Desviación estándar	Media de error estándar
	Media	Desviación estándar			
[Hb] Después	15.040	0.486	10	0.486	0.154
[Hb] Antes	10.240	0.943	10	0.943	0.298

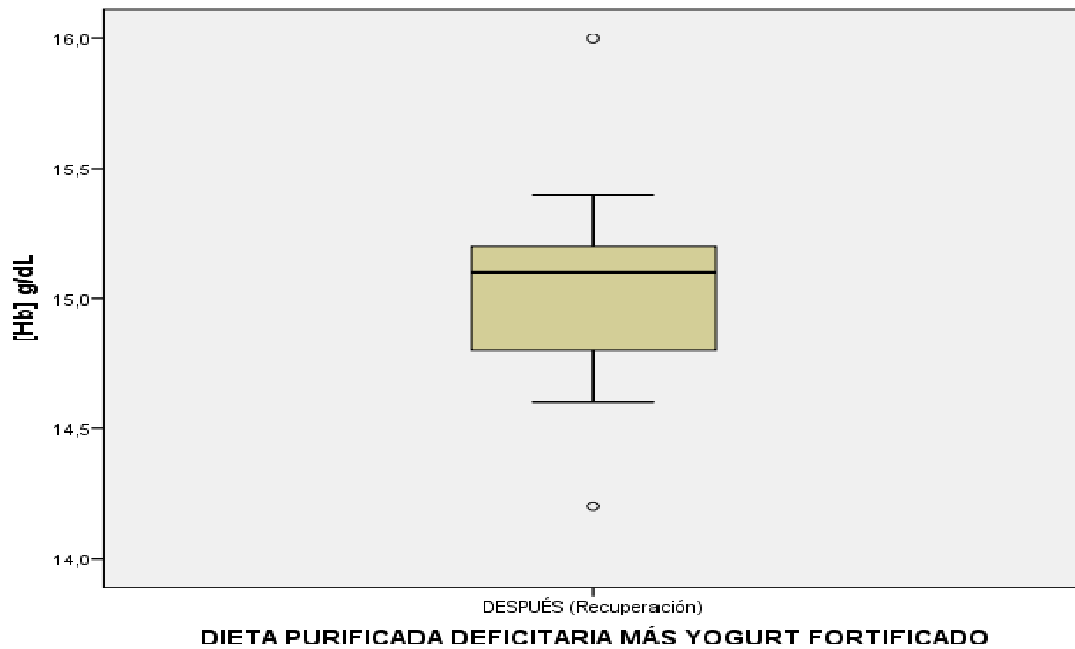
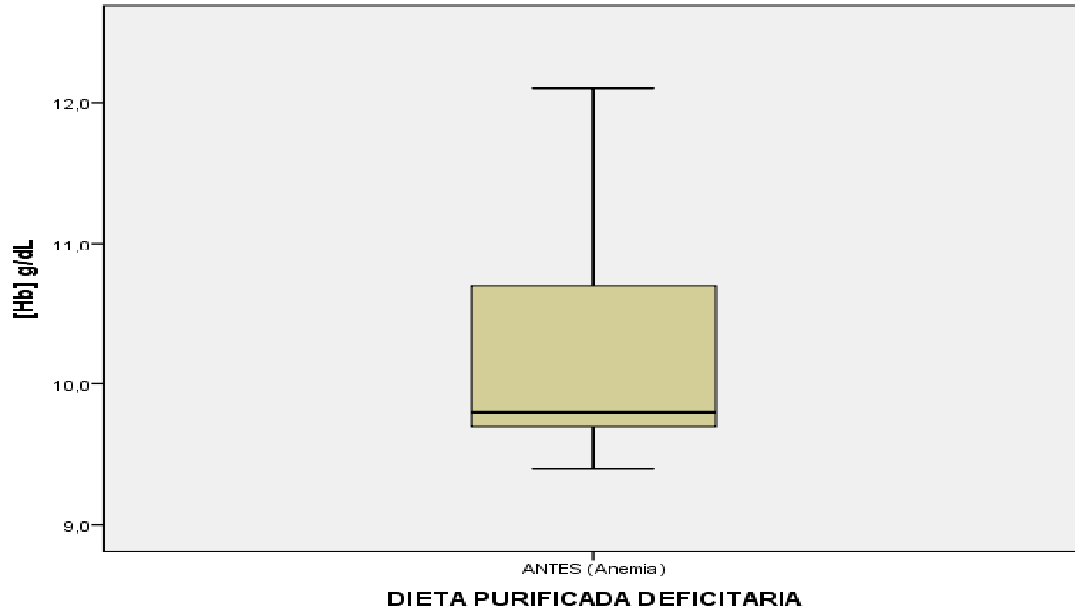
ANEXO 22: Resultado de la correlación de la hemoglobina, antes (anemia) y después del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado

Dieta deficitaria más yogurt fortificado	N	Correlación	Sig.
[Hb] Después & [Hb] Antes	10	0.370	0.292

ANEXO 23: Resultado de la prueba estadística comparativa 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 estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia		T	gl	Sig. (bilateral)
	Media	estándar		Inferior	Superior			
	[Hb] Después - [Hb] Antes	4.800	1.210	0.383	3.934	5.666	12.543	9

ANEXO 24: Representación gráfica de la concentración de la hemoglobina, antes (anemia) y después del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado



ANEXO 25: Resultado de la estadística del peso corporal, antes (anemia) y después del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado

Dieta deficitaria más yogurt fortificado	Media	N	Desviación	Media de
			estándar	error estándar
Peso (g) Después	272.050	10	16.909	5.347
Peso (g) Antes	168.500	10	9.888	3.127

ANEXO 26: Resultado de la correlación del peso corporal, antes (anemia) y después del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado

Dieta deficitaria más yogurt fortificado	N	Correlación	Sig.
Peso (g) Después & Peso (g) Antes	10	0.510	0.132

ANEXO 27: Resultado de la prueba estadística comparativa del peso corporal, antes (anemia) y después del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado

Dieta deficitaria más yogurt fortificado	Diferencias emparejadas						T	gl	Sig. (bilateral)
	Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia					
				Inferior	Superior				
Peso (g) Después – Peso (g) Antes	103.550	14.597	4.616	93.108	113.992	22.433	9	0.000	

ANEXO 28: Resultado estadístico de la hemoglobina, después del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado y dieta purificada estándar (control)

[Hb] Después	N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
Dieta deficitaria más yogurt fortificado	10	15.040	0.486	0.154
Dieta estándar	5	14.660	0.434	0.194

ANEXO 29: Resultado de la prueba estadística comparativa de la hemoglobina, después del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado y dieta purificada estándar (control)

	Prueba de Levene de calidad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
	F	Sig.	T	gl	Sig. (bilateral)	Dif. de medias	Dif. de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
								Inferior	Superior
Se asumen varianzas iguales	0.113	0.742	1.475	13	0.164	0.380	0.258	-0.176	0.937
No se asumen varianzas iguales			1.536	9.018	0.159	0.380	0.247	-0.179	0.939

ANEXO 30: Resultado estadístico del peso corporal, después del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado y dieta purificada estándar (control)

Peso (g) Después	N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
Dieta deficitaria más yogurt fortificado	10	272.05	16.909	5.347
Dieta estándar	5	251.50	26.679	11.931

ANEXO 31: Resultado de la prueba estadística comparativa del peso corporal, después del consumo de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado y dieta purificada estándar (control)

	Prueba de Levene de calidad de varianzas		prueba T para la igualdad de medias						
	F	Sig.	T	gl	Sig. (bilateral)	Dif. medias	Dif. error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
								Inferior	Superior
Se asumen varianzas iguales	.411	.533	1.837	13	.089	20.550	11.184	-3.612	44.712
No se asumen varianzas iguales			1.572	5.667	.170	20.550	13.074	-11.903	53.004

ANEXO 32: 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	11	12	13	14	15
17/09/14	12.16	13.27	11.76	12.06	13.06	11.99	13.16	13.70	11.44	11.59	11.60	12.03	9.63	11.22	9.38
18/09/14	10.08	10.78	9.44	10.36	11.01	11.09	11.50	10.06	9.12	9.99	9.89	11.21	8.64	8.85	9.57
19/09/14	10.82	9.54	9.62	8.86	12.07	11.18	12.31	10.56	10.77	9.47	7.75	9.92	8.65	7.58	8.56
20/09/14	9.70	10.36	10.17	9.03	12.68	11.62	13.03	10.72	11.29	10.52	7.80	11.18	9.95	10.50	8.38
21/09/14	9.51	8.76	10.17	7.64	12.92	10.38	12.57	11.37	10.58	11.30	9.61	11.72	9.97	9.92	9.34
22/09/14	6.82	6.93	9.89	6.74	9.84	6.95	8.81	9.44	7.38	7.96	7.40	4.57	6.62	7.62	6.92
23/09/14	9.97	12.05	11.40	7.86	10.48	8.92	10.26	9.30	9.50	8.14	7.58	6.95	7.73	9.20	10.00
24/09/14	10.02	10.40	13.26	6.86	12.05	9.14	8.40	12.38	10.11	8.57	9.45	9.86	9.11	8.86	10.71
25/09/14	11.73	14.26	14.42	13.42	14.00	13.44	13.50	13.70	14.15	13.75	13.06	12.55	13.03	13.86	12.19
26/09/14	12.73	13.36	14.55	9.89	14.85	13.77	11.35	14.06	11.88	12.26	14.84	10.43	10.50	11.33	12.83
27/09/14	13.14	11.95	14.45	11.83	14.94	14.14	10.86	14.85	11.36	13.31	8.69	10.31	11.07	9.26	13.90
28/09/14	11.23	13.32	14.83	12.83	14.74	13.71	11.55	14.75	12.46	14.48	4.82	14.36	10.99	10.92	12.55
29/09/14	9.31	13.37	14.92	14.45	14.84	14.69	7.64	14.87	13.97	10.97	13.34	13.86	10.95	10.45	14.00
30/09/14	12.41	13.06	14.66	14.77	14.96	14.82	12.86	14.92	10.77	9.67	12.60	10.52	11.42	14.89	3.96
01/10/14	14.90	14.69	14.80	11.57	14.93	14.84	14.19	14.90	14.73	11.31	14.72	14.91	7.62	14.93	14.44
02/10/14	14.89	14.90	14.71	11.61	14.80	14.70	13.57	14.93	14.76	10.13	14.70	15.01	13.57	13.69	14.75
03/10/14	15.01	14.76	14.58	14.98	14.98	14.91	14.85	14.35	15.00	14.52	14.71	14.95	14.52	12.98	14.93
04/10/14	14.93	14.85	14.69	14.98	14.98	14.97	12.52	14.96	14.94	14.56	14.58	14.96	14.23	10.99	13.91

“Continuación”

05/10/14	14.95	14.83	14.71	14.14	14.94	14.88	13.27	14.86	9.49	14.62	10.83	14.95	13.54	13.29	14.95
06/10/14	14.96	14.79	14.77	14.89	14.95	14.90	11.73	14.95	14.93	14.18	14.86	14.93	13.64	9.73	13.32
07/10/14	14.97	14.85	14.91	14.91	14.92	14.98	12.96	13.18	14.90	13.90	11.46	14.99	14.46	12.96	11.36
08/10/14	14.95	14.74	14.81	14.92	14.87	14.63	11.50	14.88	14.56	14.34	14.85	14.98	14.83	15.00	14.34
09/10/14	15.03	14.98	14.99	14.98	15.01	6.99	10.68	15.02	14.92	14.70	14.95	14.98	12.64	13.59	13.17
10/10/14	14.98	14.88	14.93	14.80	14.92	14.83	10.81	14.98	14.94	14.89	14.90	15.00	14.63	13.07	12.78
11/10/14	15.00	14.82	14.95	14.90	14.93	14.85	13.24	14.90	14.74	14.75	14.92	15.01	13.98	11.07	12.43
12/10/14	14.97	14.91	14.93	14.94	14.94	14.92	13.70	14.90	14.91	14.88	14.87	14.91	14.83	12.68	11.08
13/10/14	14.99	14.82	14.79	14.94	14.92	14.77	14.78	14.92	14.95	14.46	14.93	14.89	14.92	15.02	12.60
14/10/14	14.92	14.78	14.87	14.84	14.96	14.82	14.87	14.92	14.94	14.75	14.91	14.98	14.91	14.98	14.90
15/10/14	14.96	14.79	14.90	13.78	13.96	14.86	14.94	14.97	14.96	14.88	13.34	14.99	14.93	14.99	13.54
16/10/14	14.99	14.82	14.98	14.94	14.98	14.69	14.95	14.92	14.96	14.91	13.24	15.00	14.97	15.00	14.88
17/10/14	14.96	14.81	14.97	14.94	14.99	14.77	14.96	14.97	14.94	14.85	14.99	14.95	14.98	14.99	14.27
18/10/14	15.00	15.01	14.98	14.99	14.98	14.70	14.97	14.93	14.98	14.93	14.96	15.03	14.99	15.01	14.05
19/10/14	14.95	14.79	14.76	14.71	14.86	14.98	13.62	14.87	14.95	10.24	11.34	14.67	14.88	14.91	14.28
20/10/14	14.94	14.80	14.92	14.93	14.91	14.84	14.90	14.92	14.98	14.71	14.98	14.99	14.78	14.96	14.88
21/10/14	14.97	14.86	14.92	14.90	14.83	14.71	14.94	14.92	14.93	14.93	14.94	15.00	14.92	15.00	13.65

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 33: Resumen del procesamiento de casos del consumo de la dieta purificada
deficitaria**

Código (ratas)	Casos					
	Válido		Perdidos		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
1	35	100	0	0	35	100
2	35	100	0	0	35	100
3	35	100	0	0	35	100
4	35	100	0	0	35	100
5	35	100	0	0	35	100
6	35	100	0	0	35	100
7	35	100	0	0	35	100
8	35	100	0	0	35	100
9	35	100	0	0	35	100
10	35	100	0	0	35	100
11	35	100	0	0	35	100
12	35	100	0	0	35	100
13	35	100	0	0	35	100
14	35	100	0	0	35	100
15	35	100	0	0	35	100

ANEXO 34: Resultado del análisis descriptivo del consumo de la dieta purificada deficitaria por cada animal experimental

Código (ratas)	Consumo de dieta deficitaria	Estadístico	Error estándar
1	Media		13.253
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	12.439
		Límite superior	14.067
	Mediana		14.930
	Varianza		5.612
	Desviación estándar		2.3689
	Mínimo		6.820
	Máximo		15.030
	Rango		8.210
2	Media		13.511
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	12.787
		Límite superior	14.235
	Mediana		14.780
	Varianza		4.440
	Desviación estándar		2.107
	Mínimo		6.930
	Máximo		15.010
	Rango		8.080
3	Media		13.869
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	13.234
		Límite superior	14.504
	Mediana		14.770
	Varianza		3.413
	Desviación estándar		1.848
	Mínimo		9.440
	Máximo		14.990
	Rango		5.550
4	Media		12.891
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	11.947
		Límite superior	13.835
	Mediana		14.710

“Continuación”

	Varianza		7.556	
	Desviación estándar		2.749	
	Mínimo		6.740	
	Máximo		14.990	
	Rango		8.250	
	Media		14.143	0.243
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	13.649	
		Límite superior	14.637	
5	Mediana		14.910	
	Varianza		2.070	
	Desviación estándar		1.439	
	Mínimo		9.840	
	Máximo		15.010	
	Rango		5.170	
	Media		13.411	0.401
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	12.597	
		Límite superior	14.223	
6	Mediana		14.700	
	Varianza		5.614	
	Desviación estándar		2.369	
	Mínimo		6.950	
	Máximo		14.980	
	Rango		8.030	
	Media		12.679	0.335
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	11.997	
		Límite superior	13.359	
7	Mediana		13.030	
	Varianza		3.933	
	Desviación estándar		1.983	
	Mínimo		7.640	
	Máximo		14.970	
	Rango		7.330	
	Media		13.881	0.304
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	13.262	
		Límite superior	14.499	
8	Mediana		14.880	

“Continuación”

	Varianza		3.244	
	Desviación estándar		1.801	
	Mínimo		9.300	
	Máximo		15.020	
	Rango		5.720	
	Media		13.205	0.387
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	12.419	
		Límite superior	13.991	
9	Mediana		14.740	
	Varianza		5.232	
	Desviación estándar		2.287	
	Mínimo		7.380	
	Máximo		15.000	
	Rango		7.620	
	Media		12.783	0.397
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	11.977	
		Límite superior	13.590	
10	Mediana		14.180	
	Varianza		5.514	
	Desviación estándar		2.3482	
	Mínimo		7.960	
	Máximo		14.930	
	Rango		6.970	
	Media		12.469	0.499
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	11.455	
		Límite superior	13.482	
11	Mediana		13.340	
	Varianza		8.705	
	Desviación estándar		2.950	
	Mínimo		4.820	
	Máximo		14.990	
	Rango		10.170	
	Media		13.244	0.446
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	12.337	
		Límite superior	14.152	
12	Mediana		14.910	

“Continuación”

	Varianza		6.979	
	Desviación estándar		2.642	
	Mínimo		4.570	
	Máximo		15.030	
	Rango		10.460	
	<hr/>			
	Media		12.429	0.449
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	11.516	
		Límite superior	13.343	
13	Mediana		13.570	
	Varianza		7.067	
	Desviación estándar		2.658	
	Mínimo		6.620	
	Máximo		14.990	
	Rango		8.370	
	<hr/>			
	Media		12.380	0.417
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	11.532	
		Límite superior	13.228	
14	Mediana		12.980	
	Varianza		6.092	
	Desviación estándar		2.468	
	Mínimo		7.580	
	Máximo		15.020	
	Rango		7.440	
	<hr/>			
	Media		12.309	0.446
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	11.403	
		Límite superior	13.214	
15	Mediana		13.170	
	Varianza		6.950	
	Desviación estándar		2.636	
	Mínimo		3.960	
	Máximo		14.950	
	Rango		10.990	
	<hr/>			

ANEXO 35: Consumo diario de la dieta purificada estándar (control) de cada animal experimental

Fecha	Consumo (S-(R+D))				
	Código (ratas)				
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5
22/10/14	19.68	19.97	19.84	19.91	18.80
23/10/14	17.29	18.18	16.25	15.03	18.91
24/10/14	19.95	14.28	19.99	19.98	19.47
25/10/14	19.91	19.90	19.82	12.52	19.86
26/10/14	19.96	19.92	19.98	14.48	19.98
27/10/14	19.96	19.95	17.01	13.97	19.93
28/10/14	20.00	19.95	18.61	13.64	18.76
29/10/14	19.99	19.97	18.64	13.66	19.54
30/10/14	20.00	19.93	19.95	13.31	19.90
31/10/14	19.94	16.55	16.12	13.30	18.90
01/11/14	15.75	19.94	19.54	15.97	15.16
02/11/14	19.97	19.93	19.79	17.38	19.88
03/11/14	16.68	18.08	19.23	13.48	19.16
04/11/14	19.44	19.94	19.04	14.28	18.84
05/11/14	19.94	17.77	19.77	12.36	19.87
06/11/14	19.81	15.89	18.83	12.50	15.40
07/11/14	18.51	17.59	19.14	15.01	19.64
08/11/14	19.83	14.62	18.74	12.01	19.47
09/11/14	15.31	18.26	18.47	14.80	19.28
10/11/14	17.03	14.20	18.11	12.67	19.82
11/11/14	19.41	15.22	18.65	12.91	19.56
12/11/14	19.65	15.53	16.20	13.29	19.65
13/11/14	18.67	19.82	17.27	15.46	19.15
14/11/14	17.31	15.15	17.09	12.27	11.91
15/11/14	16.39	17.47	17.82	11.62	19.49
16/11/14	15.68	15.60	18.02	12.07	19.54
17/11/14	16.04	16.43	17.04	12.20	19.05
18/11/14	19.21	17.81	14.60	13.00	18.93

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 36: Resumen del procesamiento de casos del consumo de la dieta purificada estándar (control)

Consumo de la dieta estándar	Casos					
	Válido		Perdidos		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
C-1	28	100	0	0	28	100
C-2	28	100	0	0	28	100
C-3	28	100	0	0	28	100
C-4	28	100	0	0	28	100
C-5	28	100	0	0	28	100

ANEXO 37: Resultado del análisis descriptivo del consumo de la dieta purificada estándar (control) de cada animal experimental

Código (ratas)	Consumo de dieta purificada estándar	Estadístico	Error estándar	
C-1	Media	18.6182	0.31283	
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior Límite superior		17.9763 19.2601
	Mediana	19.5450		
	Varianza	2.740		
	Desviación estándar	1.65533		
	Mínimo	15.31		
	Máximo	20.00		
	Rango	4.69		
	C-2	Media		17.7804
95% de intervalo de confianza para la media		Límite inferior Límite superior	16.9743 18.5864	
Mediana		17.9450		
Varianza		4.321		
Desviación estándar		2.07882		
Mínimo		14.20		
Máximo		19.97		
Rango		5.77		
		Media	18.3414	0.26993
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	17.7876	

“Continuación”

	confianza para la media	Límite superior	18.8953	
	Mediana		18.6450	
C-3	Varianza		2.040	
	Desviación estándar		1.42836	
	Mínimo		14.60	
	Máximo		19.99	
	Rango		5.39	
<hr/>				
	Media		14.0386	0.40462
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	13.2084	
		Límite superior	14.8688	
C-4	Mediana		13.3950	
	Varianza		4.584	
	Desviación estándar		2.14104	
	Mínimo		11.62	
	Máximo		19.98	
	Rango		8.36	
<hr/>				
	Media		18.8518	0.33654
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	18.1613	
		Límite superior	19.5423	
C-5	Mediana		19.4700	
	Varianza		3.171	
	Desviación estándar		1.78079	
	Mínimo		11.91	
	Máximo		19.98	
	Rango		8.07	

**ANEXO 38: Consumo diario de la dieta purificada deficitaria más yogurt fortificado
de cada animal experimental**

Fecha	Consumo (S-(R+D))									
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5	T-6	T-7	T-8	T-9	T-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 39: Resumen del procesamiento de casos del consumo de la dieta purificada
deficitaria más yogurt fortificado**

Consumo dieta deficitaria más yogurt fortificado	Casos					
	Válido		Perdidos		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
T-1	28	100	0	0	28	100
T-2	28	100	0	0	28	100
T-3	28	100	0	0	28	100
T-4	28	100	0	0	28	100
T-5	28	100	0	0	28	100
T-6	28	100	0	0	28	100
T-7	28	100	0	0	28	100
T-8	28	100	0	0	28	100
T-9	28	100	0	0	28	100
T-10	28	100	0	0	28	100

ANEXO 40: Resultado del 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	
T-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		
T-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		
T-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		
T-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	.446		
	Desviación estándar	.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	19.003	
		Límite superior	19.845	
	Mediana		19.925	
T-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	17.799	
		Límite superior	19.080	
	Mediana		19.235	
T-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	17.995	
		Límite superior	19.466	
	Mediana		19.825	
	Varianza		3,601	
	Desviación estándar		1,897	
T-7	Mínimo		14,100	
	Máximo		19,990	
	Rango		5,890	
	Media		14,976	0.395
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	14,166	
		Límite superior	15,785	
	Mediana		14,595	
T-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	
T-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	
T-10	Varianza		4,403	
	Desviación estándar		2,098	
	Mínimo		12,190	
	Máximo		20,000	
	Rango		7,810	

ANEXO 41: Análisis de la leche fresca



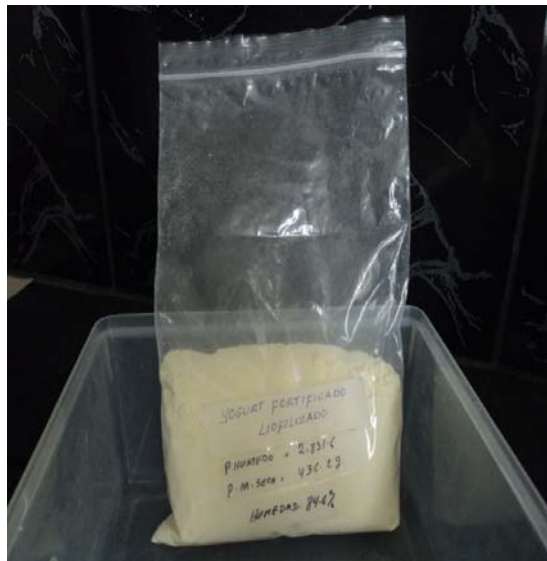
ANEXO 42: Elaboración del yogurt fortificado



ANEXO 43: Análisis del yogurt fortificado



ANEXO 44: Liofilizado del yogurt fortificado en el Instituto de Investigación Nutricional (IIN)



ANEXO 45: Insumos empleados y pesado para la preparación de las dietas



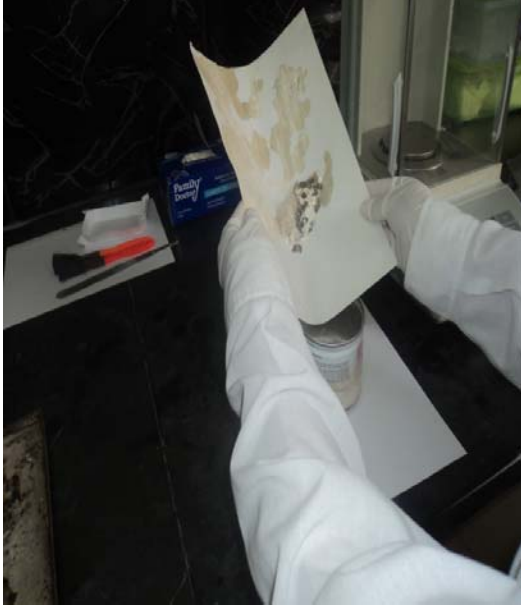
ANEXO 46: Preparación de las dietas purificadas





ANEXO 47: Cuidado, suministro de alimentos, pesado de residuos y desperdicios de los animales experimentales





ANEXO 48: Determinación de la hemoglobina en el Laboratorio de Patología Clínica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM)

