

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA



DISEÑO DE UNA PROPUESTA DE PRÁCTICA DE LABORATORIO PARA LA
DETERMINACIÓN DEL HIERRO EN LA HARINA DE MAÍZ NIXTAMALIZADA POR
MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO UV-VIS

TRABAJO DE GRADO EN MODALIDAD DE DIPLOMADO DE ESPECIALIZACIÓN

PRESENTADO POR
FLOR DE MARÍA MÁRQUEZ TREJO
LETICIA ABIGAIL MENDOZA GODOY

PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIADA EN QUÍMICA Y FARMACIA

OCTUBRE, 2024

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMÉRICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MAESTRO JUAN ROSA QUINTANILLA

SECRETARIO GENERAL

LICENCIADO PEDRO ROSALÍO ESCOBAR CASTANEDA

FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA

DECANA

MsD. NANCY ZULEYMA GONZÁLES SOSA

SECRETARIA

LICDA. EUGENIA SORTO LEMUS

DIRECCIÓN GENERAL DE PROCESOS DE GRADO

DIRECTORA GENERAL (AD-HONOREM)

M.Sc. KATIA LISSETTE MARTÍNEZ DE PALACIOS

TRIBUNAL EVALUADOR

ASESORA

LICENCIADA AÍDA ESTELA ROSALES RIVAS

ASESOR

LICENCIADO WALTER EDWIN RECINOS RIVERA

TUTOR

LICENCIADO JUAN AGUSTÍN CUADRA SOTO

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradecemos a los profesores de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, quienes con su dedicación y compromiso nos brindaron las herramientas necesarias para alcanzar este objetivo académico.

A nuestros compañeros y amigos, quienes nos acompañaron con su apoyo constante, su colaboración desinteresada, sus palabras de aliento, su compañía en los momentos de cansancio y su ánimo en cada etapa de este proyecto. Su amistad y compañía fueron fundamentales en este proceso.

Queremos dedicar un agradecimiento especial a nuestros padres, quienes siempre han sido nuestro pilar más sólido y nuestra mayor fuente de inspiración. Gracias por su amor incondicional, por ser la guía en los momentos difíciles, y por enseñarnos con su ejemplo el valor de la perseverancia y el esfuerzo. Gracias por cada palabra de aliento, por su paciencia infinita y por estar siempre a nuestro lado, confiando en nosotras y apoyándonos sin reservas. Su sacrificio, su apoyo emocional y su confianza en nosotras han sido la fuerza que nos ha impulsado a seguir adelante y alcanzar nuestras metas.

A todos, nuestro más sincero agradecimiento. Sin ustedes, este logro no habría sido posible.

DEDICATORIA

A Dios por permitirme todas las oportunidades y bendiciones que me han traído a este punto tan crucial. Por concederme el valor, la perseverancia, y el amor inigualable que me sirvieron para poder enfrentar todos los retos que surgieron para poder completar este logro.

A mis padres, por ser mi inspiración constante y mi más grande apoyo. A ustedes, que con su sabiduría, generosidad y valores me enseñaron a soñar en grande y a enfrentar cada reto con determinación. Gracias por ser mi refugio seguro y mi guía en todo momento. A mis hermanos, por ser mis compañeros de vida, por su energía y alegría que me impulsaron a seguir adelante.

A mis amigos y compañeros que me han apoyado todo el camino y me han dado esas palabras de aliento que tanto necesitaba en momentos donde me sentía desfallecer, gracias por ser parte de este trayecto y por querer verme triunfar tanto como los he visto triunfar a cada uno de ustedes, fueron indispensables para poder llegar hasta acá.

A todos ustedes, que me han acompañado en cada paso de este camino, les dedico este logro con infinita gratitud y amor.

Leticia Abigail Mendoza Godoy

DEDICATORIA

A Dios por todas sus bendiciones hacia mí, aunque no las merezca, ha sido un camino difícil pero su bondad y su amor siempre estuvo conmigo y me dieron la fuerza para terminar esta meta.

A mis padres por todo el esfuerzo que desde pequeña hicieron por mí, por mi educación y valores para ser una buena persona, y aunque mi padre ya no esté para verme en este momento lo llevo en mi corazón siempre, a mi madre que ha luchado a mi lado para poder terminar este logro en medio de todas las dificultades que hemos tenido que pasar.

A mi hermano mayor que siempre ha estado para apoyarme con cualquier necesidad y me ha impulsado a terminar mi carrera. A esos amigos que estuvieron pendientes de mi progreso y que siempre tenían palabras de aliento cuando ya no quería seguir. A mis compañeras de trabajo que también me impulsaron a dar este último paso que faltaba. A cada maestro que veía ese potencial en mí y se convirtieron en un apoyo.

Talvez no puedo nombrarlos a cada uno y me falten palabras para expresarme, pero desde el fondo de mi corazón muchas gracias a todos.

Flor de María Márquez Trejo

ÍNDICE GENERAL

Pág. N°

ABREVIATURAS

GLOSARIO

RESUMEN

CAPÍTULO I

1.0 INTRODUCCIÓN

14

CAPÍTULO II

2.0 OBJETIVOS

16

CAPÍTULO III

3.0 MARCO TEÓRICO

18

3.1 Importancia del hierro en la nutrición

18

3.2 Problemas de salud relacionados a la deficiencia de hierro

18

3.3 Fortificación de alimentos

20

3.4 Harina de maíz nixtamalizada

22

3.5 Métodos analíticos usados para la determinación de hierro en alimentos

22

3.5.1 Espectrofotometría de absorción atómica (AAS)

22

3.5.2 Espectrometría de emisión de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES)

23

3.5.3 Espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS)

23

3.5.4 Voltametría

23

3.6 Métodos analíticos para la determinación de hierro en harinas de maíz nixtamalizado

23

3.6.1 Métodos gravimétricos y volumétricos

24

3.6.2 Métodos colorimétrico

24

CAPÍTULO IV

4.0 PRODUCTO FINAL

26

CAPÍTULO V

5.0 CONCLUSIONES

39

CAPÍTULO VI

6.0 RECOMENDACIONES

41

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANEXOS

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N°		Pág. N°
1	Estructura química de la ferroína. Consiste en tres moléculas de ortofenantrolina (OP) alrededor de un átomo central de hierro	28
2	Método de cuarteo	29
3	Esquema de preparación de las soluciones de estándares de trabajo	33
4	Esquema de preparación de la muestra de Harina nixtamalizada	34

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N°		Pág. N°
1	Cantidad diaria de hierro recomendada en mg para diferentes grupos etarios.	18
2	Prevalencia de la deficiencia de hierro en países con información disponible públicamente de Latinoamérica y el Caribe.	20
3	Concentraciones finales de acuerdo a alícuotas tomadas	31
4	Tabla de datos de la regresión lineal	35

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N°	
1	Regiones del espectro ultravioleta – visible y componentes básicos de los instrumentos para medir absorción de radiación
2	Preparación de reactivos
3	Especificaciones técnicas de la harina de maíz nixtamalizada según reglamento técnico salvadoreño RTS 67.06.01:13

ABREVIATURAS Y SIGLAS

- UV-VIS Ultravioleta visible
- OMS Organización Mundial de la Salud
- AAS Espectrofotometría de absorción atómica
- ICP-OES Espectrometría de emisión de plasma acoplado inductivamente
- ICP-MS Espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente
- RTS Reglamento Técnico Salvadoreño
- MINSAL Ministerio de salud

GLOSARIO

- Hemoglobina: Un pigmento respiratorio que contiene hierro de los glóbulos rojos de los vertebrados que funciona en el transporte de oxígeno a los tejidos después de su conversión a forma oxigenada en los pulmones, y que ayuda en el transporte de dióxido de carbono de regreso a los pulmones después de la entrega de su oxígeno.
- Mioglobina: Un pigmento proteico rojo que contiene hierro en los músculos y que es similar a la hemoglobina.
- Eritropoyesis: La producción de glóbulos rojos a partir de la médula ósea.
- Tinnitus: Una sensación de ruido (como un zumbido o rugido) que generalmente es causada por una condición corporal (como una alteración del nervio auditivo o cera en el oído) y generalmente es de forma subjetiva que solo puede ser escuchada por la persona afectada.
- Alopecia: Pérdida de cabello
- Coiloniquia: Delgadez anormal y concavidad de las uñas que ocurren especialmente en anemias hipocrómicas.
- Glositis atrófica: Ausencia parcial o completa de papilas filiformes en la superficie dorsal de la lengua.
- Pica: Un deseo anormal de comer sustancias (como tiza o cenizas) que normalmente no se comen.
- Ferritina sérica: Nivel de hierro acumulado en la sangre en forma de una proteína denominada ferritina.
- Fitatos: Sales o ésteres del ácido fítico.

RESUMEN

El objetivo principal del presente trabajo de grado es diseñar una práctica de laboratorio completa y efectiva para que los estudiantes aprendan y apliquen el método espectrofotométrico en la determinación del hierro en la harina de maíz nixtamalizada.

Para lograr esto, se decide llevar a cabo varios pasos específicos. Primero, realizar una investigación bibliográfica exhaustiva sobre los métodos existentes para la determinación cuantitativa de hierro en alimentos para consumo humano o animal, con el fin de recopilar y analizar información relevante sobre las técnicas más utilizadas y efectivas en el campo.

Segundo, explorar en detalle los fundamentos teóricos de la espectrofotometría y su aplicación en el análisis de hierro en muestras de harina de maíz nixtamalizada, lo que implica revisar la literatura científica y técnica, así como estudiar los principios y procedimientos específicos del método espectrofotométrico ultravioleta visible (UV-VIS).

Tercero, proponer una guía de laboratorio para la determinación de hierro, adaptada a los instrumentos y reactivos disponibles en la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, que incluya instrucciones detalladas para realizar el análisis en las muestras de harina de maíz nixtamalizada.

Por último, la práctica diseñada proporciona una herramienta educativa valiosa para los estudiantes de la facultad, complementando su formación académica al realizar análisis de alimentos con objetivos críticos. Además de integrar conocimientos teóricos multidisciplinarios, también podrán mejorar sus habilidades técnicas para un desarrollo profesional más completo.

CAPÍTULO I

1.0 INTRODUCCIÓN

La deficiencia de hierro es un problema de salud pública global que afecta a millones de personas en todo el mundo. En particular, en países como El Salvador, donde la harina de maíz nixtamalizada es un alimento básico en la dieta diaria, la falta de hierro puede tener consecuencias graves para la salud. Esta situación plantea la necesidad de desarrollar métodos efectivos para la determinación del hierro en la harina de maíz nixtamalizada, con el fin de garantizar su adecuada fortificación y contribuir a la mejora de la salud de la población.

Ya conociendo la importancia de este mineral, en esta tesis se plantea el diseño de una práctica de laboratorio para la determinación del hierro en la harina de maíz nixtamalizada, utilizando el método espectrofotométrico UV-VIS.

Con esta finalidad, se definen tres metas claras: en primer lugar, realizar una investigación bibliográfica exhaustiva sobre los métodos existentes para la cuantificación del hierro en alimentos; en segundo lugar, analizar los fundamentos teóricos de la espectrofotometría y su aplicación en el análisis de hierro en muestras de harina de maíz nixtamalizada; y finalmente, desarrollar una guía de laboratorio adaptada a los recursos disponibles en la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, que permita la correcta determinación del hierro en dicho alimento.

La metodología empleada se basó en realizar una exhaustiva revisión bibliográfica de los métodos antiguos y recientes para la determinación de hierro en harinas, así como en la exploración de los principios teóricos y prácticos de la espectrofotometría UV-VIS. De acuerdo a la información recopilada, se diseñó una guía de laboratorio que incluía instrucciones detalladas, precauciones de seguridad y procedimientos paso a paso para la determinación del hierro en la harina de maíz nixtamalizada tomando en cuenta los recursos disponibles en la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.

Como resultado de este trabajo, se desarrolló una práctica de laboratorio completa y detallada que contribuye a identificar el contenido de hierro declarado en las harinas de maíz nixtamalizada. Además, que proporciona una herramienta educativa valiosa para el desarrollo de habilidades técnicas y el análisis crítico de los resultados por parte de los estudiantes de la facultad.

CAPÍTULO II

2.0 OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Diseñar una práctica de laboratorio para la determinación del hierro en la harina de maíz nixtamalizada por método espectrofotométrico UV-VIS.

2.2 Objetivos específicos

- 2.2.1 Realizar una investigación bibliográfica sobre los métodos existentes para la determinación cuantitativa de hierro en alimentos para consumo humano o animal.
- 2.2.2 Revisar en detalle los fundamentos teóricos detrás de la espectrofotometría y su aplicación al análisis de hierro en muestras de harina de maíz nixtamalizada.
- 2.2.3 Proponer una guía de laboratorio para el análisis de dicho micronutriente que pueda ser realizada con los instrumentos y reactivos disponibles en la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.

CAPÍTULO III

3.0 MARCO TEÓRICO

3.1 Importancia del hierro en la nutrición

El cuerpo depende en gran medida del hierro como mineral vital para el crecimiento y el desarrollo. Fisiológicamente, el cuerpo usa hierro para producir hemoglobina y mioglobina, hormonas y tejido conectivo. Las necesidades diarias de hierro de una persona varían según la edad y el sexo y se verán grandemente influenciadas por su dieta.¹

Tabla N° 1. Cantidad diaria de hierro recomendada en mg para diferentes grupos etarios.

Etapas de la vida	Cantidad recomendada (mg)
Bebes hasta los 6 meses de edad	0.27
Bebes de 7 a 12 meses de edad	11
Niños de 1 a 3 años de edad	7
Niños de 4 a 8 años de edad	10
Niños de 9 a 13 años de edad	8
Adolescentes (varones) de 14 a 18 años de edad	11
Adolescentes (niñas) de 14 a 18 años de edad	15
Hombre adulto de 19 a 50 años de edad	8
Mujer adulta de 19 a 50 años de edad	18
Adultos de 51 años de edad en adelante	8
Adolescentes embarazadas	27
Embarazadas	27
Adolescentes que están amamantando	10
Mujeres adultas que están amamantando	9

Fuente: Elaboración propia basada en ¹.

3.2 Problemas de salud relacionados a la deficiencia de hierro

La deficiencia de hierro y la anemia por deficiencia de hierro representan un problema de salud global. A nivel mundial, se registraron más de 1,200 millones de casos de anemia por deficiencia de hierro en 2016. Este problema es tan grave que la Organización Mundial de la Salud (OMS) se ha propuesto reducir la prevalencia de la anemia en mujeres en un 50% para el año 2025.²

La deficiencia absoluta de hierro se presenta cuando las reservas de hierro son insuficientes para satisfacer las necesidades del organismo. Es especialmente común en niños menores de 5 años y mujeres premenopáusicas, particularmente en mujeres embarazadas. En pacientes con procesos inflamatorios graves o que reciben agentes estimulantes de la eritropoyesis, la retención de hierro plasmático puede conducir a una eritropoyesis deficiente en hierro y, como resultado, a la anemia, incluso cuando las reservas de hierro son adecuadas.²

La deficiencia de hierro puede ser asintomática o manifestarse con síntomas, ya sea en presencia o ausencia de anemia. Los síntomas y signos comunes incluyen fatiga, disminución de la concentración, mareos, tinnitus, palidez y dolor de cabeza. Otros signos y síntomas pueden abarcar alopecia, piel y cabello secos, coiloniquia y glositis atrófica. En bebés menores de 1 año, los síntomas pueden incluir alimentación deficiente e irritabilidad. Los pacientes también pueden experimentar pica, una afección que genera deseo de consumir alimentos no nutritivos como tierra, arcilla, hielo o arroz crudo.²

Las complicaciones graves pueden surgir como resultado de la anemia por deficiencia de hierro. Por ejemplo, puede empeorar los síntomas y el pronóstico de la insuficiencia cardíaca y la enfermedad coronaria, provocar inestabilidad hemodinámica y aumentar el riesgo de transfusión y la morbilidad y mortalidad posoperatoria en casos preoperatorios de anemia.²

Datos de Guatemala muestran que el 47.7% de los niños de 6 a 59 meses están anémicos, pero solo el 18.6% tienen deficiencia de hierro (ferritina sérica < 12 µg/dL), mientras que en Ecuador el 25% está anémico, pero solo el 9.9% tiene deficiencia de hierro (ver Tabla N° 2).³ Lastimosamente, no se cuentan con datos estadísticos recientes de nuestro país.

Debido a la alta prevalencia de anemia, aunque la deficiencia de hierro explique menos de la mitad de los casos, se han implementado diversas estrategias para reducir la anemia en mujeres embarazadas y niños pequeños, como la suplementación con hierro y múltiples micronutrientes en alimentos básicos. Sin embargo, como demuestran los resultados a lo largo de los años, la anemia sigue siendo un importante problema de salud pública en algunos países de América Latina y el Caribe, especialmente en ciertos grupos de población.³

Tabla N° 2. Prevalencia de la deficiencia de hierro en países con información disponible públicamente de Latinoamérica y el Caribe.

País	Año	Grupo etario	Prevalencia (%)
Argentina	2008	Niños entre 6-23 meses de edad	35.5
		Mujeres entre 10-49 años de edad	18.7
		Mujeres embarazadas entre 10-49 años de edad	36.7
Bolivia	2002	Niños entre 6-59 meses de edad	32.9
Costa Rica	2008-2009	Niños entre 1-6 años de edad	5.9
		Mujeres entre 15-44 años de edad	8.7
Ecuador	2012	Niños entre 6-59 meses de edad	9.9
		Niños entre 5-11 años de edad	1.8
		Adolescentes entre 12-19 años de edad	7.1
		Hombres entre 20-59 años de edad	0.6
		Mujeres entre 20-49 años de edad	14.6
Guatemala	2009-2010	Niños entre 6-59 meses de edad	18.6
		Mujeres entre 15-49 años de edad	11.7
Nicaragua	2009	Niños entre 6-59 meses de edad	18.7
		Mujeres entre 15-49 años de edad	8.0
República Dominicana	2012	Niños entre 6-14 años de edad	2.1

Fuente: Elaboración propia basada en ³.

3.3 Fortificación de alimentos

Para abordar la deficiencia de hierro en la población, una estrategia clave ha sido la fortificación de alimentos. La fortificación se justifica por dos razones principales: en primer lugar, para restablecer los nutrientes perdidos durante el procesamiento de ciertos alimentos, a menudo devolviéndolos a sus niveles originales o, en algunos casos, aumentándolos ligeramente. En segundo lugar, la fortificación ayuda a aumentar la ingesta de nutrientes deficientes en una población o parte significativa de ella. ⁴

Para que un alimento sea un vehículo adecuado para la suplementación nutricional, debe cumplir con ciertas características esenciales:⁴

- Debe ser asequible para su consumo generalizado, especialmente por aquellos en riesgo de deficiencia de nutrientes.
- Debe tener la capacidad de aportar nutrientes en cantidades pequeñas, de modo que su consumo normal aumente significativamente la absorción de los nutrientes relevantes.
- La variabilidad en el consumo del alimento entre diferentes grupos de población debe ser limitada, evitando que aquellos en el extremo inferior de consumo reciban cantidades insignificantes de los nutrientes añadidos, mientras que aquellos en el extremo superior se expongan al riesgo de consumo excesivo.
- Los nutrientes añadidos deben distribuirse uniformemente en el vehículo y ser poco susceptibles de excreción durante el procesamiento y distribución.
- El alimento no debe interferir con la retención o absorción de los nutrientes añadidos ni de otros nutrientes presentes en el alimento.

La fortificación de alimentos se ha reconocido como una estrategia clave para abordar la deficiencia de hierro. En 2013, la fortificación de alimentos era obligatoria en 133 países, con los cinco alimentos más enriquecidos siendo la sal, la harina de trigo, el aceite de cocina, la harina de maíz y el arroz.⁵

En 2018, 86 países tenían legislación que exigía la inclusión de cereales en la fortificación; 66 países fortificaban únicamente la harina de trigo, 14 países fortificaban tanto la harina de trigo como la de maíz, y dos países fortificaban la harina de trigo, la de maíz y el arroz. El éxito de los programas de fortificación de alimentos depende de la existencia de legislación y regulaciones adecuadas, el suministro suficiente de alimentos fortificados, la biodisponibilidad de los micronutrientes y la supervisión y evaluación del programa.⁵

Se ha demostrado que la fortificación de alimentos con vitamina A, hierro y otros micronutrientes mejora los niveles de hemoglobina en niños, así como los niveles de ferritina y hemoglobina en mujeres en edad reproductiva y embarazadas. El consumo de alimentos fortificados también ha mostrado mejoras en los niveles de hemoglobina en niños menores de dos años. Además, un estudio encontró que cada año de consumo de alimentos fortificados con hierro se asociaba con una reducción del 2.4% en la prevalencia de anemia.⁵

3.4 Harina de maíz nixtamalizada

En el contexto de Latinoamérica, uno de los alimentos más comunes y consumidos es el maíz, un grano fundamental en la dieta regional. El maíz se emplea en diversas formas, como harinas, cereales y alimentos populares como tortillas, tamales y arepas. En esta región, el consumo diario promedio de maíz oscila entre 50 y 267 gramos por persona. Este grano posee un contenido nutricional significativo, con un 72% de almidón, 10% de proteína y entre un 3% y un 6% de grasa. Aunque el maíz es una fuente valiosa de vitamina A y calorías, su alta concentración de fitatos inhibe considerablemente la absorción de hierro, siendo esta inferior al 5%.⁶

Para abordar la baja presencia de hierro en el maíz, se han desarrollado cultivos genéticamente modificados y métodos de procesamiento que aumentan la disponibilidad de hierro en este grano. El maíz se puede moler utilizando métodos húmedos o secos, dependiendo del producto final deseado. La molienda húmeda produce almidón, aceite de maíz, edulcorantes, entre otros, mientras que la molienda seca resulta en harinas.^{4,6}

Uno de los procesos previos al molido del maíz es la nixtamalización. Este proceso implica cocer los granos de maíz en una solución básica diluida, que puede ser ceniza, hidróxido de sodio y calcio, o más comúnmente, agua con cal. Tras la nixtamalización, el maíz puede ser molido de forma seca para obtener harina de maíz tratada, la cual contiene niacina (vitamina B3) en una forma más asimilable para el organismo y un menor contenido de fitatos, lo que incrementa la biodisponibilidad del hierro.^{4,6}

3.5 Métodos analíticos usados para la determinación de hierro en alimentos

Para asegurar que los alimentos fortificados contengan las cantidades adecuadas de hierro, se emplean diversos métodos analíticos. Estos métodos permiten cuantificar con precisión el contenido de hierro y garantizar la eficacia de los programas de fortificación.

3.5.1 Espectrofotometría de absorción atómica (AAS)⁷

La espectrofotometría de absorción atómica (AAS) se basa en la absorción de luz por átomos de hierro en estado gaseoso. Una fuente de luz específica para el hierro, generalmente una lámpara de cátodo hueco, emite luz que pasa a través de la muestra atomizada en una llama o un horno de grafito. Este método es relativamente fácil de usar,

tiene alta sensibilidad y precisión y es capaz de detectar niveles trazas de hierro, por lo que es utilizado para cereales fortificados y carnes rojas.

3.5.2 Espectrometría de emisión de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES)⁸

La espectrometría de emisión de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) implica que las muestras se nebulicen y se introduzcan en un plasma de argón, donde los átomos de hierro se excitan y emiten luz en longitudes de onda específicas. La intensidad de la luz emitida se mide y se correlaciona con la concentración de hierro en la muestra. Este método destaca por su alta sensibilidad, precisión y capacidad para analizar múltiples elementos simultáneamente.

3.5.3 Espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS)⁹

La espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) es otro método avanzado que utiliza un plasma de argón para ionizar los átomos de hierro en la muestra. Los iones resultantes se separan y detectan en función de su relación masa/carga. Este método ofrece una sensibilidad excepcional y la capacidad de detectar niveles extremadamente bajos de hierro, siendo muy utilizado para muestras de agua, suelos y tejidos biológicos.

3.5.4 Voltametría¹⁰

Los métodos voltamétricos, como la voltametría cíclica y la voltametría de pulso diferencial, se basan en la medición de la corriente eléctrica que se genera cuando un potencial variable se aplica a un electrodo sumergido en la muestra. La corriente resultante está relacionada con la concentración de hierro. La ventaja de estos métodos es que son capaces de analizar muestras complejas con una alta sensibilidad y selectividad, como los vinos y jugos de frutas.

3.6 Métodos analíticos para la determinación de hierro en harinas de maíz nixtamalizado

En la determinación del contenido de hierro en harinas de maíz nixtamalizado, se han utilizado diferentes métodos analíticos a lo largo del tiempo. Inicialmente, se empleaban métodos gravimétricos y volumétricos, que, aunque precisos, resultaban laboriosos y propensos a errores humanos.

3.6.1 Métodos gravimétricos y volumétricos¹¹

Gravimétricamente, se precipitaba con ácido nítrico para determinar el óxido férrico, sin embargo, este método se descartó debido a muchos errores en la técnica y que el producto obtenido contenía cantidades insignificantes de hierro como para ser cuantificado en pequeña escala.

Volumétricamente se tuvo mayor éxito en cuanto a la cuantificación, pero igualmente presentaba inconvenientes en el sentido que era un proceso más largo, se necesitaban mayores cantidades de reactivos, y se presentaban muchas reacciones intermedias que indudablemente hacían más trabajoso el estudio y generaban más errores técnicos debido a la cantidad de pasos que era necesario realizar para culminar la cuantificación.

3.6.2 Métodos colorimétricos¹²

Con el avance de la tecnología, los métodos colorimétricos se convirtieron en la técnica estándar debido a su simplicidad y rapidez. Estos métodos suelen implicar la extracción del hierro de la muestra mediante un tratamiento ácido, seguido de la formación de un complejo coloreado con un reactivo específico, como la fenantrolina. La intensidad del color se mide mediante espectrofotometría visible, y se correlaciona con la concentración de hierro en la muestra.

El método colorimétrico comúnmente utilizado para el hierro ionizado y hierro soluble utilizaba el indicador de α , α' -dipiridilo. Para el hierro ionizado, se incubaba un filtrado que contenga el ion y el indicador a un pH de 1.35, lo que daba la coloración roja intensa. A diferencia del anterior, para el hierro soluble se digiere el filtrado con permanganato de potasio y luego se decolora con ácido ascórbico, se filtra nuevamente y se le añade el indicador α , α' -dipiridilo.

Un ejemplo destacado de la aplicación de estos métodos es el estudio de la biodisponibilidad de hierro en harinas de maíz nixtamalizado fortificadas, donde se ha utilizado el método de la fenantrolina para evaluar el contenido de hierro antes y después del proceso de nixtamalización. Este enfoque ha permitido demostrar la eficacia de la nixtamalización y la fortificación en la mejora del contenido y la biodisponibilidad de hierro en el maíz.

CAPÍTULO IV

4.0 PRODUCTO FINAL

Como producto final del Diplomado de especialización “Análisis químico de los alimentos” se elaboró una práctica de laboratorio tomando en cuenta los recursos vistos en el curso y basados en la investigación bibliográfica. La práctica consta de las siguientes partes:

4.1 Título de la práctica

Determinación de hierro en harina de maíz nixtamalizada por análisis espectrofotométrico

4.2 Introducción

La espectrofotometría ultravioleta visible (UV-VIS) es una técnica ampliamente utilizada, permitiendo el análisis de compuestos orgánicos e inorgánicos en una amplia gama de aplicaciones como el control de calidad de alimentos, la detección de contaminantes o la investigación farmacéutica.

Esta técnica se basa en el análisis de la cantidad de radiación electromagnética (en el rango de longitud de onda UV-VIS, de 200 a 400 para la región ultravioleta y de 400 a 800 para la región visible) que puede absorber o transmitir una muestra en función de la cantidad de sustancia presente a través de un instrumento llamado espectrofotómetro.

Los espectrofotómetros son instrumentos de medición altamente precisos que consisten en una fuente de luz, un sistema de selección de longitud de onda, una muestra a analizar y un detector que registra la cantidad de luz transmitida o absorbida por la muestra.

La cuantificación de la concentración de los componentes disueltos en una muestra puede lograrse comparando la longitud de onda y la absorción de la luz de la muestra con una referencia o estándar que contenga los mismos componentes por lo cual este método proporciona resultados confiables y reproducibles.

Las ventajas que presenta este método son el fácil manejo del equipo, su alta sensibilidad, la rapidez y precisión en la obtención de resultados, pero no podemos dejar de lado una desventaja, la posibilidad de interferencias debido a la presencia de sustancias absorbentes en la muestra por lo que se debe seguir cuidadosamente la técnica de análisis para dichas interferencias.

4.3 Objetivos

- Determinar la concentración de hierro en harina de maíz nixtamalizado.
- Comprobar que las harinas de maíz nixtamalizado que se utilizan para la práctica se encuentran dentro de las especificaciones del Reglamento técnico salvadoreño RTS 67.06.01:13

4.4 Tipo de análisis y fundamento

En los métodos instrumentales de cuantificación, como el análisis cuantitativo por espectrofotometría, se utilizan patrones de referencia del analito a cuantificar para poder medir su señal (Absorbancia) en las mismas condiciones de análisis de la muestra, para después proceder a comparar con la señal brindada por el analito. Esto se debe a que tiene su fundamento en la ley de Lambert-Beer ($A = \epsilon bc$), la cual establece que la absorbancia de una solución es directamente proporcional a la concentración de la misma.

Para poder realizar esta comparación se utiliza una curva de calibración mediante un procedimiento analítico que permite la cuantificación exacta y precisa del compuesto de interés, comprobando así su fundamento. En pocas palabras se obtienen datos de concentración de las soluciones patrones vs. Absorbancia, que en concordancia con la ley de Lambert-Beer debe responder a la ecuación de una recta del tipo $y = mx + a$

Donde:

y : Absorbancia

m : Pendiente

x : Concentración (mg de Fe/25 mL)

a : Intercepto al eje “y”

Con el objetivo de comprobar el cumplimiento de esta ley y con vista de garantizar la cuantificación precisa del analito es necesario a partir de los resultados experimentales, comprobar la proporcionalidad existente entre la concentración y la absorbancia para lo cual se debe calcular el coeficiente de determinación (R^2).

En el caso particular de este método, la ortofenantrolina reacciona con el ion ferroso (Fe^{2+}), originando un complejo de color rojo característico, conocido como ferroína, (Ver Figura N°1) que absorbe notablemente en las regiones del espectro visible de alrededor de 505 nm.¹³

Considerando que el ion férrico (Fe^{3+}) no presenta absorción a 505 nm, para su determinación en forma de clorato (para incrementar su solubilidad) debe ser reducido a Fe^{2+} mediante un agente reductor apropiado, como la hidroxilamina (Boumans, et al, 1997).¹³

La reducción cuantitativa de ion férrico a ferroso ocurre en pocos minutos en un medio ácido (pH 3-4), de acuerdo con la siguiente ecuación:¹³



Después de la reducción, se da la formación de un complejo con la adición de ortofenantrolina. En un medio ácido, la ortofenantrolina se encuentra en su forma protonada como ion 1,10-fenantrolina (FenH^+). La reacción de complejación puede ser descrita por la siguiente ecuación:¹³

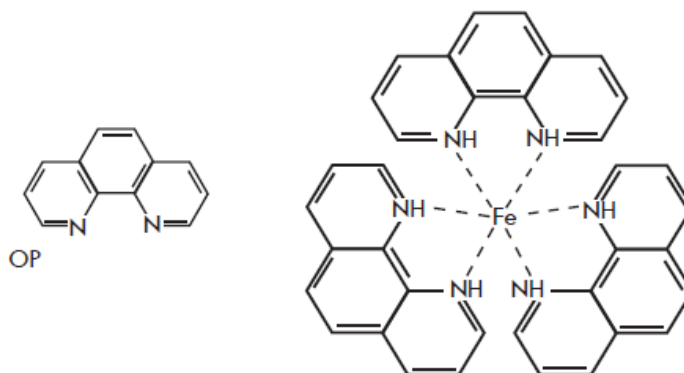
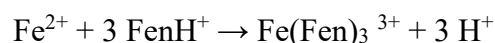


Figura N° 1. Estructura química de la ferroína. Consiste en tres moléculas de ortofenantrolina (OP) alrededor de un átomo central de hierro.¹³

4.5 Información general de la muestra

La muestra a analizar es Harina de maíz nixtamalizada, 4 marcas al azar de 800 g aproximadamente adquiridas en el supermercado.

Para tomar la muestra se realizará el método del cuarteo en cada bolsa por marca de la siguiente manera:¹⁴

1. Verter la harina formando una pila o montículo uniforme (Ver Figura N° 2) sobre una bandeja de plástico limpia e inerte.

2. Dar vueltas varias veces por 1 minuto aproximadamente con una espátula de polietileno o vidrio.
3. Nivelar la pila y dividir por la mitad
4. Dividir nuevamente en formar transversal hasta obtener cuatro segmentos iguales.
5. Tomar dos segmentos opuestos y descartar los otros dos.
6. Mezclar los dos segmentos restantes y repetir el ciclo desde el paso 1.
7. Reducir cada muestra a unos 100 g. guardar en frasco seco y bien tapado.
8. Identificar cada frasco con el nombre de la marca, fabricante, lote, fecha de fabricación y vencimiento.

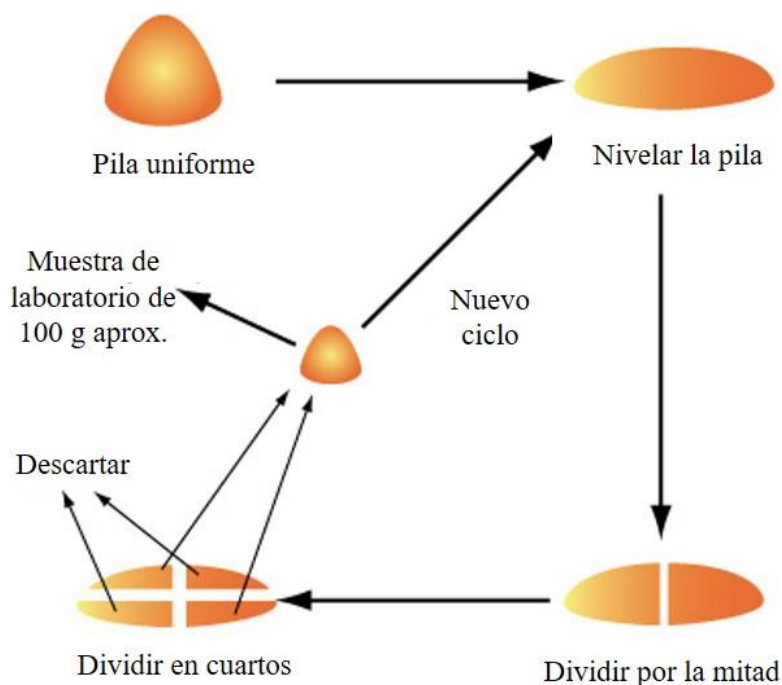


Figura N° 2. Método de cuarteo.

Fuente: Elaboración propia basado en ¹⁵.

4.6 Reactivos

- 4.6.1 Solución de O-fenantrolina
- 4.6.2 Solución estándar de hierro 10 $\mu\text{g Fe/mL}$ (ver Anexo 2)
- 4.6.3 Solución de clorhidrato de hidroxilamina ($\text{NH}_2\text{OH.HCl}$)
- 4.6.4 Solución buffer acetato

4.7 Materiales y equipos

4.7.1 Materiales

- Perilla
- Papel filtro
- Vidrio de reloj
- Varilla de vidrio
- Bureta de 100 mL
- Beakers de 250 mL
- Bandeja de plástico
- Embudo de vidrio y soporte
- Balones volumétricos de 1 litro
- Balon volumétrico de 500 mL
- Balón volumétrico de 250 mL
- Balones volumétricos de 100 mL
- Balones volumétricos de 25 mL
- Pipetas volumétricas de 1 mL
- Pipetas volumétricas de 5 mL
- Pipetas volumétricas de 10 mL
- Espátula de polietileno o vidrio
- Crisol de porcelana de aproximadamente 60 mm de diámetro, 35 ml de capacidad

4.7.2 Equipos

- Hot plate
- Balanza analítica
- Mezclador Vortex
- Espectrofotómetro
- Micropipetas de 10 mL
- Horno de mufla (Capaz de mantener 550°C)

4.8 Procedimiento de práctica de determinación

4.8.1 Preparación de la curva estándar¹⁶ (Ver Figura N° 3).

4.8.1.1 Colocar alícuotas de la solución estándar de hierro 10 µg/ml según la Tabla N°3 en balones volumétricos de 100 ml.

Tabla N°3. Concentraciones finales de acuerdo a alícuotas tomadas.¹⁶

Alícuotas tomadas (mL)	Concentración final de hierro (ppm)
0	0
2	0.2
5	0.5
10	1.0
15	1.5
20	2.0
25	2.5
30	3.0
35	3.5
40	4.0
45	4.5

Fuente: Elaboración propia

4.8.1.2 Agregar 2 ml de HCl concentrado a cada uno de los 11 balones, diluir a volumen y mezclar.

4.8.1.3 Tomar 10 mL de cada uno de las soluciones y colocarlas en balones volumétricos de 25 mL.

4.8.1.4 Agregar 1 mL de Clorhidrato de hidroxilamina (NH₂OH.HCl), dejar reposar por 5 minutos.

4.8.1.5 Adicionar 5 mL de buffer acetato y 1 mL de O-fenantrolina

4.8.1.6 Aforar a 25 mL con agua destilada y dejar reposar por 30 minutos.

4.8.2 Preparación de la muestra¹⁶ (Ver Figura N° 4).

4.8.2.1 Pesar 2 a 10 g de muestra en un crisol de porcelana.

4.8.2.2 Llevar a incineración en mufla a <550°C hasta color blanco plomizo (ver nota en Figura N° 4).

- 4.8.2.3 Retirar el crisol de la mufla y enfriar a temperatura ambiente.
- 4.8.2.4 Adicionar 5 mL HCl concentrado, enjuague la parte superior del crisol, permitir que el ácido cubra la porción de la ceniza y evaporar hasta secar en baño maría.
- 4.8.2.5 Disolver el residuo por adición de 2 mL de HCl concentrado medido con precisión, disolver con una varilla de vidrio, tapar con un vidrio de reloj y calentar 5 minutos.
- 4.8.2.6 Enjuagar el vidrio de reloj con agua.
- 4.8.2.7 Luego filtrar a través de papel filtro a un balón volumétrico de 100 mL y diluir el residuo a 100 mL con agua destilada.
- 4.8.2.8 Pipetear 10 mL de la alícuota en un balón volumétrico de 25 mL.
- 4.8.2.9 Adicionar 1 mL de solución clorhidrato de hidroxilamina $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, reposar por 5 minutos.
- 4.8.2.10 Adicionar 5 mL de solución buffer y 1 mL de O-fenantrolina y diluir hasta el volumen de 25 mL aforando con agua destilada. Dejar reposar por 30 min.
- 4.8.2.11 Leer el blanco, las absorbancias de los estándares trabajo y la muestra en el espectrofotómetro a $\lambda=510$ nm Nota:
- Si la intensidad del color es demasiado alta, diluya la solución de cenizas de la forma adecuada y continúe con el paso 4.8.2.8.
 - El color resultante es permanente durante varias horas. No lo exponga a la luz solar directa.

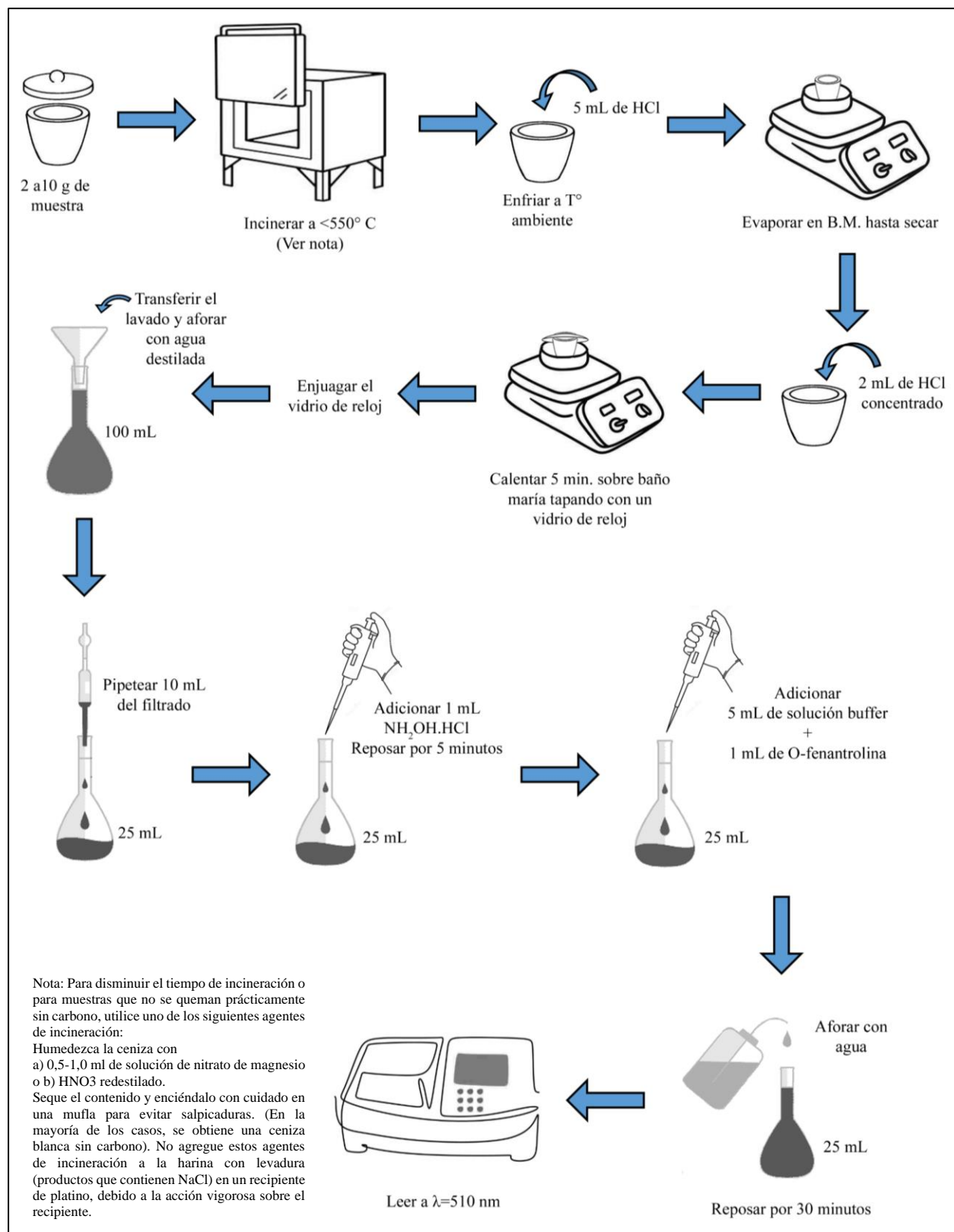


Figura N° 4. Esquema de preparación de la muestra de Harina nixtamalizada.

Fuente: Elaboración propia basada en ¹⁷.

4.9 Cálculos involucrados

4.9.4 Determinación del hierro en la muestra

4.9.4.5 Construir la curva estándar (Abs vs mg de Fe/25 mL) a partir de los valores leídos.

4.9.4.6 Hacer la regresión lineal por los puntos pasando por el origen y hallar la ecuación matemática.

Tabla N°4. Tabla de datos de la regresión lineal.

N°	mg de Fe/25 mL (x)	Abs. (y)	xy	x ²	x - \bar{x}	y - \bar{y}	(x - \bar{x}) ²	(y - \bar{y}) ²	(x - \bar{x})(y - \bar{y})
1	0.2								
2	0.5								
3	1.0								
4	1.5								
5	2.0								
6	2.5								
7	3.0								
8	3.5								
9	4.0								
10	4.5								
Σ									

Fuente: Elaboración propia

Ecuaciones:

- Regresión lineal: $y = mx + a$

Donde:

x: Concentración (mg de Fe/25 mL)

y: Absorbancia

a: Intercepto al eje "y"

m: Pendiente

$$\bar{x} = \frac{\Sigma x}{n}$$

$$\bar{y} = \frac{\Sigma y}{n}$$

$$m = \frac{n \Sigma xy - \Sigma x \Sigma y}{n \Sigma x^2 - (\Sigma x)^2}$$

$$a = \frac{\Sigma y - m \Sigma x}{n}$$

- Coeficiente de determinación (R^2)

En el caso particular de una regresión lineal, R^2 coincide con el cuadrado del coeficiente de correlación de Pearson (Mide la relación estadística entre dos variables continuas)

$$r = \frac{\sum(x - \bar{x})(y - \bar{y})}{\sqrt{\sum(x - \bar{x})^2} \sqrt{\sum(y - \bar{y})^2}}$$

La importancia práctica del coeficiente de determinación (R^2) podemos resumirlo a continuación:¹⁸

- Si $R^2 = 0$, la regresión lineal no explica la dependencia entre X y Y, lo que significa que ambas variables se relacionan por otra función o no se relacionan.
- Si $R^2 = 1$, entonces el modelo de regresión lineal se ajusta totalmente a los datos, es decir la ecuación refleja perfectamente la dependencia entre X y Y.
- Si $0 < R^2 < 1$, la regresión explica parte del error y quedan errores no explicados o residuos, lo que constituye el caso más común en la práctica.

4.9.4.7 Determinar la concentración de hierro en el gráfico o en la ecuación de regresión lineal obtenida en el gráfico.

$$x = \frac{y - a}{m}$$

4.9.4.8 Calcular Fe en la harina como mg/ Kg.

$$\text{Concentración de Fe} \left(\frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right) = \frac{C \times \text{FD} \times 10}{W}$$

Donde:

C = concentración de la solución de muestra (en ppm)

FD = factor de dilución (si lo hay) del paso 4.8.2.11, nota a,

W = peso de la muestra en gramos.

Concentración de Fe (mg) ——— 100 g

X ——— 1000 g

X = ? (mg/Kg)

4.10 Normativas

El Reglamento Técnico Salvadoreño (RTS) en la norma número RTS 67.06.01:13 en el apartado 7 “Especificaciones técnicas de la harina de maíz nixtamalizado” numeral 7.4 “Fortificación” expresa que, para la harina de maíz nixtamalizado, el hierro en forma de fumarato ferroso debe tener un valor mínimo de 40 mg/kg.

Estos niveles incluyen el nivel intrínseco de la harina de maíz nixtamalizado.

Se podrá utilizar otro compuesto de hierro que tenga mayor biodisponibilidad y no afecte las características tecnológicas de la harina de maíz nixtamalizado, demostrado por investigaciones científicas y avaladas por el Ministerio de salud (MINSAL)¹⁹.

4.11 Referencias bibliográficas

13. Iturbe F, Sandoval J. Análisis de alimentos fundamentos y técnicas [Internet]. Mexico: Facultad de química UNAM; 2011 Disponible en: https://ada.educatic.unam.mx/pluginfile.php/522/mod_assign/intro/An%C3%A1lisis%20de%20alimentos%20fundamentos%20y%20t%C3%A9cnicas.pdf
14. Greenfield H, Southgate DAT. Food composition data production, management and use. [Internet]. 2a. edición. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO); 2003. Appendix 3 Methods of preparation of foods for analysis Disponible en: <https://www.fao.org/4/y4705e/y4705e20.htm>
15. Asdlib.org. [Internet]. Harvey D; 2013. Disponible en: <https://asdlib.org/imageandvideoexchangeforum/coning-and-quartering/>
16. Nalubola R, Nestel P. Manual for wheat flour fortification with iron part 3 [Internet]. USA; U.S. Agency for International Development (USAID) 2000. Disponible en: https://pdf.usaid.gov/pdf_docs/pnack487.pdf
17. Huamaní A. Análisis de alimentos [Internet]. 1ª edición. Perú; 2016. Disponible en: https://kupdf.net/download/lab-hierro-en-alimentos_5d1c2f5be2b6f59450cc1fle_pdf
18. Zumbado H. Análisis instrumental de los Alimentos. Zumbado H. 2a. edición. La Habana: Editorial Universitaria (Cuba); 2021.
19. Organismo salvadoreño de Reglamentación Técnica. RTS 67.06.01:13 FORTIFICACIÓN DE ALIMENTOS. ESPECIFICACIONES. (Azúcar, sal, harina de maíz nixtamalizado y pastas alimenticias) [Internet]. San Salvador: MINSAL; mayo 2017. Disponible en: https://asp.salud.gob.sv/regulacion/pdf/reglamento/rts_acuerdo_600_%20reglamento_tecnico_salvadoreno_fortificacion_de_alimentos_v2.pdf

CAPÍTULO V

5.0 CONCLUSIONES

1. De acuerdo a la investigación bibliográfica realizada se pudo evidenciar que el método más rápido y sencillo para la determinación de hierro en alimentos es el método colorimétrico por medio de espectrofotometría ultravioleta visible.
2. Se expusieron los problemas de salud que causa la deficiencia de hierro y de ahí la importancia de la fortificación de materias primas para la fabricación de alimentos que más se consumen en nuestro país.
3. Se elaboró una práctica de laboratorio adecuada a los recursos con los que cuenta la Universidad de El Salvador para que los estudiantes puedan realizar de una manera eficaz el análisis del hierro en harina de maíz nixtamalizada por medio del método de espectrofotometría ultravioleta-visible.
4. Se identificó la norma vigente salvadoreña que se debe cumplir para la fortificación de harina de maíz nixtamalizada y que esta materia prima cumpla con alcanzar los niveles de hierro que nuestra población necesita.

CAPÍTULO VI

6.0 RECOMENDACIONES

1. Al Organismo Salvadoreño de Normalización, mantener normas y reglamentaciones actualizadas y al alcance de futuros investigadores.
2. Al Ministerio de Salud de la República de El Salvador y la industria productora de harina de maíz nixtamalizada, velar por el cumplimiento de la norma que nos rige para que nuestra población no sufra enfermedades por la falta de este micronutriente.
3. A la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, incorporar un monitoreo de alimentos fortificados elaborados en nuestro país en las prácticas de análisis de alimentos para que los estudiantes desarrollen sus habilidades técnicas y su sentido crítico y participativo orientado al bienestar de la sociedad.
4. A los docentes de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, proporcionar los resultados obtenidos de los análisis a las entidades correspondientes para la verificación del cumplimiento de la normativa vigente.
5. Al cuerpo estudiantil de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, realizar la marcha analítica descrita e identificar posibilidades de mejora a la misma, tanto para agilizar los procesos como para obtener mejores resultados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. National Institutes of Health. Hierro - hoja informativa para consumidores [Internet]. 2022 Disponible en: <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Iron-DatosEnEspanol/>
2. Pasricha S-R, Tye-Din J, Muckenthaler MU, Swinkels DW. Iron deficiency. *Lancet* [Internet]. 2021;397(10270):233–48. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(20\)32594-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(20)32594-0)
3. Galicia L, Grajeda R, de Romaña DL. Nutrition situation in Latin America and the Caribbean: current scenario, past trends, and data gaps. *Rev Panam Salud Publica* [Internet]. 2016;40(2):104–13. Disponible en: <https://www.scielosp.org/article/rpsp/2016.v40n2/104-113/>
4. Rosado JL, Camacho-Solís R, Bourges H. Adición de vitaminas y minerales a harinas de maíz y de trigo en México [Internet]. 1999. Disponible en: https://www.scielosp.org/article/ssm/content/raw/?resource_ssm_path=/media/assets/spm/v41n2/41n2a07.pdf
5. Sadighi J, Nedjat S, Rostami R. Systematic review and meta-analysis of the effect of iron-fortified flour on iron status of populations worldwide. *Public Health Nutr* [Internet]. 2019;22(18):3465–84. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1017/s1368980019002179>
6. Garcia-Casal MN, Peña-Rosas JP, De-Regil LM, Gwartz JA, Pasricha S-R. Fortification of maize flour with iron for controlling anaemia and iron deficiency in populations. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2018;2018(12). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/14651858.cd010187.pub2>
7. Welz B, Sperling M. Atomic absorption spectrometry. Weinheim: Wiley-VCH; 1999.
8. Boss CB, Fredeen KJ. Concepts, instrumentation and techniques in inductively coupled plasma optical emission spectrometry. Shelton (CT): PerkinElmer; 2004.
9. Jarvis KE, Gray AL, Houk RS. Handbook of inductively coupled plasma mass spectrometry. London: Blackie Academic & Professional; 1992.
10. Kissinger PT, Heineman WR. Laboratory techniques in electroanalytical chemistry. 2nd ed. New York: Marcel Dekker; 1983.
11. Fal JC. El hierro en las harinas tipificadas de trigo argentino, su evaluación y relación con las cenizas. Universidad Nacional de La Plata; [Internet]. 1946. Disponible en: https://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/158373/Documento_completo.pdf?sequence=1&isAllowed=y

12. Narasinga Rao BS, Prabhavathi T. An in vitro method for predicting the bioavailability of iron from foods. *Am J Clin Nutr* [Internet]. 1978;31(1):169–75. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1093/ajcn/31.1.169>
13. Iturbe F, Sandoval J. Análisis de alimentos fundamentos y técnicas [Internet]. Mexico: Facultad de química UNAM; 2011. Disponible en: https://ada.educatic.unam.mx/pluginfile.php/522/mod_assign/intro/An%C3%A1lisis%20de%20alimentos%20fundamentos%20y%20t%C3%A9cnicas.pdf
14. Greenfield H, Southgate DAT. Food composition data production, management and use. [Internet]. 2a. edición. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO); 2003. Appendix 3 Methods of preparation of foods for analysis Disponible en: <https://www.fao.org/4/y4705e/y4705e20.htm>
15. Asdlib.org. [Internet]. Harvey D; 2013. Disponible en: <https://asdlib.org/imageandvideoexchange/forum/coning-and-quartering/>
16. Nalubola R, Nestel P. Manual for wheat flour fortification with iron part 3 [Internet]. USA; U.S. Agency for International Development (USAID) 2000. Disponible en: https://pdf.usaid.gov/pdf_docs/pnack487.pdf
17. Huamaní A. Análisis de alimentos [Internet]. Huamaní A. 1ª edición. Perú; 2016. Disponible en: https://kupdf.net/download/lab-hierro-en-alimentos_5d1c2f5be2b6f59450cc1fle_pdf
18. Zumbado H. Análisis instrumental de los Alimentos. Zumbado H. 2a. edición. La Habana: Editorial Universitaria (Cuba); 2021.
19. Organismo salvadoreño de Reglamentación Técnica. RTS 67.06.01:13 FORTIFICACIÓN DE ALIMENTOS. ESPECIFICACIONES. (Azúcar, sal, harina de maíz nixtamalizado y pastas alimenticias) [Internet]. San Salvador: MINSAL; mayo 2017. Disponible en: https://asp.salud.gob.sv/regulacion/pdf/reglamento/rts_acuerdo_600_%20reglamento_tecnico_salvadoreno_fortificacion_de_alimentos_v2.pdf

ANEXOS

ANEXO N° 1

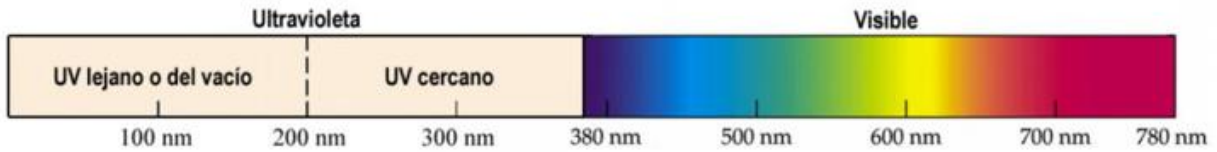


Figura N° 5. Regiones ultravioleta y visible del espectro electromagnético.¹⁸

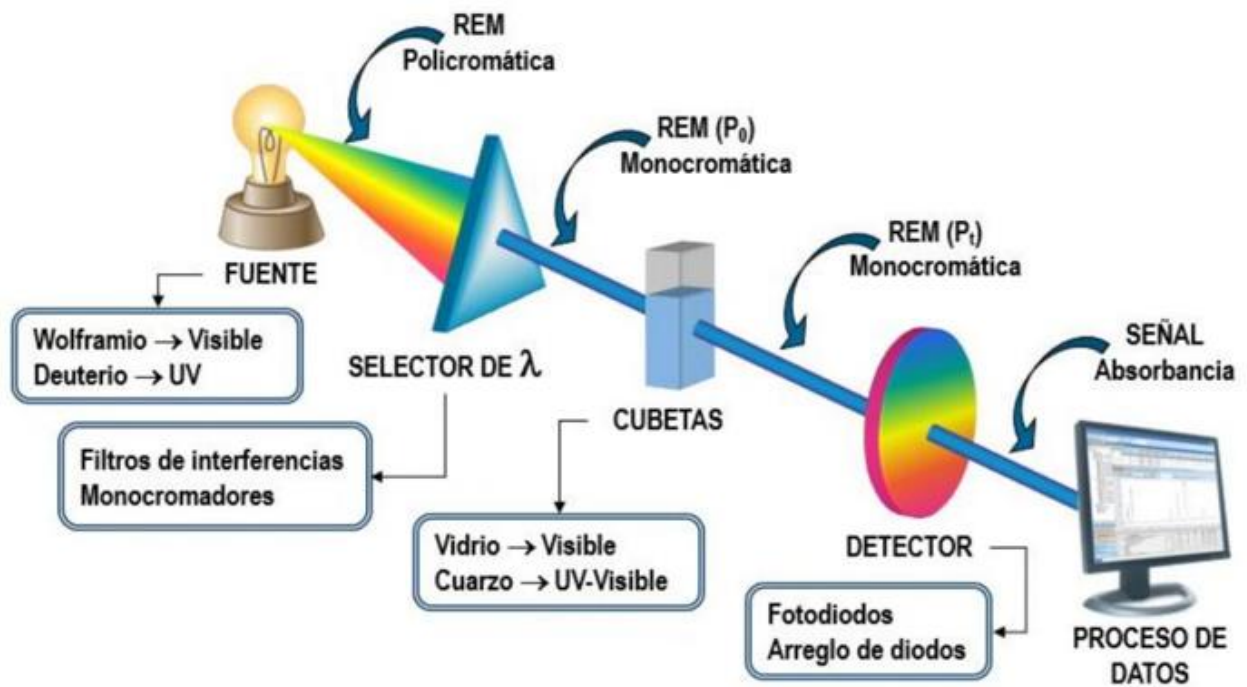


Figura N° 6. Componentes básicos de los instrumentos para medir absorción de radiación.¹⁸

ANEXO N° 2
PREPARACIÓN DE REACTIVOS

Tabla N°5. Preparación de reactivos utilizados en la práctica de laboratorio.^{16, 17}

Reactivo	Preparación								
Solución de O-fenantrolina	Disolver 0,1 g de o-fenantrolina en 80 ml de agua destilada a 80°C, enfriar y aforar en un balón volumétrico de 100 mL. Guardar en frasco ámbar en refrigeración (Estable por varias semanas)								
Solución estándar de hierro 10 µg Fe/mL	<p>Puede seleccionar cualquiera de las 2 opciones:</p> <p>a) Disolver 0,1 g de alambre de Fe de grado analítico en 20 ml de HCl y 50 ml de agua destilada, y diluir a 1 litro. Diluir 100 ml de esta solución a 1 litro.</p> <p>b) Disolver 3,512 g de Sulfato de amonio y hierro (II) hexahidratado (Sal de Mohr) en agua destilada, adicionar 2 gotas de HCl concentrado, y aforar a 500 mL en un balón volumétrico. Diluir 10 mL de esta solución a 1 Litro.</p> <p>Cálculos:</p> <p>Formula: $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$</p> <p>Masa molar: 392.118 g/mol</p> <p>Porcentaje de composición (Por masa) $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$:¹⁷</p> <table border="1" data-bbox="548 1129 1313 1243"> <thead> <tr> <th>Elemento</th> <th>Cantidad</th> <th>Masa atómica</th> <th>% (por masa)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Fe</td> <td>1</td> <td>55.84</td> <td>14.24</td> </tr> </tbody> </table> <p>392.118 g/mol de $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ — 100 %</p> <p>55.84 g/mol de Fe — X</p> <p>X = 14.24%</p> <p>3.512 g de $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ — 100 %</p> <p>X — 14.24 %</p> <p>X = 0.500 g de Fe</p> <p>3.512 g ≈ 500,130 µg de Fe — 500 mL [1000 µg Fe/mL]</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>10 mL — 1000 mL [10 µg Fe/mL]</p>	Elemento	Cantidad	Masa atómica	% (por masa)	Fe	1	55.84	14.24
Elemento	Cantidad	Masa atómica	% (por masa)						
Fe	1	55.84	14.24						

Solución de clorhidrato de hidroxilamina (NH ₂ OH.HCl)	Disolver 10 g de (NH ₂ OH.HCl) en agua destilada en un balón volumétrico de 100 mL. Guardar en frasco ámbar en refrigeración (Estable por varias semanas)
Solución buffer acetato	Disolver 8,3 g de NaC ₂ H ₃ O ₂ anhidro (previamente secado a 100°C) en agua destilada, adicionar 12 mL de ácido acético y diluir a 100 mL con agua destilada. (Puede ser necesario redestilar ácido acético y purificar acetato de sodio mediante recristalización en agua destilada, dependiendo de la cantidad de Fe presente)

ANEXO N° 3

7.4. Fortificación

La harina de maíz debe contener los niveles de vitaminas y minerales especificados en la tabla 7:

Tabla 7: Niveles requeridos de vitaminas y minerales en harina de maíz nixtamalizado

Alimento	Nutriente	Fortificante	Valor mínimo (mg/kg)
Harina de maíz nixtamalizado	Hierro ^{1,2}	Fumarato ferroso	40
	Vitamina B1	Mononitrato de Tiamina	6,1
	Vitamina B2	Riboflavina, USP	2,5
	Niacina	Niacinamida	49
	Ácido Fólico	Ácido Fólico	1,0

Fuente: Norma Salvadoreña. Harinas. Harina de maíz nixtamalizado (Primera actualización) NSO 67.03.02:08

1. Estos niveles incluyen el nivel intrínseco de la harina de maíz nixtamalizado.
2. El hierro se adicionará como fumarato ferroso. Se podrá utilizar otro compuesto de hierro que tenga mayor bio disponibilidad y no afecte las características tecnológicas de la harina de maíz nixtamalizado, demostrado por investigaciones científicas y avaladas por el MINSAL.

Figura N°7. Especificaciones técnicas de la harina de maíz nixtamalizada según Reglamento Técnico Salvadoreño RTS 67.06.01:13.¹⁹