

UNIVERSIDAD NACIONAL SIGLO XX  
CARRERA DE BIOQUÍMICA FARMACIA  
UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICAS  
INSTITUTO DE SERVICIOS DE LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO  
E INVESTIGACIÓN EN SALUD  
UNIDAD DE BROMATOLOGIA



**DETERMINACION DE TIAMINA Y RIBOFLAVINA EN HARINAS  
DE TRIGO, DE SOYA Y HARINA DE PLÁTANO POR EL MÉTODO  
FLUOROMÉTRICO**

**POSTULANTE: UNIV. JANETH WILMA PATZI SILVESTRE**

**TESINA DE GRADO PARA OPTAR EL TÍTULO DE LICENCIATURA EN  
BIOQUÍMICA - FARMACIA**

LA PAZ - BOLIVIA  
2007

**CARRERA DE BIOQUÍMICA FARMACIA  
UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICAS  
INSTITUTO DE SERVICIOS DE LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO  
E INVESTIGACIÓN EN SALUD  
UNIDAD DE BROMATOLOGIA**



**DETERMINACION DE TIAMINA Y RIBOFLAVINA EN HARINAS  
DE TRIGO, DE SOYA Y HARINA DE PLÁTANO POR EL MÉTODO  
FLUOROMÉTRICO**

**POSTULANTE: UNIV. JANETH WILMA PATZI SILVESTRE  
ASESORA. Dra. MARIA TORREZ TINTAYA.**

**TESINA DE GRADO PARA OPTAR EL TITULO DE LICENCIATURA EN  
BIOQUÍMICA - FARMACIA**

LA PAZ - BOLIVIA  
2007

## *DEDICATORIA*

*Lo dedico a mis queridos padres:*

*A mi madre Laura Silvestre que me enseñó a seguir siempre adelante  
a pesar de todo obstáculo.*

*A mi padre Alejandro Patzi que me enseñó la responsabilidad y que  
en toda actividad uno debe dar lo mejor de sí.*

*A ellos por darme su comprensión y apoyo incondicional en todo  
momento.*

*A mis hermanas: Mirian y Arminda*

*Quienes siempre me impulsaron a seguir adelante y creyeron en mí.*

## *AGRADECIMIENTOS*

*A la UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, al instituto de servicios de laboratorio de diagnóstico investigación en salud "SELADIS", por darme acogida para la realización de mi internado rotatorio y por permitirme realizar el presente trabajo de investigación.*

*A la Dra. María Torrez T. por sus enseñanzas, apoyo y asesoramiento en la realización del presente trabajo.*

*A la Dra. Mercedes Morales por todas sus enseñanzas y consejos.*

*A la universidad nacional Siglo XX, al personal docente de la Carrera Bioquímica - Farmacia por todas sus enseñanzas.*

*A todos mis amigos (as), compañeros (as) que me apoyaron.*

*Muchas gracias.*

## **RESUMEN.-**

El presente trabajo tuvo por objeto determinar cuantitativamente dos vitaminas: Tiamina (vitamina B1) y Riboflavina (vitamina B2) en harinas de trigo, soya y plátano por el método fluorométrico.

Se estandarizó las técnicas analíticas para la determinación de Tiamina (vitamina B1) y Riboflavina (vitamina B2) por el método fluoro métrico, técnica descrita en Oficial Methods of Analysis AOAC.

Los parámetros analizados en la estandarización fueron: precisión, exactitud, linealidad y especificidad del método.

El método para la Tiamina (vitamina B1) se basa en la extracción de la tiamina presente en la muestra por calentamiento en medio ácido, seguida de una oxidación de ésta a tiocromo, mediante una solución alcalina de ferricianuro de potasio al 1 % dando el producto una intensa fluorescencia azul y posterior medición de la fluorescencia del tiocromo formado.

El método para la Riboflavina (vitamina B2) se basa en la extracción de la riboflavina presente en la muestra por calentamiento en medio ácido y posterior medición de la fluorescencia verdosa propia de la riboflavina en un fluorómetro.

Posteriormente se realizó la determinación cuantitativa de estas dos vitaminas en: harinas de trigo, de soya y de plátano.

Los resultados obtenidos para la Tiamina (vitamina B1) fueron: 4.15 mg/kg para la harina de trigo marca "Famosa", 6,1 mg/ Kg para la harina de trigo marca "Florencia", 3.47mg/ Kg para la harina de trigo marca "Irupana", 3.43 mg /kg para la harina de soya marca "Irupana", 0.72 mg/Kg para la harina de plátano y 0.82 mg/Kg para la harina de plátano dulce.

Los resultados obtenidos para la Riboflavina (vitamina B2) fueron: 2.4 mg/kg para la harina de trigo marca "Famosa", 1.07mg/kg para la harina de trigo marca

“Florencia”, 1.59 mg/kg, para la harina trigo marca “Irupana”, 2.69 mg/kg para la harina de soya marca “Irupana”, 8.2 mg/kg para la harina de plátano y 6.6 mg/kg para la harina de plátano dulce.

Con el fin de implementar nuevas técnicas analíticas en el instituto SELADIS, técnicas confiables, sencillas y de bajo costo que estarán puestas para el beneficio de la comunidad como es el caso de la cuantificación de Tiamina (vitamina B1) y Riboflavina (vitamina B2) en diferentes clases de harinas.

Además de que estas vitaminas poseen gran interés nutricional en la dieta diaria de las personas de todas las edades.

## ÍNDICE

I.-INTRODUCCIÓN.....	1
II.-JUSTIFICACIÓN.....	2
III.-OBJETIVOS .....	3
3.1 OBJETIVO GENERAL.....	3
3.2. SUBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
IV DISEÑO TEÓRICO .....	3
A.- MARCO REFERENCIAL .....	3
1 ANTECEDENTES.....	3
1.1 HARINA DE TRIGO .....	3
1.1.2 OBTENCIÓN Y CLASES DE HARINA DE TRIGO .....	4
1.1.3 TIPIFICACIÓN DE LA HARINAS .....	5
1.1.4 COMPOSICIÓN DE LA HARINA DE TRIGO.....	6
1.2 CLASIFICACIÓN DE LAS HARINAS.....	8
1.3 OTROS TIPOS DE HARINA.....	9
1.3.1 HARINA DE SOYA.....	10
1.3.1.1 SOYA .....	10
1.3.1.2 NUTRIENTES CONTENIDOS EN EL POROTO DE SOYA .....	11
1.3.1.3 ALIMENTOS EN BASE A SOYA.....	13
1.3.1.4 UTILIZACIÓN DE LA SOYA EN PANADERÍA .....	13
1.3.2 HARINA DE PLÁTANO.....	14
2 LAS VITAMINAS.....	15
2.1 VITAMINAS DEL GRUPO B.....	16
2.1.1 VITAMINA B1: TIAMINA .....	16
2.1.1.2 FUNCIONES .....	17
2.1.1.3 DEFICIENCIA.....	17
2.1.1.4 CONSUMO DIETÉTICO DIARIO .....	18
2.1.1.5 FUENTES ALIMENTICIAS RICAS EN TIAMINA .....	18
2.1.2 VITAMINA B2: RIBOFLAVINA .....	19
2.1.2.1 FUNCIONES .....	19
2.1.2.2 DEFICIENCIA.....	20
2.1.2.3 CONSUMO DIETÉTICO DIARIO .....	21
2.1.2.4 FUENTES ALIMENTARIÁS.....	21
B.- MARCO TEÓRICO .....	
1 FLUOROMETRIA.....	21
1.1 FUNDAMENTO DE LA FLUORESCENCIA MOLECULAR.....	21
1.2 ESPECTROS DE EXCITACIÓN Y EMISIÓN .....	22
1.3 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA FLUORESCENCIA MOLECULAR.....	23

1.4 INSTRUMENTACIÓN .....	24
1.5 APLICACIONES.....	25
2 CONTROL DE CALIDAD.....	26
2.1 PROGRAMA DE GARANTÍA DE CALIDAD.....	27
2.2 PROCEDIMIENTOS NORMALIZADOS DE OPERACIÓN.....	27
2.3 CONTROL INTERNO DE CALIDAD ANALÍTICA EN EL LABORATORIO .....	27
2.4 ESTANDARIZACIÓN .....	28
2.5 PRECISIÓN ANALÍTICA.....	28
2.6 EXACTITUD ANALÍTICA.....	28
3 DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN EN ESTUDIO.....	28
4 DESCRIPCIÓN DEL ÁMBITO DE ESTUDIO.....	29
V DISEÑO METODOLÓGICO.....	29
1 MÉTODOS DE ANÁLISIS	
1.1 DETERMINACIÓN DE LA VITAMINA B1 (TIAMINA)	
MÉTODO FLUOROMETRICO O DEL TIOCROMO.....	30
FUNDAMENTO .....	30
REACTIVOS.....	30
MATERIAL Y EQUIPOS .....	31
PROCEDIMIENTO.....	32
CÁLCULOS .....	33
1.2 DETERMINACIÓN DE RIBOFLAVINA	
MÉTODO FLUOROMETRICO.....	34
FUNDAMENTO .....	34
REACTIVOS.....	34
MATERIAL Y EQUIPOS .....	35
PROCEDIMIENTO.....	35
CÁLCULOS .....	36
VI-RESULTADOS.....	37
VII- CONCLUSIONES.....	55
VII.- RECOMENDACIONES.....	57
IX.-BIBLIOGRAFÍA .....	58
ANEXOS .....	62



## I.- INTRODUCCIÓN.-

Las vitaminas, a pesar de su composición química diversa, pueden definirse como sustancias orgánicas que deben ser proporcionadas exclusivamente por la alimentación, porque los seres humanos no pueden sintetizarlas, o su velocidad de síntesis es inadecuada para la conservación de la salud. Una excepción es la vitamina D, que se puede formar en la piel con la exposición al sol, y las vitaminas K, B<sub>1</sub>, B<sub>12</sub> y ácido fólico, que se forman en pequeñas cantidades en la flora intestinal.<sup>1</sup>

Las vitaminas son imprescindibles en los procesos metabólicos que tienen lugar en la nutrición de los seres vivos. No aportan energía, puesto que no se utilizan como combustible, pero sin ellas el organismo no es capaz de aprovechar los elementos constructivos y energéticos suministrados por la alimentación. Normalmente se utilizan en el interior de las células como precursoras de las coenzimas, a partir de las cuales se elaboran los miles de enzimas que regulan las reacciones químicas de las que viven las células.<sup>1</sup>

Tener una buena alimentación es indispensable para el desarrollo de todas nuestras habilidades físicas y mentales; además la deficiencia de vitaminas puede llevarnos a contraer enfermedades graves como el beri-beri deficiencia de tiamina, el escorbuto y problemas óseos y dentales, la debilidad de los vasos sanguíneos por deficiencia de vitamina C, problemas de huesos y dentales, desarrollo anormal del tejido cartilaginoso, pérdida de fuerza muscular por deficiencia de vitamina D, etc. Que podríamos corregir con una alimentación balanceada. La carencia de vitaminas se denomina Hipovitaminosis y el exceso de alguna de ellas puede producir Hipervitaminosis.

## **II.- JUSTIFICACIÓN.-**

El propósito del presente trabajo de investigación del Laboratorio de Bromatología del Instituto de Servicios de Laboratorio de Diagnóstico e Investigación en salud “SELADIS” es la de implementar nuevas técnicas analíticas que sean confiables, sencillas y de bajo costo, para la prestación de servicios, que serán puestas en beneficio de toda la comunidad.

Además para que un método analítico nuevo sea aplicado en un laboratorio debe cumplir con los requisitos del programa de control de calidad, en la cual indica que un método debe cumplir con los parámetros de precisión, exactitud, linealidad y especificidad del método. Se estandariza estas dos técnicas analíticas para la determinación de Tiamina y Riboflavina en tres muestras de harinas de trigo, soya y plátano, porque son alimentos que tienen diferentes características, lo cual nos permite ver que la técnica es aplicable para diferentes tipos de harinas.

Las vitaminas al ser micro nutriente importante y esencial para nuestro equilibrio fisiológico por todas las propiedades funcionales y metabólicas que tienen en nuestro organismo. En respuesta a la demanda de necesidad que existe en nuestro medio específicamente si nos referimos a la población infantil que requiere de estos nutrientes esenciales para su crecimiento, su buen desarrollo de sus habilidades físicas y psicomotoras, que actualmente serían de preocupación en ser atendidas por el gobierno Municipal a través del Desayuno escolar.

Se debe realizar un control de calidad en harinas, para valorar su contenido de vitaminas como la Tiamina (vitamina B1) y la Riboflavina (vitamina B2) que es un parámetro nutritivo de calidad. Para brindar un alimento rico en nutrientes que cumpla con las normas de calidad y sea apto para el consumo humano.

Por esta razón es que en el presente trabajo se estandariza y se determina la concentración de Tiamina y Riboflavina por el método fluorométrico en muestras de

harinas de: trigo, soya y plátano. Además se implementará como técnicas en el laboratorio de Bromatología, para realizar el control de calidad de muestras de diferentes clases de harinas que llegan al laboratorio.

### **III.- OBJETIVOS**

#### **3.1. OBJETIVO GENERAL.**

- Determinar cuantitativamente Tiamina y Riboflavina en harinas de trigo, de soya de plátano por el método fluorométrico.

#### **3.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS.-**

- Estandarizar el método fluorométrico para Tiamina, tomando en cuenta los parámetros: Precisión, exactitud, linealidad y especificidad del método.

- Estandarizar el método fluorométrico para Riboflavina, tomando en cuenta los parámetros: Precisión, exactitud, linealidad y especificidad del método.

- Determinar la concentración de tiamina en harinas de trigo, de soya y harina de plátano por el método fluorométrico.

- Determinar la concentración de riboflavina en harinas de trigo, de soya y harina de plátano por el método fluorométrico.

### **IV.- DISEÑO TEORICO.-**

#### **A.- MARCO REFENCIAL**

##### **1. ANTECEDENTES.-**

##### **1.1 HARINA DE TRIGO**

Se denomina harina de trigo al producto preparado de granos de trigo (*triticum vulgaris*) mediante procedimientos de trituración y molienda en los que se elimina gran parte del salvado y germen y el resto se desmenuza hasta que tenga un grado adecuado de finura igual o menor a 180µm.<sup>24</sup>

El trigo es una planta gramínea, herbácea, anual, del género *triticum*, que comprende un número considerable de especies silvestres y cultivadas. Es el cereal más importante, constituye la fuente principal de la harina panificable en todo el mundo, debido a la presencia en ella de sustancias proteicas y amiláceas.<sup>22</sup>

---

<sup>24</sup> NB 680 Norma que reemplaza a la NB680-99.

<sup>22</sup> Ines Bernal de Ramirez ANALISIS DE ALIMENTOS, Academia Colombiana de Ciencias Exactas Físicas y Naturales, Santa Fé de Bogotá D.C. 1994.

---

Se cultivó primero en el medio Oriente, pero en la actualidad se cultiva en todo el mundo<sup>23</sup>

Se cultivan muchos tipos de trigo, pero en la alimentación se emplean dos tipos: *Triticum vulgare* y *Triticum durum*, el primero se usa para obtener pan y en pastelería; y el segundo para la fabricación de fideos y similares.<sup>3</sup>

La harina de trigo posee constituyentes aptos para la formación de masas (proteína - gluten), pues la harina y agua mezclados en determinadas proporciones, producen una masa consistente. Esta es una masa tenaz, con ligazón entre sí, que ofrece una determinada resistencia, a la que puede darse la forma deseada, y que resiste la presión de los gases producidos por la fermentación (levado con levadura, leudado químico) para obtener el levantamiento de la masa y un adecuado desarrollo de volumen.

### **1.1.2 Obtención y clases de harina de trigo.-**

La molienda del trigo tiene como finalidad básica la obtención de harinas a partir de los granos de trigo, para la fabricación de pan, pastas alimenticias o galletas. Los pasos que se siguen para obtener la harina son:

1. Limpieza preliminar de los granos, mediante corrientes de aire que separan el polvo, la paja y los granos vacíos.
2. Escogido de los granos, mediante cilindros cribados que separan los granos por su tamaño y forma.
3. Despuntado y descascarillado, en esta fase se eliminan el embrión y las cubiertas del grano.
4. Cepillado de la superficie de los granos, para que queden totalmente limpios.

<sup>3</sup> HARINA DE TRIGO <http://www.alimentacionsana.com.ar/informaciones/Chef/harina.htm>

<sup>23</sup> Ronald S. Kira, Ronald Sawyer, Harold Egan, COMPOSICION Y ANALISIS DE ALIMENTOS DE PEARSON, 2da Edición México 1996, Editorial Continental S.A. México.

5. Molturación, finalmente se pasa a la molienda por medio de unos rodillos metálicos de superficie áspera o lisa, que van triturando el grano y obteniendo la

6. Refinado, una vez obtenida la harina pasa a través de una serie de tamices que van separando las diferentes calidades de la harina. Este constituirá la harina de primera extracción.

El resto retenido por el tamiz pasa a una segunda trituración esta vez ligeramente mas intensa y nuevamente se separa y tamiza esta harina se llamará de segunda extracción.<sup>2</sup>

Quedaran otros restos para ser sometidos a una nueva trituración cada vez con mayor presión por la menor distancia entre los rodillos. La operación se repite hasta conseguir una harina blanca que posee un índice de aprovechamiento medio del 72% respecto de la cantidad inicial de grano. Cuando el porcentaje global extraído supera esta cifra, se obtienen las denominadas harinas integrales y oscuras, que contienen la cáscara del grano además de su meollo. <sup>3</sup>

### **1.1.3 TIPIFICACION DE LAS HARINAS.-**

Comercialmente las harinas son tipificadas con las denominaciones de:

Cuatro ceros (0000), tres ceros (000) dos ceros (00), cero (0) Medio cero ½ (0), harinilla de primera y harinilla de segunda corresponderán a los productos que se obtienen de la molienda gradual y metódica del endospermo en cantidad de 70-80% del grano limpio<sup>20</sup>.

La harina 000 se utiliza siempre en la elaboración de panes, ya que su alto contenido de proteínas posibilita la formación de gluten y se consigue un buen leudado sin que las piezas pierdan su forma.

<sup>2</sup> Rolando Salinas, ALIMENTOS Y NUTRICION BROMATOLOGIA APLICADA A LA SALUD, editorial el Ateneo 2da edición editorial Buenos Aires 1993

<sup>20</sup> CODIGO ALIMENTARIO AARENTINO tomo I - A Buenos Aires 1992

La 0000 es más refinada y más blanca, al tener escasa formación de gluten no es un buen contenedor de gas y los panes pierden forma. Por ese motivo sólo se utiliza en panes de molde y en pastelería, en batido de tortas, hojaldres, etc.

#### **1.1.4 Composición de la harina de trigo:**

Su composición debe ser: <sup>3</sup>

Glúcidos..... 74-76%

Prótidos..... 9-11%

Lípidos..... 1-2%

Agua.....11-14%

Minerales.....1-2%

#### **Glúcidos: Almidón**

Es el componente principal de la harina. Es un polisacárido de glucosa, insoluble en agua fría, pero aumentando la temperatura experimenta un ligero hinchamiento de sus granos. El almidón está constituido por dos tipos de cadena:

- Amilosa: polímero de cadena lineal.
- Amilopectina: polímero de cadena ramificada.

Junto con el almidón, vamos a encontrar unas enzimas que van a degradar un 10% del almidón hasta azúcares simples, son la alfa y la beta amilasa.

#### *1. Prótidos: Gluten*

La cantidad de proteínas varía mucho según el tipo de trigo, la época de recolección y la tasa de extracción.

El gluten es un complejo de proteínas insolubles en agua, que le confiere a la harina de trigo la cualidad de ser panificable. Está formado por:

---

<sup>3</sup>HARINA DE TRIGO <http://www.alimentacionsana.com.ar/informaciones/Chef/harina.htm>

- **Glutenina**, proteína encargada de la fuerza o tenacidad de la masa.
- **Gliadina**, proteína responsable de la elasticidad de la masa.

La cantidad de gluten presente en una harina es lo que determina que la harina sea "fuerte" o "floja".

La harina fuerte es rica en gluten, tiene la capacidad de retener mucha agua, dando masas consistentes y elásticas, panes de buen aspecto, textura y volumen satisfactorios. La harina floja es pobre en gluten, absorbe poca agua, forma masas flojas y con tendencia a fluir durante la fermentación, dando panes bajos y de textura deficiente.

#### 2.- *Lípidos:*

las grasas de la harina proceden de los residuos de las envolturas y de partículas del germen. El contenido de grasas depende por tanto del grado de extracción de la harina. Mientras mayor sea su contenido en grasa más fácilmente se enranciará.

#### 3.- *Agua:*

la humedad de una harina, según la legislación española, no puede sobrepasar el 15%, es decir que 100 kilos de harina pueden contener, como máximo, 15 litros de agua. Naturalmente la harina puede estar más seca.

#### 4.- *Minerales:* Cenizas

Casi todos los países han clasificado sus harinas según la materia mineral que contienen, determinando el contenido máximo de cenizas para cada tipo. Las cenizas están formadas principalmente por calcio, magnesio, sodio, potasio, etc., procedentes de la parte externa del grano, que se incorporan a la harina según su tasa de extracción.

**Vitaminas:** Contiene vitaminas B1, B2, PP y E. <sup>3</sup>

**Tabla de composición de harinas de trigo sin reforzar a diferentes relaciones de extracción**

<b>Componente</b>	<b>Harina (72%)mg/100g</b>	<b>Harina (80%) mg/100g</b>	<b>Harina integral (9-100%) mg/100g</b>
Hierro	1,2	1,7	2,5
Vitamina B1	0,10	0,25	0,40
Vitamina B2	0,03	0,05	1,12
Acido nicotínico ó B3	0,8	1,3	6

<sup>23</sup>Ronald S. Kira, Ronald Sawyer, Harold Egan, COMPOSICION Y ANALISIS DE ALIMENTOS DE PEARSON, 2da Edición México 1996, Editorial Continental S.A. México.

## **1.2 CLASIFICACION DE LAS HARINAS.-**

Según Normas sanitarias de Alimentos, las harinas de trigo se clasifican en:

- Harina Integral o de Graham: Es una harina oscura que se obtiene de la molienda del grano de trigo con todas sus envolturas celulósicas, obtenida por la molienda integral de máximo 95% del peso total del cereal limpio. <sup>5</sup>

Según el grado de molienda se admiten 3 tipos: grueso, mediano y fino. Esta harina puede utilizarse sola.

- Harina de primera, es la harina más blanca y más libre de salvado.

- Harina de segunda, es de calidad inferior, su color debe ser blanco más o menos amarillento, pudiendo presentar puntuaciones amarillentas muy pequeñas provenientes de la pulverización de la cáscara.

- Harina tercera, es la que resta de las harinas obtenidas de la molienda del trigo después de la separación de las harinas de primera y de segunda, su color puede ser amarillenta más o menos oscuro pero no azulado o gris y las puntuaciones que se observen deberán proceder de los fragmentos envoltorios.

- Harina mixta constituida por la mezcla de harina de trigo con otras harinas.



- Harina de gluten: se extrae industrialmente del grano de trigo, está compuesta por gluten seco y se emplea como mejorador para enriquecer una harina pobre en gluten.
- Harina enriquecida, aquella que ha sido añadida de vitaminas, sales minerales y otras sustancias de valor biológico específico.

#### **Sustancias fortificantes:**

La harina de trigo fortificada debe contener: Tiamina, Riboflavina, Niacina, Acido Fólico y Hierro en forma asimilable e inocuo, en proporciones que se indica en la siguiente tabla de acuerdo al reglamento del decreto supremo de fortificación de la harina de trigo de última publicación en vigencia.<sup>24</sup>

<b>SUSTANCIAS FORTIFICANTES Y NIVELES DE FORTIFICACION DE LA HARINA DE TRIGO</b>		
<b>NUTRIENTE</b>	<b>FORMA VITAMINICA</b>	<b>NIVEL DE ADICION</b>
mg/Kg		
Vitamina B1	Tiamina mononitrato	4.4
Vitamina B2	Riboflavina	2.6
Niacina	Nicotinamida	35.6
Folato	Acido Fólico	1.5
Hierro	Hierro reducido electrolítico	60.0

### **1.3 Otros tipos de harinas**

**Harina de maíz:** Se obtiene de la molienda de los granos de maíz, es el cereal que contiene más almidón, si se utiliza sola, no se aglutina la masa.

Harina de centeno: es la harina más utilizada en la panificación después de la de trigo. Es muy pobre en gluten, por ese motivo es necesario añadir un 50% de harina de trigo para conseguir un buen proceso de fermentación.<sup>3</sup>

**Las harinas de soja, arroz, avena, mijo y de cebada:** Estas harinas deben complementarse con un porcentaje de harina de trigo para poder amasarlas y conseguir formación de gluten.

---

<sup>24</sup>NB 680 Norma que reemplaza a la NB680-99.

### **1.3.1 HARINA DE SOYA.-**

Una de las explotaciones del poroto soya, es su industrialización en los molinos para la obtención de la harina. Este producto está frecuentemente entre los líderes en el mercado de cotizaciones. Y es por esta causa que cada vez es más amplio el sector agropecuario que destina sus tierras en la época de siembra y cosecha gruesa, al cultivo de la soya .<sup>6</sup>

La harina de se extrae de las hojuelas del poroto de soya, descascarado seco y su molienda, con una textura similar a la harina corriente. Es muy nutritiva, tiene 3 veces más proteínas que la carne, no contiene gluten. Es una excelente fuente proteínas, vitaminas y minerales. La harina de soya sin grasa, es también una fuente importante de fibra. Contiene isoflavones, que actúan como antioxidantes. La harina de soya debe de ser almacenada en refrigeración o en el congelador. Puede durar hasta 12 meses.

#### **1.3.1.1 SOYA.-**

Nombre científico: Glycine max. La Soya es la legumbre de mayor importancia y consumo a nivel mundial, a partir de ella se elaboran un sin fin de productos. <sup>6</sup>

Es un poroto oleaginoso que es originario de China y usada en Japón hace más de 2000 años. El nombre que se ha dado al la soya, proviene del vocablo antiguo usado por los chinos: *sou*, así la denominaban en tiempos remotos, en la actualidad se la conoce como Ta Tou (Gran Frijol), pero que se está cultivando en grandes proporciones actualmente en América.<sup>7</sup>

La soya es reconocida por su elevada concentración de proteínas, minerales y vitaminas, a tal grado que puede ser un excelente sustituto de la carne, el pescado, los huevos y cualquier producto lácteo (sobre todo en personas vegetarianas).

Es la única que contiene todos los aminoácidos esenciales para el organismo y que a

diferencia de los alimentos proteicos de origen animal, tiene un alto contenido de fibra (4.5%), no presenta colesterol, y su grasa presente contiene una gran cantidad de lecitina, un fosfolípido vital para las membranas celulares, el cerebro y el sistema nervioso.

La lecitina de soya es un aceite que se extrae del porotito de soya, rico en sustancias que necesitan las neuronas del cerebro, tales como colina e inositol.

Por estas propiedades mejora la memoria y ayuda a todo el sistema nervioso, incluyendo la piel. También constituye un buen colaborante hepático porque emulsiona eficazmente las grasas y es muy usada para reducir el colesterol malo. Es buena para el corazón, presión sanguínea alta, además presenta isoflavones (sustancias similares a la hormona femenina estrógeno), vitaminas (tiamina, niacina, riboflavina y piridoxina), minerales (calcio, zinc, hierro), flavonoides (ayudan en la función de la vitamina C, antioxidantes) terpenos, saponinas, fitoesteroles (propiedades anticancer).<sup>7</sup>

En cuanto a calidad proteínica para preescolares y niños más grandes además las fórmulas de soya pueden producir menos alergias que las de la leche de vaca pues carecen de lactosa y tienen grasa digestible.

#### **1.3.1.2 NUTRIENTES CONTENIDOS EN EL POROTO DE SOYA.**

**Aminoácidos (AA):** El porotito de soya (*Glycine max*) proporciona proteínas de alto valor biológico y los 8 *aminoácidos esenciales* (aminoácidos que el cuerpo humano no puede sintetizar y por lo que debemos recurrir a obtenerlos directamente de los alimentos: *fenilalanina, isoleucina, leucina, lysina, metionina, threonina, tryptophano y valina*. También posee una buena proporción de los otros 12 aminoácidos denominados *esenciales*. La FAO (Organización de la Agricultura y Alimentación, ONU) y la OMS (Organización Mundial de la Salud, ONU) le han conferido a la soya la calificación de PDCAAS 1, valor máximo que puede alcanzar un alimento proteico, por su contenido de aminoácidos necesarios para el

crecimiento.<sup>7</sup>

Perfil de AA: %AA/100gr de proteínas:<sup>7</sup>

Triptofano .....	1,01.
Lisina .....	5,05
Histidina .....	1,16
Arginina .....	10,95
Acido aspártico .....	13,95
Treonina .....	6,88
Serina .....	4,19
Acido Glutámico .....	18,53
Prolina .....	5,61
Glicina .....	3,52
Alanina .....	2,84
Valina .....	5,08
Metionina .....	0,92
Isoleucina .....	4,77
Leucina .....	8,13
Tirocina .....	1,68
Fenilalanina.....	4,21

Vitaminas :

Perfil de vitaminas en 100 gr:<sup>7</sup>

Vitamina A .....	1.500 UI
Vitamina D .....	400 UI
Vitamina E .....	2 UI
Vitamina B1 .....	0,5 mg
Vitamina B2 .....	0,8 mg
Vitamina PP .....	9,0 mg
Vitamina B12 .....	0,9 mg
Vitamina C .....	20,0 mg
Acido fólico .....	100 mcg

**Minerales: Calcio, fósforo, hierro, magnesio y potasio.**<sup>7</sup>

Perfil de Minerales en 100 gr:

Calcio .....	400,0 mg
Fósforo .....	200,0 mg
Hierro .....	5,0 mg

Yodo ..... 0,1 mg

**Otros nutrientes:** Además la soya posee un interesante contenido de *isoflavonas* (fitoestrógenos), estudiadas actualmente por sus propiedades anti-cancerígenas, sus funciones anti-oxidantes, y un rol en la mejoría de la mineralización ósea . También contiene *saponinas*.

Perfil de otros parámetros en 100gr:<sup>7</sup>

Proteína .....	30,0 gr
Aceites .....	26,0 gr
Fibras .....	0,5 gr
Cenizas .....	5,0 gr
Carbohidratos .....	35,5 gr
Humedad .....	3,0 gr

### 1.3.1.3 ALIMENTOS EN BASE A SOYA.-

Puede ser preparada tanto como porotito, germinada (brotes) y en una variedad de subproductos. Actualmente puede encontrar bebidas lácteas y jugos que contienen soya: texturizada para utilizarse en guisados, harina para hot cakes, harina integral y harina desgrasada y sus variedades, barras de granola de arroz con soya; leche de soya; queso de soya ;salsa de soya; papillas infantiles; atoles; gelatinas; chocolate en polvo; alimentos infantiles y pastas; entre muchas opciones. La industria farmacéutica y de alimentos también ha desarrollado fórmulas de alimentación especial para lactantes intolerantes a la lactosa.<sup>8</sup>

### 1.3.1.4 UTILIZACION DE LA SOYA EN PANADERÍA

La harina de soya y las proteínas de soya mejoran el valor nutritivo de galletas, panes, pasteles, pasteles y otros productos de panadería.<sup>9</sup>

- Se usa harina desgrasada de soya de 50 % de proteína para enriquecer la harina de trigo.

---

<sup>7</sup> Instituto de Estudios Salud Natural de Chile. IESN-Chile <http://www.geocities.com/iesnchile>  
<http://www.geocities.com/ceniuschile/AlimentosOriente.html>

<sup>8</sup><http://www.conocimientosweb.net/portal/article784.html>

<sup>9</sup> Desarrollo de Productos de Soya en Panadería

<http://www.wishh.org/workshops/Desarrollo%20de%20Productos%20para%20las%20panaderias%20y%20productos%20materno%20infantil%20%20%20s%20maternizadas%2003.06.pdf>

- El porcentaje de harina de soya usado dependerá del tipo de pan o galleta y puede ser desde un 3 % hasta un 15 %
- La harina de soya se mezcla con la de trigo y luego con esa mezcla de harinas se hace la masa y el pan o galleta con ajustes mínimos
- El producto final es más nutritivo, sabroso y duradero. Efectos debidos a la proteína de soya.

### **1.3.2 HARINA DE PLÁTANO.-**

El plátano (genero *Musa paradisíaca*) es un fruto que representa la 4ta fuente de energía para países en vías de desarrollo después del maíz, arroz y trigo.<sup>10</sup>

Los bananos son el cuarto producto agrícola más importante en el mundo, después del arroz, trigo y maíz en términos de producción. Son una fuente barata y de fácil producción de energía.<sup>10</sup>

También contiene: Calcio, potasio, hierro y vitaminas: tiamina, riboflavina y niacina.

Debido a la alta concentración de almidón el procesamiento de plátano verde como harina y almidón es de interés como una posible fuente de importancia para la alimentación con propósitos industriales.

Se entiende el producto obtenido por la desecación y pulverización de los frutos maduros y pelados de diversa especies de banano (en especial de *musa paradisíaca*) .Su color debe ser ligeramente grisácea su sabor ácido y astringente y no debe aglutinarse.<sup>20</sup>

La composición química del plátano caracterizada por la presencia de almidones y escasez de ácidos, lo hace un producto extremadamente sensible al oxígeno al igual que al calor.

---

<sup>10</sup> EVALUACION NUTRICIONAL, FÍSICA Y SENSORIAL DE PANES DE TRIGO Y PLÁTANO VERDE  
[http://72.14.209.104/search?q=cache:rWtKF9fqoEoj:www.scielo.org.ve/scielo.php%3Fpid%3DS0378-18442005000500011%26script%3Dsci\\_arttext%26tng%3Des+harina+de+platano&hl=es&gl=bo&ct=clnk&cd=8](http://72.14.209.104/search?q=cache:rWtKF9fqoEoj:www.scielo.org.ve/scielo.php%3Fpid%3DS0378-18442005000500011%26script%3Dsci_arttext%26tng%3Des+harina+de+platano&hl=es&gl=bo&ct=clnk&cd=8)

El almidón es un factor importante para la salud humana, la fracción denominada almidón resistente no degradada por las enzimas digestivas del hombre, investigaciones muestran que este almidón disminuye la curva posprandial y el índice glicémico.

La harina de plátano obtiene 86 % de almidón del cual 40.7 es de amilasa y además 8,6 % de fibra dietética.<sup>10</sup>

Las frutas que son inapropiadas para los muy exactos estándares del mercado de exportación pueden ser procesadas en diferentes formas. Se puede utilizar en su estado verde o maduro, de ahí la importancia de promocionar sus características culinarias a los comerciantes para educar al consumidor y evitar su confusión con los bananos.

En cuanto a procesos industriales, uno de los pasos que han sido difíciles de agilizar es el pelado, pues por ser de forma alargada, arqueado, blando y de dimensiones variables, han sido obstáculos insuperables en la realización de sistemas mecánicos de pelado.

## **2 LAS VITAMINAS.-**

Las vitaminas son nutrientes orgánicos imprescindibles en los procesos metabólicos que tienen lugar en la nutrición de los seres vivos. Sin ellas el organismo no es capaz de aprovechar los elementos constructivos y energéticos suministrados por la alimentación. Normalmente se utilizan en el interior de las células como precursoras de las coenzimas, a partir de los cuales se elaboran las miles de enzimas que regulan las reacciones químicas de las que viven las células.

Se puede hacer una clasificación de ellas, dependiendo de su solubilidad.

Las vitaminas A, D, E y K son liposolubles, se absorben en nuestro organismo con la ayuda de las grasas y aceites, y las vitaminas del complejo B y C son hidrosolubles, no necesitan grasa para su absorción.

Las vitaminas liposolubles pueden almacenarse en cantidades muy abundantes, y esta propiedad les confiere un potencial de toxicidad grave que excede mucho la del grupo hidrosoluble.<sup>11</sup>

## 2.1 Vitaminas del grupo B.-

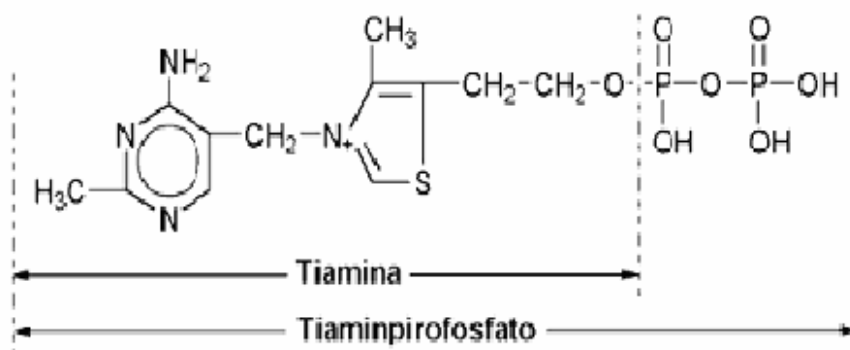
Son hidrosolubles, se caracterizan porque se disuelven en agua, por lo que pueden pasarse al agua del lavado o de la cocción de los alimentos. Sólo se almacenan en una cantidad limitada y se requiere consumo frecuente para conservar la saturación de los tejidos.<sup>1</sup>

Participan como coenzimas en numerosos sistemas enzimáticos. Se diferencian de las demás vitaminas por el hecho de que sus moléculas contienen átomos de nitrógeno.

### 2.1.1 Vitamina B1: tiamina

Es una de las vitaminas del complejo B, un grupo de vitaminas hidrosolubles que participa en muchas de las reacciones químicas del organismo.

Propiedades químicas, 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:



Estructura de la tiamina y el tiaminpirofosfato.

Tomado de Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica.



---

<sup>11</sup> [http://www.biopsicologia.net/fichas/page\\_1101.html](http://www.biopsicologia.net/fichas/page_1101.html)

<sup>1</sup> <http://www.monografias.com/trabajos11/lasvitam/lasvitam.shtml>

### **2.1.1.2 Funciones .-**

La tiamina (vitamina B1) ayuda a las células del organismo a convertir en energía. También es esencial para el funcionamiento del corazón, músculos y sistema nervioso.

- El pirofosfato de tiamina actúa como coenzima en el metabolismo vital para la respiración tisular

- Tiene un efecto benéfico sobre el sistema nervioso en la conducción nerviosa y la actitud mental. Ayuda en casos de depresión, irritabilidad, pérdida de memoria, pérdida de concentración y agotamiento.

- Favorece el crecimiento.

- Aunque es necesaria para el metabolismo de grasas, proteínas y ácidos nucleicos, esta relacionada más firmemente con el metabolismo de carbohidratos, ayuda en la síntesis de las pentosas.

- Interviene en el metabolismo del alcohol

- Aunque es necesaria para el metabolismo de grasas, proteínas y ácidos nucleicos, esta relacionada más firmemente con el metabolismo de carbohidratos, ayuda en la síntesis de las pentosas.

- Interviene en el metabolismo del alcohol.

Esta vitamina en su forma de éster pirofosfórico participa en el desarrollo de los hidratos de carbono.

Es necesaria para desintegrar los hidratos de carbono y poder aprovechar sus principios nutritivos.

### **2.1.1.3 Deficiencia**

Las carencias de tiamina no son comunes, observándose con mayor frecuencia en alcohólicos. En los alcohólicos generalmente el consumo alimentario es inadecuado,

deteriorándose la absorción y el almacenamiento.<sup>11</sup>

Los signos clínicos de deficiencia de tiamina incluyen trastornos en el sistema nervioso y cardiovascular y finalmente se expresa la enfermedad llamada *Beri-Beri*. Los síntomas son confusión mental, desgaste muscular, desgano, edema, parálisis periférica, taquicardia y cardiomegalia. En sus dos tipos seco y húmedo, llegando incluso a la muerte.

Al estar la tiamina muy ligada al transporte de energía, su necesidad varía en función de la dieta, por lo que es recomendable una mayor cantidad para aquellos que ingieran muchos carbohidratos refinados, tales como el pan y arroz blanco, pasta y azúcar; para personas de avanzada edad y para aquellos con una dieta reducida.

También para fumadores y personas que beben alcohol.

El déficit de tiamina se asocia a la polineuropatía periférica, al síndrome de Wernicke-Korsakoff, a la degeneración cortical cerebelosa y a la ambliopía nutricional. La manifestación más importante es una pérdida de la memoria reciente. Como consecuencia el enfermo es incapaz de aprender, dando lugar a una desorientación en el tiempo y el espacio y a una aparente incoherencia en el lenguaje y comportamiento.

#### **2.1.1.4 Consumo dietético diario.-<sup>12</sup>**

Niños 1-3 años                      0.5 mg

4-8 años                              0.6 mg

Adolescentes 14-18 años    1 - 1,2 mg

Adultos: Varones                1,2 mg

Mujeres                              1,1 mg

Embarazo y lactancia:        1,4 mg

#### **2.1.1.5 Fuentes alimenticias ricas en tiamina.-**

Se encuentra en el reino animal y vegetal. En grandes concentraciones en la levadura de cerveza, en el pericarpio y el germen de los cereales como en el germen de trigo

(1mg media taza) y la carne de cerdo (1,25mg cada 100g). Todas las vísceras, carnes magras, pescado (0,3mg cada 100g), aves (0,11mg cada 100g), yema de huevo (0,2mg en 100g), legumbres, granos enteros, maní (0,48mg media taza), avena, panes enriquecidos o fortificados y cereales que son fuentes excelentes, pastas, granos secos, frijoles, granos de soya y también en la leche.

### **2.1.2 Vitamina B2: riboflavina.-**

Es una de las vitaminas del complejo B, un grupo de vitaminas hidrosolubles que participa en varias reacciones químicas del organismo.<sup>11</sup>

#### **2.1.2.1 Funciones.-**

La vitamina B2 participa en los procesos de respiración celular, desintoxicación hepática, desarrollo del embrión y mantenimiento de la envoltura de los nervios. También ayuda al crecimiento y la reproducción, y mejora el estado de la piel, las uñas y el cabello. Se encuentra principalmente en las carnes, pescados y alimentos ricos en proteínas en general. Su carencia se manifiesta como lesiones en la piel, las mucosas y los ojos. Suelen ser deficitarios los bebedores o fumadores crónicos y las personas que siguen una dieta vegetariana estricta (sin huevos ni leche) y no toman suplementos de levadura de cerveza o germen de trigo.

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).<sup>11</sup>

La riboflavina se convierte en flavina mononucleótido y flavina adenina dinucleótido mediante dos reacciones catalizadas por enzimas, que se muestran como:(fig.1)

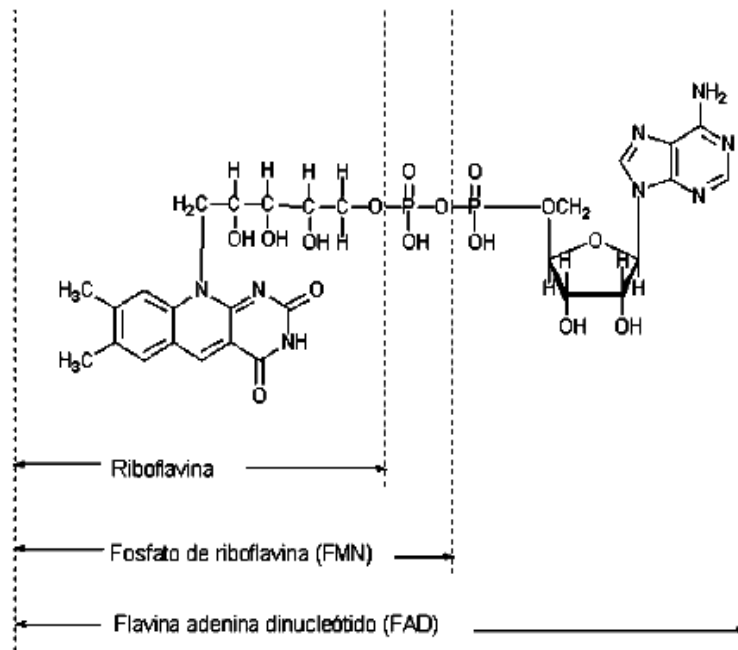


Fig (1) Estructura de la riboflavina, FMN y FAD.

Tomado de Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica.

La flavina mononucleótido y el FDA, las formas de riboflavina con actividad fisiológica desempeñan una función vital en el metabolismo como coenzimas para una amplia variedad de flavoproteínas respiratorias, algunas de las cuales contienen metales (p. ej., xantinoxidasa).

#### 2.1.2.2 Deficiencia.-

Los síntomas de la deficiencia suelen aparecer en personas que toman una alimentación exenta de proteínas, se suele dar en los vegetarianos y también los fumadores crónicos y bebedores, y se manifiesta con síntomas de piel, dermatitis

seborreica y acné, lesiones de las mucosas, queilosis, estomatitis angular y lesiones oculares, trastornos de la visión, vascularización de la córnea. El conjunto de síntomas se llama arriboflavinosis.

Por lo general, aparecen primero mal de garganta y estomatitis angular. Más tarde, sobrevienen glositis, queilosis (labios denudados y rojos), dermatitis seborreica de la cara, y dermatitis sobre el tronco y las extremidades, seguidas por anemia y neuropatía. En algunos sujetos, son notorias la vascularización corneal y la formación de cataratas.

La anemia que aparece en la deficiencia de riboflavina es normocrómica y normocítica y se relaciona con reticulocitopenia; los leucocitos y las plaquetas suelen ser normales. <sup>11</sup>

#### **2.1.2.3 Consumo dietético diario.- <sup>12</sup>**

Niños 1-3 años	0.5 mg
4-8 años	0.6 mg
Adolescentes 14-18 años	1 - 1,3 mg
Adultos: Varones	1,3 mg
Mujeres	1,1 mg
Embarazo y lactancia:	1,4 - 1,6 mg

#### **2.1.2.4 Fuentes alimentarias.-**

Levadura de cerveza, vísceras y despojos cárnicos, germen de trigo, almendras, cocos, queso grasos, mijo, salvado, huevos y lentejas.

### **B.- MARCO TEORICO**

**1. FLUOROMETRIA.-** Determina la cantidad de luz que desprende una solución que contiene una sustancia fluorescente bajo la acción de la luz UV, o de cualquier otra longitud de onda. <sup>13</sup>

#### **1.1 FUNDAMENTO DE LA FLUORESCENCIA MOLECULAR**

La fluorescencia se realiza en dos etapas: excitación y emisión la molécula excitada pasa de un estado electrónico superior al mínimo nivel vibracional, dentro de su

---

<sup>13</sup> [http://www.quimika.com/materias/quimica\\_analitica/conceptos.htm](http://www.quimika.com/materias/quimica_analitica/conceptos.htm)

estado electrónico excitado , mediante una serie de relajaciones vibracionales. Cuando las moléculas alcanzan el mínimo nivel vibracional del menor estado singulete excitado, se puede producir radiación de fluorescencia cuando el electrón regresa a cualquiera de los niveles vibracionales del estado electrónico basal. La pérdida de energía se realiza en dos pasos primero en un estado meta estable y luego vuelve al estado fundamental. Cada transición involucra la producción de radiación de longitudes de onda específica.<sup>14</sup>

Podríamos considerar que la emisión fluorescente resulta ser el proceso opuesto a la absorción.

## **1.2 ESPECTROS DE EXCITACIÓN Y EMISIÓN.-**

En fluorescencia se obtienen dos espectros uno de excitación y uno de emisión. Por ejemplo cuando en una molécula de quinina la radiación UV que excita a la quinina, recibe el nombre de *espectro de excitación*. La radiación que emite la quinina excitada recibe el nombre de *espectro de emisión fluorescente o espectro de fluorescencia*.<sup>14</sup>

Las radiaciones fluorescentes emitidas por los compuestos orgánicos suelen estar comprendidas en el intervalo de 300 a 650 nm. El mayor interés radica en las moléculas aromáticas y transiciones en las cuales se hallan implicados electrones B, pero también puede tener lugar debajo de los 300 nm en le UV. Al igual que las sustancias en solución absorben en un intervalo de longitud de onda, los iones y moléculas fluorescentes en solución emiten en un intervalo de longitud de onda.

## **1.3 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA FLUORESCENCIA MOLECULAR.**

La intensidad de la emisión fluorescente se puede modificar por diversos factores internos y externos .Entre los internos podemos señalar los siguientes:

a) Presencia de grupos cromóforos. La mayor fluorescencia de las moléculas está ligada entre otras causas con su capacidad absorbente de determinadas radiaciones.

De aquí que los compuestos fuertemente conjugados muestren frecuentemente

---

<sup>14</sup>Dra. Mercedes Morales Vaca M.Sc, ANALISIS POR INSTRUMENTACION APUNTES DE CATEDRA UMSA

fluorescencia nativa. En principio, los métodos fluorimétricos son válidos para aquellos compuestos que poseen un sistema de dobles enlaces conjugados, sin embargo, la presencia de un *cromóforo* no es suficiente para esperar que tras excitar con una radiación electromagnética apropiada, se emita fluorescencia nativa.

b) Estructura química. No se puede establecer correlaciones definitivas entre la estructura química y la fluorescencia, sin embargo se han aportado algunas de interés.

Se ha observado experimentalmente la notable influencia de la geometría molecular sobre los procesos luminiscentes así cualquier factor que favorezca la planaridad y rigidez de la molécula favorece la fluorescencia. La rigidez molecular reduce las interacciones de una molécula con su medio circundante y, consecuentemente reduce la velocidad de desactivación por colisiones. Por ejemplo la fluoresceína y la eosina son fuertemente fluorescentes, pero un compuesto similar, la fenolftaleína, que no es rígida y cuyo sistema conjugado está interrumpido, no es fluorescente. Se puede afirmar que la planaridad es un factor que afecta a los procesos de emisión, principalmente, en tanto que afecta a la geometría y simetría molecular, ya que los procesos de emisión van acompañados por procesos de transferencia de carga modificando la simetría molecular.

a) Influencia de los sustituyentes. El estudio de los espectros de fluorescencia tras la modificación de la estructura base por introducción de distintos sustituyentes puede dar información acerca de las características químicas del estado excitado. Los efectos de los sustituyentes sobre la energía de emisión se hacen más pronunciadas en la fluorescencia que en la fosforescencia. Es decir los procesos de fluorescencia son mucho más sensibles a las modificaciones en el anillo por introducción de distintos sustituyentes. En general se puede afirmar que los

sustituyentes que actúan como electrodonadores incrementan el rendimiento de luminiscencia del sistema aromático.

Los factores externos que modifican la fluorescencia pueden ser:

- a) La temperatura cuando está aumentada la intensidad de la fluorescencia disminuye, por que el aumento de la frecuencia de choques a temperatura elevada mejora la probabilidad de desactivación por conversión externa.
- b) La viscosidad favorece la fluorescencia ya que permite que la molécula se mueva menos, la probabilidad que se produzcan desactivaciones es menor.
- c) El pH tiene sus efectos algunas veces favoreciendo el proceso y en otras dificultándolo. Así mismo el fenol como el anisol presentan fluorescencia a pH 7 pero a pH 12, el fenol se convierte en un anión no fluorescente, mientras que el anisol se mantiene sin cambios. De igual forma la anilina tiene fluorescencia en la región visible a pH 7 y PH12, pero el catión pro tonado a PH 2 no es fluorescente.
- d) Los solventes pueden modificar la intensidad y las longitudes de onda de excitación y de emisión de la fluorescencia. La fluorescencia de un compuesto se reduce por sustancia que contienen átomos pesados u otros solutos con tales átomos en sus estructuras. Los solventes que tienen sustituyentes moleculares tales como los grupos Br, I, NO<sub>2</sub>, -N=N- son poco convenientes.
- e) La concentración afecta también, es mejor trabajar a bajas concentraciones. La potencia o intensidad fluorescente es proporcional al número de moléculas en estados excitados, el cual a su vez es proporcional a la potencia o intensidad radiante absorbida por la muestra. La fluorescencia responde también a la ley de Lamberth-Beer siempre que las concentraciones sean muy diluidas, a mayores concentraciones la relación se hace lineal.

#### **1.4 INSTRUMENTACIÓN.-**

La característica fundamental de los instrumentos para mediciones fluorimétricas reside en la incorporación de dos selectores de radiaciones situados antes y después de la cubeta porta muestras y dispuestos generalmente en ángulo de 90°.



Es necesario distinguir entre un fluorómetro (de filtros) y un Espectrofluorímetro. El primero emplea como selectores filtros y generalmente no dispone de registrador. El espectrofluorímetro, además de tener incorporado un registrador, como selectores emplea habitualmente redes de difracción. Un instrumento de fluorescencia consta de los siguientes componentes:

- 1) Una fuente de radiación continua muy intensa, habitualmente es una lámpara de arco de vapor de Xenón, emite espectro continuo entre 250 y 780 nm. En los fluorómetros a filtro se emplea una lámpara de vapor de mercurio.
- 2) Un selector que puede ser un filtro primario o monocromador de excitación, los filtros son menos versátiles que los monocromadores, pero su ventaja es que la pérdida de intensidad es menor.
- 3) Una cubeta portamuestras, las cubetas pueden ser de vidrio, siempre de caras paralelas o de cuarzo.
- 4) Un filtro secundario o monocromador de emisión que selecciona la longitud de onda de emisión.
- 5) Un detector, que pueden ser fotocélulas o foto multiplicadores, a éste debe llegar exclusivamente la intensidad de radiación que ha producido la fluorescencia (el más usado es de tipo 90°).
- 6) Registrador, puede ser digital o analógico, mejor si es del tipo de registro gráfico, donde se pueden obtener los dos espectros uno de excitación y otro de emisión. Para hacer el barrido espectral o la curva de calibración es necesario fijar tanto la longitud de onda de excitación como de emisión.

### **1.5 APLICACIONES.-**

La fluorimetría es una técnica en continuo desarrollo. Las características de selectividad y reproducibilidad que posee la fluorimetría la hacen indispensable en muchos análisis de fármacos o sus metabolitos.

Se aplica en la determinación de quinina, de aluminio, de vitaminas B1, B2 y B12.

La espectroscopia de fluorescencia ha tomado un papel más importante en el análisis, particularmente en la determinación de contaminantes a nivel de trazas en el medio

ambiente, porque los compuestos usados en fluorescencia dan mayor sensibilidad detecta cantidades en ppb, y mayor especificidad. Muchos fármacos o drogas tienen eficiencias cuánticas bastante elevadas para la fluorescencia, por ejemplo la quinina y la dietilamida del ácido LSD. Carcinógenos como el benzopireno se determinan fluorimétricamente con facilidad en análisis de contaminación del aire. Medicamentos como los salicilatos, las fenotiacinas, las vitaminas, las determinaciones fluorimétricas de tiamina y riboflavina constituyen los ejemplos clásicos de la aplicación de esta técnica en el campo farmacéutico. Numerosos plaguicidas, órganos clorados se determinan fácilmente también por esta técnica.

#### Comparación entre las tres técnicas de absorción\*

	UV-VIS	FLUOROM.	FOSFORIM.
SENSIBILIDAD	+	++	+++
LINEALIDAD	+	++	+++
SELECTIVIDAD	+++	++	+++
VERSATILIDAD	+++	++	+
PRECISION	+++	++	+
SENCILLEZ	+++	++	+

\*Dra. Mercedes Morales Vaca M.Sc, ANALISIS POR INSTRUMENTACION APUNTES DE CATEDRA UMSA CARRERA DE QUIMICA FARMACÉUTICA, LA PAZ 2002.

## 2.- CONTROL DE CALIDAD.

Conjunto de métodos y actividades de carácter operativo que se utiliza para satisfacer el cumplimiento de los requisitos de calidad establecidos en un contrato, norma, sistema u otro similar.

Es el estudio de aquellas causas de variación de las cuales es responsable el laboratorio y de los procedimientos utilizados para identificar y minimizar dichas variaciones incluyendo todos los errores que se producen en el laboratorio entre el momento en que se recibe las muestras y la entrega de resultados.<sup>15</sup>

### 2.1 PROGRAMA DE GARANTIA DE CALIDAD:

El sistema de control diseñado para asegurar que los estudios, ensayos o análisis se llevan de acuerdo a los principios de las buenas prácticas de laboratorio.

Esto se logra mediante el cumplimiento de los siguientes objetivos:

-Estandarizar los métodos analíticos.

-Lograr un funcionamiento comparable no solo entre analistas individuales dentro de un mismo laboratorio sino también entre laboratorios que realizan el mismo tipo de análisis.<sup>15</sup>

## **2.2 PROCEDIMIENTOS NORMALIZADOS DE OPERACION**

Los procedimientos normalizados de operación, es una información sencilla, simple queda a lector inducciones paso a paso de cómo realizar una determinada actividad en el laboratorio.

Los PNO son documentos que describen minuciosamente la manera de realizar ciertas operaciones de rutina o actividad en proceso de estudio. Estas pruebas de ensayo deben seguirse con esmero para asegurar la calidad de los datos. Aprobados por el director o jefe de laboratorio.

## **2.3 CONTROL INTERNO DE CALIDAD ANALITICA EN EL LABORATORIO**

El control interno en el laboratorio representa la base para lograr resultados analíticos exactos y por ende la comparabilidad de resultados en el laboratorio.

Etapas:

- Selección del método de análisis: sustancialmente libre de errores sistemáticos que incluye una descripción clara y precisa del mismo.
- Comprobación de la precisión satisfactoria del método.

Elaboración de un grafico de control que sirva como prueba continua de la precisión y de la localización de alguna fuente de errores sistemáticos.

## **2.4 ESTANDARIZACION.-**

La estandarización es ajustar un método analítico a determinadas normas y formas.

En la metodología empleada en el proceso de la estandarización se utiliza la norma guía ISO 5725 que fija las pautas para determinar la exactitud de un método de ensayo y sus resultados, tomando como referencia la REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD que permite calcular la precisión y exactitud de un método.<sup>4</sup>

## **2.5 PRECISION ANALITICA.-**

Representa el grado de concordancia entre medidas repetidas efectuadas sobre la misma muestra en condiciones constantes y determinadas.

Su calidad se evalúa estadísticamente mediante la desviación estándar (SD) y coeficiente de variación (CV), permite detectar errores fortuitos es decir aquellos errores producidos por diferentes causas y que afectan al valor analítico y son difíciles de identificar.<sup>16</sup>

## **2.6 EXACTITUD ANALÍTICA.-**

Concordancia de valor medido y valor verdadero en ausencia de todo error fortuito.

Es importante su evaluación porque:

- Evalúa el rendimiento del método.
- Evalúa la capacidad del método para proporcionar o determinar resultados próximos al valor verdadero.
- Permite detectar errores sistemáticos.

## **3. DESCRIPCION DE LA POBLACIÓN EN ESTUDIO**

El presente trabajo se realiza en muestras de harina de trigo integral, harina de soya y harina de plátano.

El número de muestras fueron seis:

- harina de trigo fortificada tipo 000 marca FAMOSA procedencia Santa Cruz-Bolivia
- harina de trigo tipo 000 marca FLORENCIA procedencia Argentina
- harina de trigo marca IRUPANA procedencia La Paz
- harina de soya marca IRUPANA procedencia La Paz
- harina de plátano sin marca \*
- harina de plátano dulce sin marca , procedencia el Alto

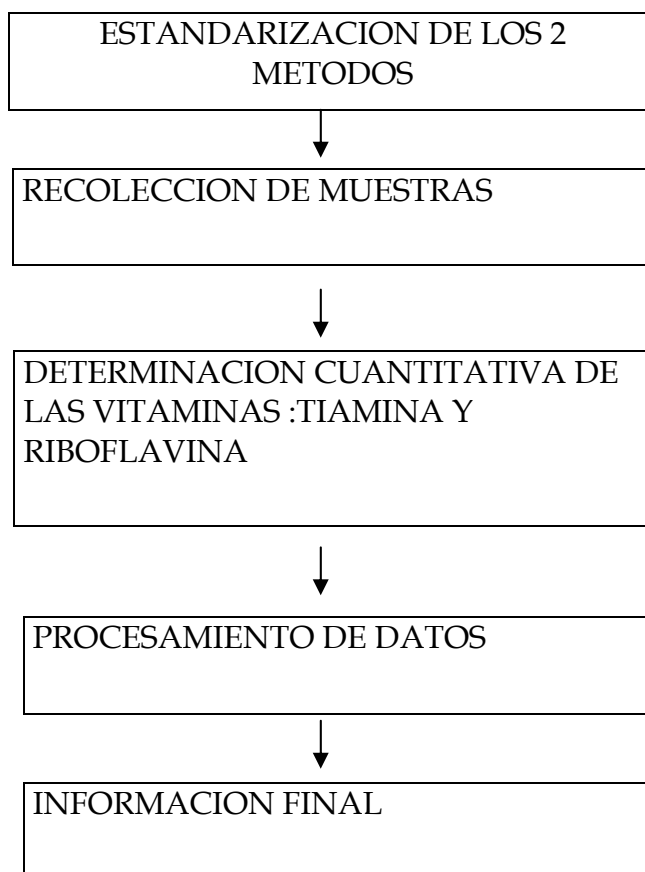
Las muestras fueron adquiridas al azar de diferentes puntos de venta de la ciudad de La Paz.

\*Con excepción de la harina de plátano, que se elaboró en el laboratorio de Bromatología.

#### **4. DESCRIPCION DEL AMBITO DE ESTUDIO.-**

El procesamiento y Análisis de las muestras se realizaron en el laboratorio de Bromatología del INSTITUTO DE SERVICIOS DE LABORATORIO DE DIAGNOSTICO E INVESTIGACIÓN EN SALUD "SELADIS".

#### **V DISEÑO METODOLGICO.-**



#### **1. MÉTODOS DE ANALISIS.-**

##### **1.1 DETERMINACION DE LA VITAMINA B<sub>1</sub> (TIAMINA)**

## **Método Fluorométrico o del Tiocromo**

### **FUNDAMENTO**

El método se basa en la extracción de la tiamina presente en la muestra por calentamiento en medio ácido, seguida de una oxidación de ésta a tiocromo, mediante una solución alcalina de ferricianuro de potasio al 1 % dando el producto una intensa fluorescencia azul y posterior medición de la fluorescencia del tiocromo formado.

Es el método más específico de los métodos empleados normalmente para la determinación de vitamina B1. <sup>17,18</sup>

### **REACTIVOS.-**

Todos los reactivos deben ser de grado analítico o de la mayor pureza posible

#### **Clorhidrato de Tiamina (C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>Cl N<sub>4</sub> OS. HCl)**

- *Solución stock 100 ug/ml.*

Disolver en solución al 20 % de metanol acidificado a pH 3.5-4.5 con HCl concentrado.

- *Solución intermedia 10 ug/ml*

Diluir con metanol al 20 % ajustado a pH 3.5-4.5

- Solución de trabajo 0.2 ug/ml

Diluir la solución con HCl 0.1 N. Antes de enrasar agregar 5 g de NaCl.

- Cloruro de sodio

- Sulfato de sodio anhidro

- Isobutanol

- Acido clorhídrico concentrado

- Solución de HCl 1 N

- Solución de HCl 0.1 N

- Solución de NaOH al 15 %

- Solución de ferricianuro de potasio al 1 % preparada en el momento de usar

<sup>17</sup> Norma Chilena Nch de 1227 of .77 Instituto Nacional de Normalización.

<sup>18</sup> A.O.A.C. oficial Methods of Analylis. 14 Edition - 1984

- Reactivo oxidante

Tomar 4 ml de la solución de ferricianuro de potasio al 1 % y diluir a 100 ml con la solución de NaOH al 15 %.

- Solución de metanol al 20 % ajustada a pH 3.5-4.5 con HCl concentrado

- Sulfato de quinina

Solución stock de sulfato de quinina de 1 mg % en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1 N

Solución de trabajo de 4 ug %.

### **MATERIAL Y EQUIPOS**

Balanza analítica

Fluorómetro con lámpara de cuarzo- halógeno con filtro de excitación de 360 nm y emisión 430 nm (fluorómetro SEQUIA - TURNER MODELO 450)

Baño Maria

Centrífuga

Tubos con tapa rosca de 30 ml

Matraz aforado de 25 ml

Tubos de centrífuga

Papel filtro

Material usual de laboratorio

Cronómetro

### **PROCEDIMIENTO**

a) Preparación de la muestra

- Pesar 0,75 gramos de muestra previamente homogenizada en un tubo de 30 ml con tapa rosca , agregar 1.25 g de NaCl y mezclar
- Agregar 17.5 ml de la solución de HCl 0.1 N agitando vigorosamente.
- Colocar el tubo en un baño de agua hirviente durante 30 minutos, agitando cada 10 a 15 minutos.
- Enfriar y diluir en un matraz aforado de 25 ml con solución de HCl 0.1 N.

- Centrifugar a 1500rpm por 5 minutos hasta que el líquido sobrenadante esté claro y filtrarlo a través de papel filtro, descartando los primeros 1 a 2 ml del filtrado.

b) Preparación del estándar

- *Curva de calibración*

A partir de las siguientes soluciones de trabajo 0.05 ,0.1, 0.2, 0.3y 0.4 ug/ml.

Tomar en duplicado alícuotas de 5 ml de cada solución estándar, para así obtener las siguientes concentraciones 0.25 ug/5ml, 0.5 ug/5ml ,1 ug/5ml ,1.5 ug/5ml ,2 ug/5ml

Obtenido de la solución de trabajo de 0.2 ug/ml, alternativa de rutina, en reemplazo de la curva de calibración.

c) Oxidación de tiamina a tiocromo

- Efectuar los ensayos en duplicado. El ensayo debe realizarse al abrigo A cada uno de dos tubos agregar 5 ml de la solución de la muestra y de los respectivos estándares de la curva de calibración.
- A la primera serie de tubos (muestra y estándares) agregar 3 ml del reactivo oxidante agitando vigorosamente.
- A la segunda serie de tubos (blanco de la muestra y de los estándares) agregar en reemplazo del reactivo oxidante 3 ml de la solución de NaOH al 15 % y agitar vigorosamente.
- A todos los tubos agregar 15 ml de isobutanol. Agitar durante 2 minutos agregar unos 0.05 g de sulfato de sodio anhidro para eliminar el resto de agua y los, hasta obtener un extracto sobrenadante claro.
- De cada tubo extraer la parte superior o fase isobutanolica . La parte acuosa inferior es la mezcla de alcali y agua se debe eliminarla.

d) Medición de la fluorescencia del Tiocromo

- Medir la fluorescencia del extracto isobutanolico de la muestra con NaOH al 15 % (blanco). Registrar lectura ,llevar a 0



- Medir la fluorescencia del extracto isobutanólico de la muestra con reactivo oxidante. Registrar lectura (a).
- Medir la fluorescencia del extracto isobutanólico del o los estándares con Na OH al 15 % (blancos). Registrar lectura , llevar a 0
- Medir la fluorescencia del extracto isobutanólico del o los estándares con reactivo oxidante. Registrar lectura. (b).

## CALCULOS

### Utilizando la curva de calibración

- Graficar la curva o hacer el cálculo de regresión lineal. Interpolar los valores de la muestra y así obtener la concentración de la muestra en ug de tiamina / 5 ml (A).

$$T: A \times \frac{20}{M}$$

T : concentración de tiamina en mg/kg

A: concentración de tiamina en ug/5 ml obtenido de la curva

m: peso de la muestra

### Utilizando un solo estándar

$$T = \frac{a}{b} \times \frac{1\text{ug}}{5} \times \frac{20}{m}$$

T: concentración de tiamina en mg/kg

a: fluorescencia de la muestra

b: fluorescencia del estándar

m: peso de la muestra

1ug: concentración del estándar / 5 ml

## 1.2 DETERMINACIÓN DE RIBOFLAVINA

### Método Fluorométrico

#### FUNDAMENTO

El método se basa en la extracción de la riboflavina presente en la muestra por calentamiento en medio ácido y posterior medición de la fluorescencia verdosa propia de la riboflavina en un fluorómetro. <sup>17,18</sup>

#### REACTIVOS

Todos los reactivos deben ser de grado analítico o de la mayor pureza posible.

1. Riboflavina estándar ( $C_{17}H_{20}N_4O_7$ ).
2. Solución stock de riboflavina de 100  $\mu\text{g/ml}$   
Disolver con la solución de ácido acético 0.02 N.
3. Solución N° 1 de riboflavina de 10  $\mu\text{g/ml}$   
Guardar a una temperatura aproximada de 10 °C.
4. Solución N° 2 de riboflavina de 1  $\mu\text{g/ml}$
5. Acido acético glacial
6. Solución de ácido acético 0.02 N
7. Solución de  $H_2O_2$  al 3 %
8. Solución de  $KMnO_4$  al 4 %
9. Solución de NaOH 1 N
10. Solución de HCl 0.1 N
11. Fluoresceína : fluorescein-5-isothiocyanat (FITC I)  
Solución stock de fluoresceína de 2 mg %  
Solución de trabajo de fluoresceína 0.2  $\mu\text{g/ml}$

#### MATERIAL Y EQUIPOS

Balanza Analítica

Fluorómetro con lámpara de cuarzo- halógeno con filtro de excitación de 440 nm y emisión 535 nm (fluorómetro SEQUIA - TURNER MODELO 450)

Centrífuga

Frascos ámbar

Matraz aforado de 100 ml ámbar

Peachímetro

Papel filtro libre de impurezas

Baño de agua

Tubos de centrifuga de 10 ml

Cronómetro

## **PROCEDIMIENTO**

### Preparación de la muestra

- a. Pesar exactamente 4 g de muestra previamente homogenizada y colocarla en un frasco ámbar de plástico de 100 a 200 ml.
- b. Agregar 35 ml de la solución de HCl 0.1 N y agitar. Colocar en baño de agua hirviente por una hora, agitando cada 10 a 15 minutos.
- c. Enfriar y agitar la mezcla hasta que las partículas estén dispersas homogéneamente.
- d. Ajustar el pH a 6.0-6.5 con solución de NaOH 1 N agitando fuertemente y agregar inmediatamente la solución de HCl 0.1 N hasta pH 4.5
- e. Transferir a un matraz aforado ámbar de 50 ml y enrasar con agua destilada.
- f. Centrifugar, filtrar y así obtener la solución de la muestra.
- g. Tomar alícuotas del filtrado claro y verificar la disolución de proteínas agregando gotas de solución de HCl 0.1 N
- h. Si precipita, ésta es la solución de muestra que se usa para la determinación fluorométrica.
- i. Si no precipita se hace necesario iniciar nuevamente el análisis, pero con el doble de muestra, y en la etapa en que no se precipita con HCl diluido se debe hacer lo siguiente: sacar 50 ml de la solución, ajustar nuevamente a pH 6.0-6.5 con solución de NaOH 1 N agitando fuertemente y luego con HCl 0.1 N hasta pH 4.5 y enrasar a 100 ml con agua destilada.

## Determinación

- Tomar 2 tubos de ensayo y agregar 5 ml la solución de muestra a cada uno.
- Agregar 0.5 ml de la solución N° 2 de riboflavina a uno de los tubos y mezclar.
- Al otro tubo agregar 0.5 ml de agua y mezclar.
- A cada uno de los tubos agregar 0.5 ml de ácido acético glacial, mezclar y añadir agitando 0,25 ml de la solución de  $\text{KMnO}_4$  al 4 %. Dejar reposar 2 minutos.

*Nota: la cantidad de  $\text{KMnO}_4$  debe ser aumentada para muestras que tengan exceso de materia oxidable.*

- Agregar a cada tubo 0,25 ml de la solución de  $\text{H}_2\text{O}_2$  al 3 % y agitar. El color del  $\text{KMnO}_4$  deberá desaparecer en 10 segundos.

## Medición de la fluorescencia de la riboflavina

- Medir la fluorescencia de la solución de la muestra que contiene 0.5 ml de solución N° 2 de riboflavina. Registrar lectura X.
- Medir la fluorescencia de la solución de la muestra que contiene 0.5 ml de agua. Registrar B.

## CALCULOS

Válidos cuando no es necesario aumentar la cantidad de muestra

$$R = \frac{(B)}{(X - B)} \times \frac{0.5}{5} \times \frac{50}{\text{CM}}$$

R = concentración de riboflavina en mg/kg

B = fluorescencia de la muestra

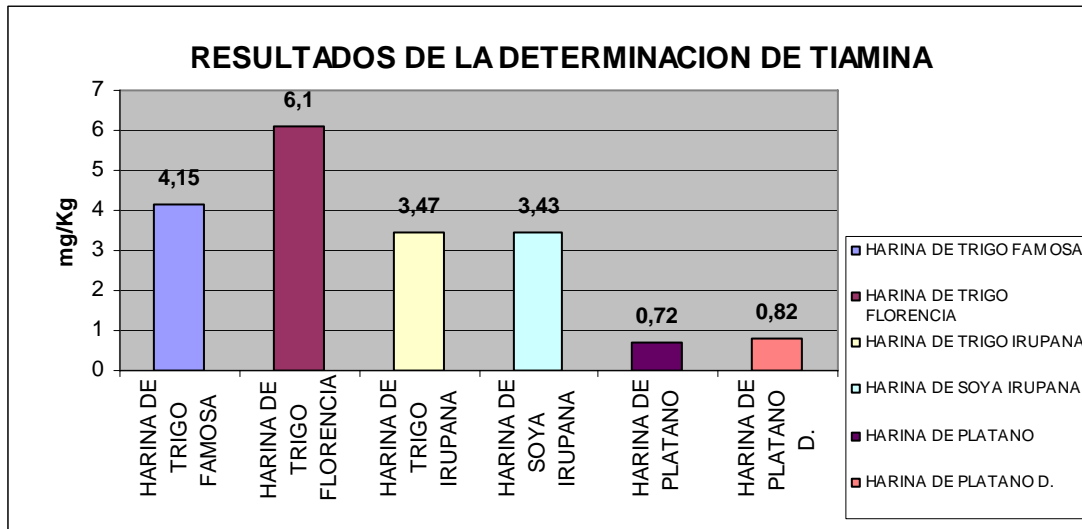
X = fluorescencia de la muestra + estándar N° 2

CM = peso de la muestra

## VI.- RESULTADOS

### GRAFICO No 1

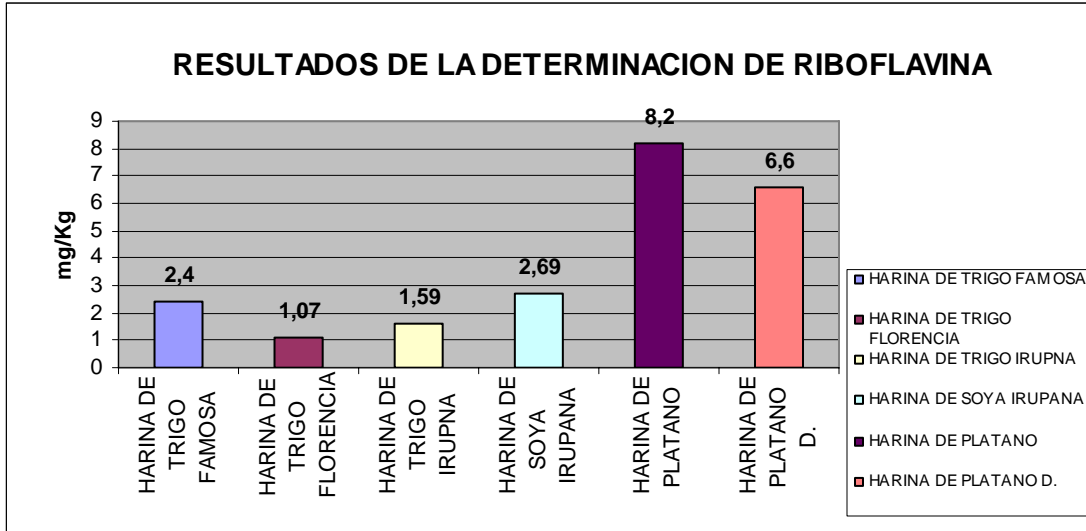
#### RESULTADOS OBTENIDOS DE LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACION DE TIAMINA EN 6 MUESTRAS DE HARINAS



En el gráfico No 1 se observa que la harina de trigo "FLORENCIA" tiene 6.1 mg/Kg de tiamina que constituye la mayor concentración en relación a las otras muestras.

### GRAFICO No 2

#### RESULTADOS OBTENIDOS DE LA DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DE RIBOFLAVINA EN 6 MUESTRAS DE HARINAS



En el gráfico No2 se observa que la harina de plátano tiene 8.2 mg/Kg de Riboflavina que constituye la mayor concentración en relación a las otras muestras.

**CUADRO No1.-**

**COMPARACION DE RESULTADOS OBTENIDOS DE LA CONCENTRACION DE TIAMINA EN 6 MUESTRAS DE HARINAS CON DATOS DE REFERENCIA**

No	MUESTRA	VALORES OBTENIDOS mg/Kg	VALOR DE REFERENCIA mg/Kg
1.-	Harina de trigo Fortificada "FAMOSA"	4.15	4.4*
2.-	Harina de trigo "FLORENCIA"	6.1	6.3*
3.-	Harina de trigo "Irupana"	3.47	2.0 **
4.-	Harina de Soya " IRUPANA"	3.43	3.9**
5.-	Harina de plátano	0.72	0.5***

6.-	Harina de plátano dulce	0.82	0.6***
-----	-------------------------	------	--------

Se observa que todos los resultados obtenidos son aceptables y se demuestra que existe relación con los datos de referencia.

**CUADRO No2.-**

**COMPARACION DE RESULTADOS OBTENIDOS DE LA CONCENTRACION DE RIBOFLAVINA EN 6 MUESTRAS DE HARINAS CON DATOS DE REFERENCIA**

No	MUESTRA	VALORES OBTENIDOS mg/Kg	VALOR DE REFERENCIA mg/Kg
1.-	Harina de trigo Fortificada "FAMOSA"	2.4	2.6*
2.-	Harina de trigo "FLORENCIA"	1.07	1.3*
3.-	Harina de trigo "Irupana"	1.59	3.3 ***
4.-	Harina de Soya " IRUPANA"	2.69	2.7**
5.-	Harina de plátano	8.2	1.5***

6.-	Harina de plátano dulce	6.6	2.4***
-----	-------------------------	-----	--------

Se observa que todos los datos obtenidos en las muestras analizadas son aceptables y pero en las dos últimas muestras no existe relación con los datos de referencia.

\* Valor declarado en la etiqueta del producto.

\*\* <sup>19</sup> (TABLA DE COMPOSICIÓN DE ALIMENTOS BOLIVIANOS, Ministerio de previsión social y salud pública, división nacional de nutrición La Paz Bolivia, tercera edición 1984.)

\*\*\*<sup>24</sup> TABLA BOLIVIANA DE COMPOSICION DE ALIMENTOS Ministerio de Salud y Deportes Serie DOCUMENTOS TECNICOS , La paz- Bolivia noviembre 2005 ,4ta Edición agosto 2005.

### CUADRO No3

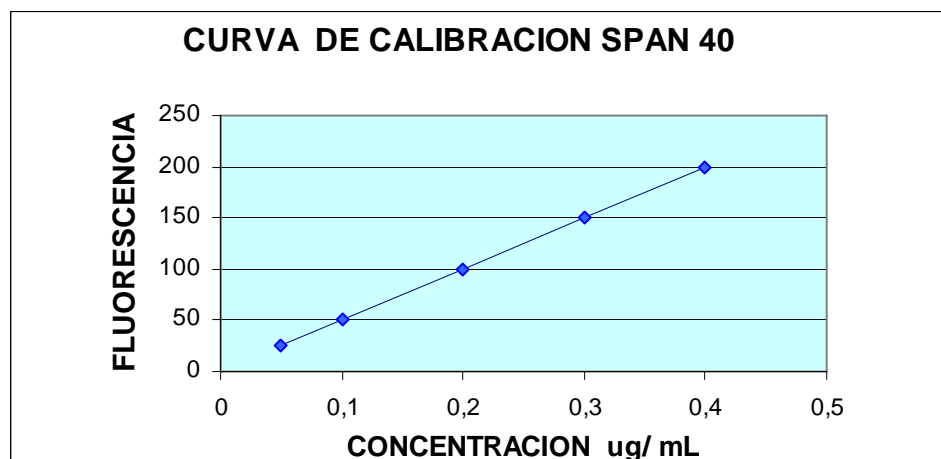
#### CURVA DE CALIBRACIÓN PARA TIAMINA SPAN 40

X ( ug/ml)	Y ( fluorescencia)
0.05	26
0.1	51
0.2	100
0.3	150
0.4	199

$$r = 0.996; b = 493.02; a = 1.66$$

#### GRAFICO No3

#### CURVA DE CALIBRACION PARA TIAMINA





En el gráfico No 3, Para la estandarización de la técnica se procedió con pruebas preliminares, para obtener resultados óptimos que nos permitan ver la relación entre concentración y lectura y poder demostrar que el procedimiento es adecuado. Se pudo ver que la curva de calibración tiene linealidad y relación proporcional entre concentraciones y lecturas.

**LINEALIDAD.-** Se analizó en patrón estándar que es clorhidrato de tiamina en las siguientes concentraciones 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 ug/ml, se procedió a la oxidación a tiocromo para su posterior lectura. La prueba se realizó 5 veces, los resultados obtenidos se procesaron según el método estadístico de regresión lineal, con un coeficiente de correlación  $r = 0.996$ ,  $a = 1.66$  y  $b = 493.02$  determinando linealidad y proporcionalidad.

**ESPECIFICIDAD DEL METODO. -**

Este método es específico para la determinación de vitamina B1 (tiamina) porque extrae la tiamina clorhidrato que solo este componente es oxidado a tiocromo, no habiendo otro componente que se oxide.

**CUADRO No 4**

**CUADRO DE CONTROL DE EXACTITUD Y PRECISION**

**LABORATORIO:** BROMATOLOGIA -SELADIS

**PRUEBA:** DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DE TIAMINA

**METODO:** FLUOROMETRICO

**MUESTRA:** HARINA DE TRIGO MARCA "FAMOSA"

**PROCEDENCIA:** Santa Cruz -Bolivia

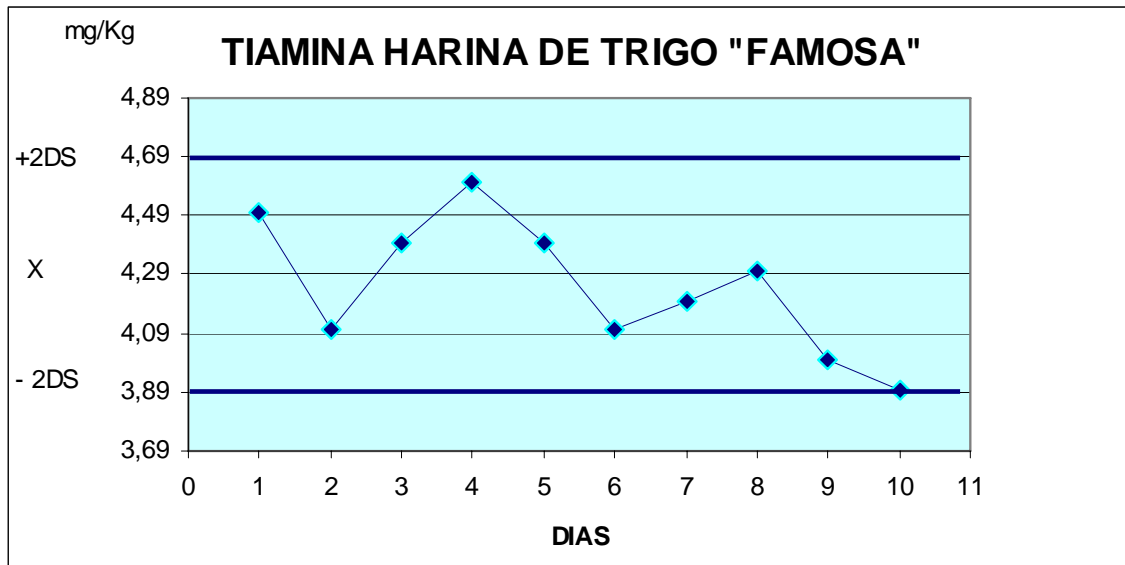
DÍA	VALOR TEORICO	VALOR HALLADO	% DE DESVIACIÓN DEL VALOR TEORICO	% DE EXACTITUD
1	4.4	4,5	- 2.27	102.27

2	4.4	4,1	6.818	93.182
3	4.4	4,4	0	100
4	4.4	4,6	-4.545	104.545
5	4.4	4,4	0	100
6	4.4	4,1	6.818	93.182
7	4.4	4,2	4.545	95.455
8	4.4	4,3	2.27	97.73
9	4.4	4	9.09	90.91
10	4.4	3,9	11.36	88.64
PROMEDIO	4.4	4.29	2.5	97.5

PROMEDIO	4.29
DESVIACIÓN ESTANDAR	0.2
C.V.	4.73 %
LIMITE SUPERIOR	4.69
LIMITE INFERIOR	3.88
CONFIABILIDAD	95.27 %

#### **GRAFICO No4**

**RESULTADOS OBTENIDOS EN 10 REPETICIONES DE LA DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DE TIAMINA EN HARINA DE TRIGO MARCA "FAMOSA"**



#### EXACTITUD.-

El análisis comprendió 10 repeticiones, durante 10 días consecutivos obteniéndose un promedio de 4.15 mg/Kg que corresponde un porcentaje de exactitud de 94.3%.

#### PRECISIÓN.-

La precisión es la concordancia de valores medidos en torno a una zona definida y efectuada sobre una misma muestra en condiciones constantes y determinadas.

Es un criterio estadístico se expresa en desviación estándar y coeficiente de variación.

Este ensayo se determino mediante ensayos de reproducibilidad y repetibilidad .El análisis se realizó en una muestra de harina de trigo durante 10 días, en la cual se obtuvo un promedio de 4.15 mg/Kg. Todos lo datos son aceptables ya que se encuentran dentro del limite superior y del limite inferior, resultando con un índice de confiabilidad de 95.27 % y un rango de variación de 4.73%, que nos indica que existe errores sistemáticos básicamente condicionados por factores intrínseco (inestabilidad del analito en estudio) por factores extrínsecos (Luz) que resultan factores no controlables.

#### CUADRO No 5

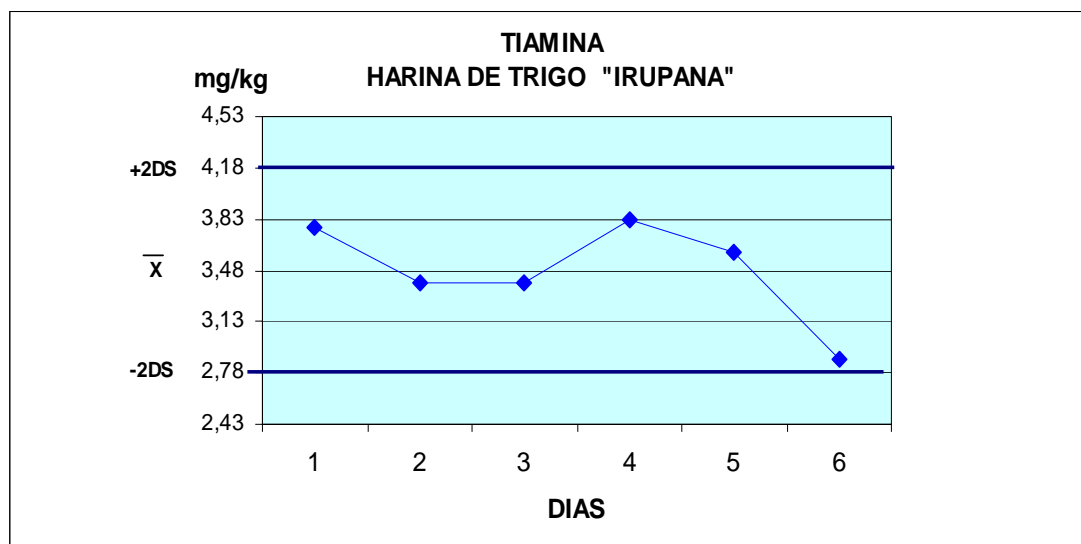
**RESULTADOS OBTENIDOS DE LA DETERMINACION DE LA  
CONCENTRACION DE TIAMINA EN HARINA DE TRIGO MARCA  
"IRUPANA"  
(INDÚSTRIA BOLIVIANA)**

DÍA	mg/Kg
1	3,78
2	3,4
3	3,39
4	3,82
5	3,6
6	2,87

PROMEDIO	3,48
DESVIACIÓN ESTANDAR	0,35
C.V	10,02 %
LIMITE SUPERIOR	4,17
LIMITE INFERIOR	2,78
CONFIABILIDAD	89,98 %

**GRAFICO No5**

**RESULTADOS OBTENIDOS EN 6 REPETICIONES DE LA DETERMINACION  
DE LA CONCENTRACION DE TIAMINA EN HARINA DE TRIGO MARCA  
"IRUPANA"**



Según los datos obtenidos podemos indicar que la muestra de harina de trigo de marca "IRUPANA" tiene 3,48 mg/Kg.

#### **PRECISIÓN.-**

Este ensayo se determino mediante ensayos de reproducibilidad y repetibilidad. Se realizo el análisis de la muestra harina de trigo "IRUPANA", durante 6 días, consecutivos en la cual se obtuvo un promedio de 3.48 mg/Kg. Todos los datos son aceptables ya que se encuentran dentro del límite superior y del límite inferior, resultando con un índice de confiabilidad de 90 % y un rango de variación de 10% lo cual nos indica que existen errores sistemáticos básicamente condicionados por factores intrínsecos ( inestabilidad del analito en estudio) por factores extrínsecos ( Luz).

#### **CUADRO No 6**

**RESULTADOS OBTENIDOS DE LA DETERMINACION DE LA  
CONCENTRACION DE TIAMINA EN HARINA DE SOYA MARCA  
"IRUPANA"  
(INDÚSTRIA BOLIVIANA)**

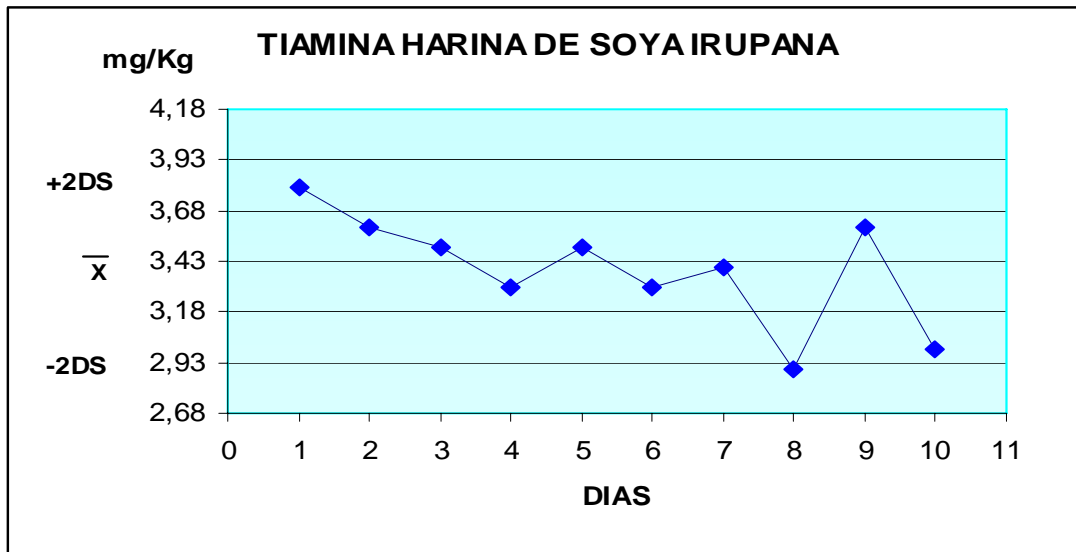
<b>DÍA</b>	<b>Mg/kg</b>
1	3,8
2	3,6
3	3,5
4	3,3
5	3,5

6	3,3
7	3,4
8	2,9
9	3,6
10	3

PROMEDIO	3,43
DESVIACIÓN ESTANDAR	0,25
C.V	7.43 %
LIMITE SUPERIOR	3,94
LIMITE INFERIOR	2,92
CONFIABILIDAD	92,57 %

#### **GRAFICO No 6**

**RESULTADOS OBTENIDOS EN 10 REPETICIONES DE LA DETERMINACION  
DE LA CONCENTRACION DE TIAMINA EN HARINA DE SOYA MARCA  
"IRUPANA"**



Según los datos obtenidos podemos indicar que la muestra de harina de soya de marca "IRUPANA" tiene 3,43 mg/Kg.

**PRECISIÓN.-**

Este ensayo se determino mediante ensayos de reproducibilidad y repetibilidad. Se realizo el análisis de la muestra harina de soya "IRUPANA" durante 10 días, consecutivos en la cual se obtuvo un promedio de 3,43 mg/Kg. Todos los datos son aceptables con excepción de dato 8 que se encuentra fuera del límite inferior, resultando con un índice de confiabilidad de 92,57 % y un rango de variación de 7,43%, que nos indica que existen errores sistemáticos básicamente condicionados por factores intrínsecos (inestabilidad del analito en estudio) por factores extrínsecos (Luz) que resultan factores no controlables.

**CUADRO 7**

**RESULTADOS OBTENIDOS DE LA DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DE TIAMINA EN HARINA DE TRIGO MARCA "FLORENCIA"**

<b>TIPO DE HARINA</b>	<b>1ra prueba</b>	<b>2ra prueba</b>	<b>3ra prueba</b>	<b>Promedio mg/kg</b>
HARINA DE TRIGO "FLORENCIA"	6.0	5.8	6.5	6.1

En el cuadro 7 se observa el número de pruebas realizadas para la muestra de harina de trigo marca "FLORENCIA", se realizó tres pruebas obteniéndose un promedio de 6,1 mg/Kg,

#### **CUADRO 8**

#### **RESULTADOS OBTENIDOS DE LA DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DE TIAMINA EN HARINA DE PLATANO S/M Y DE PLATANO DULCE S/M**

<b>TIPO DE HARINA</b>	<b>1ra prueba</b>	<b>2ra prueba</b>	<b>3ra prueba</b>	<b>Promedio mg/kg</b>
HARINA DE PLATANO	0.7	0.78	0.68	0.72
HARINA DE PLATANO DULCE	0.9	0.7	0.86	0.82

En el cuadro 7 se observa el número de pruebas realizadas para cada muestra, para la harina de plátano se realizó tres pruebas obteniéndose un promedio de 0,72 mg/Kg, para la harina de plátano dulce se realizó tres pruebas, obteniéndose un promedio de 0.82 mg/Kg.

#### **CUADRO No 9**

#### **CUADRO DE CONTROL DE EXACTITUD Y PRECISION**

**LABORATORIO:** BROMATOLOGIA -SELADIS

**PRUEBA:** DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DE RIBOFLAVINA



**METODO:** FLUOROMETRICO

**MUESTRA:** HARINA DE TRIGO MARCA "FLORENCIA"

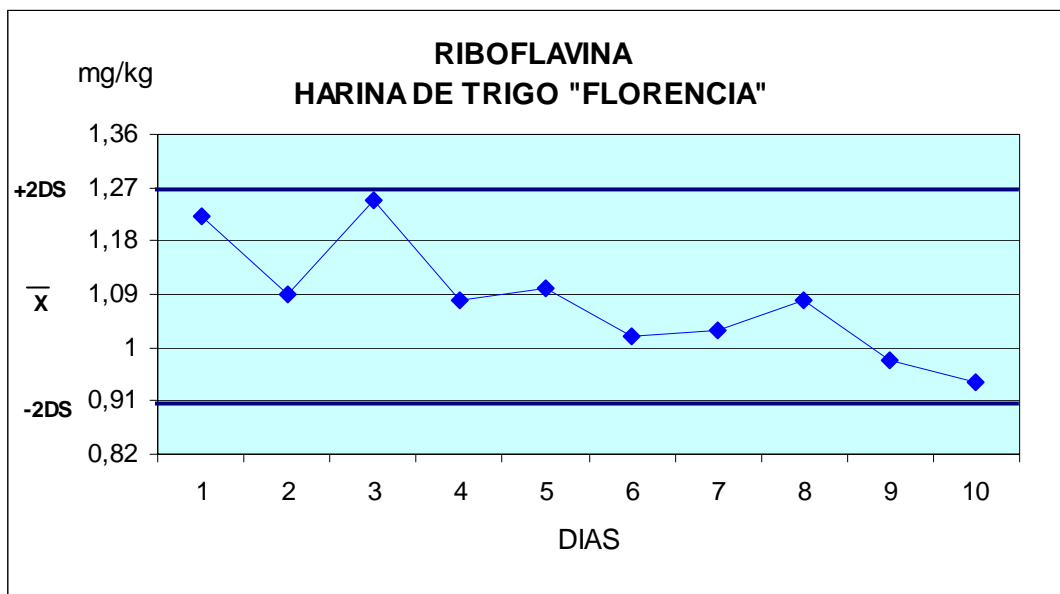
**PROCEDENCIA :** BUENOS AIRES- ARGENTINA

DÍA	VALOR TEORICO Mg/Kg	VALOR HALLADO Mg/Kg	% DE DESVIACIÓN DEL VALOR TEORICO	% DE EXACTITUD
1	1.3	1,22	6.5	93.5
2	1.3	1,09	16.15	83.85
3	1.3	1,25	3.85	96.15
4	1.3	1.08	16.92	83.08
5	1.3	1,1	15.38	84.62
6	1.3	1,02	21.54	78.46
7	1.3	1,03	20.77	79.23
8	1.3	1,08	16.92	83.08
9	1.3	0,98	24.62	75.38
10	1.3	0,94	27.69	72.31
PROMEDIO	1.3	1.09	16.15	83.85

PROMEDIO 1,09  
DESVIACIÓN ESTANDAR 0,09  
C.V. 8,12 %  
LIMITE SUPERIOR 1,27  
LIMITE INFERIOR 0,92  
CONFIABILIDAD 91,88 %

**GRAFICO No 7**

**RESULTADOS OBTENIDOS EN 10 REPETICIONES DE LA DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DE RIBOFLAVINA EN HARINA DE TRIGO MARCA "FLORENCIA"**



#### **EXACTITUD.-**

Se realizó el análisis de la muestra harina de trigo "FLORENCIA" que comprendió 10 repeticiones , durante 10 días consecutivos en la cual se obtuvo un promedio de 1.09 mg/Kg obteniendo un porcentaje de exactitud de 83.85%.

#### **PRECISIÓN.-**

Es un criterio estadístico se expresa en desviación estándar y coeficiente de variación. Este ensayo se determino mediante ensayos de reproducibilidad y repetibilidad Se realizó el análisis de la muestra harina de trigo marca "FLORENCIA" durante 10 días, consecutivos en la cual se obtuvo un promedio de 1.09 mg/Kg. Todos lo datos son aceptables ya que se encuentran dentro del limite superior y del limite inferior , resultando con un índice de confiabilidad de 92 % y un rango de variación de 8% , que nos indica que existe errores sistemáticos básicamente condicionados por factores intrínsecos (inestabilidad del analito en estudio) por factores extrínsecos ( Luz).

#### **ESPECIFICIDAD DEL METODO.-**

El método se basa en la extracción de la riboflavina presente en la muestra por calentamiento en medio ácido y posterior medición de la fluorescencia verdosa

propia de la riboflavina en un fluoró metro. Es el mas especifico de los métodos empleados para esta determinación, por la fluorecencia propia o característica de la riboflavina.

#### CUADRO No 10

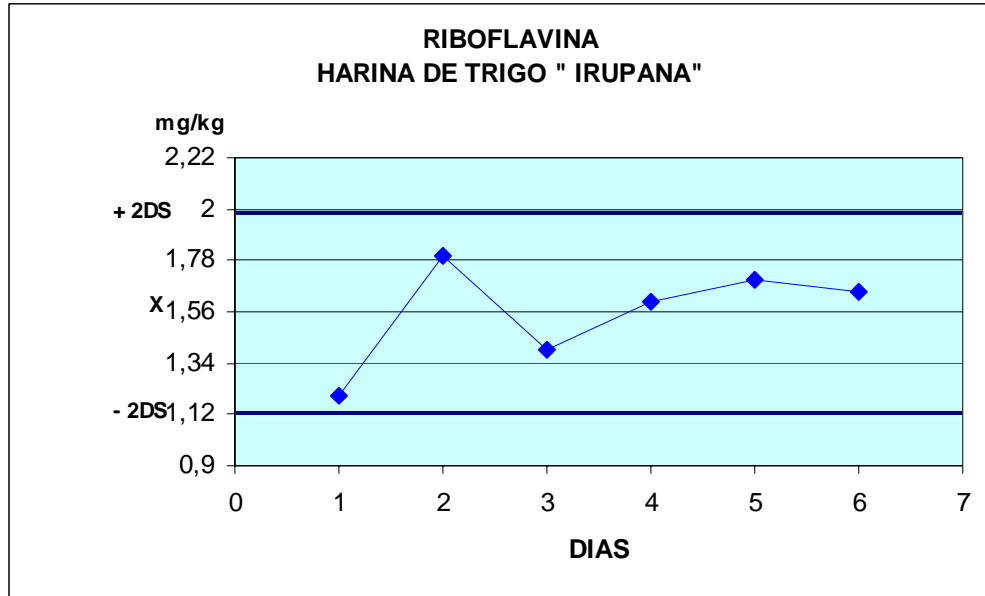
**RESULTADOS OBTENIDOS DE LA DETERMINACION DE LA  
CONCENTRACION DE RIBOFLAVINA EN HARINA DE TRIGO MARCA  
"IRUPANA"  
(INDÚSTRIA BOLIVIANA)**

DÍA	Mg/Kg
1	1,2
2	1,8
3	1,4
4	1,6
5	1,7
6	1,65

PROMEDIO	1,56
DESVIACIÓN ESTANDART	0,22
C.V	14,12 %
LIMITE SUPERIOR	2,00
LIMITE INFERIOR	1,12
CONFIABILIDAD	85,88 %

#### GRAFICO No8

**RESULTADOS OBTENIDOS EN 6 REPETICIONES DE LA DETERMINACION  
DE LA CONCENTRACION DE RIBOFLAVINA EN HARINA DE TRIGO  
MARCA "IRUPANA"**



Según los datos obtenidos podemos indicar que la muestra de harina de trigo de marca "IRUPANA " tiene 1.56 mg/Kg.

#### **PRECISIÓN.-**

Este ensayo se determinó mediante ensayos de reproducibilidad y repetibilidad. Se realizó el análisis de la muestra harina de trigo "IRUPANA" durante 6 días, consecutivos en la cual se obtuvo un promedio de 1.56 mg/Kg. Todos los datos son aceptables ya que se encuentran dentro del límite superior y del límite inferior, resultando con un índice de confiabilidad de 86 % y un rango de variación de 14%, que nos indica que existen errores sistemáticos básicamente condicionados por factores intrínsecos ( inestabilidad del analito en estudio) por factores extrínsecos ( Luz) que resultan factores no controlables.

#### **CUADRO No 11**

#### **RESULTADOS OBTENIDOS DE LA DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DE RIBOFLAVINA EN HARINA DE SOYA MARCA "IRUPANA"**

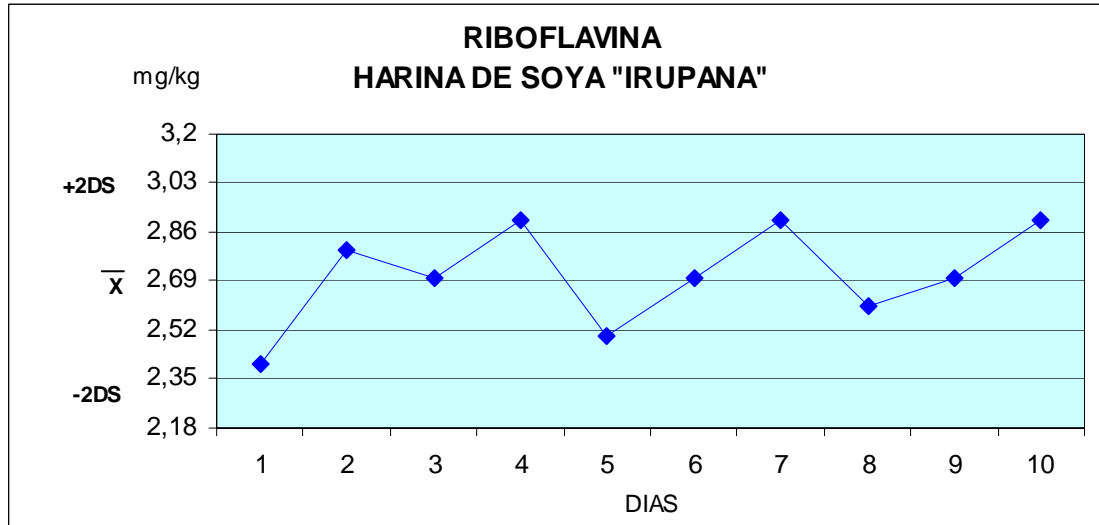
**(INDÚSTRIA BOLIVIANA)**

DÍA	Mg/kg
1	2,4
2	2,8
3	2,7
4	2,9
5	2,5
6	2,7
7	2,9
8	2,6
9	2,7
10	2,9

PROMEDIO	2,69
DESVIACIÓN ESTANDAR	0,17
C.V	6,29 %
LIMITE SUPERIOR	3,03
LIMITE INFERIOR	2,35
CONFIABILIDAD	93,7 %

#### GRAFICO No9

**RESULTADOS OBTENIDOS EN 10 REPETICIONES DE LA DETERMINACION  
DE LA CONCENTRACION DE RIBOFLAVINA EN HARINA DE SOYA  
MARCA "IRUPANA"**



El análisis comprendió 10 repeticiones, durante 10 días consecutivos obteniéndose un promedio de 2.69 mg/Kg.

**PRECISIÓN.-**

Este ensayo se determinó mediante ensayos de reproducibilidad y repetibilidad. Se realizó el análisis de la muestra harina soya "IRUPANA" durante 10 días consecutivos en la cual se obtuvo un promedio de 2.69 mg/Kg. Todos los datos son aceptables ya que se encuentran dentro del límite superior y del límite inferior, resultando con un índice de confiabilidad de 93.7 % y un rango de variación de 6.29%, que nos indica que existen errores sistemáticos básicamente condicionados por factores intrínsecos (inestabilidad del analito en estudio) por factores extrínsecos (Luz).

**CUADRO 12**

**RESULTADOS OBTENIDOS DE LA DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DE RIBOFLAVINA EN HARINA DE TRIGO MARCA "FAMOSA"**

<b>TIPO DE HARINA</b>	<b>1ra prueba</b>	<b>2ra prueba</b>	<b>3ra prueba</b>	<b>Promedio mg/kg</b>
HARINA DE TRIGO "FAMOSA"	2.1	2.8	2.3	2.4

En el cuadro 12 se observa el número de pruebas realizadas para la muestra de harina de trigo marca "FAMOSA", se realizó tres pruebas obteniéndose un promedio de 2,4 mg/Kg,

### **CUADRO 13**

#### **RESULTADOS OBTENIDOS DE LA DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DE RIBOFLAVINA EN HARINAS DE PLATANO S/M Y DE PLATANO DULCE S/M**

<b>TIPO DE HARINA</b>	<b>1ra prueba</b>	<b>2ra prueba</b>	<b>3ra prueba</b>	<b>Promedio mg/kg</b>
HARINA DE PLATANO	8.2	8.0	8.5	8.2
HARINA DE PLATANO DULCE	7.0	6.5	6.3	6.6

En el cuadro 13 se observa el número de pruebas realizadas para cada muestra, para la harina de plátano se realizó tres pruebas obteniéndose un promedio de 8,2 mg/Kg, para la harina de plátano dulce se realizó tres pruebas, obteniéndose un promedio de 6.6 mg/Kg.

### **VII CONCLUSIONES.-**

Después de haber realizado el presente trabajo se ha llegado a las siguientes conclusiones:

1.- Por la importancia que tienen las vitaminas en el funcionamiento de nuestro organismo, se debe contar con métodos de análisis confiables, sensibles, precisos, sencillos y de bajo costo para su determinación.

2.- En busca del proceso de mejoramiento continuo de los procedimientos analíticos y cumpliendo con los requisitos del programa de control de calidad analítica, para que un método analítico sea aplicado en un laboratorio debe cumplir con ciertos requisitos que indica, realizar un control interno de calidad analítica en el laboratorio. Cumpliendo con estos, se estandarizó dos métodos analíticos para la determinación cuantitativa de tiamina (vitamina B1) y riboflavina (vitamina B2) en harinas de trigo, soya y plátano.

3.- Los resultados de la estandarización del método fluorométrico para la determinación de vitamina B1 (tiamina), para lo cual se realizaron varias repeticiones para cada muestra, para cumplir los parámetros de exactitud y precisión que son parámetros importantes para la confiabilidad del método y de los resultados, los cuales son aceptables, en las muestras analizadas de harina de trigo, de soya y de plátano. Detallado en los cuadros 4 a 8 y gráficos 4 a 6. En esta técnica analítica, se determinó que existe linealidad, exactitud, precisión y especificidad del método de acuerdo a las consideraciones técnicas que se tiene para cada parámetro. Se consideró las características propias de esta vitamina que nos indica que existen errores sistemáticos básicamente condicionados por factores intrínsecos (inestabilidad del analito en estudio) por factores extrínsecos (Luz). Que hacen que los valores obtenidos tengan un coeficiente de variación un poco alta.

4.- Los resultados de la estandarización del método fluorométrico para la determinación de riboflavina (vitamina B2) son aceptables, en las muestras analizadas de harina de trigo, de soya y plátano. Los resultados demostraron que existe linealidad, exactitud, precisión de acuerdo a las consideraciones que se tiene para cada parámetro. Detallado en los cuadros 9 a 13 y gráficos 7 a 9). Por las características propias de esta vitamina se observa que existen errores sistemáticos básicamente condicionados por factores intrínsecos (inestabilidad del analito en



estudio) por factores extrínsecos (Luz).Que hacen que los valores de coeficiente de variación sea mayor a 5 %.Además que para la muestra de harina de plátano se tuvo problemas en cuanto a la extracción por la presencia del alto contenido de almidón el cual fue extraído con solventes orgánicos.

5.- Se hizo la comparación de los datos obtenidos para tiamina y riboflavina con los de referencia (cuadro No1 y cuadro No2) lo cual demuestra aceptabilidad y confiabilidad del método de análisis, demostrando que es altamente sensible y adecuado para la determinación de estas dos vitaminas por las características propias que estas presentan y porque son los métodos mas específicos para su determinación y cuantificación.

6.- Los valores obtenidos del análisis, realizado de las diferentes muestras de harinas en estudio servirán de referencia para el laboratorio para posteriores muestras.

7.- Se observó que la harina de soya en el departamento de La Paz no cuenta con un etiquetado que indique la cantidad y composición de los componentes que constituye dicho alimento.

### **VIII.- RECOMENDACIONES.-**

1.- Para que un método de ensayo tenga validez reconocida es preciso que se evalúe estadísticamente y se determine la precisión (repetibilidad, reproducibilidad) y

exactitud para asegurar que los resultados finales sean los suficientemente confiables y adecuados.

2.- Se recomienda proseguir con el estudio del proceso de estandarización para tiamina y riboflavina en otros productos para así tener mayor cobertura sobre otros tipos de alimentos.

3.- Se debe tener mucho cuidado en la determinación de tiamina y riboflavina ya que son componentes muy sensibles a la luz siempre realizar el análisis al abrigo de la luz. Ya que se puede llegar a perder cantidades significativas de estas vitaminas, que alteren los resultados obtenidos.

## **IX.- BIBLIOGRAFÍA.-**

1.- <http://www.monografias.com/trabajos11/lasvitam/lasvitam.shtml>

2.- Rolando Salinas, ALIMENTOS Y NUTRICION BROMATOLOGIA APLICADA A LA SALUD, editorial el Ateneo 2da edición editorial Buenos Aires1993

3.- HARINA DE TRIGO

<http://www.alimentacionsana.com.ar/informaciones/Chef/harina.htm>

4.- ESTANDARIZACION DE METODOLOGIAS ANALITICAS EN EL LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA, Bogotá, junio del 2002

<http://www.saludcapital.gov.co/secsalud/navleft/investigaciones/articulos/resumen13.doc>

5.- Karla Abuday Yañez, CONTROL BROMATOLOGICO Y USO DEL BROMATO DE POTASIO EN HARINAS Y PAN CONSUMIDO EN LA CIUDAD DE LA PAZ, Tesis de grado, UMSA, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas 1992.

6.- LA SOJA O SOYA: [http://www.wikilearning.com/la\\_soja\\_o\\_soya-wkccp-5440-63.htm](http://www.wikilearning.com/la_soja_o_soya-wkccp-5440-63.htm)

7.- Instituto de Estudios Salud Natural de Chile. IESN-Chile

<http://www.geocities.com/iesnchile>

<http://www.geocities.com/ceniuschile/AlimentosOriente.html>

8.- <http://www.conocimientosweb.net/portal/article784.html>

9.- Desarrollo de Productos de Soya en Panaderia

<http://www.wishh.org/workshops/Desarrollo%20de%20Productos%20para%20las%20panaderias%20y%20productos%20materno%20infantil%20%20%20%20s%20maternizadas%2003.06.pdf>

10.- EVALUACION NUTRICIONAL, FÍSICA Y SENSORIAL DE PANES DE TRIGO Y PLÁTANO VERDE

[http://72.14.209.104/search?q=cache:rWtKF9fqoEoJ:www.scielo.org.ve/scielo.php%3Fpid%3DS0378-18442005000500011%26script%3Dsci\\_arttext%26tlng%3Des+harina+de+platano&hl=es&gl=bo&ct=clnk&cd=8](http://72.14.209.104/search?q=cache:rWtKF9fqoEoJ:www.scielo.org.ve/scielo.php%3Fpid%3DS0378-18442005000500011%26script%3Dsci_arttext%26tlng%3Des+harina+de+platano&hl=es&gl=bo&ct=clnk&cd=8)

11.- [http://www.biopsicologia.net/fichas/page\\_1101.html](http://www.biopsicologia.net/fichas/page_1101.html)

12.- Miriam Muñoz de Chávez José Ledesma Solano, LOS ALIMENTOS SUS NUTRIENTES Tablas de valor nutritivo de alimentos, Edición Internacional, Editorial McGraw-Hill.

13.- [http://www.quimika.com/materias/quimica\\_analitica/conceptos.htm](http://www.quimika.com/materias/quimica_analitica/conceptos.htm)

14.- Dra. Mercedes Morales Vaca M.Sc., ANALISIS POR INSTRUMENTACION APUNTES DE CATEDRA UMSA CARRERA DE QUIMICA FARMACEUTICA, LA PAZ 2002.

15.- Dra. Mercedes Morales Vaca M.Sc, ANALISIS POR INSTRUMENTACION GUIA DE PRACTICAS DE LABORATORIO UMSA CARRERA DE QUIMICA FARMACEUTICA, LA PAZ 2002.

16.- CURSO DE ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD EN LABORATORIOS DE ALIMENTOS, Responsable DBA- Senasag, Cochabamba junio 2003.

17.- Norma Chilena Nch de 1227 of .77 Instituto Nacional de Normalización.

18.- A.O.A.C. oficial Methods of Analylis. 14 Edition - 1984

19.- TABLA DE COMPOSICIÓN DE ALIMENTOS BOLIVIANOS, Ministerio de previsión social y salud pública, división nacional de nutrición La Paz Bolivia, tercera edición 1984.

20.- CODIGO ALIMENTARIO ARENTINO tomo I - A Buenos Aires 1992.

22.- Inés Bernal de Ramírez ANALISIS DE ALIMENTOS, Academia Colombiana de Ciencias Exactas Físicas y Naturales, Santa Fe de Bogota D.C. 1994.

23.- Ronald S. Kira, Ronald Sawyer, Harold Egan, COMPOSICION Y ANALISI DE ALIMENTOS DE PEARSON, 2da Edición México 1996, Editorial Continental S.A. México.

24.- TABLA BOLIVIANA DE COMPOSICION DE ALIMENTOS Ministerio de Salud y Deportes Serie DOCUMENTOS TECNICOS, La paz- Bolivia noviembre 2005 ,4ta Edición agosto 2005.

25.- Rolf Strohecker; Heinz M.Henning, ANÁLISIS DE VITAMINAS, METODOS COMPROBADOS, Editorial Paz Montalvo-Madrid 1967.

26.- <http://www.nutrar.com/detalle.asp?ID=132>

27.-<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/002401.htm>

28.-

<http://www.mspas.gob.gt/DGRVCS/DRCA/REGULACIONES/ReglamentoHarinas.pdf>

29.-[http://www.biopsicologia.net/fichas/page\\_7184.html](http://www.biopsicologia.net/fichas/page_7184.html)



# ANEXOS

**INSTITUTO SELADIS**

**LABORATORIO DE BROMATOLOGIA**

**MANEJO DEL FLUOROMETRO SEQUIOA TURNER MODELO 450**

1) Encender el fluoró metro y dejar que se estabilice durante 20- 30 minutos.

- 2) empezar con un valor de GAIN (ganancia) de 200.
- 3) utilizar los filtros de la siguiente manera:
  - Excitación: 360 nm (ranura del lado izquierdo)
  - Emisión: 450 nm (ranura frontal)
- 4) Correr todo el SPAN HACIA LA DERECHA.
- 5) Ajustar la lectura a cero con la perilla ZERO.
- 6) Colocar el blanco de la sustancia calibradora ajustar el valor leído a cero utilizando la perilla ZERO.
- 7) colocar la sustancia calibradora ejemplo en el caso de tiamina es el sulfato de quinina, en caso de la riboflavina es la fluoresceína) en el porta celda y cerrar la tapa.
- 8) Ajustar el valor leído a 40 por medio de la perilla SPAN (si no se puede alcanzar este valor, ajustar la ganancia y volver a realizar la calibración desde el paso 4).
- 9) Debe dar la lectura blanco cero y al sustancia calibradora 40 u otro valor deseado pero la lectura debe ser constante.
- 10) Una vez calibrado el equipo sacar la cubeta e introducir la cubeta del blanco de la muestra y ajustar a cero con la perilla ZERO, proceder a leer las muestras y registrar las lecturas.
- 11) Sacar los filtros, guardarlos adecuadamente, apagar el equipo y desenchufar y cubrirlo con su cobertor correspondiente.

## **DESCRIPCIÓN DEL PROCESO BÁSICO DE ELABORACION DE HARINA DE PLÁTANO**

La harina de plátano es un producto importante de considerar para ser industrializado.

**Materia prima.-** Los plátanos verdes se adquirieron del mercado de alto tejado de la ciudad de La Paz proveniente de los Yungas en estado de maduración grado 1 (verde) y calidad externa de consumo aceptable.

**Obtención de la harina deshidratada en una estufa.-** Seguidamente se presenta una descripción del procedimiento básico para obtenerla.

1.- Seleccionar los más adecuados que no estén dañados, maltratados

2.- Pelado.-El pelado se realiza en forma manual.

3.- Cortarlos con cuchillo o máquinas troceadoras para obtener trozos más pequeños que pueden ser en forma de cubos o rodajas. Este paso es necesario para aligerar el proceso de secado.

4.- Inmersión Esta inmersión en solución de ácido cítrico al 0,15 % por 30 minutos se hace con el fin de evitar para evitar el pardeamiento enzimático (oxidación) del plátano y los posteriores cambios de color no deseados que se podrían dar. Escurrirlos en una coladera y ponerlos sobre papel estañado y colocarlos a la estufa

6. Tratamiento térmico: Este tratamiento se hace con el fin de extraer humedad. La deshidratación se lleva a cabo en una estufa a una temperatura de 30 -45 ° C. por 2 a 3 días, también se puede hacer secar con el calor del sol sin la exposición directa al sol.

6.- Molienda: Se puede utilizar un molino de martillos, por el cual se pasan los trozos de producto seco para ser finamente divididos hasta partículas pequeñas, formándose así la harina.

6. Cernido: La harina que se obtiene tiene diferentes tamaños de partícula y partículas extrañas, por lo que la totalidad del producto se debe hacer pasar por un tamiz para obtener las diferentes fracciones por separado. De esta forma se llega a obtener un producto más fino.

7. Empaque: Una vez lista la harina se puede empacar en bolsas, preferiblemente de polipropileno o celofán.

8. Almacenamiento: Una vez listas las bolsas, se sellan debidamente para evitar que entre humedad del medio al producto y también que se vaya a contaminar con insectos o materias extrañas.



## PROCESAMIENTO DE LA HARINA DE PLATANO



Selección



Pelado



Cortado



Inmersión



Tratamiento térmico:



Molienda:



Cernido:



Empaque:



Almacenamiento:

## PORCENTAJE DE OBTENCIÓN DE HARINA EN RELACIÓN A LA CASCARA Y PRODUCTO FINAL:

Plátano:

Peso de un plátano entero más cáscara = 232.59 g

Peso de un plátano pelado = 140.94g

Peso de la cáscara de un plátano =  $232.59 - 140.94 = 91.65$  g

Peso de un plátano transformado en harina = 59.52g

Rendimiento para la obtención de un 1 kg de harina de plátano se necesita 16.8 plátanos.

**PREPARACION DE REACTIVOS:**

**DETERMINACION DE TIAMINA**

- Hidróxido de Sodio Na OH al 15%

$$\begin{array}{l} 15 \text{ g} \text{-----} 100 \text{ ml} \\ x \text{-----} 50 \text{ ml} \\ x = 7,5 \text{ g OHNa.} \end{array}$$

- Acido clorhídrico HCl 0.1 N para 1000 ml a partir de HCl al 37%, densidad 1.19

$$Fa = \frac{Eq \cdot N}{1000} \qquad \frac{PM \cdot N \cdot vol}{1000}$$

$$Fa = \frac{36.5 \cdot 0.1 \text{ N}}{1000} = 3.65 \cdot 10^{-3} \text{ g/ml} \cdot 1000 = 3.65 \text{ g HCl(p)}$$

$$\begin{array}{l} 37 \text{ g HCl} \text{-----} 100 \text{ g HCl comercial} \\ 3.65 \text{ g HCl} \text{-----} X \\ X = 9.865 \text{ g HCl} \end{array}$$

$$V = \frac{m}{d} = \frac{9.865 \text{ g}}{1.19 \text{ g/ml}} = 8.29 \text{ ml HCl (puro)}$$

- Sulfato de quinina

$$\begin{array}{l} 1 \text{ mg} \text{-----} 100 \text{ ml} \\ X \text{-----} 10 \text{ ml} \\ X = 0.1 \text{ mg} \end{array}$$

- Acido sulfúrico H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1 N a partir de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> comercial al 98%, densidad 1.84

$$Fa = \frac{0.1 \cdot 98 / 2}{1000} = 4.9 \cdot 10^{-3} \text{ g/ml}$$

$$\begin{array}{l} 4.9 \cdot 10^{-3} \text{-----} 1 \text{ ml} \\ X \text{-----} 1000 \text{ ML} \\ X = 4.9 \text{ g} \end{array}$$

$$\begin{array}{l} 98 \text{ g H}_2\text{SO}_4 \text{-----} 100 \text{ H}_2\text{SO}_4 \text{ comercial} \\ 4.9 \text{ g} \text{-----} X \\ X = 5 \text{ g} \end{array}$$

$$V = \frac{m}{D} = \frac{5}{1.84} = 2,72 \text{ ml}$$

## DETERMINACION DE RIBOFLAVINA

- Acido acético 0.02N 100ml a partir de 99.5 %, densidad= 1.049

$$Fa = \frac{60 \cdot 0.02N \cdot 100}{1000} = 0.12 \text{ g}$$

$$\begin{array}{l} 99.5 \text{-----} 100 \text{ g} \\ 0.12 \text{-----} X \end{array}$$

$$X = 0.1206$$

$$V = \frac{m}{D} = \frac{0.1206}{1.049} = 0.1149 \text{ ml}$$

- Solución de peroxido de hidrógeno H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 3%, concentración comercial al 30 %

$$\begin{array}{l} 30\% \text{-----} 100\text{ml} \\ 3\% \text{-----} X \end{array}$$

$$X = 10 \text{ ml}$$

- Solución de KMnO<sub>4</sub> AL 4% utilizar agua hervida y fría

$$4\text{g} \text{-----} 100\text{ML}$$

- OHNa 1 N 100ml , PM= 39.9=40

$$Fa = \frac{40 \cdot 1N \cdot 100\text{ml}}{1000} = 4\text{g}$$

- Solución de fluoresceína: fluorescein-5-isothiocyanat (FITC I)

- Solución Stock 2mg%

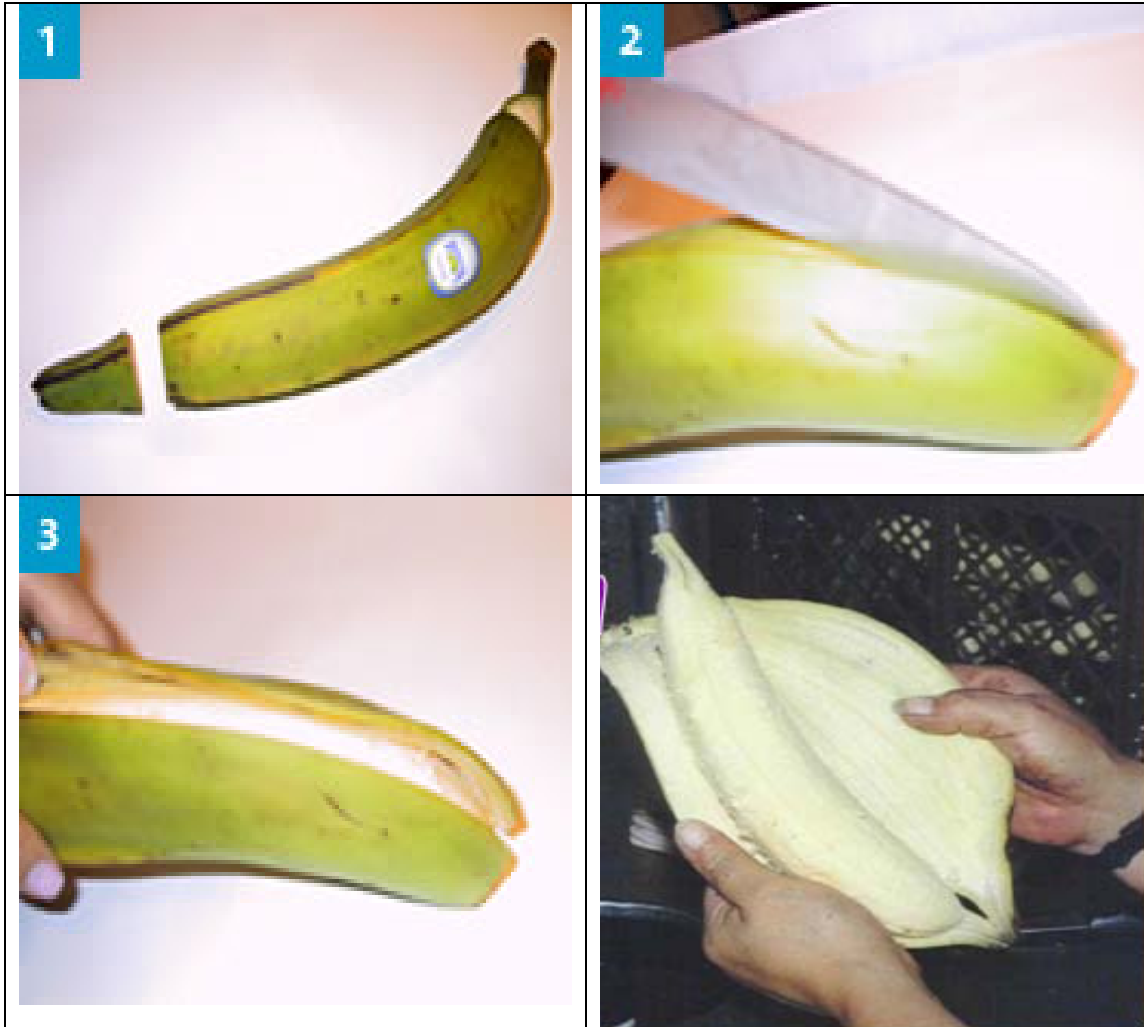
$$\begin{array}{l} 2\text{mg} \text{-----} 100\text{ml} \\ 0.002 \text{ g} \text{-----} 100\text{ml} \end{array}$$

- Solución de trabajo 0.2 ug/ml

Tomar 1ml de la solución stock y disolver a 100 ml con agua destilada

# GRÁFICOS

ELABORACIÓN DE LA HARINA DE PLATANO



- 1.-En primer lugar, se cortan los dos extremos de la banana.
- 2.- Se aplica un corte por una de las aristas, empezando por un extremo
- 3.- Se introduce un dedo en el corte y se va abriéndolo a lo largo de la banana.

TRATAMIENTO TERMICO DE LAS RODAJAS DE PLATANO	MOLINO
--	--------



HARINA DE PLATANO



HARINA DE TRIGO MARCA “ FAMOSA”, HARINA DE TRIGO MARCA “FLORENCIA”



HARINA TRIGO MARCA “IRUPANA” Y HARINA DE SOYA MARCA “IRUPANA”



### PROCEDIMIENTO DE HIDROLISIS







FLUOROMETRO SEQUIOA TURNER MODELO 450

