

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS PURAS Y NATURALES
CARRERA DE CIENCIAS QUÍMICAS**



PRÁCTICAS PROFESIONALES

**ANÁLISIS Y CONTROL DE CALIDAD DE LA COMPOSICIÓN
NUTRICIONAL EN ALIMENTOS**

POSTULANTE:

Univ. ROSA MARIA PEREZ MAYTA

ASESORES:

Mgs. MEJIA GUERRERO LEONOR

Mgs. ALVARADO KIRIGUIN JUAN ANTONIO

LUGAR:

LABORATORIO DE MICRONUTRIENTES

LABORATORIO DE NUTRICION Y ANALISIS SENSORIAL

INSTITUTO NACIONAL DE LABORATORIOS EN SALUD (INLASA)

**LA PAZ – BOLIVIA
2010**

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios y a todas las personas que confiaron en mí e hicieron posible que mi persona llegue a la defensa del presente trabajo.

ÍNDICE

CAPITULO I

LABORATORIO DE NUTRICION EN SALUD (INLASA) MINISTERIO

DE SALUD Y DEPORTES.....	Pág.1
ANTECEDENTES.....	Pág.2
1.1 Laboratorio de Nutrición y Análisis Sensorial.....	Pág.2
1.1.1 Misión.....	Pág.2
1.1.2 Visión.....	Pág.2
1.1.3 Objetivos.....	Pág.3
1.1.4 Organigrama del Laboratorio de Nutrición y Análisis Sensorial.....	Pág.3
1.1.4.1 Funciones de los Jefes de Departamento.....	Pág.3
1.1.4.2 Servicios que Presta	Pág.5

CAPITULO II

ANÁLISIS DE ALIMENTOSPág.7

1. INTRODUCCIÓN.....	Pág.8
2. PRINCIPIOS GENERALES.....	Pág.10
3. RECEPCIÓN DE MUESTRAS.....	Pág.10
3.1.1. Registro.....	Pág.11
3.1.2. Archivo.....	Pág.11
3.1.3. Identificación de la muestra.....	Pág.11
3.1.4. Descripción de las muestras de alimentos.....	Pág.11
3.2. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA.....	Pág.12
3.2.1. Muestreo.....	Pág.12
3.2.2. Tamaño de Muestra.....	Pág.13
3.2.3.1. Alimentos secos.....	Pág.13
3.2.3.2. Alimentos húmedos.....	Pág.13
3.2.3.3. Alimentos enlatados	Pág.14
3.2.3.4. Alimentos grasos.....	Pág.14
3.2.4.5 Alimentos líquidos.....	Pág.15
3.2.4.6 Alimentos pastosos.....	Pág.15

3.2.4.7. Almacenamiento y conservación de la muestra.....	Pág.15
4. HUMEDAD.....	Pág.17
4.1. Importancia del agua en los alimentos.....	Pág.17
4.1.1. Estructura.....	Pág.18
4.1.2. Métodos de secado.....	Pág.18
4.1.3. Preparación de la muestra.....	Pág.19
4.1.5 Trabajo en Laboratorio y Método de Análisis.....	Pág.19
4.1.6. Humedad.....	Pág.19
PARTE PRÁCTICA.....	Pág.21
5. DEFINICIÓN.....	Pág.21
5.1. Métodos de incineración.....	Pág.22
5.2 Cenizas.....	Pág.23
PARTE PRÁCTICA.....	Pág.25
6. GRASAS.....	Pág.26
6.1 Método de Análisis por Hidrólisis Alcalina.....	Pág.29
6.2 Método de Análisis por Hidrólisis Ácida.....	Pág.32
6.3 Análisis de Fibra Cruda.....	Pág.34
7. IMPORTANCIA DEL CONSUMO DE LS MINERALES.....	Pág.36
7.1. Preparación de la muestra.....	Pág.38
7.2 Determinaciones de minerales.....	Pág.39
7.3 Determinación de calcio.....	Pág.39
7.4 <i>Determinación de hierro</i>	Pág.40
7.5 Determinación de fósforo.....	Pág.44
PARTE PRÁCTICA.....	Pág.52
8. PROTEÍNAS.....	Pág.52
8.1. Importancia.....	Pág.52
8.2. Determinación de Proteínas.....	Pág.53
8.2.1. Método de Kjeldhal.....	Pág.54
8.2.2. Determinación de Proteínas.....	Pág.56
9. VITAMINAS.....	Pág.58
9.1 Importancia y contenido en alimentos.....	Pág.58

9.2. Clasificación de las Vitaminas.....	Pág.60
9.2.1. Vitaminas Hidrosolubles	Pág.60
9.2.2. Vitaminas Liposolubles	Pág.64
9.2.3. Determinación de vitamina “A”.....	Pág.66
9.2.4 Determinación de vitamina “A” en aceites.....	Pág.70
9.2.5 Determinación de vitamina “C” por el método de titulación volumétrica.....	Pág.71
10. INTRODUCCIÓN.....	Pág.79
10.1. Determinación de Yodo en Sal	Pág.80
10.2. Determinación de contenido de Humedad de la Sal.....	Pág.84

CAPITULO III

CONTROL INTERNO DE LA CALIDAD DE RESULTADOS DE HIERRO EN ALIMENTOS FORTIFICADOS.....

1. INTRODUCCIÓN.....	Pág.90
2. ANTECEDENTES.....	Pág.91
3. JUSTIFICACIÓN.....	Pág.92
4 .OBJETIVOS.....	Pág.92
4.1 Objetivo General.....	Pág.92
4.2 Objetivos Específicos:.....	Pág.92
5. FUNDAMENTO TEÓRICO.....	Pág.92
5.1 La Calidad.....	Pág.93
5.2 Gestión de la Calidad.....	Pág.94
5.3 Aseguramiento de la Calidad.....	Pág.94
5.4 Sistema de Control Interno de Calidad.....	Pág.95
5.5 Aseguramiento de Calidad de los Resultados de Ensayo.....	Pág.95
5.6 Pcc- Intra- Laboratorios.....	Pág.96
5.6.1 La Carta Control.....	Pág.96
5.7 Pcc- Inter- Laboratorios.....	Pág.97
6. PARTE EXPERIMENTAL	Pág.98
6.1 Materiales y Reactivos.....	Pág.98
6.2 Preparación de Soluciones.....	Pág.99

6.3 Procedimiento para la Elaboración de la Curva de Calibración.....	Pág.100
6.3.1 Principio.....	Pág.100
6.3.2 Preparación de la Curva.....	Pág.100
6.3.3 Determinación de Hierro con Diferentes Concentraciones.....	Pág.101
6.4. Carta Control.....	Pág.101
6.4.1 Procedimiento para la Preparación de la Solución de Cenizas...	Pág.102
6.4.2 Determinación DE Hierro.....	Pág.103
7. CÁLCULOS:.....	Pág.103
7.1 Curva De Calibración:.....	Pág.103
7.2 Cálculos para la Carta Control	Pág.104
8. RESULTADOS Y CONCLUSIONES.....	Pág.104
8.1 Resultados para la Carta Control.....	Pág.105
8.2 Resultados para la Curva de Calibración.....	Pág.106
8.3 Resultados de la Carta Control.....	Pág.106
9. CONCLUSIÓN.....	Pág.108
10. BIBLIOGRAFÍA.....	Pág.109

CAPITULO I

**LABORATORIO DE NUTRICIÓN EN SALUD (INLASA)
MINISTERIO DE SALUD Y DEPORTES**

ANTECEDENTES.

1.1 Laboratorio de Nutrición y Análisis Sensorial

El Laboratorio de Nutrición fue creado en 1992 bajo los auspicios del comité interdepartamental de Nutrición para la defensa Nacional (NCD) de los Estados Unidos para apoyar los planes alimentarios- nutricionales en las áreas de Investigación, Evaluación y control de calidad.

El laboratorio de Nutrición es el un Centro de investigación, evaluación, información y Previsión social. Analiza los alimentos, y los fluidos orgánicos y produce información de calidad, estudios, tablas, etiquetas, guías, hojas de balance. Para proyectos y programas alimentario nutricionales, para productores y comercializadores de alimento tradicionales, para industrias, importadores y exportadores de alimento, para las universidades, los investigadores y la población general.

INSTITUCIÓN: MINISTERIO DE SALUD Y DEPORTES - INLASA (Instituto Nacional de Laboratorios en Salud)

ÁREA: Laboratorio de nutrición y Análisis Sensorial:

DIRECCIÓN: Calle Rafael Zubieta N° 1889 (lado Estado Mayor) Miraflores.
Casilla M- 10019 Teléfono 310218-226670, Fax 228254-310218,
E-Mail: inlasa@caoba.entelnet.bo
La Paz- Bolivia

1.1.1 Misión

Normar y regular técnicamente los laboratorios de salud del país, bajo sistemas de gestión de calidad; apoyar a la vigilancia laboratorial de la salud pública, producir biológico, ofrecer servicios especializados de diagnóstico oficial de laboratorio, alimentos, reactivos y generar investigación científica. de salud, capaz de aceptar desafíos y competencias con proyección internacional, de acuerdo con la modernización del Estado y la reforma del sector salud, para contribuir al bienestar de la sociedad boliviana.

- y las bebidas para registro sanitario, importaciones, exportaciones e investigaciones.

- Producir, organizar y difundir la información sobre la composición nutricional de los alimentos.
- Normalizar la calidad de los análisis de los laboratorios de alimentos del país.
- Formar recursos humanos en análisis de alimentos.

1.1.4 Organigrama del Laboratorio de Nutrición y Análisis Sensorial

1.1.4.1 Funciones de los Jefes de Departamento

- ✓ Cumplir y hacer cumplir las Políticas Gubernamentales en el tema de Salud Pública
- ✓ Emitir Normas y Procedimientos estandarizados para el análisis de macro y micro nutrientes en alimentos
- ✓ Emitir resultados oficiales para el seguimiento de los Programas Nacional de Control de Desordenes por deficiencias de Micronutrientes en el país, fomentando un ambiente de continuo mejoramiento.
- ✓ Gerenciar ensayos interlaboratoriales de Micronutrientes a fin de controlar, asesorar y asegurar la competencia técnica permanente de los laboratorios de la red
- ✓ Implantar sistemas de capacitación y calificación continua y permanente de los recursos humanos encargados de ejecutar funciones en laboratorios de análisis de alimento
- ✓ Implantar sistemas de capacitación y calificación permanente para vigilar la aplicación de normas para el mantenimiento de la calidad de los productos elaborados, fortificados y naturales como alimentos, bebidas y otros.
- ✓ Desarrollar políticas de investigación en áreas de macro y Micronutrientes de interés para el país.
- ✓ Emitir información nacional de importancia para obtener indicadores que permitan desarrollar acciones de control y vigilancia de Micronutrientes

- ✓ Efectuar supervisiones a los laboratorios de la Red con el objeto de mejorar el desempeño

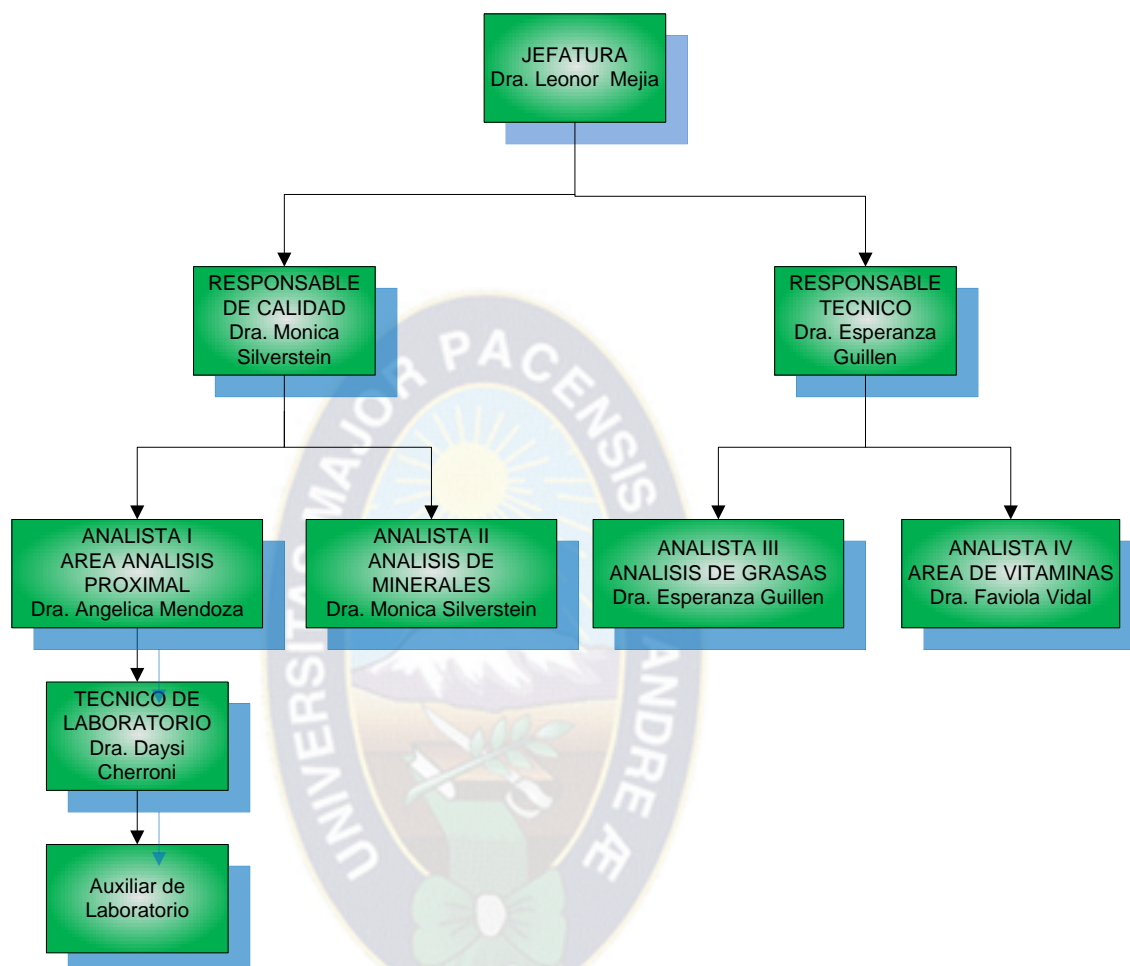


Fig. 1 Organigrama del laboratorio de nutrición y análisis sensorial

1.1.4.2 Servicios que presta

ÁREA QUÍMICA DE ALIMENTOS

- Análisis Proximal (Valor energético, humedad, grasa, proteínas, hidratos de carbono y ceniza).
- Análisis de Fibra cruda y dictaría.
- Análisis de Vitamina A, Carotenos, B₁, B₂, B₆, C, Niacina, Folatos y otros.
- Análisis de ácidos grasos saturados e insaturados, colesterol.

- Análisis de aminoácidos esenciales y no esenciales.
- Análisis de minerales: Calcio, Fósforo, Hierro, sodio, Potasio, Zinc y otros.

Determinación en Sal

- Residuo insoluble, Humedad, Calcio, Magnesio, Sulfatos, Cloruro de Sodio, Yodo y Flúor.

Análisis Sensorial

- Test de calidad: degustación, sabor, olor, textura, color, aspecto y aroma.
- Test de reconocimiento: olores, sabores y otros.

ÁREA DE MICRONUTRIENTES (Fluidos orgánicos)

- Control de Yodo en Orina
- Control de Flúor en orina
- Control de Retinol sérico
- Control de hemoglobina en sangre
- Control de Zinc

ÁREA DE MICRONUTRIENTES (Alimentos fortificados)

- Control de Hierro en Harina Fortificada
- Control de Yodo en Sal
- Control de Flúor en Sal
- Control de Vitamina "A"
- Control de Zinc

ÁREA DE INVESTIGACIÓN

- Composición nutricional de alimentos andinos y tropicales.
- Elaboración de tablas de composición.
- Investigación de carencias nutricionales de la población boliviana

- Investigación de carencias nutricionales y aceptabilidad de alimentos elaborados con harinas mixtas de alimentos nativos para diferentes programas y proyectos.
- Asesoramiento de trabajos de investigación.





CAPITULO II

ANALISIS DE ALIMENTOS

1. INTRODUCCIÓN

Los alimentos son sustancias las cuales al ser consumidas por los humanos son utilizadas por el cuerpo en las actividades metabólicas normales. Tienen influencia en el crecimiento, nutrición, reproducción y también disminuyen la susceptibilidad a algunas infecciones.

Los alimentos están constituidos por macro-elementos (agua, proteínas, lípidos y carbohidratos) y microelementos (minerales y vitaminas) los cuales contribuyen de diferente manera a las necesidades corporales. Contienen también material indigerible (fibra dietaria), que ayuda en la peristalsis, y agua que sirve como vehículo para el transporte de alimentos y productos de desecho, además ayuda en la regulación de la temperatura corporal y toma parte en muchos procesos químicos. También hay sustancias que se añaden para ayudar a la aceptabilidad de los alimentos como son los condimentos, saborizantes etc (1)

Existen varias clasificaciones de los alimentos basadas en características físicas y químicas de los mismos, la más general es la que los agrupa en: a) alimentos de origen animal, entre los que se incluyen a las carnes rojas, aves, pescados, huevos, leche y productos lácteos y b) alimentos de origen vegetal como los cereales y derivados, leguminosas, oleaginosas, frutas y hortalizas y productos derivados de éstas.

El objetivo del análisis de alimentos es la de conocer los componentes de los mismos y el porcentaje en que se encuentran en ellos. Con esto no solo se establece el valor nutritivo de un alimento, también da una idea de las condiciones de manejo, transporte y almacenamiento. Al establecer el tipo y la concentración de los componentes presentes en un alimento, se establece lo que se conoce como Composición Química, Composición Bromatológica ó Proximal del mismo. Es así como el análisis químico de alimentos habilita al individuo para conocer la composición de los mismos y con la ayuda del conocimiento bioquímico y nutricional saber que puede comer y de que debe evitar la ingesta.

Para el conocimiento y desarrollo de estos métodos es necesario el estudio de métodos inorgánicos, orgánicos, cualitativos y cuantitativos. Los métodos más actualizados que son oficiales en Estados Unidos de Norteamérica se publican periódicamente por la Association of Official Analytical Chemists (A.O.A.C.). Existen además métodos oficiales para productos más específicos como los que publica la American Association of Cereal Chemists (A.A.C.C.) para el análisis de cereales y los de la Association of Oils Chemists Society (A.O.C.S.) para el análisis de grasas y aceites y productos derivados.

El desarrollo del Análisis de Alimentos por lo tanto se basa en los siguientes factores:

- a) El deseo de obtener conocimientos nutricionales y bioquímicos para proveer al organismo del material necesario para su desarrollo.
- b) La estandarización de la producción y procesamiento de productos alimenticios por medio del desarrollo de un análisis de control.
- c) El uso de análisis de alimentos como un medio de regulación en la compra de alimentos en niveles comercial, industrial y gubernamental ya que en la comercialización de alimentos debe especificarse por el productor la composición de dicho alimento.
- d) La necesidad de proteger al individuo de alimentos descompuestos, adulterados y de fraudes alimenticios.

Los métodos analíticos de un químico de alimentos se aplican en el desarrollo y reforzamiento de estándares de identidad, pureza o control; en la detección de problemas de descomposición durante el almacenamiento de alimentos ya sea durante condiciones anormales o normales; en estudios asignados para mejorar o controlar la calidad de alimentos naturales o procesados; o en la determinación del valor nutritivo de los alimentos para propósitos científicos, dietéticos o de regulación.

2. PRINCIPIOS GENERALES

Los constituyentes de un material pueden ser identificados y cuantificados como un elemento, en forma pura o en mezclas para lo cual es necesario eliminar antes ciertas sustancias interferentes presentes en el mismo material a estudiar.

La selección del método para dicha identificación y cuantificación dependerá de:

- Tipo de Muestra a analizar.
- Selección de método de ensayo
- Equipo y material con el que se cuente.

3. RECEPCIÓN DE MUESTRAS

Las muestras que llegan al laboratorio se las recibe en el área de recepción de muestras. La responsable de recepción de la muestra verifica si cumple con los requisitos establecidos por el laboratorio, que son los siguientes:

- Cantidad de muestra, estado de conservación de la muestra, condiciones de inviolabilidad y hermeticidad del envase y llenado de la tarjeta de muestreo (que no falte ningún dato).
- Si no cumple con los requisitos establecidos por el laboratorio para su aceptación o se observan muestras con cantidades menores, la responsable de recepción de la muestra deberá de consultar al responsable técnico o al jefe del laboratorio, para que estos autoricen el ingreso de la muestra para su posterior análisis dejando constancia escrita de su admisión en el formulario de laboratorio o el rechazo de la muestra y dejando constancia escrita de su devolución con las aclaraciones correspondientes.

Si cumple con los requisitos establecidos, se codifica la muestra asignando un número que es correlativo al orden de llegada y se registra en el formulario LNS-F-07-1 donde se anota el código, fecha y hora de recepción,

nombre del cliente, producto, cantidad descripción, análisis solicitado, N° de factura, monto, recibido por, nombre y firma del muestreador.

3.1.1. Registro

Una vez codificada la muestra se debe registrar los datos de la tarjeta de muestreo en el formulario de registro de muestras de alimentos LNS-F-07-2, se registra el código, fecha y hora de recepción, producto N° de acta N° de registro, Nombre del cliente, análisis solicitado, fecha probable de entrega de resultado y nombre de la persona que recibió la muestra.

En los formularios de muestras observadas y rechazadas se registran todos los datos observados y las aclaraciones correspondientes.

3.1.2. Archivo

Se archiva la tarjeta de muestreo, copia de informe de resultados, formulario de rechazo de muestras y de desvíos aprobados. Todos los archivos se deben conservar por lo menos 6 años.

3.1.3. Identificación de la muestra

En la tarjeta de muestreo en un lugar visible se anota el código del laboratorio que corresponde a la muestra siguiendo el orden de llegada, este mismo código se anota en el envase de la muestra y en la etiqueta de la muestra analítica donde se anota el producto, marca, lote y observaciones (donde se anota el análisis solicitado por el cliente) y la fecha de llegada de la muestra al laboratorio.

La tarjeta de muestreo se archiva en el área de recepción del laboratorio en un lugar seguro y es tratada de forma confidencial.

3.1.4. Descripción de las muestras de alimentos

La descripción se realiza de las muestras de plantío y muestras compuestas (procesadas, manufacturadas y preparadas), se realiza en el formulario

LNS-F-07-03, se describe las características organolépticas de la muestra porque permite identificar el estado de madures, la parte comestible y otras características organolépticas que son necesarias para la selección de métodos de ensayo que se va aplicar para análisis de la muestra. La descripción de las características organolépticas esta a cargo de la responsable técnico que registra los datos de la descripción.

3.2. Preparación de la muestra

La preparación de la muestra consiste en la obtención de una muestra homogénea, de manera que cualquier porción que se use para el análisis sea representativa del total.

Por lo general la preparación de una muestra para análisis involucra una reducción en la cantidad y reducción simultánea en el tamaño de partícula, así como un mezclado perfecto del producto, de tal manera que la porción usada represente la composición promedio de la mezcla entera. Un procedimiento muy utilizado es el del cuarteo, que se utiliza principalmente para muestras sólidas, en el que dos cuartas partes se eliminan y las otras dos se mezclan y el proceso se repite hasta que se obtiene una muestra de tamaño adecuado o bien puede hacerse mecánicamente utilizando equipo especialmente diseñado para ello.

La preparación de la muestra dependerá del tipo de alimento del que se trate, teniéndose alimentos secos (granos, harinas, pan); alimentos húmedos (carnes, frutas, pescados); alimentos enlatados y alimentos grasos (margarinas, aceites).

3.2.1. Muestreo

El muestreo es una parte muy importante del análisis de alimentos debido a que la muestra seleccionada debe ser representativa del lote entero del alimento que va a ser analizado y la porción pesada para el examen debe ser una réplica exacta del producto disponible para el análisis.

Los alimentos que se van a muestrear deben ser descritos en términos de: tipo de producto, ingredientes, estado de preservación, fuente, cultivo, y otros factores que podrían influir en los niveles de los componentes en esos alimentos. (3)

3.2.2. Tamaño de Muestra

Al realizar un muestreo se toma como herramienta el análisis estadístico, aplicándose, según el caso, fórmulas específicas una vez que se realizó un diseño del trabajo a realizar, por lo que es importante tener algunas conocimientos básicos sobre algunos términos estadísticos, como media, desviación estándar, conceptos de probabilidad.

3.2.3.1. Alimentos secos

Se les denomina así debido a que su contenido de agua es bajo, normalmente por debajo del 15%. Las consideraciones a realizar en este grupo son sí se trata de un grano, de una harina ó de algún producto ya procesado como pan ó tortillas.

Sí se parte de granos primero debe removerse el material extraño que pueda estar presente para lo cual se hace uso de zarandas específicas para el grano que se vaya a analizar. Una vez que se tiene el grano limpio se somete a una molienda para reducir el tamaño de partícula.

3.2.3.2. Alimentos húmedos

Dentro de este grupo se tienen verduras, tubérculos y frutas.

En el caso de las verduras, se descarta las hojas secas, la muestra se lava con agua para quitar las impurezas (tierra, polvo, arena) se enjuaga con agua destilada, se absorbe toda la humedad con papel toalla, una vez seca la muestra se corta en pequeños trozos en una tabla de madera, y moler en una licuadora.

En el caso de frutas y tubérculos se lava la muestra con agua corriente, se seca con papel toalla, es necesario eliminar la parte no comestible (cascara,

pepas), se pica en trozos pequeños con cuchillo de acero inoxidable en una tabla de madera, y se muele en una licuadora el total de la muestra, hasta obtener una pasta homogénea.

3.2.3.3. Alimentos enlatados

Estos alimentos se caracterizan por estar sumergido el alimento en un líquido (salmuera, almíbar, salsa de tomate). Al analizar estos alimentos puede realizarse de diferentes formas, el líquido y el sólido por separado ó bien mezclados el alimento y el líquido. Antes de efectuar el análisis se recomienda pesar la lata ó frasco antes y después de vaciar su contenido, el objetivo de esto es verificar el peso marcado en la lata, lo que se denomina pesado drenado.

Si se va analizar por separado el líquido del sólido, mediante un cedazo se recoge el sólido y se deja escurrir para eliminar el líquido. Si la muestra contiene semillas grandes o “hueso” (duraznos) se elimina éste utilizando un cuchillo y un tenedor, para posteriormente homogenizar la muestra en una licuadora ó una batidora evitando la formación de emulsiones.

3.2.3.4. Alimentos grasos

Dentro de este grupo se tienen los aceites y las mantequillas.

En el caso de los aceites, primero se homogenizan por inversión, posteriormente, se recomienda colocar el aceite dentro de un baño María a no mas de 40 °C, esto con el fin de efectuar todas las determinaciones a una misma temperatura.

Cuando se manejan emulsiones grasas, también se recomienda colocar la muestra en un baño María a no más de 40 °C, esto tiene como finalidad licuar y homogenizar la muestra. Posteriormente se recomienda filtrar, empleando para esto gasa, la filtración tiene como objetivo eliminar impurezas.

La recomendación de una temperatura no mayor a los 40 °C en el baño María, durante el homogenizado de los aceites y emulsiones, es debido a

que se considera que a temperaturas mayores a los 40°C afectan la calidad de la grasa.

La responsable de la preparación de la muestra, prepara de la muestra analítica siguiendo el procedimiento LNS-PT-03-105. y entrega la muestra analítica a las analistas para la realización de los ensayos respectivos.

3.2.4.5 Alimentos líquidos

Dentro de este grupo encontramos, El jugo de frutas, bebidas y concentrados no alcohólicos.

En este caso de los jugos se agita vigorosamente, La muestra en su embase de origen.

3.2.4.6 Alimentos pastosos

Dentro de este grupo se tiene Yogurt y otros alimentos preparados y manufacturados.

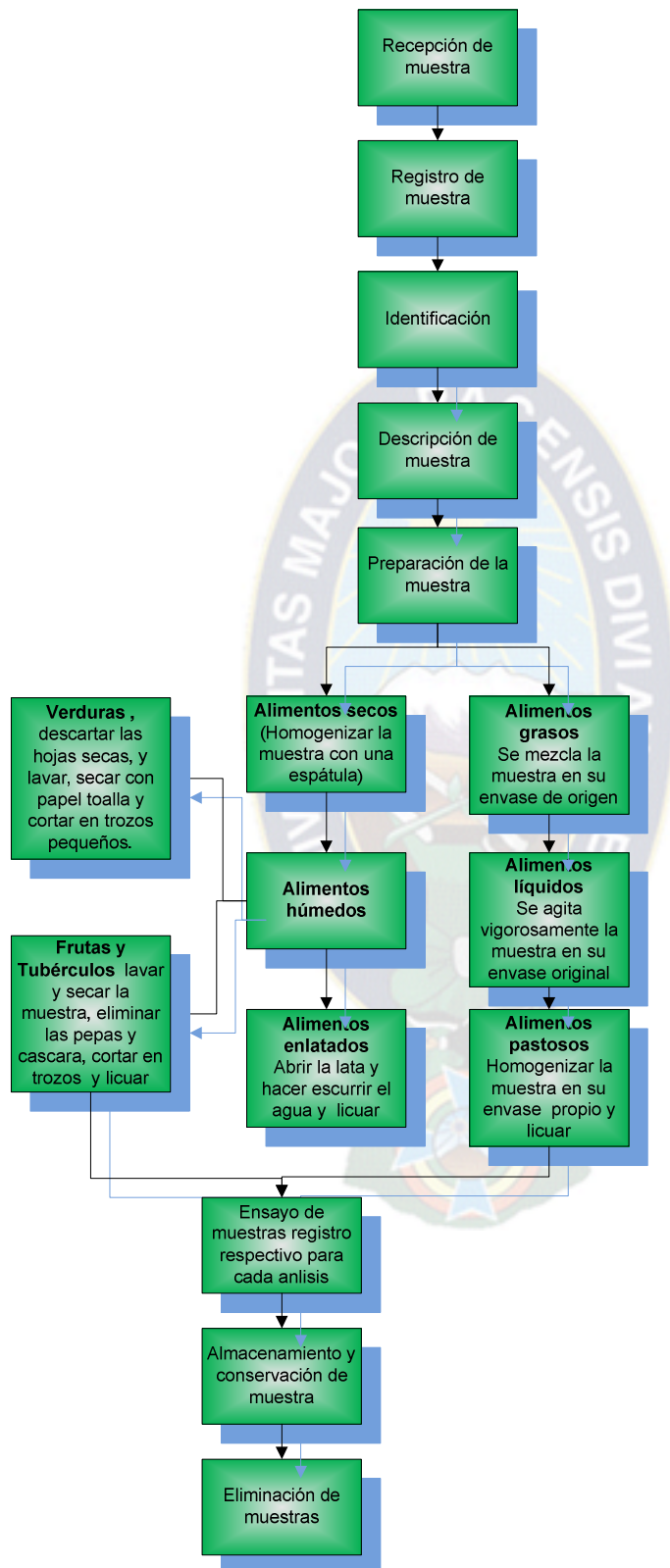
En el caso de estos alimentos, homogenizar la muestra en su envase propio, en caso de yogurt con frutas se transfiere la totalidad de la muestra a una licuadora para homogenizar todos sus componentes.

3.2.4.7. Almacenamiento y conservación de la muestra

En ocasiones no es posible realizar el análisis de la muestra en el momento de su recepción, por lo que es necesario guardarla hasta el momento de realizar la determinación. El tiempo de almacenamiento dependerá del tipo de análisis a realizar, en el caso de la determinación de humedad no es muy recomendable prolongar este tiempo por mas de 24 horas en refrigeración.

No se aconseja congelación, en el caso de análisis microbiológicos, pero sí la refrigeración siempre y cuando el almacenamiento no sea mayor de 48 horas.

Diagrama del manejo de las muestras de alimentos



4. HUMEDAD

4.1. Importancia del agua en los alimentos

El agua es el constituyente mayoritario en muchos alimentos (Tabla 1). El agua actúa como medio de soporte de muchas reacciones químicas, así como uno de los reactantes participantes durante una reacción de hidrólisis. Cuando el agua es removida por calor o haciendo reaccionar con agentes como el azúcar o la sal, se propicia que muchas reacciones químicas se retrasen y se inhiba el desarrollo de algunos microorganismos, de ésta manera se incrementa la vida de anaquel de numerosos alimentos. También se sabe que la interacción del agua con las proteínas, lípidos, polisacáridos y sales, contribuye significativamente sobre la textura de los alimentos.

Tabla Nro. 1. Contenido de humedad en algunos alimentos

Alimento	Contenido de Humedad	Alimento	Contenido de Humedad
Carne	65-75	Harina de cereal	12-14
Leche	87	Granos de café	5
Frutas, vegetales	70-90	Leche en polvo	4
Pan	35	Aceite comestible	0
Miel	20		
Mantequilla y margarina	16-18		

La determinación de humedad es una de las determinaciones analíticas más importantes y utilizada en gran medida durante el procesamiento y control de productos alimenticios. El contenido de humedad frecuentemente es un índice de calidad y estabilidad así como también es una medida de la importancia y cantidad de sólidos totales.

Los métodos utilizados para determinar el contenido de humedad dependerán de la naturaleza del producto alimenticio y de la rapidez de ejecución o de la exactitud deseada. Por ejemplo, en el control del contenido de humedad durante la concentración de productos de tomate y jugos de

frutas, es más importante saber cual es el contenido de sólidos en un momento determinado que el contenido exacto de agua.

4.1.1. Estructura

El agua posee propiedades anómalas y muy diferentes a las de compuestos similares, un menor peso molecular, puntos de fusión y ebullición muy diferentes a los esperados. Se sabe que tanto el punto de fusión como el de ebullición son directamente proporcionales al peso molecular de las sustancias, sin embargo en el caso del agua esta regla no se cumple. Estas propiedades anómalas se atribuyen a la estructura química del agua, la cual posee fuerzas de atracción que producen una cohesión interna muy importante.

La molécula del agua no es lineal, es altamente polar, constituida por dos átomos de hidrógeno unidos covalentemente a un átomo de oxígeno. Los seis electrones de valencia del oxígeno en la molécula del agua están hibridizados a cuatro orbitales sp^3 , que se elongan en las esquinas de tal forma que deforman la molécula, dando origen a un tetraedro imaginario. En esta molécula se tienen dos orbitales unidos covalentemente en un ángulo de 105° y dos orbitales libres. Cada molécula de agua esta coordinada tetraédricamente con otras cuatro moléculas de agua a través de uniones con el hidrógeno.

4.1.2. Métodos de secado

Estos son los métodos mas comunes, se basan en la pérdida de peso que sufre la muestra al ser colocada dentro de un gabinete a temperatura controlada, generalmente entre $70 - 130^\circ\text{C}$.

Dentro del equipo que se utiliza se encuentran las estufas, estufas por convección de aire, y las estufas a vacío. De éstas, se considera que la mejor alternativa es el empleo de las estufas a vacío, ya que con éstas se reduce la temperatura y el tiempo de secado, además de que permite analizar mayor variedad de alimentos.

En el caso de las estufas a vacío, el tiempo es mucho menor, y las temperaturas, por debajo de los 70°C. Con este equipo se puede llegar a determinar humedad en alimentos como el aguacate, nueces, alimentos ricos en grasas; también productos cárnicos y cereales y derivados. En este caso se debe tener control sobre el vacío, ya que cuando se aplica el vacío inadecuado, puede ocasionar la explosión de la muestra.

4.1.3. Preparación de la muestra

Las muestras se preparan para la determinación de humedad, en una gran variedad de formas. Los productos líquidos como bebidas, vinos, jarabes o purés usualmente se mezclan y se lleva a cabo un presecado antes del secado final. Este presecado puede ser simplemente la evaporación de 20-50 mL del líquido a una consistencia viscosa en un baño de agua. Estas condiciones de presecado no están especificadas con precisión y cuando se fija el período de secado final puede originar error. Las muestras de frutas y productos derivados se homogenizan hasta obtener una pasta uniforme así como la carne y productos marinos. En el caso de cereales o alimentos deshidratados con un contenido de humedad debajo del 10%, el tamaño de partícula afecta la determinación de humedad por lo que se recomienda que la molienda sea lo suficientemente fina.

4.1.5 Trabajo en laboratorio y método de análisis

Según los análisis que se realizan se determinaran y explicaran los procedimientos de laboratorio.

4.1.6. Humedad

PRINCIPIO

Desprendimiento de la humedad de las muestras líquidas y sólidas se realiza en estufa eléctrica 65 ° C, temperatura en la cual el agua de la muestra es liberada completamente en el tiempo de 16 horas. Por diferencia de pesos se determina el porcentaje de humedad en la muestra.

PUNTOS CRÍTICOS Y PRECAUCIONES

Si la muestra es líquida, debe ser secada a temperatura moderada en una estufa eléctrica o baño de arena, para recién ser introducida a la estufa por 25 horas

No mezclar en la estufa muestras líquidas con sólidas, porque las muestras líquidas tienen mayor desprendimiento de agua humedeciendo así a las sólidas, este factor nos podría dar un margen de error en la determinación de humedad.

El material a utilizar debe estar perfectamente limpio.

PROCEDIMIENTO

Se pesa 2 g de muestra por duplicado, en las cápsulas.

Si la muestra es seca se introduce directamente en la estufa eléctrica, pero si es líquida se seca en baño de arena o estufa a temperatura moderada antes de ser introducida en la estufa (para que no exista pérdida de muestra durante la ebullición de la misma), se ponen las cápsulas en la estufa a 65 ° C por toda la noche.

Al día siguiente se apaga la estufa, encender la bomba para extraer el vapor de agua que desprendieron las muestras por 10 minutos, esperar que enfríe un poco, sacar las cápsulas y llevarlos a desecador.

Una vez completamente frías las cápsulas se las pesan y se obtienen los resultados.

CÁLCULOS

Cálculos:

$$\% H = \left(\left(\frac{m_2 - m}{m_1 - m} \times 100 \right) - 100 \right)$$

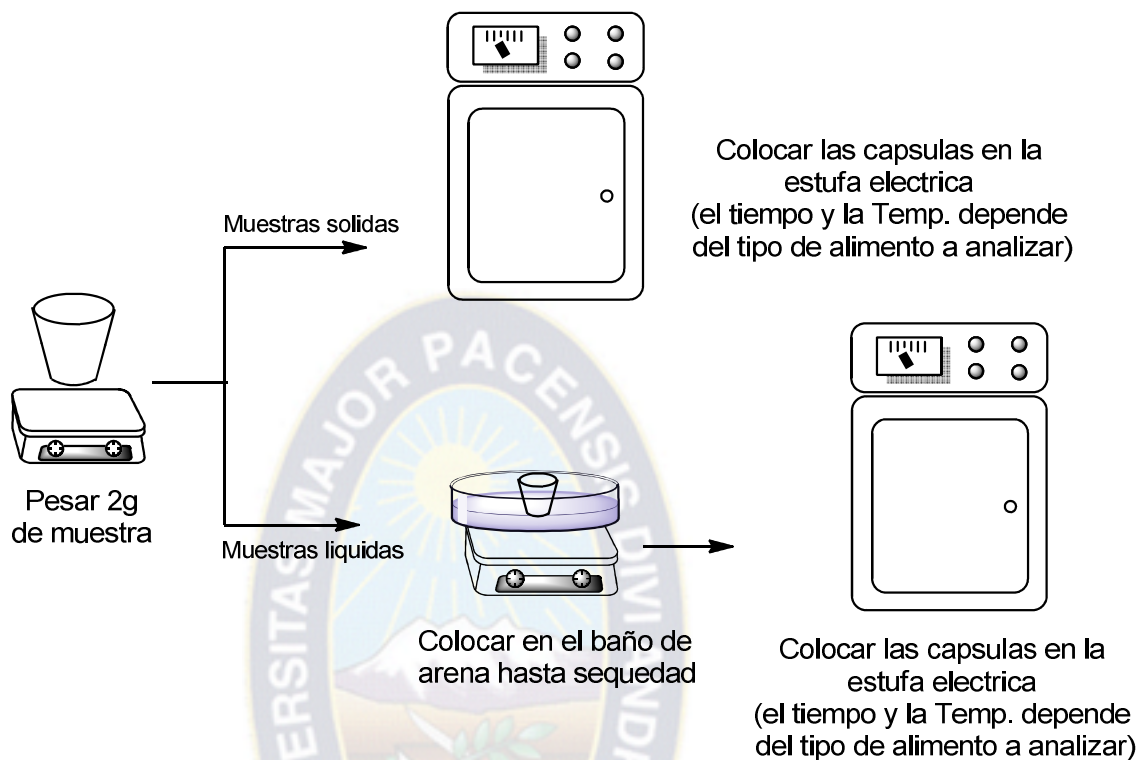
m : Pesar las cápsulas

m1: masa de la muestra húmeda con la capsula

m2: masa de la muestra seca con la capsula

PARTE PRÁCTICA

Sol. de cenizas



5. DEFINICIÓN

Residuo inorgánico que queda después de incinerar un material orgánico. El contenido de cenizas indica la concentración de minerales totales presentes en el alimento.

Cuando los alimentos y productos alimenticios se calientan a temperaturas entre 500° - 600° °C, el agua y otros componentes volátiles se desprenden como vapores y los constituyentes orgánicos se oxidan en presencia del oxígeno del aire a dióxido de carbono y óxidos de nitrógeno y también se eliminan junto con el hidrógeno como agua. El azufre y el fósforo presentes se convierten en sus óxidos y si no están presentes cantidades suficientes de elementos alcalinos o alcalino térreos, pueden perderse por volatilización. Los constituyentes minerales permanecen en el residuo como óxidos, sulfatos, fosfatos, silicatos y cloruros, dependiendo de las condiciones de

incineración y de la composición del alimento. Este residuo inorgánico constituye la ceniza de los alimentos.

La incineración puede llevarse a cabo sobre una flama, en una mufla, en un sistema cerrado en presencia de oxígeno o por digestión húmeda en presencia de ácido sulfúrico, nítrico y perclórico, solos o en mezcla. El término ceniza se usa solo para el residuo de la incineración bajo presión atmosférica.

Es importante establecer el contenido de cenizas en un alimento por diversas razones, dentro de las cuales se pueden mencionar:

- Ayuda en el establecimiento del valor nutritivo de un alimento.
- Puede ser indicativo de calidad, por ejemplo: harinas y azúcar, indica grado de refinamiento; gelatinas, ayuda a establecer sus propiedades funcionales; mermeladas, contenido de fruta; vinagre, origen; especias, impurezas.
- A partir de las cenizas pueden detectarse algunos compuestos tóxicos, como metales pesados, la adición de conservadores en exceso.

El propósito para el cual se prepara la ceniza, los constituyentes particulares a determinar y el método de análisis a usar determinan la naturaleza del procedimiento para cenizas.

5.1. Métodos de incineración

La eliminación de la materia orgánica puede realizarse de diferentes formas, las más conocidas son:

- a) Incineración de la muestra mediante el uso de un mechero, aunque puede efectuarse ésta empleando una parrilla eléctrica, la incineración en esta ocasión es parcial, ya que no se alcanza a quemar toda la materia orgánica, esta forma de incineración es utilizada normalmente como pre tratamiento de la muestra.
- b) Empleando un sistema cerrado, como la mufla, con este equipo se alcanzan temperaturas superiores a los 800°C, lo cual permite asegurar la

incineración total de la materia orgánica, las temperaturas empleadas normalmente son entre 500-600 °C, esta forma de incineración es la mas común.

5.2. Cenizas

PRINCIPIO

La ceniza se calienta a sequedad después de agregarle la primera porción de ácido clorhídrico para deshidratar los silicatos y volverlos insolubles ya que cuando están en solución interfieren en la determinación de fósforo y hierro. En la siguiente etapa la ceniza se calienta con ácido por segunda vez, para hidrolizar los pirofosfatos, ya que este interfiere en la determinación de hierro.

PUNTOS CRÍTICOS Y PRECAUCIONES

No usar el baño de arena a una temperatura más elevada de lo que se debe, para que el secado del ácido clorhídrico no sea violenta, evitándose así la pérdida de hierro que se desea determinar de la muestra.

El material a utilizar debe estar perfectamente limpio, libre de impurezas para evitar interferencias.

PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

Ácido clorhídrico 1:1 – 1 litro

Medir 500 ml de ácido clorhídrico concentrado en una probeta del mismo volumen, verter todo el volumen a un balón aforado de capacidad de 1 litro, enrasar con agua destilada deionizada hasta el nivel indicado.

PROCEDIMIENTO

Se pesa el crisol limpio por duplicado, se anota el peso y se aumenta al peso 2 g de muestra.

Si la muestra es seca se incinera directamente en la hornilla eléctrica, pero si es líquida se seca en baño de arena antes de quemarla (para que no exista perdida de muestra durante la ebullición de la misma), una vez incinerada la muestra y que ya no despida vapores, se ponen los crisoles en la mufla a 550 ° C por toda la noche.

Al día siguiente se apaga la mufla, esperar que enfríe un poco, sacar los crisoles y llevarlos a desecador, una vez que estén totalmente fríos se pesan los crisoles, anotando el peso.

CALCULO DE CENIZAS

$$\% \text{ Ceniza} = \frac{((P_m - (P - P_i))}{P_m} \times 100 = \frac{P_f - P_i}{P_m} \times 100$$

Donde:

P_t = Peso del crisol + el peso de la muestra (2g)

P_i = Peso inicial de la capsula.

P_m = Peso de muestra.

P_f = Peso Después de la Mufla.

Directamente a la muestra incinerada, se adiciona 5 ml de HCl 1:1 y se lleva a baño de arena hasta completa sequedad del ácido, una vez seco se retira del baño de arena, esperar que enfríe y adicionar 2 ml más de HCl 1:1, llevándolo nuevamente al baño de arena por 10 minutos.

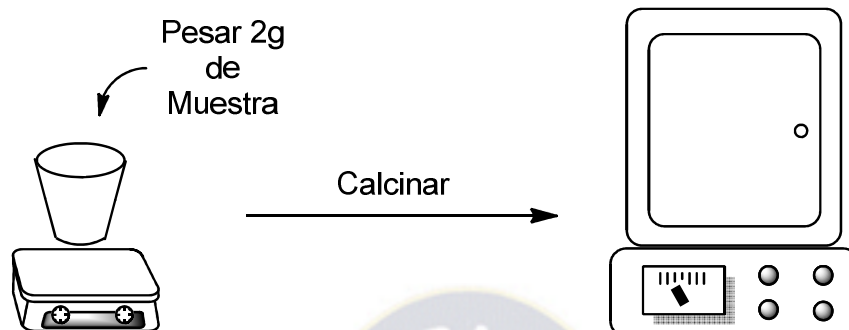
Dejar enfriar los crisoles fuera del baño de arena, una vez fríos se filtra en balones de 25 ml, con papel filtro normal, enjuagando el crisol con agua destilada deionizada.

Enrasar a 25 ml con agua destilada deionizada.

Finalmente se enrasa a 100 ml con agua destilada deionizada.

PARTE PRÁCTICA

DETERMINACIÓN DE CENIZAS



Se ponen los crisoles en la mufla a 550 °C por toda la noche. (unas 16 horas más o menos).

Figura N°1. Diagrama de la sol. de cenizas

PREPARACIÓN DE SOLUCIONES CENIZAS PARA HARINAS

PROCEDIMIENTO

Se pesa 2 g de muestra por duplicado, en crisoles. (Harina, fideo, pan, galletas, enriquecido lácteo)

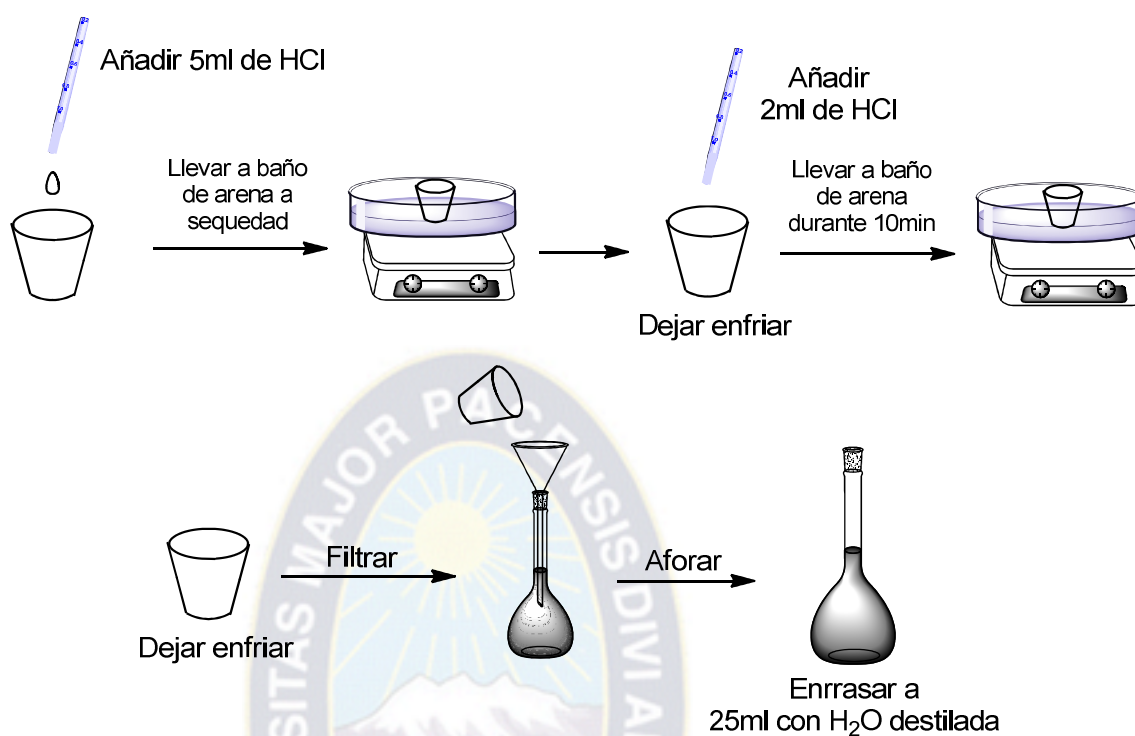
Si la muestra es seca se incinera directamente en la hornilla eléctrica, pero si es líquida se seca en baño de arena antes de quemarla (para que no exista perdida de muestra durante la ebullición de la misma), una vez incinerada la muestra y que ya no despida vapores, se ponen los crisoles en la mufla a 550 ° C por toda la noche. (Unas 16 horas más o menos).

Al día siguiente se apaga la mufla, esperar que enfríe un poco, sacar los crisoles y llevarlos a desecador.

Directamente a la muestra incinerada, se adiciona 5 ml de HCl 1:1 y se lleva a baño de arena hasta completa sequedad del ácido, una vez seco se retira del baño de arena, esperar que enfríe y adicionar 2 ml más de HCl 1:1, llevándolo nuevamente al baño de arena por 10 minutos.

Dejar enfriar los crisoles fuera del baño de arena, una vez fríos se filtra en balones de 25 ml, con papel filtro normal, enjuagando el crisol con agua destilada deionizada.

Enrasar a 25 ml con agua destilada deionizada.



6. GRASAS

Los lípidos usualmente se definen como compuestos que son insolubles en agua y solubles en solventes orgánicos, por lo que son un grupo de compuestos de estructura heterogénea del que las grasas y los aceites son los representantes más importantes, siendo además muy abundantes en la naturaleza. Están formados por carbono, oxígeno e hidrógeno y en ciertos casos también pueden contener fósforo y nitrógeno. Como ya se mencionó, los lípidos abarcan una gama muy amplia de compuestos cuya clasificación se hace al dividirlos en tres grandes grupos en función de su estructura química: Lípidos simples (ésteres de ácidos grasos y alcoholes); Lípidos compuestos (fosfolípidos; glicolípidos; lipoproteínas); compuestos asociados (ácidos grasos; alcoholes; hidrocarburos; vitaminas liposolubles).

El material graso que se extrae de los tejidos vegetales y animales por solventes como el alcohol, éter, hexano, acetona, cloroformo, benceno u otros solventes orgánicos, generalmente representa una mezcla compleja. La

mezcla depende del tejido extraído y usualmente contiene representantes de algunas o todas las clases de compuestos orgánicos como: grasas, ceras, fosfolípidos, glicolípidos y esteroides o bien productos de hidrólisis de algunos de ellos.

En el organismo se utiliza como reserva de energía, localizándose en el tejido adiposo (tejido subcutáneo de la cavidad abdominal y tejido conectivo intermuscular), son constituyentes estructurales de la membrana celular e intervienen en la regulación de algunas funciones metabólicas, también actúan como aislante y protección de órganos vitales. Por otra parte los lípidos dietarios proveen el ácido linoleico esencial y ayudan en el transporte de vitaminas liposolubles nutricionalmente esenciales.

En los alimentos los lípidos se encuentran ampliamente distribuidos y la mayoría los contienen. Las frutas y vegetales no son ordinariamente fuente de lípidos, conteniendo algunos de ellos de 0.1 a 1% de lípidos totales. Algunas frutas y vegetales contienen cantidades mayores de estos compuestos, por ejemplo: el aguacate contiene 20%, la aceituna el 19%, las nueces contienen más del 50%, pero los alimentos naturales que proporcionan grandes cantidades de estos compuestos son productos de origen animal como carne, huevo, leche y sus derivados.

El análisis de lípidos involucra:

- 1 Extracción y determinación del contenido de lípidos así como su composición.
- 2 análisis de los lípidos extraídos basados en sus propiedades físicas y químicas.

OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Cereales, granos o semillas, nueces, avellanas y avellanas.

PRINCIPIO

La grasa cruda corresponde al residuo obtenido de la extracción con éter etílico o éter de petróleo de una muestra seca y homogenizada.

PROCEDIMIENTO

Preparación de muestra:

Homogenizar y secar a $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ en estufa de aire o a 70°C al vacío de acuerdo a las técnicas según referencia, considerando el tipo de muestra.

Moler y pasar por matiz de malla 1 mm.

DETERMINACIÓN

-Realizar el análisis en duplicado:

-Secar el matraz de extracción por 30 minutos a $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$

-Enfriar en desecador y pesar. Registrar m_1 .

- Pesar al 0.1 mg. Aproximadamente 2 a 5 gr. De muestra preparada en el dedal de celulosa tapado con algodón desengrasado o en papel filtro. Registrar m.

-Colocar el dedal en el tubo de extracción y adicionar el solvente al matraz.

-Extraer la muestra con solvente por 6 a 8 horas a una velocidad de condensación de 3-6 gotas/seg.

Cuando se complete la extracción eliminar el solvente evaporando con precaución bajo campana, hasta que no se detecte olor a éter.

-Secar del matraz en estufa a $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 30 minutos, enfriar en desecador y pesar. Registrar m_2 .

CALCULO DE GRASA CRUDA:

La grasa cruda del producto expresada en porcentaje, es igual a:

$$\% \text{ grasa cruda (extracto etéreo)} = (m_2 - m_1 / m) * 100$$

$$\% \text{ grasa cruda (extracto etéreo), en base seca} = \% \text{ grasa cruda} \times 100 / 100 - \% \text{ Humedad}$$

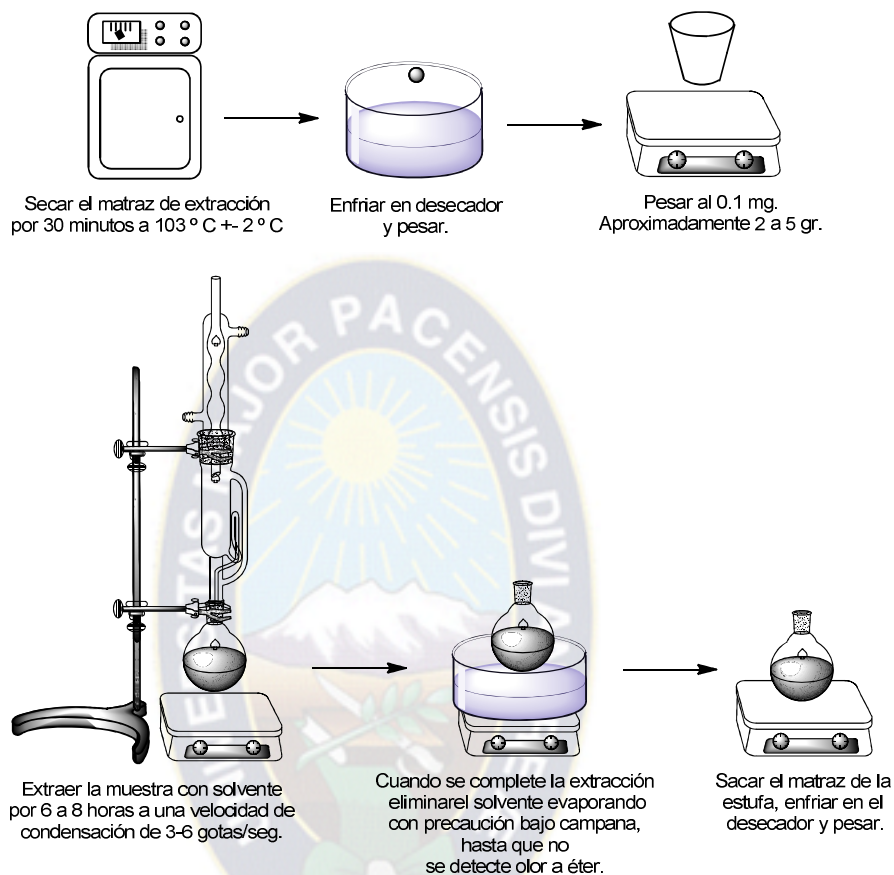
Donde:

M1 = masa del matraz vacío.

M2 = masa del matraz mas el contenido después del secado.

M = masa de la muestra en gramos

Procedimiento de la Grasa Cruda



6.1 Método de Análisis por Hidrólisis Alcalina

OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Leche y derivados lácteos.

PRINCIPIO

Corresponde a la materia extraída con mezcla de éter etílico o éter de petróleo de una muestra que ha sido previamente sometida a una hidrólisis ácida.

PROCEDIMIENTO

Preparación de la muestra:

Similar al procedimiento indicado en la técnica de grasa cruda.

DETERMINACIÓN

Realizar el análisis por duplicado:

- Pesar al 0.1 mg. Alrededor de 2g o de acuerdo al porcentaje de grasa esperado, en un vaso de precipitado de 50ml. Registrar m.

Realizar el análisis por duplicado:

- Pesar al 0.1 mg. Alrededor de 2g o de acuerdo al porcentaje de grasa esperado, en un vaso de precipitado de 50ml. Registrar m.

-Agregar 2ml. De etanol y agitar para humedecer todas las partículas.

-Adicionar 1.5ml. De NH_4OH , mezclar bien y poner en baño de agua termorregulador a $70 - 80^\circ \text{C}$ durante 30-40 minutos agitando ocasionalmente.

-Agregar 10 ml de etanol y hacer enfriar.

-Transferir la mezcla anterior al tubo Mojonnier, lavando el vaso de precipitado con 25ml. De éter agregando en tres porciones.

-Tapar con un tapón de vidrio, goma sintética u otro material que no se afecte por los solventes y agitar vigorosamente por un minuto.

-Agregar 25 ml. de éter de petróleo redestilado ($\text{P.E.} \leq 60^\circ \text{C}$) y agitar intensamente por un minuto.

Dejar decantar hasta que el liquido este claro o centrifugar por 20 min. A 600pm.

-Extraer tanto como sea posible la grasa a través de un filtro que esta formando por algodón lo suficientemente firme en el vástago del embudo para dejar pasar libremente el éter a un balón tarado que contenga perlas de vidrio. Registrar m1.

-Repetir la extracción dos veces mas con 15ml. de éter cada vez, recibiendo los extractos en el mismo balón.

-Evaporar lentamente en baño de vapor y secar la grasa en estufa a 100°C por 30 minutos.

-Retirar el balón de la estufa, enfriar y pesar. Registrar la m2.

- Realizar un análisis con un blanco de reactivos, si se usa éter redestilado.

CALCULO DE HIDRÓLISIS ALCALINA

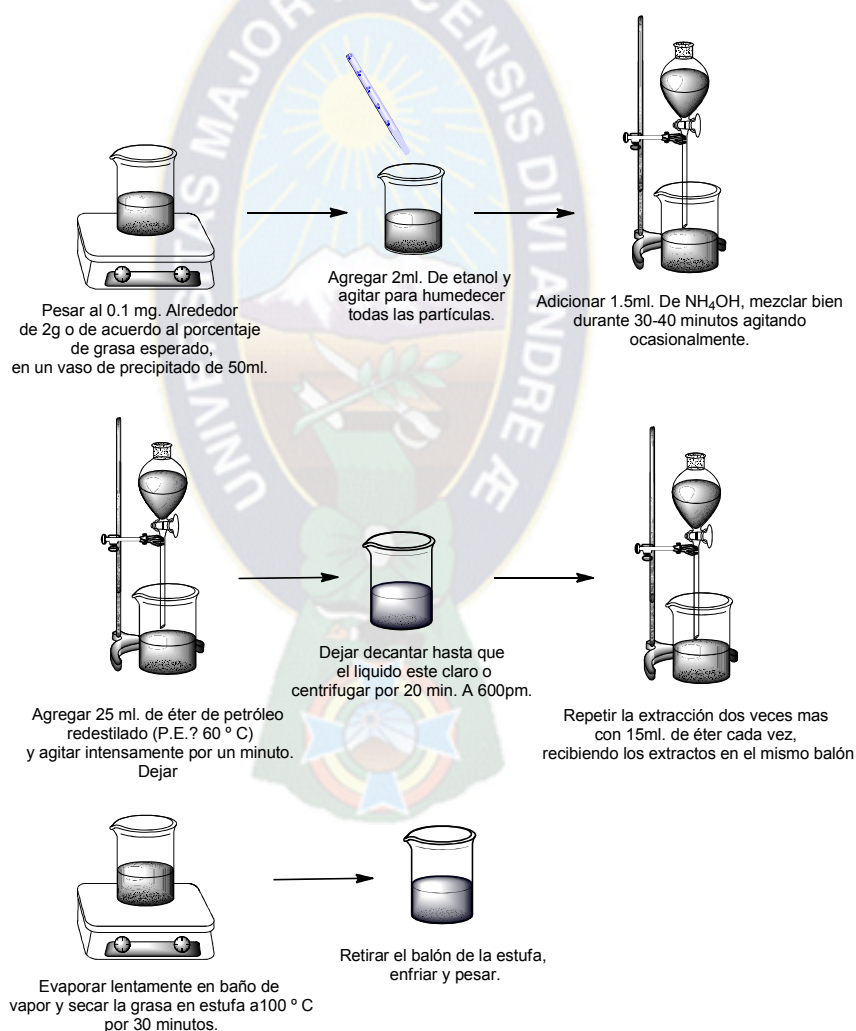
$$\% \text{ Grasa por hidrólisis alcalina} = \frac{m_2 - m_1}{m} * 100$$

Donde:

M1 = masa del matraz vacío.

M2 = masa del matraz mas el contenido después del secado.

M = masa de la muestra en gramos



6.2 MÉTODO DE ANÁLISIS POR HIDRÓLISIS ACIDA

En ciertos alimentos como huevos, productos de panificación, levaduras, harinas de pescado, etc., la extracción directa con éter no extrae toda la grasa ya sea porque el éter no penetra suficientemente las partículas para extraer toda la grasa o porque la grasa se encuentra combinada con otros constituyentes como las proteínas o los carbohidratos y no está libre. Por ello es necesario llevar a cabo una desintegración del alimento calentando con ácido el cual además hidroliza las proteínas y al almidón, destruye las paredes celulares y libera la grasa, siendo así más fácil su extracción.

La determinación de grasa en huevos por este método se lleva a cabo pesando 2 g de muestra, se digiere con 10 ml de HCl concentrado si se trata de huevo líquido o con 10 ml de HCl diluido (4+1) si se trata de huevo en polvo, por un período de tiempo de 30 minutos en un baño de agua. Después se adicionan 10 ml de alcohol y se transfiere la mezcla a un tubo de extracción del tipo Mojonnier o equipo similar para llevar a cabo la extracción con éter etílico y éter de petróleo, separando la capa etérea y evaporando los solventes para obtener la grasa, para de ahí calcular su porcentaje y reportarla como Grasa por hidrólisis.

OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Harina, huevos, productos del mar, fideos, productos horneados, mayonesa y aderezos, enlatados, cacao y derivados.

PRINCIPIO

Corresponde a la materia extraída con mezcla de éter etílico o éter de petróleo de una muestra que ha sido previamente sometida a una hidrólisis acida.

PROCEDIMIENTO

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA:

Similar al procedimiento indicado en la técnica de grasa cruda.

DETERMINACIÓN

-Realizar el análisis por duplicado:

- Pesar al 0.1 mg. Alrededor de 2g o de acuerdo al porcentaje de grasa esperado, en un vaso de precipitado de 50ml. Registrar m.

-Agregar 2ml. De etanol y agitar para humedecer todas las partículas.

-Adicionar 10ml. De HCl 825+ 11), mezclar bien y poner en baño de agua termostático a 70 ° C durante 30-40 minutos agitando.

-Agregar 10 ml de etanol y hacer enfriar.

-Transferir la mezcla anterior al tubo Mojonnier, lavando el vaso de precipitado con 25ml. De éter agregando en tres porciones.

-Tapar con un tapón de vidrio, goma sintética u otro material que no se afecte por los solventes y agitar vigorosamente por un minuto.

-Agregar 25 ml. de éter de petróleo redistilado (P.E.≤ 60 ° C) y agitar intensamente por un minuto.

-Dejar decantar hasta que el líquido este claro o centrifugar por 20 min. A 600rpm.

-Extraer tanto como sea posible la grasa a través de un filtro que esta formando por algodón lo suficientemente firme en el vástago del embudo para dejar pasar libremente el éter a un balón tarado que contenga perlas de vidrio. Registrar m1.

Retirar la extracción dos veces mas con 15ml. de éter cada vez, recibiendo los extractos en el mismo balón.

Evaporar lentamente en baño de vapor y secar la grasa en estufa a 100 ° C por 30 minutos.

-Retirar el balón de la estufa, enfriar y pesar. Registrar la m2.

- Realizar un análisis con un blanco de reactivos, si se usa éter redistilado.

CALCULO DE HIDRÓLISIS ACIDA

$$\% \text{Grasa por hidrólisis acida} = \frac{m_2 - m_1}{m} * 100$$

Donde:

m1 = masa del matraz vacío.

m2 = masa del matraz más el contenido después del secado.

m = masa de la muestra en gramos

6.3 Análisis de Fibra Cruda

FIBRA CRUDA

Fibra Cruda es el residuo orgánico combustible e insoluble que queda después de que la muestra se ha tratado en condiciones determinadas. Las condiciones más comunes son tratamientos sucesivos con petróleo ligero, ácido sulfúrico diluido, hidróxido de sodio diluido hirviendo, ácido clorhídrico diluido, alcohol y éter. Este tratamiento empírico proporciona la fibra cruda que consiste principalmente del contenido de celulosa además de la lignina y hemicelulosa contenidas en la muestra. Las cantidades de estas sustancias en la fibra cruda pueden variar con las condiciones que se emplean, por lo que para obtener resultados consistentes deben seguirse procedimientos estandarizados con rigidez.

DETERMINACIÓN DE LA FIBRA CRUDA

La fibra cruda o "bruta" es el residuo orgánico lavado y seco que queda después de hervir sucesivamente la muestra desengrasada con ácido sulfúrico e hidróxido de sodio diluidos. Aplicable a los alimentos vegetales, alimentos mixtos. No es aplicable a los alimentos de origen animal.

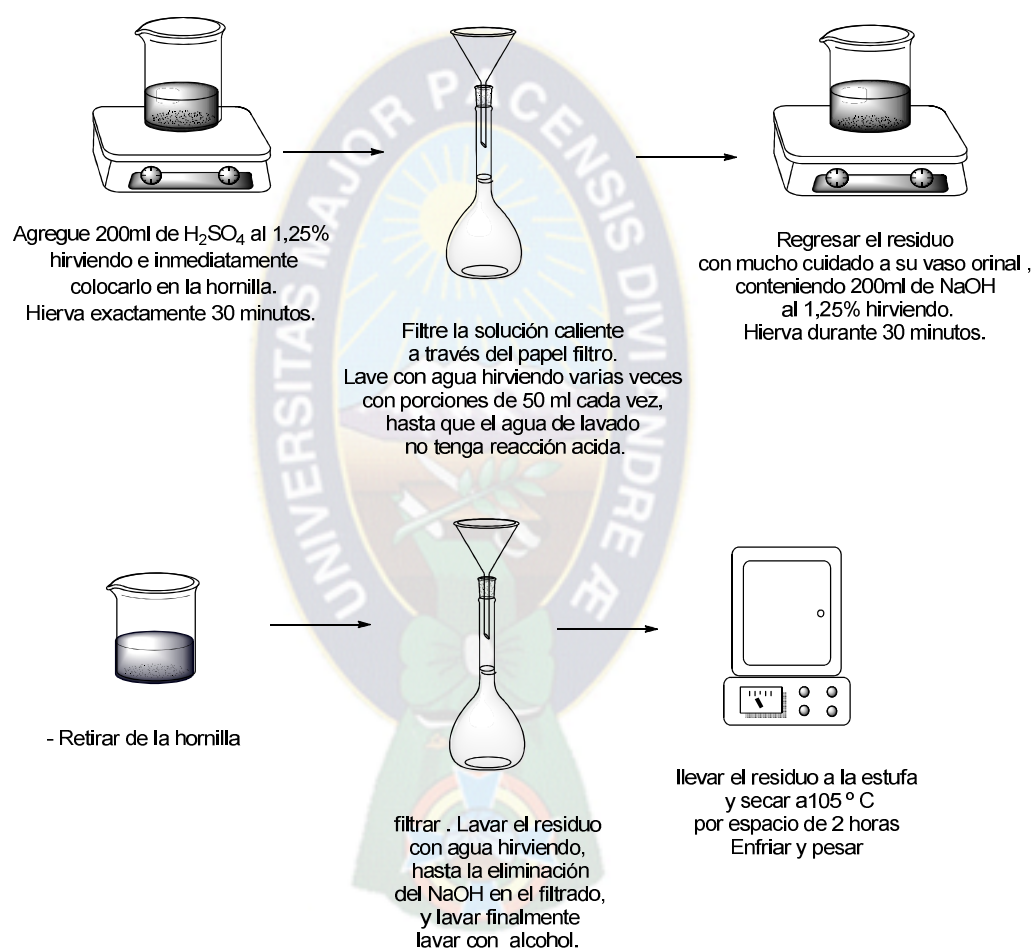
PROCEDIMIENTO

- Pesar de 1 a 2 gr. De muestra libre de grasa.
- El residuo después del extracto etéreo en la determinación de grasa es la ideal. Anote el peso "W" caliente de la hornilla.
- Estas deben estar calientes cuando los vasos se coloquen sobre ellas. Transfiera la muestra libre de grasa en cada vaso alto.
- Agregue 200ml de ácido sulfúrico al 1,25% hirviendo e inmediatamente colocarlo en la hornilla. Hierva exactamente 30 minutos.
- Filtre la solución caliente a través del papel filtro. Lave con agua hirviendo varias veces con porciones de 50 ml cada vez, hasta que el agua de lavado no tenga reacción acida.
- Filtre con succión.
- Regresar el residuo con mucho cuidado a su vaso orinal utilizando el frasco lavador, conteniendo 200ml de NaOH al 1,25% hirviendo. Hierva durante 30 minutos.

- Retirar de la hornilla, filtrar inmediatamente sobre crisol Gooch. Lavar el residuo con agua hirviendo, hasta la eliminación del hidróxido de sodio en el filtrado, y lavar finalmente con pequeñas porciones de alcohol.
- llevar el residuo a la estufa y secar a 105°C por espacio de 2 horas. Enfriar y pesar (peso P_1).
- Coloque en la mufla a $500-600^{\circ}\text{C}$ hasta que el contenido sea de color blanco (aproximadamente una hora).
- Retirar de la mufla, enfriar y pesar (peso P_2).

CALCULO DE FIBRA CRUDA:

$$\% \text{ FIBRA} = \frac{P_1 - P_2}{W} * 100$$

**7. Importancia del Consumo de los Minerales**

Dos de los minerales más conocidos e importantes son el calcio y el fósforo, por sus funciones tanto en el ser humano como en los alimentos. De ahí que se traten aparte en este apartado, haciendo la aclaración que existen otros más también importantes, como son el iodo, hierro, arsénico, cobre, entre otros.

➤ **Calcio**

Es uno de los elementos esenciales para el organismo, requiriéndose alrededor de 100 mg/d. Se sabe que la ausencia ó deficiencia puede ocasionar raquitismo y osteoporosis.

En los alimentos el calcio se puede encontrar en forma de sales inorgánicas como fosfatos o bien orgánicas como citratos, oxalatos ó fitatos de calcio, estas últimas sales son insolubles, también se puede encontrar unido a proteína (fosfocaseinato de calcio). Una de las principales funciones del calcio en los alimentos es la unirse a las pectinas y favorecer la firmeza de éstos. Pero, además de esta función popularmente conocida, el calcio también interviene en otras funciones importantes del organismo como la coagulación, la contracción muscular, las células nerviosas, las hormonas, las enzimas, el sistema urinario, etc.

➤ **Fósforo**

Para conseguir unos huesos fuertes y músculos sanos, necesitamos también ayuda del fósforo, que se absorbe paralelamente al calcio y se asimila mejor si es en compañía de la vitamina D. Representa entre el 0,8 y el 1,1% del peso total del cuerpo.

Sus funciones están relacionadas con, entre otras cosas, la metabolización de los hidratos de carbono, el almacenamiento de energía, la contracción de los músculos, la absorción de la glucosa en el intestino, los riñones, los latidos del corazón, el equilibrio ácido-base en la sangre, el tejido nervioso... En definitiva, su importancia es capital y no debe faltar en nuestra dieta.

Para que esto no suceda, existen muchos alimentos ricos en fósforo: los frutos secos, algunas hortalizas (ajo, cebolla, setas, alcachofas, coles, lechuga, apio, patata, puerro, pepino, tomate), los cereales y algunas frutas (manzana, fresa). La carne, el pescado y los lácteos también nos suministran este mineral, acompañado frecuentemente de calcio.

➤ Hierro

Hierro es otro de las sales minerales que no pueden faltar en la alimentación para la buena marcha de nuestro organismo es el hierro, cuyo papel clave es la formación de la hemoglobina. El hierro está presente en nosotros en 45 mg. por cada kilo de peso. Se trata de un elemento que pasa a la sangre en un porcentaje inferior al que contienen los alimentos ricos en el mismo.

La necesidad de hierro varía en función del estado y constitución del individuo. Las mujeres, por ejemplo, pierden mucho hierro en la menstruación, hasta 20 mg. Los neonatos poseen una reserva en el hígado innata hasta el medio año de vida. Durante la época de lactante, el bebé necesita un aporte de hierro de entre 6 y 15 mg. por día.

Por norma general, las dietas más o menos equilibradas suelen superar la cantidad mínima recomendada, pero si la vida que se desarrolla es más bien sedentaria y se superan las 2.000 calorías al día, pueden darse carencias de hierro. La carne y vísceras, la yema de huevo, los cereales integrales, los mariscos, las verduras de hoja verde, los frutos secos, las legumbres y, en menor medida, algunas frutas (pera, manzana, albaricoque, fresas, frambuesas, naranja, cerezas) son las fuentes más importantes de este mineral.

7.1. Preparación de la muestra

Antes de análisis los minerales en un alimento se aíslan normalmente de la matriz orgánica en la cual se contienen. Esto es realizado generalmente incinerando una muestra usando uno de los métodos descritos en la sección anterior. Es importante que el procedimiento de incineración no altere la concentración mineral en el alimento debido a la volatilización. Otra fuente del error potencial en análisis mineral es la presencia de contaminantes en el agua, los reactivos o la cristalería. Por esta razón, el agua y los reactivos del ultrapure debe ser utilizada, y/o un espacio en blanco se debe funcionar al mismo tiempo que la muestra que es analizada. Un espacio en blanco utiliza la misma cristalería y reactivo que la muestra que es analizada y por lo tanto

debe contener la misma concentración de cualquier contaminante. La concentración de minerales en el espacio en blanco entonces se resta del valor determinado para la muestra. Algunas sustancias pueden interferir con el análisis de ciertos minerales, y se deben por lo tanto eliminar antes del análisis o considerar en la interpretación de los datos. Los principios de un número de los métodos tradicionales más importantes para analizar los minerales se describen abajo. Muchos más métodos tradicionales se pueden encontrar en los métodos oficiales del AOAC de análisis.

7.2. Determinaciones de minerales

7.3. Determinación de calcio

La materia orgánica en un alimento que puede ser dividida en materia orgánica y inorgánica. Compuestos que contienen carbono (C), hidrógeno (H), oxígeno (O) y nitrógeno (N) son clasificados como orgánicos. Los compuestos inorgánicos o minerales son los demás elementos químicos (calcio, fósforo etc.). Cuando una muestra de alimento está colocada en un horno y mantenida a 550°C por 24 horas la materia orgánica está quemada y la materia restante es la parte mineral, llamada ceniza. En las plantas, el contenido de minerales varía entre 1 a 12%. Los forrajes usualmente contienen más minerales que semillas o granos. Los subproductos de animales que contienen huesos pueden tener hasta 30% minerales (principalmente calcio y fósforo). Minerales son frecuentemente clasificados como macro- y micro minerales. Esta distinción se basa solo en la cantidad requerida por los animales. Algunas minerales posiblemente son esenciales (por ejemplo bario, bromo, níquel) y otros son reconocidos por tener un efecto negativo en la digestibilidad de los alimentos (por ejemplo silicio).

Residuo inorgánico que queda después de incinerar un material orgánico. El contenido de cenizas indica la concentración de minerales totales presentes en el alimento. Cuando los alimentos y productos alimenticios se calientan a temperaturas entre 500° - 600°C, el agua y otros componentes volátiles se

desprenden como vapores y los constituyentes orgánicos se oxidan en presencia del oxígeno del aire a dióxido de carbono y óxidos de nitrógeno y también se eliminan junto con el hidrógeno como agua. El azufre y el fósforo presentes se convierten en sus óxidos y si no están presentes cantidades suficientes de elementos alcalinos o alcalino térreos, pueden perderse por volatilización. Los constituyentes minerales permanecen en el residuo como óxidos, sulfatos, fosfatos, silicatos y cloruros, dependiendo de las condiciones de incineración y de la composición del alimento. Este residuo inorgánico constituye la ceniza de los alimentos.

Los constituyentes de las cenizas incluyen potasio, sodio, calcio y magnesio, que están presentes en relativamente grandes cantidades, así como pequeñas cantidades de aluminio, hierro, cobre, manganeso y zinc, arsénico, iodo, flúor y otros elementos presentes en cantidades traza.

La incineración puede llevarse a cabo sobre una flama, en una mufla, en un sistema cerrado en presencia de oxígeno o por digestión húmeda en presencia de ácido sulfúrico, nítrico y perclórico, solos o en mezcla. El término ceniza se usa solo para el residuo de la incineración bajo presión atmosférica.

7.4. Determinación de hierro

Para el análisis de hierro inorgánico en alimentos, el primer paso consiste en una combustión total de la materia orgánica, por incineración de la muestra en la solución de cenizas resultante, el hierro es reducido a hierro (II) por la adición de hidroxilamina. El ión ferroso se determina espectrofotométricamente por formación de un complejo coloreado al añadir al medio alfa - alfa dipiridilo (2, 2' by piridina). La reacción de color debe llevarse a cabo, bajo condiciones controladas de pH para reducir la competencia de los iones hidronio (H_3O^+) por el ligante, por lo que se agrega una solución de acetato de sodio 2 M.

DETERMINACIÓN DE HIERRO EN ALIMENTOS

OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Determinar hierro en harinas y alimentos fortificados.

PRINCIPIO

Para el análisis de hierro inorgánico en alimentos, el primer paso consiste en una combustión total de la materia orgánica, por incineración de la muestra en la solución de cenizas resultante, el hierro es reducido a hierro (II) por la adición de hidroxilamina. El ión ferroso se determina espectrofotométricamente por formación de un complejo coloreado al añadir al medio alfa, alfa dipiridilo (2, 2' by piridina). La reacción de color debe llevarse a cabo, bajo condiciones controladas de PH para reducir la competencia de los iones hidronio (H_3O^+) por el ligante, por lo que se agrega una solución de acetato de sodio 2 M.

PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

1. Alfa alfa dipiridilo al 0.025 % en acetato de sodio 2M

En un balón de 500 ml, agregar 108.8 g. de acetato de sodio trihidratado (ó 65.58 g de acetato de sodio anhidro) y 0.10 g de dipiridilo. Agregar 400 ml de agua destilada. Disolver con ayuda de una varilla o llevar al calor del baño María para que se disuelva bien el cromógeno. Guardar en frasco de vidrio o plástico transparente. Descartar si la solución si esta se pone rosada (indicaría contaminación con hierro). Esta solución bien preparada es estable por 3 a 4 meses.

2. Hidroxilamina al 10%

En un vaso de precipitados de 500 ml, agregar 40 gr. de clorhidrato de hidroxilamina. Agregar 400 ml de agua destilada deionizada, disolver con varilla de vidrio. Transferir la solución a un frasco de vidrio o plástico con tapa hermética. La solución es estable

PROCEDIMIENTO.

En un balón volumétrico de 25 ml. o en un tubo de colorímetro calibrado, se pipetea una alícuota de la solución de cenizas del alimento, estimando que no contenga más de 0.05 mg. de hierro. Se agregan unos cristales de ácido ascórbico y se disuelven. Se agregan 5 ml. de la solución buffer y se mezcla. (Si se ha usado una alícuota de más de 5 ml. se agregan 10 ml. de la solución buffer. Se agrega 1 ml. de la solución de Alfa alfa dipiridilo completando luego a 25 ml. con agua destilada y se mezcla. Se deja en reposo por media hora más, a la temperatura ambiente y se lee la transmisión de ésta solución coloreada en un espectrofotómetro usando un filtro de 520 nm. Esperar 30 min. Para hacer la lectura

CÁLCULOS

Expresión de resultados del hierro;

$$\text{Hierro ppm} = \frac{A \times \text{FACTOR}}{m} \times 25$$

$$\text{ppm de hierro} = \frac{A \times \text{FACTOR}}{5 \times m} \times 100 \times 100$$

DONDE:

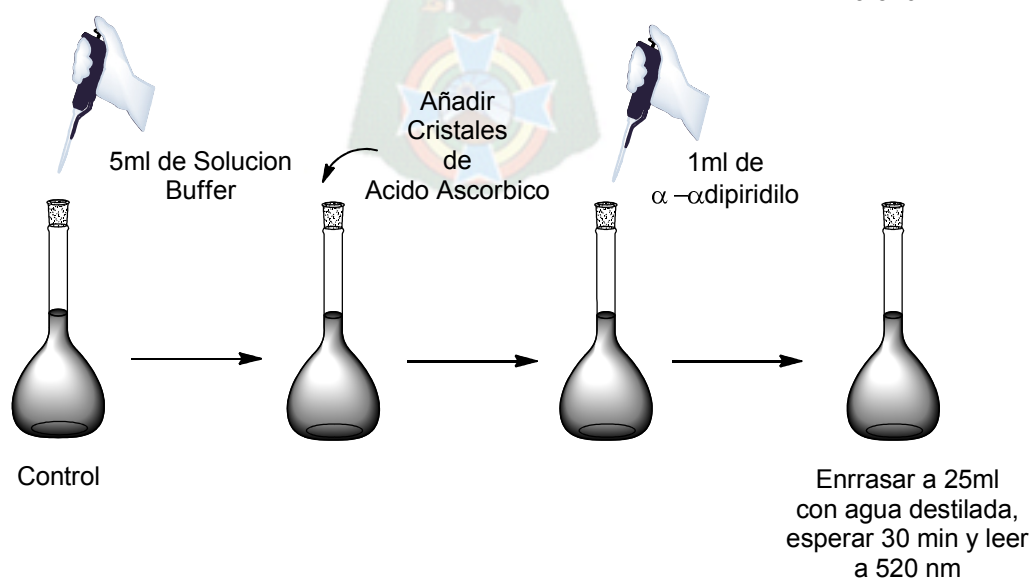
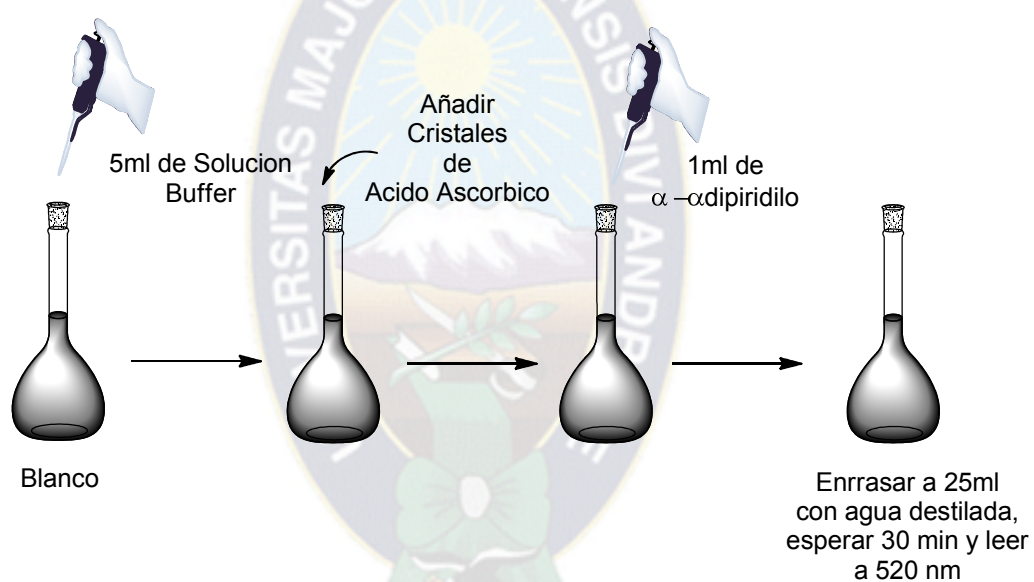
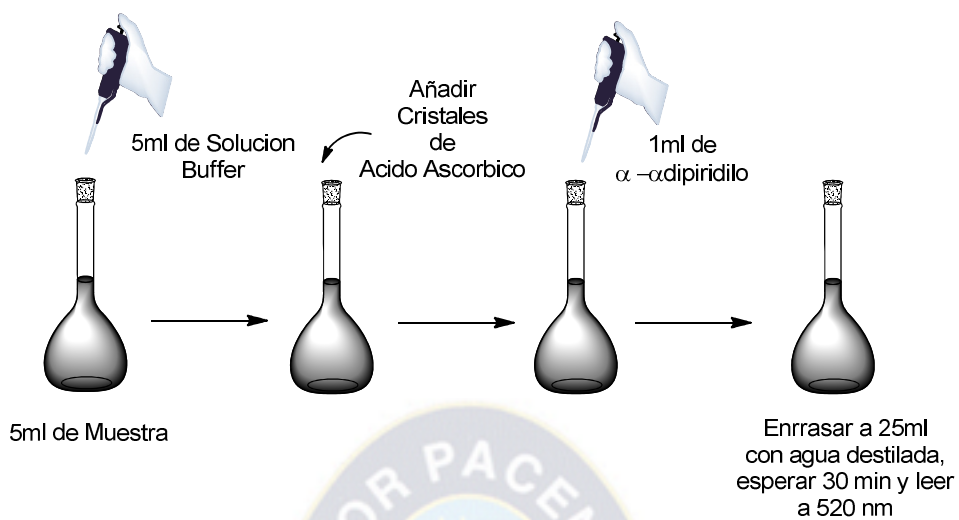
A = Absorvancia de la muestra

FACTOR. De correlación de La curva de calibración

100 Solución donde se disolvió toda la ceniza

5 alícuota de la solución de ceniza

M = masa de la muestra



7.5. Determinación de fósforo

La cuantificación del fósforo, se fundamenta en el hecho de que el fósforo en los alimentos está en forma de meta y pirofosfato, durante la digestión se transforma en ortofosfato. El ortofosfato posee la característica de que al reaccionar con el molibdato, se transforma en fosfomolibdato de amonio, el cual es incoloro. Este compuesto puede ser reducido por agentes reductores, como el sulfato ferroso, ácido ascórbico, para formar un compuesto colorido azul, denominado azul de molibdeno, el cual puede leerse a 620 nm.

El fósforo interviene en conjunto con el calcio, lípidos y proteínas, en la pared celular; además de intervenir en algunas reacciones metabólicas, principalmente durante la formación de energía. En los alimentos, intervienen en la integridad de la pared celular, ayuda a retener líquidos, por ejemplo durante la congelación de alimentos marinos se aplican polifosfatos con la finalidad de protegerlos.

La concentración de fósforo en los alimentos varía de uno a otro, como por ejemplo, leche 95 mg/100 g, carnes 115 mg/100 g, nuez 400 mg/100 g, cereales 375 mg/100 g.

Para la determinación de fósforo se puede partir de cenizas, sin embargo puede haber problemas debido a que el fósforo puede unirse a otros compuestos, lo que puede dificultar la solubilización del mismo y por ende su cuantificación. Por lo que se recomienda que se efectuara una digestión húmeda, empleando ácidos fuertes.

La función de los pasos durante esta determinación se describe a continuación:

- 1.- **Digestión:** Eliminar la materia orgánica empleando ácidos. HNO_3 , comienza la oxidación y el HClO_4 , va a terminar la oxidación.
- 2.- **Filtrado:** Se recomienda filtrar en frío, agregar un poco de agua antes de la filtración, para evitar que se quemara el papel. El objetivo de esto es eliminar sílice y otras sustancias.

3.- **Aforo:** Se emplea agua deionizada, este aforo tiene como objeto, asegurar que las lecturas caigan entre el 40 y el 70 % de transmitancia.

4.- **Molibdato:** Este va a reaccionar con el ortofosfato, formando fosfomolibdato, el cual es incoloro.

5.- **Sulfato ferroso:** Reduce al fosfomolibdato de amonio a una mezcla de óxidos de molibdeno los cuales desarrollan un color azul.

6.- **Lectura de absorvancia:** Para establecer la concentración de fósforo en la muestra, se requiere correr una curva estándar y leer en el espectrofotómetro a 620 nm.

DETERMINACIÓN DE FOSFORO

OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Determinación de fosforo en alimentos, a partir de una solución de cenizas del alimento.

PRINCIPIO

El ión orto fosfato reacciona con el molibdato de amonio, para formar un compuesto de molibdato de fósforo. El compuesto de molibdato de fósforo se reduce a azul de molibdeno con el ácido ascórbico el color azul formado está en proporción directa con el ortofosfato presente.

PREPARACIÓN DISOLUCIONES

1. Solución Buffer acetato pH 4.

En balón de 1 litro, disolver 34 g de Acetato de sodio trihidratado ó 20,49 g de acetato de sodio anhidro, disolver en agua destilada. Agregar 60 g (57 ml) de ácido acético glacial y enrasar a 1 litro con agua destilada deionizada.

2. Solución de ácido ascórbico

Puede hacerse en ácido oxálico 0.5 % - 1 %. Entonces:

3. Ácido oxálico al 0.5 % - 1 %

Pesar 5 g de ácido oxálico y enrasar a 1 litro con agua destilada (0.5 %) ó pesar 10 g de ácido oxálico y enrasar a 1 litro con agua destilada (1%).

Finalmente para la solución de ácido ascórbico, pesar 1 g del mismo y diluir en 100 ml de ácido oxálico preparado.

4. Molibdato de amonio al 1 %

En un balón de 500 ml disolver 12,5 g de molibdato de amonio, con aproximadamente 100 ml de agua destilada, 150 ml de ácido sulfúrico 10 N y llevar a volumen de 500 ml con agua destilada

5. Solución estándar de fósforo. (Sol. A)

En un balón de 250 ml disolver 1.097 g de fosfato de potasio dihidratado H_2KPO_4 , en agua destilada, agregar 10 ml de ácido sulfúrico 10 N, mezclar cuidadosamente y llevar a volumen de 250 ml con agua destilada. Conteniendo esta solución **1 mg de P / ml**.

6. Ácido sulfúrico

Para preparar 250 ml.

$$\frac{250 \text{ ml de solución}}{36.8} \times 10 \text{ N} = 67.9 \text{ ml de ácido sulfúrico concentrado}$$

Entonces medir 68 ml de ácido sulfúrico concentrado, introducirlo poco a poco, en un balón de 250 ml que contenga un poco de agua destilada. Enfriando en un baño de hielo y enrasar a 250 ml con agua destilada.

Curva estándar

Se prepara una solución estándar (Sol. B) de trabajo, por dilución de 5 ml de la solución estándar (Sol. A.) de fósforo a 100 ml con agua destilada en balón de 100 ml.

De esta solución se toman alícuotas de 1, 2, 3, 4 y 5 ml en balones de 100 ml y se realiza la determinación directa de fósforo por el macro método, Teniendo que:

Se parte del estándar con una concentración de 1 mg P / ml (Sol. A)

Se toma 5 ml (Sol. A) para llevar a 100 ml de agua destilada deionizada obteniendo una concentración de 0.05 mg / ml

Entonces estas soluciones contienen 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 mg P / ml.

PROCEDIMIENTO

Macro método

Se realiza en balones de 100 ml.

	BLANCO	MUESTRAS	CONTROL
Blanco	1 ml	-----	-----
Muestras	-----	1 ml	-----
Control	-----	-----	1 ml
Buffer acetato pH 4	10 ml	10 ml	10 ml
Ácido ascórbico al 1 %	1 ml	1 ml	1 ml
Molibdato de amonio al 1 %	10 ml	10 ml	10 ml

Enrasar a 100 ml con agua destilada

Agitar.

Dejar en reposo por 30 minutos a temperatura aproximadamente de 18 °C

Leer a 620 nm.

CALCULO:

$$\text{Resultado} = \frac{\text{DO.} \times \text{Factor}}{1 \times \text{Peso Ceniza}} \times 100 \times 100$$

Micro método

Se realiza en balones de 25 ml.

	BLANCO	MUESTRAS	CONTROL
Blanco	0.250 ul	-----	-----
Muestras (sol. de ceniza)	-----	0.250 ul	-----
Control	-----	-----	0.250 ul
Buffer acetato pH 4	2.5 ml	2.5 ml	2.5 ml
Ácido ascórbico al 1 %	0.250 ul	0.250 ul	0.250 ul
Molibdato de amonio al 1 %	2.5 ml	2.5 ml	2.5 ml

Enrasar a 25 ml con agua destilada, en balones de 25 ml.

Agitar

Dejar en reposo por 30 minutos a temperatura aproximadamente de 18 °C

Leer a 620 nm.

CÁLCULOS

$$\text{Resultado} = \frac{\text{DO.} \times \text{Factor (0.926)}}{0.250 \text{ (muestras)} \times \text{Peso muestra}} \times 25 \text{ (Vol. final)} \times 100$$

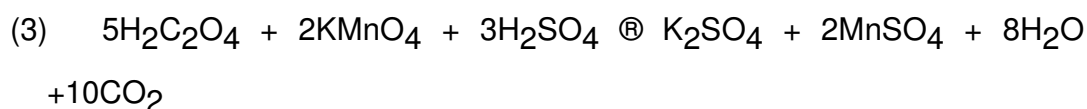
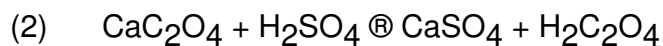
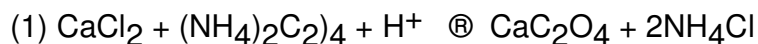
DETERMINACIÓN DE CALCIO

Existen numerosos métodos para establecer el contenido de calcio en los alimentos, uno de los más conocidos es el que se basa en la precipitación del calcio mediante la utilización de oxalato de amonio.

Para efectuar la determinación de este mineral se parte de las cenizas obtenidas del alimento, el objeto de la incineración es la de eliminar la materia orgánica; el siguiente paso es el de disolver estas cenizas con HCl, esta parte tiene como objeto solubilizar al calcio. Una vez que se tiene solubilizado al calcio se precipita como oxalato de calcio, empleando para ello oxalato de amonio, para posteriormente filtrar y lavar dicho precipitado con hidróxido de amonio, con este lavado además de eliminar impurezas se favorece la formación del ión común. El precipitado obtenido se disuelve en ácido convirtiéndose el oxalato en ácido oxálico el cual se titula con una solución estándar de permanganato de potasio. Este último se efectúa a aproximadamente 70°C, con la finalidad de favorecer la reacción, recordando que es una reacción de óxido-reducción y que el permanganato de auto indicador en medio ácido.

La titulación determina la cantidad de oxalato presente, el cual es equivalente a la cantidad de calcio en la muestra inicial. Aunque el calcio no interviene directamente en la titulación final está relacionado estequiométricamente a la cantidad de ácido oxálico titulado, un Ca^{++} corresponde a una molécula de ácido oxálico, el cual pierde 2 electrones en la reacción subsecuente con permanganato, así el peso equivalente del calcio es la mitad de su peso atómico.

Las reacciones generales que se llevan a cabo durante la determinación de calcio se describen a continuación:



Las principales fuentes de error durante esta determinación son durante la incineración (que esta sea incompleta); durante la precipitación que no se ajuste el pH en forma correcta y no se libere el ión calcio y esto provoque que la precipitación no sea total; durante la purificación del oxalato, no se efectúen bien los lavados, ocasionando una transformación incompleta del ión común; otro error puede cometerse durante la titulación.

DETERMINACIÓN DE CALCIO

OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Alimentos en general

PRINCIPIO

Para la determinación de calcio por permanganimetría

PUNTOS CRÍTICOS Y PRECAUCIONES

Preparación de la solución estándar de permanganato de potasio debe filtrarse y conservarse en lugar oscuro en un envase de color ámbar, con 2ml de cloroformo.

PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

Solución saturada de oxalato de amonio

Se agregan aproximadamente 55 g de cristales de oxalato de amonio al litro de agua destilada. Se agita ocasionalmente y se deja reposar varios días.

Solución de Ácido acético (1:4)

Se mezcla un volumen de ácido acético glacial con 4 volúmenes de agua destilada.

Solución de rojo de metilo al 0.05%

Se tritura 0.1 g. de cristales de rojo de metilo con 2.7 ml. De solución de hidróxido de sodio 0.1 N y se lleva a 200 ml con agua destilada desionizada.

Solución de Hidróxido de Amonio (1:49)

Se mezcla un volumen de hidróxido de amonio concentrado con 49 volúmenes de agua destilada desionizada.

Solución de Ácido sulfúrico (1:4)

Se agrega un volumen de ácido sulfúrico concentrado a 4 volúmenes de agua destilada desionizada. Se enfría.

Solución de Permanganato de potasio al 0.01 N

Se pesan 0.42 g. de permanganato de potasio cristales de rojo de metilo con 2.7 ml. De solución de hidróxido de sodio 0.1 N y se disuelve en 1 litro de agua destilada. Se hierve la solución por 10 a 15 minutos, se deja reposar toda la noche o más y se filtra a través de asbesto. Se guarda en un frasco oscuro protegido del polvo y de los vapores orgánicos.

PROCEDIMIENTO

- Se toma una alícuota de 5 ml de la solución de cenizas y se colocan 2 ml de la solución saturada de oxalato de amonio e indicador de rojo de metilo 2gotas.
- Agregar 2ml de ácido acético concentrado y luego de agitar, neutralizar con hidróxido de amonio hasta color amarillo.
- Luego regular el PH hasta 4,5 – 5 con ácido acético, hasta un color rojo débil.
- Llevar a estufa por 16 horas o menos de 60 °C esto para la formación de cristales.
- Centrifugar la solución a 550 rpm.
- Desechar el remanente volteando el tubo cónico solo una vez y limpiar los bordes con papel absorbente.(ojo la operación no se debe volver a repetir cuando la solución o el liquido vuelva a bajar)

-Lavar los cristales con solución de hidróxido de amonio 1:49 – 2,5 ml, esto para limpiar la solución del indicador y eliminar los residuos de la solución oxalato de amonio concentrado que se agregó en un principio y centrifugar por 15 min. La operación de desecho y lavado se debe de repetir 3 veces.

- Por ultimo se debe agregar 2 ml de ácido sulfúrico 1:4 esto para conferir el medio ácido para la titulación.

-Se calienta la solución y se trata de que los cristales de oxalato de calcio se dispersen en la solución.

-Se titula en caliente con solución estandarizada de permanganato de potasio 0.01 N

CÁLCULOS

$$\text{mg de Calcio} = \frac{(100) \times V_g \times N \times 20}{5 \times m} \times 100$$

Donde:

(100) o (25) según la solución de cenizas que se tomo.

V_g = Volumen gastado de la solución estándar de permanganato

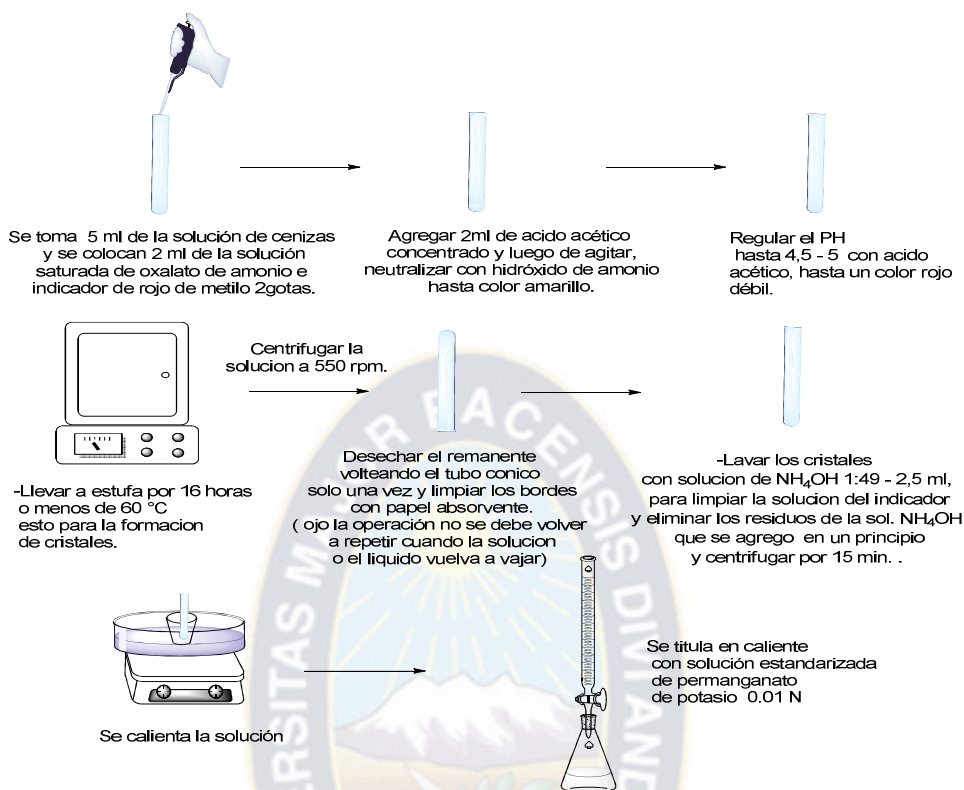
N = Normalidad verdadera de la solución de permanganato

20 = equivalente gramo del calcio

5 = Volumen de la alícuota.

M = masa de la muestra

PARTE PRÁCTICA



8. PROTEÍNAS

8.1. Importancia

Uno de los principales problemas de los gobiernos viene siendo el del suministro de cantidades adecuadas de proteínas de buena calidad a la población, ya que éstas juegan un papel muy importante dentro de la nutrición, debido a que son las responsables de numerosos procesos vitales. Dentro de las funciones de las proteínas se pueden mencionar las del crecimiento y reposición de tejidos; inmunidad; formación de enzimas y por último aportan energía. Sin embargo, cuando el organismo utiliza a las proteínas como fuente de energía le resulta muy caro, ya que disminuyen las otras funciones vitales y se entra en un estado de desnutrición, ya que se desencadenan una serie de reacciones negativas.

Aparte de su valor nutricional, las proteínas juegan un papel muy importante en las propiedades organolépticas de los alimentos. Ejercen una gran influencia sobre la textura de alimentos de origen animal, por ejemplo: el

añejamiento de la carne se asocia con cambios químicos en las proteínas. Así mismo también tienen influencia en productos de origen vegetal ya que por ejemplo, el contenido de proteínas del trigo y de harinas se considera como uno de los mejores índices de la calidad de panificación de los mismos. Para el analista de alimentos comúnmente es más importante conocer el contenido total de proteínas, aún cuando ese contenido esté formado por una mezcla compleja de proteínas. En el presente, todos los métodos para determinar el contenido total de proteínas son empíricos. El aislamiento y pesada directa de la proteína podría ser un método absoluto. Este método se utiliza frecuentemente en investigaciones bioquímicas pero se considera impráctico en análisis de alimentos, es por ello que la determinación de nitrógeno orgánico es el método más frecuentemente utilizado para determinar proteínas en alimentos.

8.2. Determinación de Proteínas

Al estudiar a las proteínas, por lo general se toman en consideración dos puntos, el aspecto cuantitativo y el cualitativo.

Cuando se desea establecer el contenido de proteínas, se parte del nitrógeno orgánico total presente en el alimento y posteriormente se utilizan factores de conversión dependiendo del método y tipo de alimento del que se trate. Además del contenido de proteínas, también es importante establecer el tipo de proteínas presentes, para lo cual se considera el contenido de aminoácidos, secuencia y tipo de éstos.

Para establecer el tipo de aminoácidos, así como la secuencia y concentración de éstos, se requieren de equipos más sofisticados. Se pueden estimar a partir de un analizador de aminoácidos, pero antes de efectuar la determinación se requiere de realizar la extracción de la proteína y de hidrolizarla, esta hidrólisis puede ser ácida ó básica, dependiendo del tipo de aminoácido a detectar, por este método se establece principalmente la concentración del aminoácido. Cuando se desea conocer secuencia se requiere una extracción y purificación de la proteína utilizando cromatografía

en materia orgánica dependen de la conversión completa de sus formas nativas de nitrógeno ya sea en nitrógeno gaseoso (Método de Dumas) o en una sal inorgánica de amonio (Método Kjeldahl). Por consiguiente el paso final involucra una determinación precisa y exacta ya sea de uno u otro de esos productos.

8.2.1. Método de Kjeldhal

Este método es más utilizado que el anterior. Se basa en la conversión del nitrógeno orgánico a una sal de amonio inorgánica, de la cual se desprende el amoníaco, recogién dose en una solución ácida.

Este método tiene dos variantes: Microkjeldhal y el Macrokjeldhal. La diferencia entre ambos estriba en la cantidad de muestra y de reactivos. También la recomendación que se hace en cada caso, con respecto al tipo de alimento a evaluar. El microkjeldhal es más recomendado para alimentos con bajo contenido de proteínas (granos y cereales), mientras que el macro con alto contenido de estas (productos cárnicos y leguminosas). Sin embargo ambos pueden aplicarse indistintamente, tomando las consideraciones pertinentes, como los reactivos a emplear.

Pasos Principales del Método Kjeldhal

a) Oxidación de la muestra.- Conversión del nitrógeno orgánico a una sal amoniacal, mediante la oxidación de la muestra con ácido sulfúrico concentrado en presencia de un catalizador de oxidación y una sal.

La muestra se introduce en el matraz Kjeldahl y se le añade ácido sulfúrico concentrado para oxidar la materia orgánica, el carbono e hidrógeno se convierten a dióxido de carbono y agua respectivamente, una porción del ácido sulfúrico se reduce en el proceso a dióxido de azufre, siendo este compuesto el responsable de la reducción de los compuestos nitrogenados a amoníaco, el cual a su vez reacciona con el ácido sulfúrico para formar sulfato de amonio.

La severidad de la reacción está determinada por la temperatura, que en este caso es el punto de ebullición del ácido sulfúrico. Normalmente la oxidación de la materia orgánica en ácido sulfúrico hirviendo es un proceso lento que

puede acelerarse por la adición de catalizadores, con este fin se utilizan las sales de sulfato cúprico; además no todos los compuestos se descomponen a la misma temperatura y muchos de ellos no se descomponen, o solo parcialmente, a la temperatura de ebullición del ácido y es necesario incrementar la severidad de la reacción por la adición de varias sales, pero principalmente por la adición de sulfato de potasio o de sodio. También con este fin se adiciona ácido fosfórico.

También se usa óxido de mercurio como catalizador, pero tiene el inconveniente de formar un complejo con el amoníaco por lo que debe precipitarse completamente, antes de la destilación, con tiosulfato de sodio o sulfuro de potasio. También se utilizan gránulos de selenio como catalizador, ya sean solos o juntos con el sulfato de cobre o con el óxido de mercurio.

El calentamiento de la muestra debe controlarse cuidadosamente, si hay un incremento en el calor el ácido sulfúrico puede proyectarse y aún romper el matraz. La digestión continúa hasta que en la solución desaparece el color café y se vuelve claro (amarillo paja, si el catalizador es óxido de mercurio; verde-azulado, sí se empleó sulfato de cobre). Después debe continuarse por un poco más de tiempo para asegurar la oxidación completa.

b) Destilación del amoniaco.- Se libera el amoniaco formado, recogiéndolo en una solución ácida.

La solución obtenida se disuelve en agua para reducir la violencia de la reacción cuando se añade el álcali. Se añade hidróxido de sodio para liberar el amoniaco del sulfato de amonio:

El amoniaco desprendido se recoge sobre una solución ácida que contiene un indicador para poner de manifiesto el vire, generalmente se utiliza rojo de metilo o una mezcla de rojo de metilo y azul de metileno. El ácido más comúnmente usado es el clorhídrico que con el amoniaco forma cloruro de amonio. Titulando posteriormente el exceso de ácido que no reacciona, con una solución estandarizada de álcali.

En el método Kjeldahl modificado por Winkler se utiliza ácido bórico que reacciona con el amoníaco liberado, formando borato de amonio, desde donde puede ser titulado directamente el amonio con una solución ácida estandarizada ya que el ácido bórico es un ácido tan débil que no afecta grandemente la concentración del ión-hidrógeno durante la titulación. La ventaja de este método es que solo se necesita una solución estandarizada, la del ácido, ahorrándose tiempo ya que la del ácido bórico no requiere estandarización (se usa una solución del 2-4%)

c) Valoración.- El amoníaco colectado se valora, en el caso de que se recoja en ácido bórico, con un ácido estandarizado generalmente HCL o H₂SO₄ 0.1N y cuando la colección se hizo en HCl se titula el exceso de ácido con NaOH 0.1N. En este último caso existe el inconveniente de que se necesitan dos soluciones valoradas, el HCl 0.1N donde se recoge el destilado y el NaOH 0.1N.

8.2.2. Determinación de Proteínas

OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Esta norma tiene por objeto determinar el contenido de proteínas totales y se aplica a todos los cereales en general en el rango de de 0,6 a 27 g/100g

PRINCIPIO

El método se basa en la destrucción de la materia orgánica con ácido sulfúrico concentrado formándose sulfato de amonio que en exceso de hidróxido de sodio libera amoníaco, el que se destila recibiendo en:

Ácido bórico formándose borato de amonio el que se valora con ácido clorhídrico

PUNTOS CRÍTICOS Y PRECAUCIONES

Se debe tener cuenta la pesada de de la muestra.

Se debe tener cuenta que la muestra no se quede en las paredes del tubo

En la quema de la sustancia orgánica se debe tener en cuenta los tiempos

No se debe permitir que la muestra llegue a sequedad

PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

Solución de Ácido Bórico al 2%

Pesar 2 g de ácido bórico, disolver en agua destilada previamente hervida y fría, llevar a volumen de 100 ml.

Solución de hidróxido de sodio al 40 %

Pesa 40 g de hidróxido de sodio p.a. Disolver en agua destilada, enfriar en un baño de agua fría, llevar a volumen de 100 ml.

Solución de Ácido clorhídrico 0,02 N

Medir 1,74 ml de ácido clorhídrico p.a. en un matraz aforado de 1000 ml, enrasar con agua destilada y valorar frente a carbonato de sodio

También se puede utilizar una solución concentrada "Titrisol" para preparar la solución volumétrica de la concentración deseada.

Indicador para titulación

a) Preparar solución alcohólica de rojo de metilo al 0,1 %

Pesar 0,1 g de rojo de metilo transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en alcohol y llevar a volumen de 100 ml con alcohol.

b) Preparar solución alcohólica de verde de bromocresol al 0,1%.

Pesar 0,1 g de verde de bromocresol; transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en alcohol y llevar a volumen de 100 ml con alcohol.

Mezclar 1 parte de la solución alcohólica de rojo de metilo con 5 partes de la solución alcohólica de verde de bromocresol para obtener la solución indicadora.

Catalizador

Pesar 100 g de sulfato de cobre y 300 g de sulfato de potasio mezclar bien y guardar en un frasco oscuro bien tapado.

PROCEDIMIENTO

Pesar una cantidad de muestra aproximadamente a 0,1 g. (Como máximo 100 mg de materia orgánica seca) que requiera aproximadamente 3 ml a 10 ml de HCl 0,02 N para su titulación.

Transferir a un tubo o matraz de digestión, agregar 1 g de la mezcla sulfato de cobre Cu SO_4 y sulfato de potasio K_2SO_4 , 2 ml de ácido sulfúrico H_2SO_4 y las perlas de vidrio

Si la muestra pesada es mayor de 15 mg adicionar 0,1 ml de H_2SO_4 por cada 10 mg de materia orgánica adicional.

Colocar en la unidad digestora y calentar intensamente durante 1 h o hasta obtener una solución límpida color celeste sin manchas negras.

Enfriar el tubo o matraz de digestión a temperatura ambiente, conectar el tubo o matraz a la unidad de destilación adicionar 10 ml de agua para disolver sólidos.

En un Erlenmeyer colocar 5 ml de ácido bórico 2 % (H_3BO_3) más 2 a 4 gotas del indicador bajo condensador con tip o la manguera este bien sumergido debajo de la superficie de la solución.

Adicionar 8 ml a 10 ml de hidróxido de sodio 40 % (NaOH) + $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 5% solución recolectar aproximadamente 100 ml del destilado.

Retirar el Erlenmeyer y titular con HCl 0,02 N hasta punto final color violeta o rojo claro inicial.

CÁLCULOS:

$$\text{Proteína mg \%} = N \times Vg \text{ mg} \times 0.014 \times Fc \times 100 / CM$$

N = Normalidad del ácido clorhídrico

Vg ml = Volumen gastado de HCl 0,02 N

CM = Cantidad de muestra

Fc = Factor de corrección

Fp = Factor de proteínas

9. VITAMINAS

9.1 Importancia y contenido en alimentos

La dieta es la fuente de todos los nutrientes para los seres humanos. Estos se dividen clásicamente en componentes de la dieta que proporcionan energía (carbohidratos, grasas y proteínas), fuentes de aminoácidos esenciales y no esenciales (proteínas), ácidos grasos insaturados (grasas), minerales (oligominerales), y vitaminas (compuestos orgánicos hidrosolubles y liposolubles).

Las vitaminas, a pesar de su composición química diversa, pueden definirse como sustancias orgánicas que deben obtenerse en pequeñas cantidades a partir del ambiente, porque los seres humanos no pueden sintetizarlas, o su velocidad de síntesis es inadecuada para la conservación de la salud (por ej., la producción de ácido nicotínico (niacina) a partir del triptófano). En la mayor parte de los casos, la fuente ambiental es la dieta, ya que el organismo es incapaz de sintetizarlas, pero una excepción obvia a esta regla general es la síntesis endógena de vitamina D que se puede formar en la piel con la exposición al sol, y algunas pueden formarse por la flora intestinal (las vitaminas K, B₁, B₁₂ y ácido fólico, que se forman en pequeñas cantidades en la flora intestinal), o sintetizarse en el hígado a través de sus precursores (p. ej. los carotenos, y la vitamina A)

Una vez ingerida con el alimento es absorbida al intestino, transportada a una célula y asimilada en su interior. Hay vitaminas que se transforman en coenzimas, como la vitamina B y la mayoría de las hidrosolubles, a excepción de la C. Otras vitaminas tienen otros modos de actuación. Son responsables de importantes procesos biológicos, producción del pigmento visual, necesarias para la producción de protrombina, osificación o funcionan como antioxidantes.

Las vitaminas no generan energía, son a calóricas. Sus carencias o deficiencias originan trastornos y patologías concretas.

Las vitaminas son consideradas como nutrientes porque el organismo las necesita para poder aprovechar otros nutrientes, participando en los procesos metabólicos del organismo, todas tienen un papel metabólico específico. Esta definición distingue entre vitaminas y oligoelementos

esenciales, que son nutrientes inorgánicos necesarios en pequeñas cantidades. También excluye a los aminoácidos esenciales, que son sustancias orgánicas preformadas y necesarias, que se encuentran en la dieta en cantidades mucho mayores. El término vitamina se restringe aquí para incluir únicamente las sustancias orgánicas necesarias para la nutrición de mamíferos; las sustancias requeridas únicamente por microorganismos y células en cultivo deben definirse como factores de crecimiento, para evitar afirmaciones sin fundamento científico en cuanto a su beneficio terapéutico, como las vitaminas para los seres humanos. Cuando la vitamina se encuentra en más de una forma química (p. ej., piridoxina, piridoxal, piridoxamina), o como un precursor (p. ej., caroteno para vitamina A), esos análogos a veces se denominan vitámeros.

El descubrimiento de las vitaminas se produjo a raíz de la observación de que, mientras que una dieta sintética (con carbohidratos, proteínas, lípidos y minerales, exclusivamente) no podía mantener el crecimiento de animales de experimentación, la adición de leche a la mezcla producía un alimento suficiente. El fraccionamiento de la leche permitió encontrar rápidamente que tanto la fracción grasa como la acuosa eran igualmente indispensables, y a los componentes esenciales (todavía desconocidos) se les llamó vitamina A (la presente en la grasa) y B (le presente en la fracción acuosa). En consecuencia, los estudios realizados posteriormente tuvieron muy en cuenta esta división, y todavía se consideran las vitaminas como pertenecientes a dos grandes grupos, las vitaminas hidrosolubles (solubles en agua y presentes en las partes acuosas de los alimentos) y las vitaminas liposolubles, insolubles en agua y presentes en las partes grasas de los alimentos. La fracción denominada B, resultó ser en realidad una mezcla de varias vitaminas distintas.

9.2. Clasificación de las vitaminas

9.2.1. Vitaminas hidrosolubles

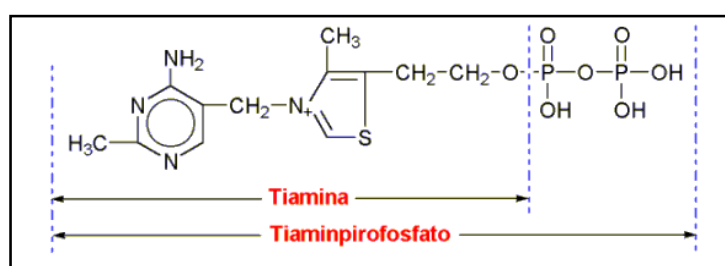
Se caracterizan porque se disuelven en agua, por lo que pueden pasarse al agua del lavado o de la cocción de los alimentos. Muchos alimentos ricos en este tipo de vitaminas no nos aportan al final de prepararlos la misma cantidad que contenían inicialmente.

A diferencia de las vitaminas liposolubles no se almacenan en el organismo. Esto hace que deban aportarse regularmente y sólo puede prescindirse de ellas durante algunos días. El exceso de vitaminas hidrosolubles se excreta por la orina, por lo que no tienen efecto tóxico por elevada que sea su ingesta.

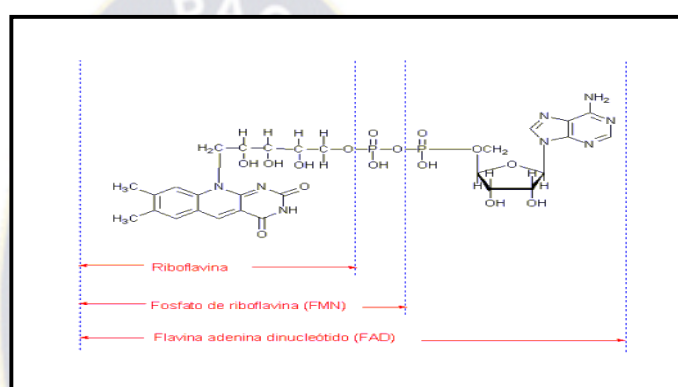
Complejo B

El complejo B comprende muchos compuestos que muestran grandes diferencias en cuanto a estructura química y efecto biológico. Se agrupan en una clase única porque originalmente se aislaron a partir de las mismas fuentes, entre las que destacan hígado y levadura. El complejo B consta tradicionalmente de 11 miembros: tiamina, riboflavina, ácido nicotínico, piridoxina, ácido pantoténico, biotina, ácido fólico, cianocobalamina, colina, inositol y ácido paraaminobenzoico. Este último no es una vitamina verdadera para cualquier especie de mamíferos, sino un factor del crecimiento para algunas bacterias, en las cuales es un precursor en la síntesis de ácido fólico. Si bien la carnitina no es un miembro tradicional del grupo, también se considera debido a su vínculo biosintético con la colina, y el reciente reconocimiento de estados de deficiencia.

Vitamina B1: tiamina Las propiedades químicas de la tiamina: contiene un núcleo pirimidina y uno tiazol enlazados por un puente metileno. La tiamina funciona en el organismo en forma de coenzima tiaminpirofosfato (TPP). Las estructuras de la tiamina y el tiaminpirofosfato son como sigue:



Alimentos ricos en vitamina B1/tiamina. Cantidad recomendada por día:
1100-1500 ng. (Cantidades expresadas en ng)



Vitamina B2: riboflavina Desde 1879 en adelante, se han aislado series de compuestos con pigmento amarillo a partir de diversas fuentes, y se han denominado flavinas, con un prefijo que indica la fuente (p. ej., lacto, ovo y hepato). Después se ha demostrado que esas diversas flavinas tienen idéntica composición química.

Entre tanto, la vitamina B hidrosoluble se ha separado en un factor termolábil contra beriberi (B₁) y un factor termoestable que favorece el crecimiento (B₂), y a la postre se apreció que los concentrados de la llamada vitamina B₂ tenían color amarillo. Todas las dudas con respecto a la identidad de la vitamina B₂ y las flavinas que ocurren de manera natural, se eliminaron cuando se sintetizó la lactoflavina, y se demostró que el producto sintético posee actividad biológica completa. La vitamina se denominó riboflavina debido a la presencia de ribosa en su estructura.

La riboflavina lleva a cabo sus funciones en el organismo en forma de una u otra de dos coenzimas, riboflavina fosfato, que suele llamarse flavina mononucleótido (FMN) y flavina adenina dinucleótido (FAD).

La riboflavina se convierte en flavina mononucleótido y flavina adenina dinucleótido mediante dos reacciones catalizadas por enzimas, que se muestran como:

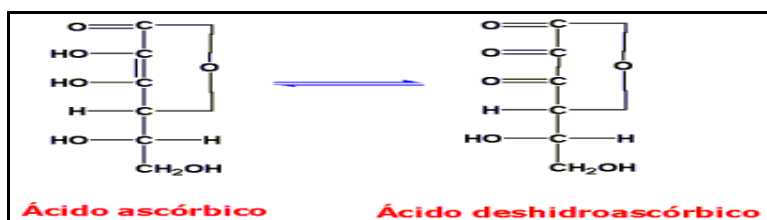
Estructura de la riboflavina, FMN y FAD. Tomado de Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica.

Vitamina C: Ácido Ascórbico. El escorbuto, la enfermedad por déficit causado por falta de vitamina C, se ha conocido desde la época de las Cruzadas, especialmente entre las poblaciones del norte de Europa que subsistían a base de dietas que carecían de frutas y verdura fresca durante gran parte del año. La incidencia de escorbuto se redujo mediante la introducción de la patata (una fuente de vitamina C) en Europa en el transcurso del siglo XVII. Sin embargo, los prolongados viajes marítimos de exploración durante los siglos XVI a XVIII, que se emprendían sin abastecimiento de frutas y verduras frescas, dieron por resultado la muerte por escorbuto de grandes números de integrantes de las tripulaciones.

El término vitamina C debe usarse como un nombre descriptivo genérico para todos los compuestos que muestran desde el punto de vista cualitativo la actividad biológica del ácido ascórbico.

El ácido ascórbico es una cetolactona de seis carbonos, que tiene relación estructural con la glucosa y otras hexosas, se oxida de modo reversible en el organismo hacia ácido deshidroascórbico. Este último compuesto posee actividad completa de vitamina C. Las fórmulas estructurales del ácido ascórbico y del ácido deshidroascórbico son las siguientes:

Ácido ascórbico y deshidroascórbico. Tomado de Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica.



El ácido ascórbico se obtiene a partir de frutas cítricas, tomates, fresas, verduras verdes, col (repollo) y patatas. Los jugos de naranja y limón son fuentes con alto contenido de la vitamina y contienen alrededor de 0.5 mg/ml (2.8 mM). El ácido ascórbico se destruye con facilidad por calor, oxidación y álcalis. Además de su participación en la nutrición, el ácido ascórbico suele utilizarse como un antioxidante para proteger el sabor y color naturales de muchos alimentos (ej., fruta procesada, verduras y productos lácteos).

9.2.2. Vitaminas Liposolubles

Son las que se disuelven en disolventes orgánicos, grasas y aceites. Se almacenan en el hígado y tejidos adiposos, por lo que es posible, tras un aprovisionamiento suficiente, subsistir una época sin su aporte.

Si se consumen en exceso (más de 10 veces las cantidades recomendadas) pueden resultar tóxicas. Esto les puede ocurrir sobre todo a deportistas, que aunque mantienen una dieta equilibrada recurren a suplementos vitamínicos en dosis elevadas, con la idea de que así pueden aumentar su rendimiento físico. Esto es totalmente falso, así como la creencia de que los niños van a crecer más cuantas más vitaminas les hagamos tomar.

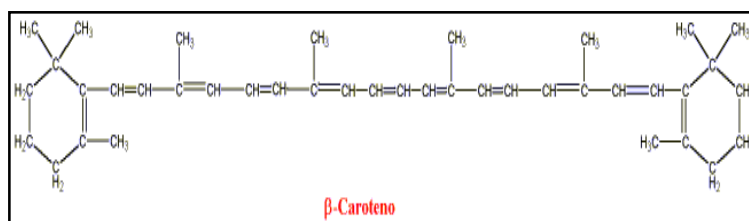
Vitamina A: Retinol. La vitamina A sólo está presente como tal en los alimentos de origen animal, aunque en los vegetales se encuentra como provitamina A, en forma de carotenos. Los diferentes carotenos se transforman en vitamina A en el cuerpo humano. Se almacena en el hígado en grandes cantidades y también en el tejido graso de la piel (palmas de las manos y pies principalmente), por lo que podemos subsistir largos períodos sin su aporte. Se destruye muy fácilmente con la luz, con la temperatura elevada y con los utensilios de cocina de hierro o cobre.

La función principal de la vitamina A es la protección de la piel y su intervención en el proceso de visión de la retina. También participa en la elaboración de enzimas en el hígado y de hormonas sexuales y suprarrenales. El déficit de vitamina A produce ceguera nocturna, sequedad en los ojos (membrana conjuntiva) y en la piel y afecciones diversas de las mucosas. En cambio, el exceso de esta vitamina produce trastornos, como alteraciones óseas, o incluso inflamaciones y hemorragias en diversos tejidos. El consumo de alimentos ricos en vitamina A es recomendable en personas propensas a padecer infecciones respiratorias (gripes, faringitis o bronquitis), problemas oculares (fotofobia, sequedad o ceguera nocturna) o con la piel seca y escamosa (acné incluido).

Su función principal consiste en la protección del tejido epitelial, en la intervención de los mecanismos que permiten el crecimiento y la reproducción y en el ciclo bioquímico de la retina (formación del pigmento rodopsina).

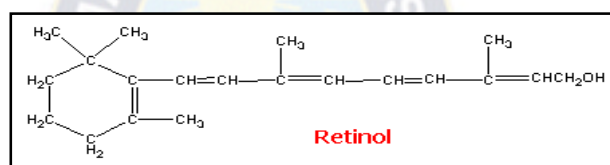
Si bien el término vitamina A se ha usado para denotar compuestos químicos específicos, como el retinol o sus ésteres, en la actualidad este término se utiliza más como un nombre descriptivo genérico para compuestos que muestran las propiedades biológicas del retinol. Retinoide se refiere a la sustancia química retinol u otros derivados estrechamente relacionados que ocurren de manera natural. Los retinoides también incluyen análogos sintéticos que muestran relación estructural, que no necesariamente tienen actividad parecida a la del retinol (vitamina A).

La observación simple efectuada por Steenbock (1919), de que el contenido de vitamina A de vegetales varía con el grado de pigmentación, preparó el camino para el aislamiento de la vitamina y el descubrimiento de la naturaleza química de la misma. Después, se demostró que el pigmento vegetal purificado caroteno (provitamina A) es una fuente muy potente de vitamina A. El b-caroteno, el carotenoide más activo encontrado en vegetales, tiene la fórmula estructural que se muestra.



Beta-caroteno. Tomado de Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica.

El retinol (vitamina A₁), un alcohol primario, existe en forma esterificada en los tejidos de animales y pescados de agua salada, principalmente en el hígado. Su fórmula estructural es como sigue:



Alimentos ricos en vitamina A. Cantidad recomendada por día: 800-1000 ng. (cantidades expresadas en ng/100 gr. Tomado de Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica.

Visceras de animales	5800
Acedera	2100
Zanahorias	2000
Espinacas (cocidas)	1000
Perejil	1160
Mantequilla	970
Boniatos	670
Aceite de soja	583
Atún y bonito	450
Quesos	240
Huevos	220
Otras verduras	130

9.2.3. Determinación de Vitamina “A”

PRINCIPIO

Para la determinación de vitamina A en alimentos se realiza la extracción de la vitamina del alimento con una solución alcohólica de hidróxido de potasio,

que rompe las proteínas y libera la vitamina que es liposoluble, la cual se une a la bencina de petróleo de la solución durante la extracción.

Luego se realiza sucesivos lavados del extracto etéreo que contiene la vitamina A, con agua destilada deionizada, permitiéndonos eliminar las sustancias colorantes y el hidróxido de potasio.

Finalmente se realiza una purificación del extracto de vitamina A en columna. La vitamina se determina espectrofotométricamente, a una longitud de onda de máxima absorción de 450 nm.

PUNTOS CRÍTICOS Y PRECAUCIONES

- Realizar la técnica en un ambiente oscuro, debido a que la vitamina A es sensible a la luz.
- Cuando el alimento contiene mucha vitamina A, se debe realizar lavados del material utilizado con bencina de petróleo, a medida que se va trasvasando la capa etérea, para no perder vitamina en las paredes del material de vidrio.
- Lavar inmediatamente el material de vidrio utilizado, para evitar contaminaciones por la adherencia de la vitamina A al borosilicato.
- Se debe realizar lavados de la columna, antes, entre muestra y después de su uso con una mezcla de éter y acetona.

PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

Solución alcohólica al 6% de hidróxido de potasio

Diluir 6 g de KOH en un balón aforado de 100 ml con un poco de agua destilada deionizada, enrasar a 100ml con etanol

Solución 1:1 de acetona y bencina de petróleo

Medir en una probeta igual cantidad de acetona y bencina de petróleo, trasvasar a un frasco con tapa hermética.

PROCEDIMIENTO

Extracción

Pesar aproximadamente 2 gramos de muestra, en papel y pasar al balón de 250ml, si la muestra contiene mucha vitamina A pesar de 0.1 ó 0.2 gramos.

Agregar 50 ml de hidróxido de potasio en solución alcohólica al 6% y 15 ml de bencina de petróleo, tapar inmediatamente con tapón de goma o de nalgene, mezclar, llevar a digestión en baño maría, conectar el balón al refrigerante, y dejar durante 30 minutos a una temperatura de 50 a 54 °C. Luego de los 30 minutos, sacar y tapar inmediatamente para no perder muestra por evaporación de la bencina de petróleo, esperar que enfríe y trasvasar el sobrenadante a un embudo de separación.

(Si la muestra tiene mucha vitamina A realizar una segunda extracción del sedimento que queda en el balón con 25 ml de KOH y 15 ml de bencina de petróleo)

Agregar a los balones que contienen el sedimento de la muestra 25 ml de etanol y 15 ml de bencina de petróleo, agitar enérgicamente durante un minuto, para agotar la extracción. Dejar sedimentar y trasvasar el sobrenadante al embudo de separación donde se encuentra el extracto etéreo y desechar el sedimento.

Al embudo de separación que contiene los extractos etéreos, agregar 50ml de Agua destilada deionizada, para eliminar los ácidos grasos indeseables, tapar el embudo y agitar fuertemente durante un minuto, teniendo cuidado de abrir la llave de rato en rato para facilitar el escape del gas, colocar el embudo en su soporte y esperar a que se separen las dos fases. La fase inferior (fase acuosa), recibir en un matraz erlenmeyer de 250 ml. La fase superior (fase etérea) que contiene la vitamina A, recibir en un erlemeyer de 50 ml. provisto de tapa.

La fase acuosa contenida en el matraz erlenmeyer de 250 ml debe ser trasvasada al embudo de separación y agregar 15 ml de bencina de petróleo, agitar por un minuto, colocar en el soporte hasta la separación de ambas fases, los extractos se reciben en el mismo erlenmeyer (de 50ml) donde se recibió el primer extracto.

Este procedimiento se repite hasta que las fase etérea no de color, una vez agotado la extracción desechar la fase acuosa.

Trasvasar el extracto etéreo del erlemeyer al embudo de separación y realizar 5 lavados con porciones de agua destilada y desionizada aproximadamente 100 ml, agitar lentamente, dejar separar, la capa acuosa recibida en recipiente se deshecha, esta operación se repite 5 veces. Si durante los lavados se forma emulsión o espuma esta se rompe agregando gotas de etanol absoluto o un chorro fuerte de agua destilada de piceta.

Preparación de la columna

Las columnas se empacan a vacío con una mezcla 1:1 de Celita y de óxido de magnesio, (previo al empaque la mezcla se humedece con gotas de agua destilada) el empaque se realiza hasta la mitad de la columna, se coloca un disco de papel filtro y encima una porción de sulfato de sodio anhidro (1 cm de altura)

Leer la muestra en el espectrofotómetro a 450 nm, utilizando como blanco bencina de petróleo.

CÁLCULOS:

$$\text{mg de caroteno \%} = \frac{\text{Factor} \times \text{D.O.} \times 100 \times 1000}{\text{Peso de la muestra} \times 4}$$

DONDE

Factor: 0.109

D.O: Absorvancia de la muestra

100: Por 100 gramos de muestra

1000: Factor de conversión de microgramo a miligramo

Peso muestra: 2g ó la cantidad pesada

4: Para obtener la equivalencia de un microgramo de actividad de vitamina A, un microgramo de otros carotenoides totales mezclados se divide por 4. (Tabla de composición de alimentos INCAP)

9.2.4 Determinación de Vitamina “A” en Aceites

PROCEDIMIENTO

- Los procedimientos de que se realizaron para el análisis de vitamina a en el espectrofotómetro se las siguen del mismo modo.
- Se filtran las soluciones de vitamina “A” en la muestra y en el estándar.
- Se conecta el equipo de HPLC y se le deja correr por lo menos media hora con el fluido transportador la cual hade ser una mezcla de éter de petróleo y alcohol ambos de grado HPLC.
- Se programa el equipo según la técnica.
- Se inyecta el estándar
- Luego se mide en el tiempo en el que sale, la presión final, el área del pico.
- Por ultimo se inyecta la muestra la cual debe de generar un pico en similar situación que la del patrón.
- Se toman las áreas y se realizan los cálculos.

CÁLCULOS:

$$\text{VITAMINA "A" mg/100g} = \frac{\text{am} \times \text{C} \times \text{V} \times 100}{\text{As} \times \text{m} \times 1000}$$

DONDE:

- V = Volumen de alícuota 50
- Am = Área de la muestra
- As = área del estándar
- C = Concentración del estándar 0.1
- M = Cantidad de muestra pesada en gramos

9.2.5 Determinación de Vitamina “C” Por el Método de Titulación Volumétrica

OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Determinación de vitamina C como ácido ascórbico, en jugos y preparaciones de vitaminas, pero también se aplica a alimentos que no tienen.

PRINCIPIO

El ácido ascórbico se reduce por un indicador de óxido de reducción, 2,6 dicloroindofenol que colorea la solución ácida. La vitamina es extraída, y se realiza una valoración en presencia de una solución de ácidos (metafosfórico y acético) o (ácido metafosfórico, acético, acético y sulfúrico) que mantienen la acidificación apropiada para la reacción y evitan la auto oxidación del ácido ascórbico a elevado PH.

PUNTOS CRÍTICOS Y PRECAUCIONES

En caso de frutas frescas se debe trabajar con el jugo de la misma para facilitar el proceso de filtrado.

Tanto la solución de extracción como la del 2,6 dicloroindofenol, deben ser guardadas en frascos ámbar en refrigerador.

Cada vez que se realiza un análisis de muestras se debe verificar que este bien el reactivo 2,6 dicloroindofenol

PREPARACIÓN DE REACTIVOS

a) solución de extracción

1. Solución de ácido metafosfórico y ácido acético. Disolver agitando 15 g de ácido metafosfórico en 40 ml de ácido acético glacial y 200ml de agua destilada, diluir a 500 ml y filtrar rápidamente con papel filtro. (El ácido metafosfórico HPO_3 cambia lentamente a ácido ortofosfórico H_3PO_4 , pero si es guardado en refrigerador la solución es estable por 7 a 10 días).

2. Solución de ácido metafosfórico y ácido acético y ácido sulfúrico. Proceda como el paso 1, pero reemplace el agua por H_2SO_4 , 0,3 N.

b) solución estándar de ácido ascórbico (1mg/ml)

Pesar con todo cuidado 100mg (0,1g), que haya sido guardada en desecador sin exposición a la luz directa del sol. Transferir a un matraz aforado de 100ml y aforar con la solución de extracción 1 (ácido metafosfórico y acético).

c) Solución de 2,6 dicloroindofenol

En un matraz aforado de 250ml, disolver 50mg (0,05g) de 2,6 dicloroindofenol, que haya sido guardado en desecador en, 50ml de agua a la cual se le ha añadido 42 mg (0,042g) de bicarbonato de sodio, mezcle y cuando el colorante este disuelto diluya a 200ml con agua destilada. Filtrar y guardar en frasco ámbar, tapado, al abrigo de la luz y en refrigerador. Para probar si esta bien el reactivo, añadir 5 ml de la solución de ácido ascórbico a 15 ml de reactivo de 2,6 dicloroindofenol, la solución no debe presentar color, si existe color descartar el reactivo y preparar uno nuevo.

Estandarice el indofenol inmediatamente después de preparar.

Estandarización: A tres erlenmeyer de 50ml colocar 2ml de la solución estándar de ácido ascórbico, a cada una añadir 5 ml de la solución de extracción (ácido metafosfórico y acético). Titule rápidamente con la solución de extracción de 2,6 dicloroindofenol, usando una bureta de 25 ml, hasta obtener un color rosado suave que persista por 5 segundos. Cada titulación requiere alrededor de 15 ml y las titulaciones no deben diferir en más de 0,1 ml de diferencia. Titule también 3 erlenmeyer blanco, que contengan 5 ml de la solución de extracción más 2 ml de agua.

Después de extraer el promedio de los blancos que no deben variar en más de 0,1 ml de las titulaciones, calcule y exprese la concentración de la solución de 2,6 dicloroindofenol, como mg de ácido ascórbico equivalentes a 1ml de reactivo. Estandarice la solución de indofenol diariamente con la solución de ácido ascórbico recién preparado.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

a) Para muestras secas que no contengan sustancias básicas pulverizar la muestra, adicionando la solución (1) de extracción, y triturar la muestra en suspensión. Diluir con la solución (1) de extracción, medir el volumen y designar este volumen como V ml

(Use 10ml de la solución de extracción por g de muestra seca. La solución final contendrá 10 a 100mg de ácido ascórbico/100ml)

b) Para muestras líquidas. Tome una cantidad de muestra que contenga 100mg de ácido ascórbico. Si existe presencia de sustancias básicas, ajustar el PH a 1.2 con la solución (2) de extracción. Diluir con la solución (1) de extracción, medir el volumen que contiene 100mg 10 – 100mg de ácido ascórbico/100ml, designar este volumen como V ml.

c) Para jugos de frutas y vegetales moler, licuar la muestra, hasta obtener una muestra uniforme, filtrar con algodón o papel filtro delgado. Preparar jugos frescos exprimiendo las frutas y filtrado. Mezcle un a alícuota de por lo menos 100ml de jugo con una porción igual de la solución de extracción (1) y filtre. Designar este volumen como V ml.

Titular una alícuota de 10 ml=Y

PROCEDIMIENTO

Titular por duplicado, una alícuota de la muestra, que contengan aproximadamente 2mg de ácido ascórbico y titular también el blanco (agua y solución de extracción 1) hasta color rosa tenue persistente por 10 segundos.

CÁLCULOS:

$$\text{Mg Ac. Ascórbico/g} = (X - B) \times (F/E) \times (V/Y)$$

DONDE:

X = ml de 2,6 dicloroindofenol gastados en la titulación de la muestra

B = ml de 2,6 dicloroindofenol gastados en la titulación del blanco

F = mg de ácido ascórbico equivalente a 1ml de 2,6 dicloroindofenol

E = g, ml de muestra

V = Volumen inicial de muestra mas solución de extracción

Y = Volumen de muestra (alícuota) titulada

El resultado se debe multiplicar por 10ml expresar de Acido ascórbico/ 100g de muestra.

Para realizar el calculo de F, se debe tomar en cuenta que se titula 2ml de sol. Estándar (1mg/ml),

Entonces tenemos 2 mg de acido ascórbico en la alícuota que se titula a esta concentración corresponde el volumen gastado de 2,6 dicloroindofenol.

Ejemplo si gastamos 16,3 ml en la titulación:

2 mg ----- 16,3 ml 2,6 dicloroindofenol

X mg ----- 1 ml 2,6 dicloroindofenol

X=F=0,122 mg de acido ascórbico equivalente a 1ml de 2,6 dicloroindofenol.

DETERMINACIÓN DE VITAMINA B₁ TIAMINA POR HPLC

Preparación de reactivos

a) Solución estándar de Tiamina 100ug. Pesar en un vaso de precipitado de 10ml 2,5mg de Tiamina, llevar a un matraz aforado de 25ml. poco a poco diluyendo y enjuagando el vaso de precipitado con la solución de H₂ SO₄ 0,1 M.

b) H₂ SO₄ 0,1 M. Añadir 5ml de H₂ SO₄ concentrado a un poco de agua en un matraz aforado de 500ml, llevar a volumen con agua destilada.

c) Suspensión al 10% de enzima Takadiastasa. Preparar justo antes de usar, pesar en un vaso de precipitado de 50ml 0,1 g (para 1 muestra) de enzima Takadiastasa, añadir 1 ml de

Agua destilada y dejar hidratar, tarda en disolver

d) KOH al 30% p/v. En un vaso de precipitado de 50ml pesar 7,5 g de KOH y disolver a

25 ml con agua destilada.

e) Ferricianuro de potasio al 5%. Pesar 1,25 g de Ferricianuro de potasio en un vaso de Precipitado de 50 ml diluir con un poco de agua y llevar a un matraz aforado de 25ml, Llevar a volumen con agua destilada.

f) Reactivo oxidante en un vaso de precipitado de 50ml poner 20ml de KOH al 30% mas 1,2 ml de Ferricianuro de potasio al 5%.

g) Acetato de sodio 2.5 M. Pesar 34.2g de Acetato de sodio en un vaso de precipitado disolver con un poco de agua y llevar a un matraz aforado de 100ml, enrasar a volumen con agua destilada.

PROCEDIMIENTO

- Pesar 2g de muestra en un erlenmeyer de 250ml y añadir 25 ml de H₂ SO₄ 0,1 M. añadir 0,4 ml de parafina líquida.
- Cubrir el erlenmeyer con papel aluminio, amarrar este con trozo de cordel y colocar en el autoclave, enfriar a temperatura ambiente, añadir 2ml de acetato de sodio 2,5 M y ajustar el pH a 6,9 con NaOH 30%
- Añadir 1 ml de suspensión enzimática al 10% y mantener en baño maría a 20 °C por 20 min.
- enrasar a 50ml con agua destilada en un matraz aforado, filtrar con papel filtro
- Tomar 2ml de la solución filtrada en un tubo de ensayo largo con tapa y añadir 2ml del reactivo de oxidación, agitar con el vortex por 90 min.
- Añadir 2 ml de isobutanol y agitar con el vortex por 40 seg. Centrifugar
- Transferir 1 ml del sobrenadante a otro tubo de ensayo donde tiene 1 ml 80,49 de etanol absoluto al 95% y agitar en el vortex.
- Filtrar la solución por una membrana de 0,45 um e inyectar en el HPLC

CÁLCULOS:

Inyectar el estándar y la muestra por duplicado y sacar promedios de las áreas, para aplicarla siguiente fórmula.

$$\text{Tiamina mg/100g} = \frac{a_m \times C \times V \times 100}{a_s \times m \times 1000}$$

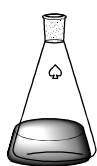
DONDE:

V = Volumen de la alícuota

Am = Área de la muestra

As = Área del estándar de 100ug/ml

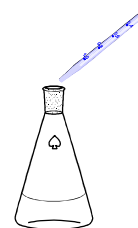
C = Concentración de estándar



Pesar 2g de muestra en un erlenmeyer de 250ml y añadir 25 ml de H₂ SO₄ 0,1 M. añadir 0,4 ml de parafina líquida.



Cubrir el erlenmeyer con papel aluminio, amarrar este con trozo de cordel y colocar en el autoclave, enfriar a temperatura ambiente, añadir 2ml de CH₃COONa 2,5 M y ajustar el pH a 6,9 con NaOH 30%



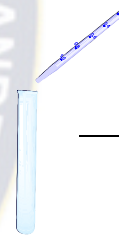
Añadir 1 ml de suspensión enzimática al 10% y mantener en baño maría a 20 °C por 20 min.



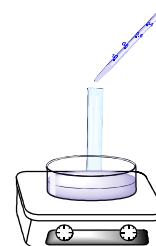
Enraizar a 50ml con agua destilada en un matraz aforado



filtrar con papel filtro



Tomar 2ml de la solución filtrada en un tubo de ensayo largo con tapa y añadir 2ml del reactivo de oxidación, agitar con el vortex por 90 min.



Añadir 2 ml de isobutanol y agitar con el vortex por 40 seg. Centrifugar



Transferir 1 ml del sobrenadante a otro tubo de ensayo donde tiene 1 ml 80,49 de etanol absoluto



Filtrar la solución e inyectar al HPLC

DETERMINACIÓN DE VITAMINA B2 RIBOFLABINA POR HPLC

PREPARACIÓN DE REACTIVOS

- a) **Solución estándar de Riboflabina 100 ug/ml.** Pesar 5,0 mg (0,0050 g) de estándar de riboflabina en un vaso de precipitado de 10ml, añadir 0,5 ml de NaOH 0,5 M disolver, añadir 0,15 ml de ácido acético glacial y llevar a un matraz aforado de 50 ml enjuagando con la solución de ácido sulfúrico 0.1M, llevar a volumen con el ácido sulfúrico 0.1M.
- b) **Solución estándar de 1 um/ml.** En un matraz aforado de 100 ml poner un ml de la solución de 100ug/ml, llevar a volumen con agua destilada.
- c) **Solución estándar de 0,1 um/ml.** En un matraz aforado de 10 ml poner un ml de la solución de 1ug/ml, llevar a volumen con agua destilada.
- d) **Acido sulfúrico 0.1M** Añadir 5ml de ácido sulfúrico concentrado apoco de agua en un matraz aforado de 500ml, llevar a volumen con agua destilada.
- e) **Suspensión al 10% de enzima takadiastasa** Preparar justo antes de usar, pesar en un vaso de precipitados de 50ml 0.1g (para una muestra) de enzima takadiastasa, añadir 1ml de agua destilada y dejar hidratar, tarda en disolver.
- f) **Hidróxido de Sodio al 30% p/v** pesar 0,02 g de NaOH, para un litro de agua destilada.
- g) **Acetato de Sodio 2.5M** Pesar 34.2g de acetato de sodio en una vaso
- h) de precipitado disolver con un poco de agua e ir trasvasando a un matraz aforado de 100ml, enrasar a volumen con agua destilada.
- i) **PROCEDIMIENTO**

- j) Pesar una cantidad adecuada de muestra (5g) en un erlenmeyer de 250ml y añadir 35ml de ácido sulfúrico 0.1M y añadir 0.4ml de parafina líquida.
- k) Cubrir el erlenmeyer con papel aluminio, amarrar este con un trozo de cordel, y colocar en un autoclave, mantener el autoclave a 105 – 110 °C durante 20 minutos.
- l) Sacar del autoclave, enfriar a temperatura ambiente, añadir 2ml de acetato de sodio 2.5M y ajustar el pH a 6.9 con NaOH 30%.
- m) Añadir 1 ml de la suspensión enzimática al 10% y mantener en baño maría a 20 °C por 20 minutos.
- n) Enrasar a 50 ml con agua destilada en un matraz aforado, filtrar con papel filtro.
- o) Tomar 2ml del sobrenadante y adicionar 1ml de agua destilada, agitar
- p) Filtrar la solución por una membrana de 0.45um e inyectar en el HPLC.
- q) Inyectar el estándar de 0,1 um/ml.

CÁLCULOS

Inyectar el estándar y la muestra por duplicado, y sacar promedio de las áreas, para aplicar a la siguiente fórmula:

$$\text{Tiamina mg/100g} = \frac{a_m * C * V * 100}{A_s * m * 1000}$$

DONDE:

- V = Volumen de la alícuota..... 50
- a_m = Área de la muestra..... ¿
- A_s = Área del estándar de 100ug/ml..... ¿
- C = Concentración del estándar..... 100
- m = Cantidad de muestra pesada en gramos..... ¿

10. INTRODUCCIÓN

Sal es el nombre popular que utilizamos para referirnos al cloruro de sodio (NaCl). La sal es esencial para la vida y para gozar de buena salud. La hipertensión o presión arterial alta es un factor de riesgo en los trastornos cardiovasculares y la apoplejía. Está relacionada con el consumo elevado de sodio y la ingesta reducida de potasio. La sal, o cloruro de sodio, se utiliza para conservar la comida y darle sabor. También está presente en los alimentos de forma natural. El sodio y el cloro contribuyen a regular la presión arterial, controlar el equilibrio de fluidos en el organismo y mantener las condiciones apropiadas para el funcionamiento de los músculos y nervios. El sodio facilita la absorción de ciertos nutrientes, como la glucosa y los aminoácidos. El organismo de una persona adulta suele contener unos 90 g de sodio; de esta cantidad, la mitad se encuentra en la sangre y otros fluidos corporales, más de un tercio está en los huesos y el resto se halla en el interior de las células. El consumo medio de sodio varía entre los 2 y los 6 g al día, aunque un adulto puede vivir de forma saludable con menos de 0,5 g al día. Las necesidades aumentan cuando se producen grandes pérdidas como, por ejemplo, durante la menstruación, la lactancia o si se suda mucho.

Yodo

El yodo es el oligoelemento que participa en la formación de las hormonas tiroideas (tiroxina y triyodotironina), que son las que regulan el mecanismo del control de la energía. Una producción anormal de estas hormonas provocaría la ralentización integral del organismo porque están presentes en muchos procesos. Aproximadamente el 80% del yodo del cuerpo se encuentra en la glándula tiroides. Este mineral es absorbido en el intestino y transportado por el torrente sanguíneo hasta llegar a la glándula tiroides para ser almacenado y utilizado en la producción de hormonas. Sus principales funciones son:

- Participar en la producción de energía corporal y en la síntesis del colesterol,

- ayudar a que el organismo quemar el exceso de grasa, mejorar la agilidad mental,
- mantener en buen estado las uñas, la piel, el pelo y los dientes, ayudar en las fases de crecimiento y desarrollo.

La dosis adecuada es de 150 microgramos de yodo diaria por adulto. Su deficiencia puede provocar:

- Bocio simple e hipotiroidismo,
- piel y cabellos secos, palpitaciones cardíacas,
- baja actividad metabólica y obesidad y
- cretinismo (retraso físico y mental en niños nacidos de madres con un consumo de yodo limitado).

10.1. Determinación de Yodo en Sal

PRINCIPIO

El principio del método se basa en la liberación de Yodo en medio ácido y valoración volumétrica con tiosulfato de sodio en presencia del almidón como indicador.

PUNTOS CRÍTICOS Y PRECAUCIONES

- El material de vidrio a usar debe estar muy bien lavado y enjuagado varias veces con agua destilada deionizada para evitar contaminaciones.
- La muestra de sal debe disolverse completamente en agua destilada deionizada antes de la titulación. (El yodato de potasio tarda en disolverse).
- La solución de tiosulfato de sodio debe ser valorado cada vez que se procesan muestras, teniendo el cuidado de homogeneizar bien la solución antes de titular.

PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

Yoduro de Potasio al 10 %

Pesar 10g de yoduro de potasio en un vaso, transferir cuantitativamente a un vaso de 100 ml. Disolver y llevar a volumen con agua destilada.

Verificar su estabilidad antes de usar, por lo que se recomienda: añadir una gota de indicador de almidón a 1 ml de la solución, si se torna de color azul, la solución está vencida.

Tiosulfato de Sodio 0,005 N

Pesar aproximadamente 1.2410 g de tiosulfato de Sodio, (anotar el peso exacto), en un beaker de 50 ml u otro recipiente. Transferir cuantitativamente a un matraz aforado de 1000 ml, disolver y llevar a volumen con agua destilada desionizada recientemente hervida y fría.

Se deberá almacenar protegido de la luz en frasco de plástico ya que esta solución es relativamente inestable, hasta el dióxido de carbono presente en el aire puede causar su descomposición, por lo tanto, la valoración se debe hacer mínimo 2 veces por semana.

Yodato de Potasio 0,005 N

Secar en placa petri aproximadamente 1 g de yodato de potasio a 110°C durante 1 hora. Calibrar y verificar la balanza analítica. Pesar en un beaker u otro recipiente $178,4 \pm 0,5$ mg de yodato de potasio (Anotar peso exacto). Transferir cuantitativamente a un matraz aforado de 1000ml. Disolver y llevar a volumen con agua destilada desionizada.

Nota. No se recomienda preparar volúmenes inferiores a 1 L para no perder exactitud en la pesada de Yodato. La solución es estable indefinidamente.

Almidón al 1% (solución Indicadora)

En un matraz aforado de 50 ml diluir 0.5 g de almidón soluble en unos 15 ml de agua fría, sobre ella verter 35 ml de agua caliente y hervir hasta obtener una solución clara, dejar enfriar y guardar tapado.

Para mantener la estabilidad de la solución, adicionar 2 gotas de cloroformo. Preparar la solución semanalmente y almacenar en refrigeración.

Valoración de tiosulfato de sodio 0.005 N

- Proceder a llenar una bureta de 25 ml con Tiosulfato de Sodio 0.005 N.
- Transferir 20 ml de Yodato de Potasio 0.005 N a un matraz erlenmeyer 300 ml.
- Añadir 0.5 ml de Yoduro de Potasio al 10% y 1 ml de Acido Fosfórico al 85%.
- Titular con el Tiosulfato de Sodio desde la bureta, agitando el matraz, hasta que el color de la solución se torne ligeramente amarilla.
- Añadir 5 gotas de solución de Almidón al 1% como indicador, continuar la titulación hasta la completa desaparición del color azul.
- Anotar y registrar los datos para los cálculos respectivos.
- Repetir esta operación con dos porciones más de yodato de potasio. Entre los gastos no deberá haber diferencia mayor de ± 0.1 ml , en caso contrario, repetir la operación.

Preparación de la muestra.

En un vidrio de reloj tarado pesar 10 ± 0.1 g sal proveniente de un envase o bolsa tomando la muestra de cuatro sitios diferentes trasvasar a un matraz erlenmeyer de 250 ó 300 ml. Anotar peso exacto y proceder a disolver con 50 ml de agua destilada deionizada.

PROCEDIMIENTO

- Añadir 1 ml de Ácido Fosfórico al 85% ó 1 ml de Ácido Sulfúrico 2N para acidificar la solución de sal.
- Añadir 5 ml de Solución de Yoduro de Potasio al 10%.
- Inmediatamente titular el Yodo libre con Tiosulfato de Sodio 0.005 N agitando el matraz continuamente, hasta que el líquido adquiriera una ligera coloración amarilla.
- Añadir 5 gotas de Solución de Almidón al 1% y agitar. Continuar la titulación hasta la desaparición del color azul.
- Preparar un blanco de reactivos con 50 ml de agua destilada deionizada siguiendo el mismo procedimiento.

CÁLCULOS:

$$\text{Normalidad del yodato de Potasio} = \frac{\text{Peso exacto KIO}_3}{\text{Peso equivalente del KIO}_3} \times 1000 \text{ ml}$$

DONDE:

$$\text{Peso equivalente KIO}_3 = \text{Peso Molecular KIO}_3 / 6$$

$$\text{Peso equivalente KIO}_3 = 35.67 \text{ g}$$

$$\text{Normalidad del Tiosulfato de Sodio} = \frac{N \text{ KIO}_3 \times \text{Vol. KIO}_3}{\text{Vol. Na}_2\text{S}_2\text{O}_3}$$

DONDE:

N_{KIO_3} = Normalidad calculada anteriormente

$\text{Vol.}_{\text{KIO}_3}$ = Volumen de KIO_3 empleado en

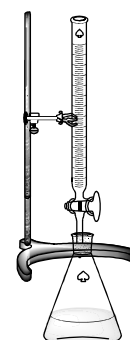
$\text{Vol.}_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3}$ = Volumen gastado en la titulación.



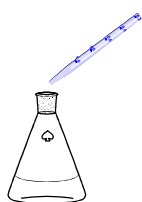
Añadir 1 ml de H_3PO_3 al 85% ó 1 ml de H_2SO_4 2N para acidificar la solución de sal.



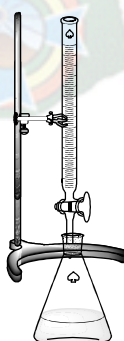
Añadir 5 ml de Solución de KI al 10%.



Titular el Yodo libre con Tiosulfato de Sodio 0.005 N agitar el matraz continuamente, hasta que el líquido adquiera un color amarillo



Añadir 5 gotas de Solución de Almidón al 1% y agitar



Continuar la titulación hasta la desaparición del color azul.

10.2 Determinación de contenido de Humedad de la Sal

- Pesar las cápsulas o placas petri. Anotar peso en gramo: **m**
- Pesar 10 ± 1 g de Sal en cápsula ó placa petri. Anotar el peso: **m1**
- Colocar la cápsula o placa petri en una estufa a 110° - 120°C por 5 horas como mínimo.
- Pasar la Cápsula o placa petri a un desecador hasta que enfríe.
- Pesar la cápsula o placa petri y anotar el peso gramos: **m2**

CÁLCULOS:

$$\% H = (m1 - m2/m1 - m) \times 100$$

POR LO TANTO:

$$\text{Peso seco de sal (g)} = m1 (100 - H\%) / 100$$

DETERMINACIÓN DE RESIDUO INSOLUBLE

OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Esta norma establece el método para determinar el contenido de materia insoluble en agua y de la sustancia deshidratante que esta presente en la sal común.

PRINCIPIO

Consiste en disolver, la muestra en agua destilada y desionizada, pesar el residuo obtenido y posteriormente y posteriormente tratarlo con HCl.

PROCEDIMIENTO

Disolver 50 g de muestra seca en 300ml de agua destilada, se calienta la solución hasta ebullición y se enfría.

Se filtra atravez de un embudo, y se lava el residuo con agua destilada y agua desionizada, caliente poco mas de 100ml. el filtrado y las aguas de lavado se traspasan a un matraz aforado de 1000ml se enrasa la solución conteniendo cloruro de sodio o yodato o KI y otros componentes para cuantificar posterior. Después de la filtración, se seca el embudo (E) que

contiene el microscopio y la materia insoluble (I) A 110 °C +- 5 °C hasta obtener una solución constante.

CÁLCULOS:

Si la materia no contiene sustancia deshidratante.

La materia insoluble agua (I) se calcula aplicando la siguiente formula:

$$I = P - E$$

$$M = \frac{I}{G} \times 100 \quad (\text{en muestra seca})$$

DONDE:

M = % de materia insoluble

I = Materia insoluble en agua, expresada en gr.

E= Peso del embudo conteniendo microporo en gr.

G= peso de la muestra seca en gramos

DETERMINACIÓN DE YODO

OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Esta Norma establece el método para determinar el contenido de yodo añadido Como, yoduro de potasio en la sal común.

PRINCIPIO

El método se basa en oxidar los yoduros presentes a yodatos, mediante tratamiento con bromo, para luego liberar el yodo de los yodatos mediante la adición de un yoduro

PROCEDIMIENTO

Pesar aproximadamente 50 g de muestra disolver en agua destilada, la solución y aforar a 250ml Con una pipeta volumétrica, transferir 50ml de la solución a un vaso de 600ml, añadir 5gr. De Na₂ CO₃ anhidro, cubrir el vaso con un vidrio de reloj y hervir cuidadosamente la mezcla durante 10 min. Filtrar la solución a través de papel filtro sobre un vaso de 600ml y lavar el residuo con H₂O destilada, hirviendo juntando el filtrado con H₂O de lavado, hasta completar 300ml de solución total.

Neutralizar la solución con ácido ortofosfórico al 85% usando anaranjado de metilo como indicador, luego añadir 1ml en exceso de ácido ortofosfórico al 85%.

Agregar gota a gota 5ml de agua de bromo saturado y hervir la solución lentamente hasta que desaparezca el color pardo de bromo, luego mantenerla a ebullición durante 5min. Mas.

Añadir unos cristales de ácido salicílico y enfriar la solución, hasta temperatura ambiente.

Añadir 1ml de ácido ortofosfórico al 85% y aproximadamente 0,5 g de KI agitar la mezcla y dejar reposar en un lugar oscuro durante 10min.

Titular el yodo libre con la solución 0,005 M de tiosulfato de sodio añadiendo 1 ml de solución indicadora de almidón cerca al punto final

CÁLCULOS:

$$I = \frac{0,02110 \times V \times N \times 100}{M \cdot 100(H + D)} \times 100$$

DONDE:

I= contenido de I en % de masa (con referencia al producto seco, excluido la sustancia deshidratante)

V=Vol. De la solución de tiosulfato de sodio empleado en la titulación, en ml.

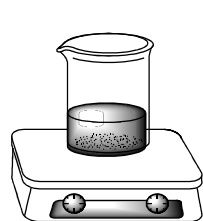
N=Normalidad de la solución de tiosulfato de sodio

M= Masa de la muestra contenida en la alícuota, ensayada, en g.

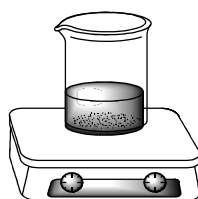
0.02116 = miliequivalentes de yodo con referencia al tiosulfato

H= Humedad, % en masa

D=sustancia deshidratante, en % en masa si contiene



Pesar 50 g de muestra disolver en agua destilada, aforar a 250ml



añadir 5gr. De Na_2CO_3 anhidro, cubrir el vaso con un vidrio de reloj y hervir cuidadosamente la mezcla durante 10 min.



Filtrar la solución a través de papel filtro sobre un vaso y lavar el residuo con H_2O destilada, hirviendo juntando el filtrado con H_2O de lavado, hasta completar 300 ml de solución total



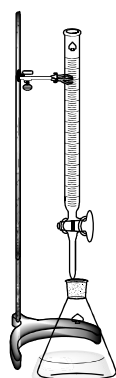
Neutralizar la solución con ácido ortofosfórico al 85% usando anaranjado de metilo luego añadir 1ml en exceso de al 85%.



Agregar gota a gota 5ml de agua de bromo saturado y hervir la solución hasta que desaparezca el color pardo de bromo, luego mantenerla a ebullición durante 5min.



Añadir unos cristales de ácido salicílico y enfriar la solución,



Titular el yodo libre con la solución 0,005 M de tiosulfato de sodio añadiendo 1 ml de solución indicadora de almidón cerca al punto final

DETERMINACIÓN DE SULFATOS OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Esta Norma establece el método de análisis para la determinación del contenido sulfatos en la sal común.

PRINCIPIO

Se basa en la determinación por precipitación de los sulfatos totales en medio ácido y posterior valoración gravimétrica.

PROCEDIMIENTO

Pesar 10 gramos de muestra. Transferir al vaso de precipitado de 400ml disolver con ayuda de 100ml de agua destilada. Calentar a ebullición y adicionar lentamente, HCl hervir, Anadir gota agota 10 ml de solución de BaCl₂ al 10%, friccionando las paredes del vaso con varilla de vidrio, pesar la solución a baño maría por 1 hora.

Retirar el baño maría, dejar reposar durante 24 hrs. Filtrar a través del crisol Gooch previamente tarado en la mufla. Lavar hasta fin de ion cloruro, Secar el recipiente en estufa entre 100 y 110 °C por 2 horas, enfriar en desecador y pesar, Repetir la operación operaciones de calentamiento y enfriamiento hasta peso constante.

CÁLCULOS:

$$P_{mm SO_4} = \frac{G \times 0.4116 \times 106}{P}$$

DONDE:

G = Peso del Crisol Gooch mas precipitado – peso del Crisol Gooch=
Gramos de sulfato de barrio precipitado

1 x 106 = Factor de conversión a mg

0.41160 = Peso molecular SO₄ / Peso molecular BaSO₄



CAPITULO III

CONTROL INTERNO DE LA CALIDAD DE RESULTADOS DE HIERRO EN ALIMENTOS FORTIFICADOS

1. INTRODUCCIÓN.-

Hierro es otro de las sales minerales que no pueden faltar en la alimentación para la buena marcha de nuestro organismo es el hierro, cuyo papel clave es la formación de la hemoglobina. El hierro está presente en nosotros en 45 mg. por cada kilo de peso. Se trata de un elemento que pasa a la sangre en un porcentaje inferior al que contienen los alimentos ricos en el mismo.

La necesidad de hierro varía en función del estado y constitución del individuo. Las mujeres, por ejemplo, pierden mucho hierro en la menstruación, hasta 20 mg. Los neonatos poseen una reserva en el hígado innata hasta el medio año de vida. Durante la época de lactante, el bebé necesita un aporte de hierro de entre 6 y 15 mg. por día.

El hierro es el más abundante de los oligoelementos en el organismo; se citan valores de 4 a 6 g en un hombre de 70 Kg. Entre el 60 y 70% del total esta en la hemoglobina; el resto forma parte de la mioglobina del musculo, de los citocromos, catalasa, oxidasa y otras enzimas de oxido - reducción, y se almacenan en hígado, bazo y medula en dos compuestos orgánicos, la ferritina y la hemosiderina. Solo se absorbe una pequeña parte del Fe que se ingiere con los alimentos; mas el de las carnes (>20%) unido a proteínas, y menos el de vegetales (>5%). Los componentes de la dieta facilitan o impiden su absorción; los oxalatos (abundantes en las espinacas), los fitatos (en cereales enteros), los polifenoles (taninos), los fosfatos en exceso y el pH mas alto en algún tramo del intestino, perjudican la absorción del hierro; en cambio, los aminoácidos, los axiacidos (cítrico, tartárico), el acido ascórbico y los azuceres forman complejos absorbibles y también se absorben mejor al Fe unido a proteínas, como el de la carne y la sangre.

Aunque la cantidad de Fe en el organismo es grande, las necesidades no lo son tanto por que se recicla muy eficazmente; cuando los eritrocitos se destruyen y su hemoglobina es degradada, el Fe se recupera para la síntesis de nueva hemoglobina y otra parte se almacena en el hígado o es transportada por la transferrina a los distintos órganos que lo necesitan.

El hierro abunda en carnes, sangre, pescado, legumbres y algunas verduras, pero no en la leche. La dosis recomendada no está bien definida; se dan valores entre 5 y 30 mg, con dosis más altas para mujeres, gestantes y lactantes, y niños. Las deficiencias son frecuentes y producen anemias más o menos graves. En algunos países se enriquecen la harina blanca de trigo, los cereales de desayuno y otros alimentos con sulfato ferroso o mejor con gluconato ferroso. El sulfato ferroso con zumo de naranjas se absorbe muy bien

2. ANTECEDENTES

El laboratorio de nutrición del INLASA en todos los ensayos realiza el control interno de la calidad de resultados y además participa en controles externos, participa en rondas de pruebas por DTA que es el IBMETRO. Con lo cual garantiza la exactitud y confiabilidad de los mismos. El trabajo dirigido de realizo en el control de calidad de hierro en alimentos fortificados.

Para la fortificación de alimentos con hierro en Bolivia se han tomado en cuenta los hábitos de consumo de la población y los requisitos que deben cumplir un alimento, se ha seleccionado la harina de trigo como el vehículo para la fortificación de hierro adición de hierro y vitaminas del complejo B.

Las principales fuentes de harina de trigo para el consumo nacional son las siguientes: producción nacional, importaciones legales e ilegales (contrabando) y donaciones.

Durante la gestión 1995, según datos del CONALSA, la producción nacional alcanzo a 223.294 TM, es decir un 77.8% de la demanda, las donaciones fueron de 35.890 TM (12.5 % de la demanda), las importaciones legales fueron de 13,539 TM (4,7% de la demanda) y la harina que ingreso por la vía de contrabando ha sido estimada en 14.192 TM, equivalente a un 55 de la demanda.

El nivel de fortificación propuesto ha sido utilizado durante muchos años por 60-70 ppm, sin embargo, tanto el compuesto de hierro utilizado, como el nivel

de fortificación podrán ser modificados de acuerdo a los adelantos tecnológicos de la industria alimentaria, y de acuerdo a estudios que se pueden hacer mejorar la asimilación de hierro en el organismo

3. JUSTIFICACIÓN

- Es importante que el laboratorio cuente un control de calidad interno para la determinación de hierro, en harinas fortificadas, que beneficiará a la población en general emitiendo de esta forma resultados confiables ya que se sigue una vigilancia por parte de los laboratorios en cargados para tal fin.

4 .OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Realizar un control de calidad interno para las muestras de harina fortificadas que ingresan al laboratorio de nutrición, para la determinación de hierro.

4.2 Objetivos Específicos:

Determinar el material de referencia a utilizarse para realizar el control de calidad.

Elaborar las curvas de calibración

Elaborar la carta control

5. FUNDAMENTO TEÓRICO

En los últimos años, el aseguramiento de la calidad en los laboratorios se ha convertido en un tema de gran interés. Las razones se deben a que la industria, autoridades y consumidores son más conscientes de la importancia de la calidad y sus beneficios. Debido a esto, los laboratorios se han vuelto técnicamente más complejos y el número de normas internacionales que

pueden usarse para evaluar su competencia se ha incrementado en forma notable. Entre ellas se puede mencionar:

- ISO/IEC 17025:2005 Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración.
- ISO 9001:2000 Sistemas de gestión de calidad – Requisitos
- ISO 15189:2004 Laboratorios clínicos - Requisitos particulares para la calidad y la competencia.

Esta conciencia de la calidad ha dado lugar a que en nuestra sociedad nos veamos confrontados permanentemente con la multiplicidad de datos que debemos registrar, entender e interpretar.

Los laboratorios producen gran cantidad de datos que son empleados para la toma de decisiones operativas y estratégicas en todos los niveles de nuestra sociedad.

Debido a esto, los resultados que entrega un laboratorio deberían cumplir necesariamente cuatro condiciones fundamentales:

- Exactitud
- Confiabilidad
- Incertidumbre
- Satisfacción del cliente

5.1 La Calidad

La calidad se define como las características y valores característicos de algo (Método, parte de un equipo, el resultado de una medición, etc.) en relación con su capacidad de cumplir requisitos.

Por ejemplo, las más importantes características de calidad de un resultado de ensayo son la precisión, la exactitud y la incertidumbre.

5.2 Gestión de la Calidad

Es un conjunto de actividades coordinadas para dirigir y controlar una organización (Laboratorio) en lo relativo a la calidad y comprende normalmente los aspectos que se muestran en la figura 1.

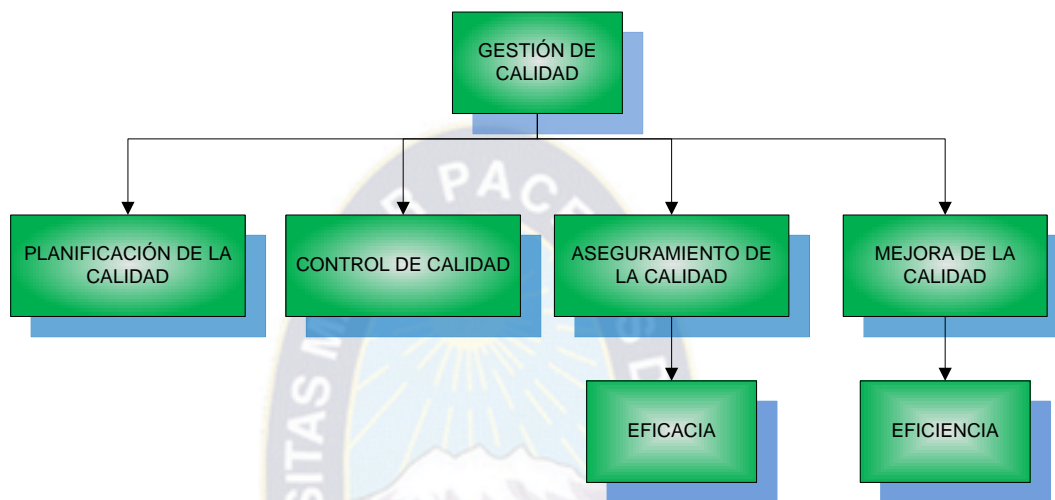


Fig 1. Estructura de un sistema de gestión de la calidad

5.3 Aseguramiento de la Calidad

El aseguramiento de la calidad es la parte de la gestión de la calidad orientada a proporcionar confianza en que se cumplan los requisitos de la calidad.

Uno de los objetivos del aseguramiento de la calidad es lograr la eficacia de los procesos de medición, es decir que se realicen las actividades planificadas y que se alcancen los resultados planificados (en relación a la medición).

La Norma NB-ISO-IEC 17025:2005 es un ejemplo de documento que contiene los requisitos para asegurar la confiabilidad de los resultados en laboratorios de ensayo y calibración.

Los requisitos técnicos de la Norma NB-ISO-IEC17025:2005 están ligados a la exactitud y confiabilidad de las actividades y abarcan los principales factores que pueden afectar a la incertidumbre de los resultados.

5.4 Sistema de Control Interno de Calidad

Es una serie de procesos que lleva a cabo el personal de un laboratorio para el monitoreo continuo de las operaciones y los resultados de las medidas, a fin de decidir si los resultados son lo suficientemente confiables para ser liberados.

Como consecuencia de esto, un laboratorio debe tener como propósito esencial generar resultados de alta calidad y confiabilidad, garantizar que el proceso de medición sea exacto, confiable y adecuado para el uso.

Para alcanzar esta meta, es necesario contar con un sistema de control de calidad orientado al cumplimiento de los requisitos. Este sistema es un conjunto de elementos que interactúan para lograr confirmación y el control continuo de los procesos de medición.

Los procesos de Control de la Calidad (PCC) son el medio por el cual se implanta un sistema de control interno de la calidad (SCIC). Este usualmente se divide dos componentes.

- PCC Intra- Laboratorios
- PCC Inter- Laboratorios

Los PCC tienen el objeto de servir al analista como un mecanismo para minimizar los errores analíticos y permitir la generación de datos de buena calidad con la mejor precisión, exactitud e incertidumbre posible.

5.5 Aseguramiento de Calidad de los Resultados de Ensayo

El laboratorio debe tener procedimientos de control de la calidad para realizar el seguimiento de la validez de los ensayos llevados a cabo.

Los datos resultantes deben ser registrados en forma tal que se puedan detectar las tendencias y, cuando sea posible, se deben aplicar técnicas

estadísticas para la revisión de los resultados. Dicho seguimiento debe ser planificado y revisado y puede incluir, entre otros, los elementos siguientes:

- El uso regular de materiales de referencia certificados un control de la calidad interno utilizando materiales de referencia secundarios;
- La participación en comparaciones de interlaboratorios o programas de ensayo de aptitud.

5.6 Pcc- Intra- Laboratorios

Este tipo de procesos con los que el laboratorio realiza en forma interna para evaluar y controlar los errores debido a las variables de control.

En general los PCC- Intra- laboratorios son:

- Blancos de muestra
- Adiciones a muestras naturales
- Uso regular de materiales de referencia certificados y control de la calidad interno utilizando materiales de referencia secundarios.
- Repetición de ensayos de los objetos retenidos

Los PCC- Intra-laboratorios permiten realizar la evaluación de la competencia de un laboratorio por medio de la evaluación de los resultados de ensayo (operación total) contra requisitos predeterminados.

5.6.1 La Carta Control

La carta control es un medio que permite a los analistas, manejar en forma coherente, coordinada y guiada, las normas establecida entre laboratorios y dentro de los mismos, con el objeto de buscar la eficiencia de los procesos logrados, orientados a satisfacer las demandas de los clientes, y con ello de la sociedad. En nuestro medio es conocida también como control de calidad.

GRÁFICOS DE SHEWHART

Los gráficos de control fueron propuestos originalmente por W. Shewart en 1920, y en ellos se representa a lo largo del tiempo el estado del proceso que

nos interesa controlar. En el eje horizontal X indica el tiempo, mientras que el eje Y representa algún indicador de la variable cuya calidad se mide.

Además se incluye otras dos líneas horizontales. Los límites superior e inferior de control, escogidos estos de tal forma que la probabilidad de que una observación este fuera de estos límites sea muy baja si el proceso está en estado de control.

La finalidad de los gráficos de control es por tanto hacer un seguimiento al proceso para controlar su buen funcionamiento, y detectar rápidamente cualquier anomalía respecto al patrón correcto, puesto que ningún proceso se encuentra espontáneamente en este estado de control y conseguir llegar a el supone un éxito, así como mantenerlo la consecución y mantenimiento del control de calidad de procesos exige un esfuerzo sistemático, en primer lugar para eliminar las causas asignadas y en segundo para mantenerlos dentro de los estándares de calidad.

En los gráficos de control de shewhart no se colocan normalmente límites de tolerancia, dado que no se debe evaluar la posición de los valores individuales de las muestras con relación a sus tolerancias.

5.7 Pcc- Inter- Laboratorios

Son procesos que se coordinan en forma externa al laboratorio y la diferencia fundamental con los PCC- Intra- laboratorios es la independencia en la evaluación de los datos.

En general los PCC- inter- laboratorios son las “comprobaciones externas de la confiabilidad de los resultados” o “Ensayos de Aptitud”

El ensayo de aptitud es el uso de comparaciones interlaboratorios⁴ con el fin de determinar el desempeño de un laboratorio en la realización de ensayos o mediciones. Las comparaciones externas de la confiabilidad de los resultados implican la distribución simultánea a los laboratorios de ensayo, de sub- muestras seleccionadas al azar de una fuente de material para ser ensayadas.

El coordinador externo evalúa los resultados y el laboratorio participante recibe un informe de la prueba con todo el análisis de datos e indicadores de desempeño establecidos.

La mayoría de los organismos que evalúan la competencia técnica de los laboratorios exigen o esperan un desempeño satisfactorio en programas de ensayos de aptitud como una evidencia significativa de la habilidad de un laboratorio para producir resultados confiables (excepto cuando el ensayo de aptitud sea inadecuado).

6. PARTE EXPERIMENTAL

6.1 Materiales y Reactivos

MATERIAL

- Pipetas automáticas de 100 - 1000 µl.
- Balones volumétricos de 1000,250,100,25 ml
- Crisoles de Porcelana
- Gradillas para tubos de ensayo
- Puntas de pipetas
- Tubos de ensayo de 10 ml
- Pipetas volumétricas

REACTIVOS

- Acetato de Sodio Trihidratado p.a
- Ácido clorhídrico al 37 % p. a.
- α-α dipiridilo Fisher
- Clorhidrato Hidroxilamina Baker 2196
- Estándar de Hierro, Merck 19781 Titrisol
- $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Merck

EQUIPOS

- Balanza analítica con sensibilidad de 0,0001mg
- Agitador vortex
- Espectrofotómetro 521,535 o 562 nm.
- Mufla
- Hornilla eléctrica

- pHmetro

6. 2 Preparación de Soluciones

- **α - α dipiridilo 0,025% (P/P) en Acetato de sodio 2M / 250mL**

Pesar 0,0625g de α - α dipiridilo, agregar 40-60 mL de agua desionizada (Temp 3- 50 °C), disolver y agregar 41, 02 g de Acetato de sodio anhidro aforar a 250 mL de solución.

- **Clorhidrato de hidroxilamina 10% (P/P)/ 100 mL**

Pesar 10g de Clorhidrato de hidroxilamina, agregar agua desionizada entre 20-40 mL, hasta su completa disociación y aforar a 100mL de solución.

- **Acido Clorhídrico HCl 6M / 250 mL**

Tomar un vaso precipitado y medir 125 mL de agua desionizada, agregar en un balón aforado de 250mL.

Agregar lentamente 125 mL de acido clorhídrico concentrado del (37%) con mucho cuidado y aforar a 250 ML de solución.

- **Sulfato ferroso amónico 1000ppm /500mL (Sol A)**

Pesar 1.0000g de $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, agregar 20mL de Acido Clorhídrico 6M y aforar a 50ml con agua desionizada.

- **Sulfato ferroso amónico $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 10ppm /100ml (Sol B)**

Extraer 1 ml de la solución de 1000 ppm y aforar a 100mL con agua desionizada.

- **Preparación de la solución para la curva de calibración (Titrisol) patrón de hierro, 19781 Titrisol (Sol A)**

El estándar de hierro tiene una concentración de 1000ppm esta concentración ya viene en el envase se preparo este estándar el peso de este estándar es 1,09972 gramos Titrisol Eisen Estándar 1000mg Fe. (Sol A), se prepara esta solución siguiendo las instrucciones del envase disolviendo con agua destilada desionizada.

Utilizando una pipeta volumétrica de 1 ml, para preparar la solución (B).

Solución (B) tomando 1 ml de la solución (A), y se coloca a un matraz aforado de 100ml, disolver la solución y enrazar. Esta nueva concentración es de 10ppm.

PUNTOS CRÍTICOS Y PRECAUCIONES

-El lavado de toda la cristalería debe ser específico para el análisis de minerales, todos los reactivos deben ser de grado analítico y con el menor contenido posible de hierro.

-El agua utilizada debe ser destilada y desionizada, con una conductividad menor a $2 \mu\text{Si/cm}$, o $10^{-8} (\text{ohm.cm})^{-1}$.

6.3 Procedimiento para la elaboración de la Curva de Calibración

6.3.1 Principio

Para el análisis de hierro inorgánico en alimentos, el primer paso consiste en una combustión total de la materia orgánica, por incineración de la muestra en la solución de cenizas resultante, el hierro es reducido a hierro (II) por la adición de hidroxilamina. El ión ferroso se determina espectrofotométricamente por formación de un complejo coloreado al añadir al medio alfa, alfa dipiridilo (2, 2' by piridina). La reacción de color debe llevarse a cabo, bajo condiciones controladas de PH para reducir la competencia de los iones hidronio (H_3O^+) por el ligante, por lo que se agrega una solución de acetato de sodio 2 M.

6.3.2 Preparación de la Curva

Se procedió a preparar 2 curvas de calibración con el objeto de probar si ambas daban resultados parecidos.

La primera curva se hizo a partir de la Solución (B) del Titrisol, la preparación para ambas soluciones fue de la misma forma que se detalla a continuación.

VOLUMEN (ml)	CONCENTRACIÓN (ppm)
0	0
0.3	3
0.6	6
1.2	12
2.4	24
4.0	40

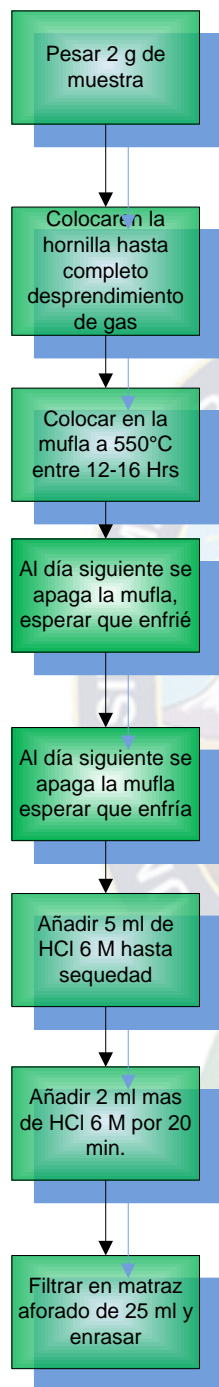
Tabla 1. Datos experimentales para la curva de calibración

6.3.3 Determinación de Hierro con diferentes concentraciones

6.4. Carta Control

Para el análisis de hierro inorgánico en alimentos, el primer paso consiste en una combustión total de la materia orgánica, por incineración de la muestra en la solución de cenizas resultante, el hierro es reducido a hierro (II) por la adición de hidroxilamina. El ión ferroso se determina espectrofotométricamente por formación de un complejo coloreado al añadir al medio alfa, alfa dipiridilo (2, 2' by piridina). La reacción de color debe llevarse a cabo, bajo condiciones controladas de PH para reducir la competencia de los iones hidronio (H_3O^+) por el ligante, por lo que se agrega una solución de acetato de sodio 2 M.

6.4.1 Procedimiento para la preparación de la solución de cenizas



6.4.2 Determinación de Hierro

Se procedió de la misma manera que en la curva de calibración descrita en el punto (6.3.3)

7. CÁLCULOS:

7.1 Curva de Calibración :

Para realizar el cálculo de la curva de calibración utilizamos la absorbancia que se obtiene de las diferentes concentraciones. Se grafica Abs. Vs Concentración donde se obtiene los valores de la ecuación de una recta donde el valor de R^2 (coeficiente de correlación) debe aproximarse a la unidad.

Donde tenemos:

$$Y = mx + b$$

Donde x = concentración de la muestra

$$Y = \text{Abs. De la muestra} - B/ m$$

Despejando de la formula tenemos:

$$X = (Y - B) / m$$

A partir de esta ecuación se puede calcular las concentraciones.

GRAFICO N° 1 Curva de calibración del hierro MERCK

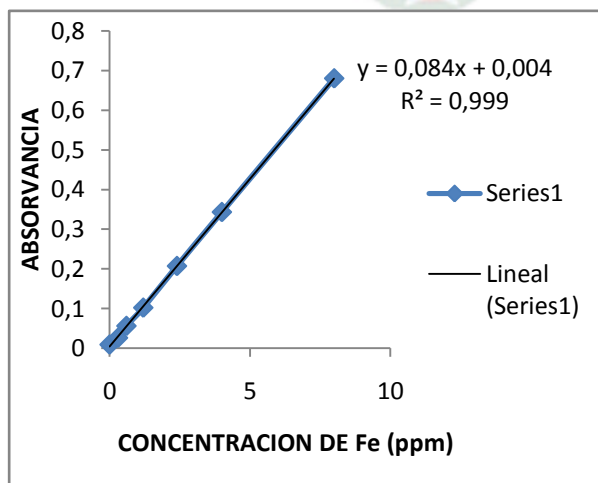
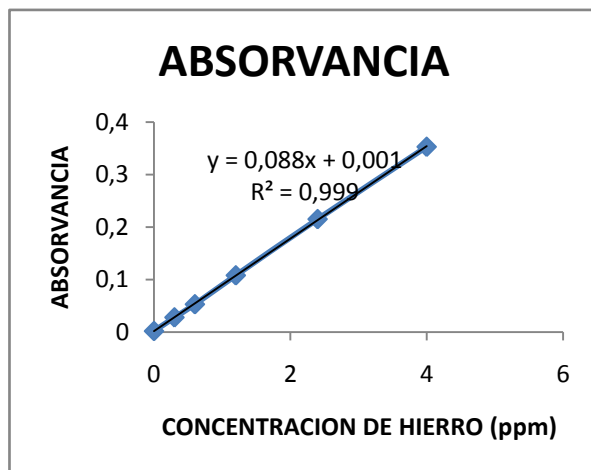


GRAFICO N° 2 Curva de calibración del hierro TITRISOL



7.2 Cálculos para la Carta Control

Una vez obtenida la absorbancia de las 20 corridas en la determinación de hierro, en la muestra de referencia secundaria. Utilizando los valores de la recta de la curva de calibración se calculó las diferentes concentraciones. Esas concentraciones se han sumado y calculado su promedio y desviación estándar. Con los valores de \bar{X} y $\bar{X} \pm Ds$, $\bar{X} \pm 2 Ds$, $\bar{X} \pm 3 Ds$, se procede a elaborar la carta control, de acuerdo a la siguiente tabla

8. RESULTADOS Y CONCLUSIONES

TABLA N° 2. Datos Experimentales para la curva de calibración HIERRO MERCK

concentración(ppm) Absorbancia

0	0.009
0.3	0.026
0.6	0.056
1.2	0.102
2.4	0.207
4	0.343
8	0.68

TABLA N° 3 Datos Experimentales para la curva de calibración del Titrisol

CONCENTRACIÓN	ABSORVANCIA
0	0.002
0.3	0.028
0.6	0.053
1.2	0.108
2.4	0.215
4	0.3526

8.1 Resultados para la Carta Control

TABLA N°4. Datos de absorvancia y cálculo de concentraciones de acuerdo a la curva de calibración.

MUESTRA	CONCENTRACIÓN	ABSORVANCIA
1	36.5582	0.257
2	36.2738	0.255
3	36.1315	0.254
4	36.1315	0.254
5	35.9892	0.253
6	36.1315	0.254
7	35.9892	0.253
8	35.847	0.252
9	36.1315	0.254
10	36.7005	0.258
11	36.1315	0.254
12	35.9892	0.253
13	36.416	0.256
14	36.1315	0.254
15	35.847	0.252
16	35.847	0.252
17	35.847	0.252
18	36.1315	0.254
19	36.416	0.256
20	36.416	0.256
PROMEDIO	36.15283	
SUMATORIA	723.0566	
DESVIACIÓN	0.24541194	

Modelo de cálculo para hallar la concentración a partir de la curva de calibración de hierro MERCK

$$Y = mx + b$$

Donde x = concentración de la muestra

$$Y = \text{Abs. De la muestra} - B/m$$

Despejando de la formula tenemos:

$$X = Y - B/m$$

$$X = 0.257 - 0.0042 / 0.0845 = 2.9917$$

8.2 Resultados para la Curva de Calibración

Para la curva de calibración del Titrisol, sus resultados son:

$$Y = 0.088X + 0.0018$$

$$\text{Donde } R^2 = 0.9999$$

Para la curva de calibración del hierro MERCK, sus resultados son:

$$Y = 0.0845X + 0.0042$$

$$\text{Donde } R^2 = 0.9999$$

8.3 Resultados de la carta control

Se obtuvieron los siguientes resultados:

PROMEDIO	36.15283
SUMATORIA	723.0566
DESVIACIÓN	0.24541194

Resultados de los promedios + desviación

$$X + 3 Ds = 36.8890$$

$$X + 2 Ds = 36.6436$$

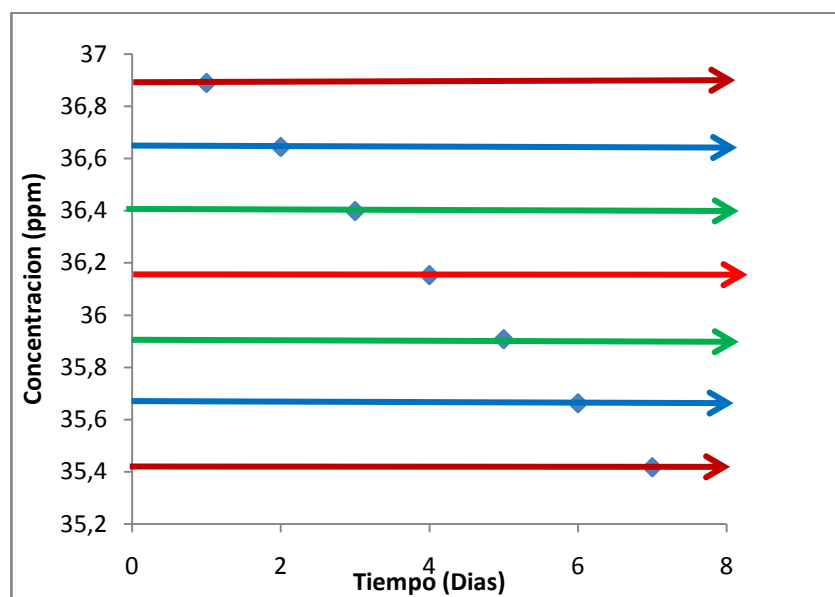
$$X + Ds = 36.3982$$

$$X = 36.1528$$

$$X - Ds = 35.9073$$

$$X - 2 Ds = 35.6619$$

$$X - 3 Ds = 35.4166$$

GRAFICA N° 3 Para la carta control

9. CONCLUSIÓN

Se utiliza la metodología normalizada de la AOAC (AOAC Official Methods of Analysis) (1984), N0. 14.011, modificada por el INCAP.

Es muy importante el rato de escoger los reactivos que estos sean de preferencia p.a. y conocer su composición, lo cual nos ayuda al momento de su preparación.

Es importante medir el Ph de la solución del acetato de sodio en el que se prepara el cromógeno α - α dipiridilo.

El material a utilizarse debe seguir el instructivo de lavado para evitar contaminantes.

Debemos contar con material de referencia para la realización de la carta control, porque se cuenta con un valor teórico.

Es muy importante la elaboración de una curva de carta control, para poder contar con un control de calidad de resultados, en el transcurso del tiempo, ya que una vez que contamos con la carta control graficada en el laboratorio cada vez que se realice la determinación de hierro en alimentos fortificados se debe incluir como control, la muestra de referencia secundaria correr juntamente con las muestras en las mismas condiciones, calcula+++r su concentración y esta graficar en al carta control, anotando la fecha de realización.

Estos valores que se van graficando deberán estar dentro de los limites de la concentración a más de 3 Ds, que es nuestro limite de control, en el caso que los valores sobrepasen se deberá revisar, donde podrían encontrarse errores como por ejemplo en la preparación de reactivos, verificar si los equipos están funcionando correctamente, sí el analista ha cometido algún error. Por lo tanto podemos decir.

Si al graficar los puntos se acercan y hay repetibilidad al $X + 2Ds$ debemos tomar estos datos como advertencia.

La carta control es importante porque cuando los resultados de la muestra de referencia utilizada se encuentra dentro de los limites aceptados a lo largo del tiempo podemos decir que este sistema se encuentra bajo un control

estadístico, y cuando los puntos se encuentran fuera de los límites específicos, o si encontramos tendencias se dice que el sistema se encuentre fuera de control.

10. BIBLIOGRAFÍA

- Greenfield, H. and Southgate, D. A. T. 1992. Food Composition Data: Production, management and use. Chapter 6, Sampling. London, Elsevier Applied Science.
- NB-ISO-IEC 17025 /2005: Requisitos Generales para la Competencia de Laboratorio de Ensayo y de Calibración. Punto 5.8
- <http://es.wikipedia.org/wiki/Espectrofotometr%C3%ADa>.
- Nielsen Suzane S. 1994. Introduction to the Chemical Analysis. Jones and Bartlett Publishers Badui, D.S. 1981. Química de los Alimentos. Alambra S.A.
- Fenema Owen R. 1966. Food Chemistry. Third Edition. Marcel Decker Co
- Yeshajahu Pömeranzz. Clifton E.M.1994. Food Analysis Theory and Practice. Third Edition. Chapman & Hall.
- Pearson D. 1986. Técnicas de Laboratorio para el análisis de los Alimentos. Editorial Acribia. España.
- Badui, S. 1986. Química de los Alimentos. Edit. Alhambra. México, D.F.
- Belitz, H.; Grosch, W. 1985. Química de los Alimentos. Acribia. Zaragoza, España.
- Hart, L y Fisher H. 1971. Análisis Moderno de Alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza, España
- Tscheuschner, H. 2001. Fundamentos de Tecnología de los Alimentos. Acribia. Zaragoza, España.
- AOAC (AOAC Oficial methods of Análisis) (1984), N0. 14.011
- Control interno de la calidad de resultados de laboratorios de ensayo, autor "Hugo Guerrero" 1ra Edición.