

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA



ELABORACIÓN DE UNA PRÁCTICA PARA LA DETERMINACIÓN DE CALCIO EN  
FÓRMULA PARA BEBÉS DE 0-4 MESES POR MÉTODO VOLUMÉTRICO POR  
ÓXIDO -REDUCCIÓN

TRABAJO DE GRADO EN MODALIDAD DIPLOMADO DE ESPECIALIZACIÓN

PRESENTADO POR

INGRID JACQUELINE VILLANUEVA CANDRAY

ROBERTO ALEXANDER ZAMORA MELÉNDEZ

PARA OPTAR AL GRADO DE

LICENCIADO(A) EN QUÍMICA Y FARMACIA

JUNIO 2025

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

MAESTRA NANCY ZULEYMA GONZÁLEZ SOSA

SECRETARIA

LICENCIADA EUGENIA SORTO LEMUS

DIRECCIÓN GENERAL DE PROCESOS DE GRADO

DIRECTORA GENERAL (AD-HONOREM)

MAESTRA KATIA LISSETTE MARTÍNEZ DE PALACIOS

TRIBUNAL EVALUADOR

ASESORES

LICENCIADA AIDA ESTELA ROSALES RIVAS

LICENCIADO ALEXIS ANTONIO GUADRÓN MELÉNDEZ

TUTOR

MAESTRO LUIS GUILLERMO ESCALANTE ESCOBAR

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradecemos en primer lugar a Dios por permitirnos llegar hasta este punto de nuestra carrera, dándonos la sabiduría para aportar desarrollar esta investigación, permitiendo así la transferencia de conocimiento en futuras generaciones.

A nuestros padres, por ser nuestro apoyo incondicional en todo nuestro proceso de formación.

A nuestros amigos y compañeros que nos han motivado y ayudado a lo largo de nuestra carrera.

A nuestros docentes y tutores, por tomarse el tiempo y dedicación para el desarrollo de nuestra formación.

Ingrid y Roberto

Dedico este trabajo en primer lugar a Dios, por ser la luz en mi camino.

A mis padres, Guadalupe Candray y Rafael Villanueva, por todo el esfuerzo que han realizado para brindarme una carrera universitaria, por ser mi más grande ejemplo de superación y de trabajo duro, gracias por todo su apoyo y amor incondicional.

A mis hermanos, Eduardo Guillén, Romeo Guillen y Lupita Villanueva por ser un ejemplo y motivación en mi vida y por animarme siempre a seguir adelante.

A mis mascotas, Michito, Bonnie y Naila, por ser mi fiel compañía en noches de desvelos y brindarme siempre de su alegría al llegar a casa.

A todos mis amigos que me han acompañado y marcado mi vida con alegrías y motivaciones.

A los docentes que a lo largo de mi vida han puesto su semilla de conocimientos en mí, permitiéndome llegar a ser profesional. En especial, a Lic. Guillermo Castillo, que en paz descansa, que sin sus consejos, guía y herramientas de apoyo didáctico no hubiese podido continuar en la carrera.

Ingrid Jacqueline Villanueva Candray

Quiero agradecer a Dios y a la virgen María por guiar mi camino.

Un agradecimiento especial al apoyo incondicional que siempre me mostró mis familiares, pero sobre mi madre a la cual le dedico este logro mostrándome en todo momento el significado de profesional y persona integral, a mi tía que ha sido una segunda madre por sus consejos y cuidados, Nelson mi hermano que siempre me ha mostrado y enseñado que la acción vale más que mil palabras, Fátima mi prima que la considera una hermana y una persona que con su valentía me inspira e impulsa, a mi sobrina por recordarme la alegría de la niñez y Elías por enseñarme el concepto de gratitud y mostrarme la importancia de la educación constante.

A mi abuela gracias por su entrega y sacrificio para que siguiera adelante la familia, mis familiares que viven en el extranjero por sus buenos deseos y ánimos , a mi perro Koko el cual me acompañó durante noche de vela durante todo mi trayecto universitario, mis amigos por ser constante fuente de inspiración, ánimos y buenos deseos, Don Fidel, gracias por su ejemplo y amistad, mis amigos y vértice gracias por ayudarme y brindarme la oportunidad de reestructurar mi personalidad, mis tutores y compañeros durante mi tiempo en la universidad por enseñanza y la oportunidad de formarse como mejor individuo, haciendo mención a los que forme un lazo especial de amistad. Además, agradecer al Lic. Marlon Vladimir Medrano Hernández por su apoyo y Msc. Guillermo Escalante.

Por último, quiero agradecer a mis compañeros del curso de especialización P2A, muchas de las cuales conocí durante mi estancia en la universidad, agradeciéndole por su amistad e impacto en mi vida, gracias se les quiere.

Roberto Alexander Zamora Meléndez

## ÍNDICE GENERAL

# ÍNDICE

## CAPÍTULO I

1.0 INTRODUCCIÓN .....	13
------------------------	----

## CAPÍTULO II

2.0 OBJETIVOS.....	16
--------------------	----

## CAPÍTULO III

3.1 Leche materna .....	18
3.2 Composición química de la leche materna.....	18
3.3 Fórmula para bebe .....	20
3.4 Minerales en la fórmula para bebe .....	20
3.5 Importancia de calcio en la nutrición de un bebe 0-4 meses.....	22
3.6 Análisis de alimentos .....	23
3.7 Elección de método de identificación .....	23
3.8 Método volumétrico .....	24
3.9 Fundamento de la volumetría por oxido-reducción .....	24
3.10 Interpretación de datos en base al Codex alimentarius y etiquetado.....	24

## CAPÍTULO IV

4.1.1 Fundamento .....	27
4.2 Objetivos .....	29
4.2.1 Objetivo General. ....	29
4.2.2 Específicos .....	29
4.3 Precauciones.....	29
4.4 Desarrollo experimental .....	30
4.4.1 Material y aparatos. ....	30
4.4.2 Reactivos .....	30
4.4.3 Marcha analítica .....	31
4.4.3.1 Preparación de reactivos.....	31
4.4.3.1.2 Preparación de la solución de permanganato de potasio 0.1 N.....	32
4.4.5 Preparación de muestra .....	33

4.4.5.1 Digestión de la solución muestra .....	33
4.4.5.2 Precipitación del calcio en forma de oxalato y separación del oxalato.....	33
4.4.6 Valoración del oxalato .....	34

## **CAPÍTULO V**

5.0 CONCLUSIONES .....	37
------------------------	----

## **CAPÍTULO VI**

6.0 RECOMENDACIÓN.....	39
------------------------	----

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANEXOS

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tab. N°</b>		<b>Pág. N°</b>
1	COMPOSICIÓN DE LA LECHE MATERNA	17-18
2	MINERALES Y OLIGOELEMENTOS PRESENTES EN LA FORMULA PARA BEBE	20
3	TABLA DE VALORES ENERGÉTICOS PARA NIÑAS Y NIÑOS DE 0 -4 MESES	21

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N°

1	DIAGRAMA DE MARCHA ANALÍTICA
---	------------------------------

**GLOSARIO**

**Digestión de muestra:** es un procedimiento estándar que se utiliza para preparar muestras para un análisis químico, en el cual consiste en disolver sólidos con ayuda de ácidos o bases, al igual que agentes oxidantes o incluso enzimas.

**El número de equivalente:** es la cantidad de equivalentes que posee el soluto por litro de solución.

**Molaridad:** es la concentración de una solución expresada en moles de soluto por litro de solución.

**Normalidad:** es una medida de concentración utilizada en la química de las soluciones, la cual indica la reactiva que puede ser la solución de la especie disuelta, en lugar que tan diluida es su concentración, se expresa en gramo-equivalente por litro de solución.

## RESUMEN

La leche materna es el alimento óptimo para los recién nacidos porque cubre todas sus necesidades biológicas y nutricionales. Sin embargo, cuando no es posible la nutrición por este medio, es vital hacer uso de fórmulas lactantes artificiales o sucedáneos para cubrir esta necesidad. Uno de los minerales presentes en dicho alimento y que juega un papel fundamental en el desarrollo del bebe es el calcio, debido a que está involucrado en diversos procesos fisiológicos.

El CODEX ALIMENTARIUS (CODEX STAN 72 – 1981) hace referencia a la norma de preparados para lactantes en la cual indica que los niveles presentes de dicho mineral deben de ser como mínimo de 50 mg.

En este trabajo se diseñó una práctica analítica que permite la determinación de calcio en fórmula para lactantes siguiendo la metodología de valoración volumétrica por óxido-reducción, para esto primero reconstituida se le debe eliminar la porción proteica con ayuda al ácido tricloroacético 20% p/v, posteriormente se filtra , el filtrado debe de ser tratado con 2 mL de solución acuosa de oxalato de amonio monohidratado, 2 gotas de solución alcohólica de rojo de metilo, 2 mL de ácido acético 20% p/v y 5 mL de ácido tricloroacético al 12 % p/v, mezclada, separado por centrifugación y ampolla , al final se valoró con permanganato de potasio.

La elección de la valoración volumétrica por óxido- reducción para la práctica analítica se debe a que es un método reproducible, preciso, además que es de bajo costo.

## **CAPÍTULO I**

## 1.0 INTRODUCCIÓN

La alimentación mediante lactancia materna en los primeros meses de vida de un bebe permite aumentar la supervivencia infantil y su posterior desarrollo, ya que es una fuente importante de energía y nutrientes, esto le brinda protección frente a infecciones comunes como lo son las gastrointestinales<sup>1</sup>, pero cuando no es posible realizarla, se requiere de fórmulas lácteas artificiales o sucedáneos comerciales de leche materna que cubran las necesidades nutricionales del lactante.

Estas fórmulas lactantes artificiales al igual que la leche materna está compuesta por agua, carbohidratos, proteínas, grasas, minerales, vitaminas, enzimas, aminoácidos y nucleótidos<sup>2</sup>.

En este trabajo nos centraremos en el calcio, el cual es un micronutriente que se encuentra presente en la fórmula para bebés, esto debido a que ayuda al desarrollo óseo y su mineralización, esto es fundamental ya que este mineral es el principal componente de los huesos en edades posteriores<sup>3</sup>, además del correcto funcionamiento fisiológico.

Teniendo en cuenta la importancia de su rol en la nutrición de los bebés, la industria alimentaria debe tener un control en su calidad, por medio de la cuantificación del calcio, además de dar un dictamen de cumplimiento de la normativa vigente a nivel nacional.

Por tal motivo se ha desarrollado de manera virtual, como producto final del Diplomado de Especialización de Análisis Químico de los Alimentos, bajo metodología de investigación bibliográfica, en un periodo que comprende desde septiembre del 2023 hasta junio del 2025.

Este trabajo comprende la elaboración de una práctica para la determinación de calcio en fórmula para bebés de 0-4 meses por método volumétrico óxido-reducción. En donde, se aplicarán bases fisicoquímicas en la marcha analítica y desarrollo de cálculos que permitan la cuantificación de la cantidad de calcio presente en una fórmula para bebé.

Teniendo en cuenta que existen pocos recursos bibliográficos sobre el análisis volumétrico por óxido- reducción para la cuantificación de calcio en fórmulas para bebés, y por el contrario, se cuenta con amplia información sobre métodos desarrollados con instrumentos analíticos sofisticados y reactivos de alto costo, en este trabajo se desarrolla una práctica por análisis triométricos que permite obtener resultados veraces y reproducibles que ayudan a la toma de

decisiones con respecto a la calidad, siendo más adaptable a nivel académico, por su relación costo-beneficio.

La metodología para seguir en el desarrollo de la práctica comprende desde la preparación de muestras, preparación de reactivos, soluciones estándar o valorantes, la cristalería a utilizar y el planteamiento de los cálculos a desarrollar para la determinación del contenido de calcio, lo cual permite establecer si el resultado está dentro de las especificaciones bibliográficas del Codex Alimentarius 72 -1981.

## **CAPÍTULO II**

## 2.0 OBJETIVOS

### 2.1 General

Elaborar una práctica de laboratorio que permita determinar calcio en fórmula para bebe de 0-4 meses por el método de valoración óxido-reducción.

### 2.2 Específicos

2.2.1 Realizar una investigación bibliográfica para la elección del método volumétrico más apropiado que permita la determinación de calcio en fórmula para lactantes.

2.2.2 Investigar los cálculos que servirán para cuantificar la cantidad de calcio presente en una fórmula para bebe.

2.2.3 Indagar las reacciones químicas presentes en la práctica de identificación de calcio en la fórmula para bebe.

2.2.4 Diseñar una práctica analítica que determine el calcio presente en la fórmula para lactante por método volumétrico de óxido-reducción.

## **CAPÍTULO III**

## **3.0 MARCO TEÓRICO**

### **3.1 Leche materna**

La leche materna es el alimento de primera elección para un recién nacido y el lactante en su primer año de vida, esto debido a su amplia cantidad de beneficios en su desarrollo como lo son el neurodesarrollo, sistema inmunológico y trófico.<sup>4</sup>

El contenido de la leche materna puede variar dependiendo de una madre a otra, este puede ser afectado en el transcurso del día, además del estado de nutrición de la madre, el cual no es del todo certero, podemos destacar el volumen de secreción láctea, factores genéticos e incluso las técnicas de extracción.<sup>5</sup>

### **3.2 Composición química de la leche materna.**

La composición de la leche materna se puede dividir en dos grupos como lo son los macronutrientes y los micronutrientes<sup>2</sup>, el primero está formado por los siguientes elementos: proteínas, lípidos y carbohidratos, el segundo se puede dividir en dos grupos, los cuales son vitaminas y minerales<sup>5</sup>, de este último mencionado se abordará con más detalle ya que, entre estos se encuentra el ion calcio que es el motivo de nuestra investigación.

En la siguiente tabla se puede observar a grandes rasgos la composición química de la leche materna.

**Tabla N°1. Composición de la leche materna <sup>6</sup>**

Nutrientes en 100.0 mL	Leche humana madura
Agua	88
Calorías	70
Proteínas totales	0.9
Caseína g / 100 mL	0.25
Nitrógeno totales mg / 100 mL	0.9
Lactoalbúmina g / 100 mL	16.1
Lactoferrina g / 100 mL	0.17
IgA ( g / 100 mL)	0.14
Grasas totales (g / 100 mL)	4.2
Colesterol (mg/ 100 mL)	16
Lactosa (g/ 100 mL)	7.3
Vitamina A (mcg /100 mL)	47
Vitamina D (mcg /100 mL)	0.004
Vitamina E (mcg /100 mL)	315
Vitamina K (mcg /100 mL)	0.21
Vitamina B12 (mcg /100 mL)	26
Ácido ascórbico	4.5
Minerales (mg /L)	
Hierro	0.3-0.7
Calcio	200-250
Fósforo	120-140
Magnesio	30-35
Sodio	150-250
Cloro	400-450
Potasio	400-550
Manganeso (µg/L)	3 a 4
Cobre (µg/L)	0.1 a 0.3
Zinc (µg/L)	1 a 3

### **3.3 Fórmula para bebe**

Es un sucedáneo de la leche materna especialmente fabricado para satisfacer, por sí solo, las necesidades nutricionales de los lactantes durante los primeros meses de vida, hasta la introducción de una alimentación complementaria apropiada. El producto se elabora exclusivamente por medios físicos, se envasa de manera que se evite su alteración y contaminación en cualquier condición normal de manipulación, almacenamiento y distribución en el país en que se vende el producto<sup>7</sup>.

### **3.4 Minerales en la fórmula para bebe**

Los minerales son micronutrientes que son esenciales en la dieta en cantidades mínimas para el desarrollo de un de un bebe. Sin embargo, es de tener en cuenta que la absorción de los micronutrientes es superior en la leche materna con respecto a la fórmula para bebe<sup>8</sup>.

Debido a esto, los formuladores deben de integrarlos en forma de sales, promoviendo una mejor solubilidad y absorción intestinal, por lo que no es raro que estos se encuentren en forma de gluconato, carbonato o lactato en calcio, sulfato ferroso en hierro o sulfato o gluconato en zinc.

En la siguiente tabla se encuentra la composición de la fórmula para bebe en cuanto a minerales y oligoelementos

**Tabla N°2. Minerales y oligoelementos presentes en la fórmula para bebe <sup>7</sup>**

Minerales				
Mineral	Unidad	Mínimo	Máximo	NSR
Hierro	mg/ 100 kcal	0.45		
	mg/ 100 kJ	1		
Calcio	mg/ 100 kcal	50		140
	mg/ 100 kJ	12		35
Fósforo	mg/ 100 kcal	25		100
	mg/ 100 kJ	6		24
Proporción calcio /fósforo		01:01	01:02	
Magnesio	mg/ 100 kcal	5,0		15
	mg/ 100 kJ	1,2		3,6
Sodio	mg/ 100 kcal	20	60	
	mg/ 100 kJ	5	14	
Cloro	mg/ 100 kcal	50	160	
	mg/ 100 kJ	12	38	
Potasio	mg/ 100 kcal	60	180	
	mg/ 100 kJ	14	43	
Magnesio	mg/ 100 kcal	1		100
	mg/ 100 kJ	0.25		24
Yodo	µg/ 100 kcal	10		60
	µg/ 100 kJ	2.5		14
Selenio	µg/ 100 kcal	1		9
	µg/ 100 kJ	0.24		2.2
Cobre	µg/ 100 kcal	35		120
	µg/ 100 kJ	8.5		29
Zinc	µg/ 100 kcal	0.5		1.5
	µg/ 100 kJ	0.12		0.36

### 3.5 Importancia de calcio en la nutrición de un bebe 0-4 meses

Para el análisis de alimentos es necesario registrarse por una reglamentación, en este caso fue el Codex alimentarius, siendo un conjunto de normas internacionales que establecen los límites máximos o los que se consideran aceptables para los productos que circulan en el comercio internacional garantizando que los alimentos cumplan con las certificaciones para su buen consumo .

La ingesta de calcio se trabaja en base a directrices para toda la población con diferentes rangos de edad. Teniendo en cuenta lo siguiente se encontró que el valor mínimo presente en el Codex alimentarius CXS 72-1981 de este suplemento nutricional es de 50 mg\ 100 kcal por requerimiento energético diario.

Para la interpretación del dato encontrado en el Codex alimentarius CXS 72-1981 nos tenemos que apoyar de los requerimientos calóricos, los cuales pueden ir variando, dependiendo de cada bebe o las condiciones ambientales en donde se desenvuelven, para ejemplificar esta relación hemos encontrado una tabla en el manual salvadoreño llamado "lineamientos técnicos para la atención nutricional en pacientes ambulatorios de las personas con malnutrición en el ciclo de vida"

**Tabla N°3. Tabla de valores energéticos para niñas y niños de 0 -4 meses<sup>14</sup>**

Edad	Peso	Recomendaciones		
		Calorías		
	Kg	Kcal/kg	Total	mg de calcio
Niñas y niños				
0-2.9 meses	4.3	102	440	220
3-5.9 meses	6.7	82	550	270

Por ejemplo  $440 \text{ kcal} \times 50 \text{ mg} \backslash 100 \text{ kcal} = 220 \text{ mg}$  calcio en consumo diario

La biodisponibilidad en leche humana es superior a la de los preparados para bebés (58% vs 38%), esto se debe a que el calcio en leche materna está ligado a la parte lipídica o con componentes de bajo peso molecular y muy poco ligado a la caseína, a diferencia de las fórmulas para bebés<sup>9</sup>, es decir, el calcio presente en leche materna se absorbe y utiliza mejor en el organismo.

Lo mencionado anteriormente, obliga a los formuladores a que se aumente la cantidad base de calcio que se encuentra en la fórmula para bebés<sup>10</sup>, por tal motivo es normal ver estudios comparativos donde se encuentre una cantidad de calcio mucho más alta en las fórmulas para bebés con respecto a la leche materna.

Esto nos permite dar una idea sobre la importancia de mantener un control o análisis de calidad con respecto al ion calcio que aportan un papel crucial en el desarrollo<sup>10</sup>.

### **3.6 Análisis de alimentos**

La caracterización de los alimentos proviene de los resultados de los diferentes ensayos a que puede someterse utilizando diferentes métodos de evaluación, los cuales pueden agruparse en función de los objetivos que se persigan.<sup>8</sup>

Existen tres tipos de análisis vigentes entre los cuales se encuentran el análisis fisicoquímico, análisis microbiológico y análisis sensorial.<sup>8</sup>

Pero en este caso nos centraremos más en el primero, ya que implica la caracterización de los alimentos desde el punto de vista fisicoquímico, haciendo énfasis en la determinación de su composición química, es decir, sustancias presentes en un alimento (proteínas, grasas, vitaminas, minerales, hidratos de carbono, contaminantes metálicos, residuos de plaguicidas, toxinas, antioxidantes, etc.) y en qué cantidades de estos compuestos se encuentran.<sup>8</sup>

### **3.7 Elección de método de identificación**

Teniendo en cuenta las ventajas del método volumétrico en comparación con el análisis realizado con aparatos, se optó por elegir el primero, debido a que puede proporcionar resultados precisos, reproducibles y rentables para fines didácticos; a pesar de que el último ofrece ventajas a la hora de trabajar con muestras de color marcado o si son muy turbias, además de poseer mayor robustez.

Debido a la facilidad de obtención de reactivos y materiales para determinación por volumetría de oxido-reducción, consideramos que este método es el más indicado por su relación costo-beneficio.<sup>10</sup>

### **3.8 Método volumétrico**

Es aquel proceso que se basa en la medición de un volumen de reactivo necesario para reaccionar con el analito. De este modo, al medir de forma exacta el volumen de reactivo de concentración perfectamente conocida y necesaria para reaccionar completamente con el analito, podemos calcular la concentración en la muestra.<sup>11</sup>

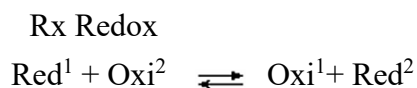
En un montaje típico empleado para llevar a cabo una volumetría la disolución de analito se encuentra en un vaso de precipitados o en un matraz de Erlenmeyer y la disolución del reactivo en la bureta. El medio de valoración debe ser agitado de forma continua para favorecer el contacto entre las especies reaccionantes, pudiendo agitarse de forma manual, por medio de una varilla, o automática, a través de un agitador magnético<sup>11</sup>.

### **3.9 Fundamento de la volumetría por oxido-reducción**

Las reacciones que llevan implícito una transferencia de electrones entre dos sustancias, una de las cuales se reduce (acepta electrones) y la otra, simultáneamente, se oxida (cede electrones). La sustancia que se reduce o acepta electrones se denomina agente oxidante y la que se oxida o cede electrones se denomina agente reductor.<sup>11</sup>

Los métodos volumétricos basados en procesos de oxidación-reducción son más numerosos y diversos que los basados en cualquier otro tipo de reacción.<sup>11</sup>

En su forma más sencilla, una reacción de oxidación-reducción se puede escribir:



### **3.10 Interpretación de datos en base al Codex alimentarius y etiquetado**

Determinar la cantidad de volumen gastado en la valoración permite conocer el contenido de calcio presente en la muestra.

El valor obtenido debe de ser convertido a miligramo, el cual no debe de ser menor a 50 mg/100 Kcal, para cumplir con la normativa del Codex Alimentarius CXS 72 – 1981.

Un valor es demasiado alto a 50 mg/100 Kcal la lata de fórmula para bebe no podría pasar por el control de calidad, puede padecer exceso de calcio causándole una hipercalcemia.

En cambio, si se obtiene un valor inferior o igual a 50 mg/100 Kcal en el análisis de control, indicará que la fórmula contiene la cantidad de calcio necesaria para suplementar al bebé y aportar lo necesario para su crecimiento, cumpliendo de esta manera con la calidad fisicoquímica.

Aclarando, si el valor es demasiado bajo, la fórmula no contiene la cantidad de calcio requerida, por tanto, su etiquetado es engañoso y puede contribuir en la deficiencia de este mineral en los bebés. Es de mencionar que en este producto se estaría observando un fallo en el control de calidad fisicoquímico y un error en la cadena de fabricación.

## **CAPÍTULO IV**

## 4.0 PRODUCTO FINAL

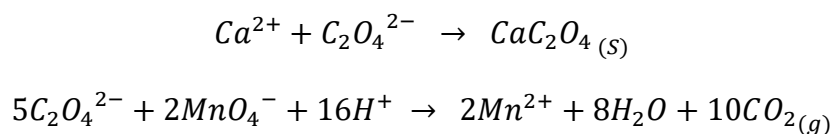
### 4.1 Título: “Elaboración de una práctica para la determinación de calcio en fórmula para bebés de 0-4 meses por método volumétrico por óxido-reducción”

#### 4.1.1 Fundamento

Este método se aplica a todas las leches líquidas normales, así como a las leches reconstituidas por dilución, disolución de leches concentradas o de leches desecadas.<sup>12</sup>

Al inicio el calcio está presente en la muestra reconstituida junto con sus demás componentes, comienza a ser tratada con ácido tricloroacético 20% p/v para separar la materia proteica del calcio, posteriormente se filtra, este contenido es tratado con 2 mL solución acuosa oxalato de amonio monohidrato, 2 gotas de solución de rojo de metilo, 2 mL de ácido acético 20 % p/v y 2 mL ácido tricloroacético 12 % p/v, esto permite eliminar alguna impureza restante del material proteico y acidificar el medio para poder formar el oxalato de calcio, el cual se separa por centrifugación, posteriormente se valora con permanganato de potasio.<sup>12</sup>

La reacción que se obtiene es la siguiente:



Cálculos

$$\text{Contenido de calcio} = 0.4 \times (V - v) \times \frac{1.000}{P} \times K$$

V = volumen en ml de KMnO<sub>4</sub> (0,02N) gastados en la valoración de la muestra.

v = volumen en ml de KMnO<sub>4</sub> (0,02N) gastados en el ensayo blanco.

P = peso en gramos de la muestra inicial (alrededor de 20 g).

K = coeficiente de corrección del volumen del precipitado resultante de la precipitación tricloroacética.

K = 0,972 Para leche entera (3,5 a 4,5 por 100 de materia grasa)

$K = 0,976$ . Para leche con 3 por 100 de materia grasa

$K = 0,980$ . Para leche con 2 por 100 de materia grasa

$K = 0,985$ . Para leche con 1 por 100 de materia grasa

$K = 0,989$ . Para leche desnatada

La diferencia entre los resultados de dos determinaciones efectuadas simultáneamente o una inmediatamente después de otra por el mismo analista, no debe ser mayor de 0,002g calcio por 100 g de leche.<sup>12</sup>

Con el siguiente ejemplo tendremos una idea de cómo se debe ocupar la fórmula una vez se ha finalizado la práctica y obtenido los datos necesarios para aplicarla.

$$\text{Contenido de calcio} = 0.0004 \times (V - v) \times \frac{1.000}{P} \times K$$

$V = 15 \text{ mL}$

$V = 8 \text{ mL}$

$P = 20 \text{ grs}$

$K = 0.98$  por que la muestra es semisólida, es decir que no posee mucha cantidad de grasa

$$\text{Contenido de calcio} = 0.0004 \times (15 - 8) \times \frac{1.000}{20} \times 0.98$$

0.0001372

20 gramos -----100%

X-----0.1372

Respuesta 0.00274 gramos de calcio.

Dando como resultado 0.0274 gramos por cada 20 gramos muestra, esto al convertirse en miligramos sería 27.44mg, esta conversión se hizo para hacer la interpretación respecto al valor referencia del Codex alimentarius 72-1981.

La interpretación final dependerá de cada caso, ya que cada caso presenta una ingesta calórica dependiendo a la necesidad y la rotulación presente en cada lata, en caso en particular si tomamos en cuenta los datos obtenidos del ejemplo anterior, y si él bebe es de 0-3 meses con una ingesta calórica de 102 Kcal equivale a 220 mg, con estos datos, la muestra no cumple, para cumplir con los 220 mg calcio de este caso, él bebe debe consumir aproximadamente 140 gramos de muestra, que es 12.47%.

## **4.2 Objetivos**

### **4.2.1 Objetivo General.**

Realizar la práctica de determinación de calcio en fórmula para bebe de 0-4 meses por método volumétrico por oxido reducción.

### **4.2.2 Específicos**

- Aplicar conocimientos teóricos para la identificación del viraje del color en el punto de equilibrio del calcio.
- Desarrollar las habilidades para la interpretación del dato obtenido dictaminando el estado del análisis (conforme o inconforme) siguiendo la normativa de Codex alimentarius.
- Aprender el proceso de desarrollo de estandarización para un análisis volumétrico por oxido reducción.
- Desarrollar los pasos adecuados durante la practica para el proceso de formación del oxalato de calcio y su titulación

## **4.3 Precauciones**

- Utilizar equipo de seguridad (guantes, mascarilla de gases, anteojos de protección de laboratorio).
- Realizar el proceso en cámara de extracción de gases.

## 4.4 Desarrollo experimental

### 4.4.1 Material y aparatos.

- Balanza analítica
- Matraz aforado de 50.0 mL, 250.0 mL
- Vaso de precipitado 100.0 mL o 250.0 mL
- Pipeta de 20.0 mL
- Papel de filtro membrana nylon (20  $\mu\text{m}$ ) de 5.5 cm.
- Centrífuga que pueda desarrollar una aceleración centrífuga de 1400 g (g = aceleración de la gravedad).
- Tubos de centrífuga cilíndricos con fondos redondos de 30.0 mL, aproximadamente, marcados a 20.0 mL.
- Pipetas de 2.0 mL y 5.0 mL.
- Crisol de Gooch
- Kitazato.
- Dispositivos de sifón por succión, provisto de un tubo capilar.
- Baño de agua, a temperatura de ebullición.
- Malla de asbesto.
- Termómetro.
- Bureta graduada de 50.0 mL.<sup>12</sup>

### 4.4.2 Reactivos

- Acético glacial.
- Ácido Sulfúrico (96% m-m; 1.84 Kg/L).
- Ácido Tricloroacético.
- Agua Destilada.

- Alcohol Etilico 96% V-V.
- Amoníaco (25% m-m y 0.91 g/mL).
- Oxalato de Amonio monohidratado.
- Permanganato de Potasio.
- Solución de Ácido tricloroacético 20% m-V.
- Solución de Ácido tricloroacético 12% m-v.
- Solución de Rojo de Metilo RE: solución al 0.05% m-V en alcohol etílico al 96% V-V.
- Solución acuosa de Ácido Acético al 20% V-V. Usar Ácido Acético glacial y diluir convenientemente.
- Solución de Amoníaco al 50% V-V: Mezclar volúmenes iguales de Amoníaco 25% y agua destilada.
- Solución de Amoníaco 2.0 %: Preparar 100 mL a partir de Amoníaco 25% m-M.
- Solución de Ácido Sulfúrico 20.0 % m-V: Preparar a partir de Ácido Sulfúrico 96% m-m.<sup>12</sup>

#### 4.4.3 Marcha analítica

##### 4.4.3.1 Preparación de reactivos

###### 4.4.3.1.1 Cálculos previos a la solución de permanganato de sodio 0.1 N

Para preparar 500 mL de una solución 0.1 N de permanganato de potasio ( $\text{KMnO}_4$ ), primero necesitamos calcular la cantidad de permanganato de potasio que se requiere

Entonces, para preparar una solución 0.1 N de  $\text{KMnO}_4$ , se usará la siguiente fórmula:

$$\text{Normalidad (N)} = \frac{\text{Moles de soluto}}{\text{Volumen de solución (L)}} \times \text{\#de equivalentes}$$

La normalidad (N) de una solución es igual a la molaridad (M) multiplicada por el número de equivalentes por mol. El número de equivalentes de  $\text{KMnO}_4$  en una reacción de oxidación es 5, porque el ion permanganato ( $\text{MnO}_4^-$ ) puede ceder hasta 5 electrones en su reducción.

Ya que requerimos de los moles de soluto, empezaremos calculando cuántos moles de  $\text{KMnO}_4$  necesitamos para obtener 0.1 N en 500 mL (0.5 L) de solución.

$$0.1N = \frac{\text{Moles de } KMnO_4}{0.5L} \times 5$$

Así por medio de despeje encontramos los moles de  $KMnO_4$

$$\text{Moles de } KMnO_4 = 0.1N \times 0.5L \times \frac{1}{5} = 0.01 \text{ moles de } KMnO_4$$

Luego de haber calculado los moles de  $KMnO_4$ , calculamos la cantidad de masa que será necesaria pesar, teniendo en cuenta que la masa molar de  $KMnO_4$ , que es 158.04 g/mol.

$$\text{Masa} = \text{Moles} \times \text{Masa molar} = 0.01 \text{ moles} \times 158.04 \frac{g}{mol} = 1.5804 g$$

#### 4.4.3.1.2 Preparación de la solución de permanganato de potasio 0.1 N

- Pesar en una balanza analítica sobre un vaso de precipitado de 100.0 mL ó 250.0 mL, la masa de permanganato de potasio necesaria para preparar 500.0 mL de solución de permanganato de potasio 0.1 N.
- Disuelva cuidadosamente la masa pesada hasta 500.0 mL de agua destilada y deje en reposo la solución protegida de la luz durante un tiempo de 7-10 días.
- Posteriormente se separa el precipitado de  $MnO^{2-}$  por filtración a vacío empleando un crisol de Gooch, a través de una fina capa de asbestos, recogiendo la solución filtrada en un Kitazato.
- Trasvase la solución a un frasco ámbar limpio y seco, agite y rotule el frasco.<sup>12</sup>

#### 4.4.4 Estandarización de $KMnO_4$ 0.1 N

- Preparar la solución de permanganato de potasio en el paso 4.4.3.1.2.
- Pesar 0.1 g oxalato de sodio aproximadamente en un matraz volumétrico aparte.
- Agregar 25 -50 mL de agua destilada.
- Agregar 7.5 mL de ácido sulfúrico 2N.

- Tomar una alícuota de 10 mL.
- Transferir la alícuota en un matraz volumétrico de 250 mL.
- Calentar a 60 -70 °C en una cámara de gases con ayuda de un hot plate.
- Llenar una bureta con la solución de solución permanganato de potasio 0.1N.
- Abrir la bureta con goteo de gota a gota hasta que aparezca una coloración rosada durante 30 segundos<sup>14</sup>.

#### 4.4.5 Preparación de muestra

- Pretratamiento, llevar la muestra de leche fortificada a una temperatura de  $20^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$  y mezclarla cuidadosamente hasta formar una dispersión homogénea de la materia grasa. Si eso no ocurriese, calentar lentamente la muestra hasta los  $40^{\circ}\text{C}$ , mezclarla cuidadosamente y enfriar nuevamente hasta los  $20^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ .
- Pesar en balanza analítica un matraz de 50.0 mL y tarar, posteriormente proceder a pesar 20 gramos de leche para reconstituir.<sup>12</sup>

##### 4.4.5.1 Digestión de la solución muestra

- En el matraz que contiene la muestra reconstituida añadir poco a poco mientras se agita 15.0 mL de solución acuosa de Ácido Tricloroacético 20 .0 % p/v y transferir su contenido a un balón volumétrico de 50.0 mL y llevar hasta su aforo con este reactivo.
- Agitar fuertemente durante algunos segundos y dejar reposar por 30 minutos a temperatura ambiente.
- Colocar en un matraz de 100.0 mL un embudo de vidrio y filtrar sobre membrana filtro de nylon (20  $\mu\text{m}$ ) de 5.5 cm
- El filtrado obtenido debe ser transparente <sup>13</sup>.

#### 4.4.5.2 Precipitación del calcio en forma de oxalato y separación del oxalato

- En un tubo de centrifuga cilíndrico de fondo redondo con aforo de 20.0 mL, introducir 5.0 mL del filtrado transparente obtenido en el paso 4.4.5.1
- Se añade 5.0 mL de Ácido Tricloroacético al 12% p/v, 2.0 mL de una solución acuosa saturada de Oxalato de Amonio hidrato, dos gotas de solución alcohólica de Rojo de Metilo y 2.0 mL de Ácido Acético al 20%.
- Mezclar mediante agitación circular y añadir gota a gota solución de Amoníaco hasta coloración amarillo pálido; añadir algunas gotas de Ácido Acético al 20% hasta coloración rosa.
- Dejar reposar cuatro horas a temperatura ambiente. Diluir hasta 20.0 mL con Agua destilada y centrifugar 10 minutos a 1.400 g (g = aceleración de la gravedad).
- Decantar el líquido transparente que sobrenada en un embudo Buchner, con el dispositivo de succión.
- Realizar tres lavados sucesivos con agua destilada.<sup>13</sup>

#### 4.4.6 Valoración del oxalato

- Tomar una pipeta limpia y agregar 10.0 mL o 25.0 mL de una solución de oxalato de calcio obtenido en 4.4.5.2
- Transferir a un frasco Erlenmeyer de 100.0 mL ó 250.0 mL.
- Añadir 15.0 mL de solución de ácido sulfúrico 1:8 V-V.
- Usando un hot plate, calentar a una temperatura 80-90°C chequeando la temperatura con un termómetro y cuidando que la solución no ebulle.
- Una vez alcanzada la temperatura, lavar el termómetro con agua destilada.
- Inmediatamente se comienza a valorar gota a gota con permanganato de potasio.
- Se continuará con la valoración hasta la aparición de un color rosa pálido permanente durante 30 segundos.
- Se repetirá la valoración con nuevas alícuotas de oxalato de calcio hasta que la diferencia entre dos valoraciones no supere 0.1 mL de permanganato de potasio consumido<sup>12</sup>.

##### 4.4.6.1 Ensayo en blanco:

- Efectuar un ensayo en blanco con todos los reactivos, utilizando 20.0 mL de Agua Destilada en vez de leche <sup>12</sup>.

#### **4.4.7 Referencias bibliográficas**

12. Zumbado Fernández H M. Análisis químicos de los alimentos. Segunda edición. Miami, FL 33160: Editorial universitaria 2004; 2022.p. 7, 267-269 .
13. Analíticos en alimentación, métodos oficiales de análisis. Leche y productos lácteos [Internet]. España: Panreac 1992. [ citado 10 de octubre del 2024] .disponible en : <https://www.usc.gal/caa/MetAnalisisStgo1/leche.pdf>
14. De Carias MJ. Gómez Revelo RE. Propuesta de un manual de métodos analíticos oficiales y no oficiales para análisis de productos farmacéuticos y alimenticios por diferentes valoraciones [Tesis de pregrado]. San Salvador: Universidad de El Salvador; 2019. Recuperado a partir de: <https://repositorio.ues.edu.sv/server/api/core/bitstreams/d4ae0af2-b3f1-416c-8d97-9cf46ab098d1/content>

## **CAPÍTULO V**

## 5.0 CONCLUSIONES

1. El procedimiento descrito es viable en laboratorios de contextos educativos, gracias a su bajo costo, materiales accesibles y relativa facilidad de ejecución, cumpliendo con criterios de seguridad, precisión y reproducibilidad.
2. La bibliografía consultada permitió la elección del método apropiado para la identificación de calcio en la fórmula para bebés, además de obtener una mejor idea de las reacciones químicas presentes en la valoración.
3. En la práctica propuesta se expresan los cálculos que servirán para cuantificar e interpretar si la fórmula para bebé cumple con la cantidad de calcio que rotula la etiqueta y comparar con lo que establece el Codex Alimentarius (CXS 72–1981).
4. El método analítico volumétrico por óxido-reducción es fundamental en el proceso de precipitación de calcio como oxalato mediante una valoración con permanganato de potasio, durante su realización se logra apreciar un persistente color rosa, por lo que es fácil su detección, haciendo de este un método confiable para cuantificar en matrices alimentarias como la leche.
5. Los cálculos propuestos con base en los volúmenes de titulante y el peso de la muestra permitirán obtener el contenido real de calcio en la fórmula, corrigiendo con un coeficiente K, gracias a esto la fórmula permite abarcar todo tipo de leche según su porcentaje de grasa, lo que aporta mayor exactitud al resultado final.

## **CAPÍTULO VI**

## 6.0 RECOMENDACIÓN

1. A los docentes de la Facultad de Química y Farmacia se recomienda incluir esta metodología de análisis de valoración óxido reducción descrita en esta investigación, en áreas como control de calidad, química analítica o análisis bromatológico de la carrera de Química y Farmacia para poder ampliar las competencias de los estudiantes.
2. A los docentes en la Facultad de Química y Farmacia validar la metodología propuesta de determinación de calcio, para obtener resultados más confiables.
3. A los laboratoristas encargados en donde se puede aplicar la práctica se recomienda tener cuidado con la manipulación de reactivos, tal es caso del permanganato de potasio ya que es un material oxidable y si requiere tener la solución en un lugar fresco y alejado de la luz solar durante 7-10 días de reposo, además el ácido sulfúrico y ácido tricloroacético se deben trabajar bajo cámara de extracción por ser irritantes y tóxicos.
4. Si se aplica la práctica en la cátedra de Control de Calidad o Bromatología se recomienda tanto para estudiantes como docentes basarse en el Codex Alimentarius (CODEX STAN 72 – 1981), ya que es la normativa usada de referencia a nivel nacional para el análisis de calcio en fórmula para bebe.
5. Tanto docentes como estudiantes que apliquen la práctica en la cátedra de Control de calidad o bromatología debe de tener en cuenta que el valor obtenido tiene que ser menor al dato encontrado en el Codex Alimentarius (CODEX STAN 72 – 1981), indicando que se encuentra dentro de los parámetros establecidos, no puede ser superior al dato porque él bebe correría el riesgo de presentar hipercalcemia por alimentación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial para la salud. Alimentación del lactante y del niño pequeño [Internet]. Who .int. [citado el 1 de julio del 2025 ]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/infant-and-young-child-feeding>
2. Riveros M. Barrera C. Formulas artificiales lácteas: importancia y desafíos. [Internet]. Universidad de Chile. [citado el 1 de julio del 2025]. Disponible en: [https://consorciolechero.cl/librocapitulo/LNS\\_SI\\_C6\\_F%C3%B3rmulas%20l%C3%A1cteas.pdf](https://consorciolechero.cl/librocapitulo/LNS_SI_C6_F%C3%B3rmulas%20l%C3%A1cteas.pdf)
3. Family Nestle. La importancia del calcio en la alimentación infantil [Internet]. [citado el 1 de julio del 2025]. Disponible en: <https://www.familynescam.com/12-24/fuentes-calcio-nino>
4. Pedro Luis del Mazo -Tome , Marta Saurez-Rodriguez .Prevalencia de la alimentación exclusiva con lactancia materna en recién nacidos sanos. Scielo [Internet]. 2018 [ Consultado 25 de septiembre del 2024]; 75 (1) .Disponible en: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S166511462018000100049&script=sci\\_arttext](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S166511462018000100049&script=sci_arttext)
5. Dra. Virginia Diaz- Arguelle . Lactancia materna : evolución del recién nacido. Scielo [Internet].2005 [ Consultado 25 de septiembre del 2024]; 77(2). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S003475312005000200005&script=sci\\_arttext](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S003475312005000200005&script=sci_arttext)

6. Dr. Vera Carlos. Lactancia materna actualización 2022. Pamplona. España: Slideshare;2022[Internet]. [citado 16 de abril del 2025]. Disponible en: <https://es.slideshare.net/slideshow/lactancia-materna-actualizacin-2022/251166553>
7. Codex Alimentarius normas internacionales de alimentación. Norma para preparados para lactantes y preparados para usos medicinales especiales destinados a los lactantes CODEX STAN 72 – 1981[Internet] . FAO Roma . Organización mundial para la salud, Organización de las naciones unidas para la alimentación y agricultura.; 2007 [revisado 2007; citado 6 de octubre de 2024]. Disponible en: [https://www.fao.org/input/download/standards/288/CXS\\_072s\\_2015.pdf](https://www.fao.org/input/download/standards/288/CXS_072s_2015.pdf)
8. Vitamins and minerals in infant milks [Internet]. First Steps Nutrition Trust. [citado el 19 de julio de 2025]. Disponible en: <https://www.firststepsnutrition.org/vitamins-and-minerals-in-infant-milks>
9. V. Martínez Suarez, J.M Moreno Villares , J. Dalmau Serra . Recomendaciones de la ingesta de calcio y vitamina D: posicionamiento del comité de nutrición de la asociación de pediatría española.. Elsevier Anpediatric. 2012;77 (1).57 .e1 - 57 .e8
10. E.M. Rodríguez Rodríguez, M. Sanz Alaejos y C. Díaz Romero. Concentraciones de calcio, magnesio , sodio y potasio en leche materna y fórmula de inicio . Scielo Alan [Internet] . 2002 [ revisado octubre 10 del 2024 ].52 (4). Disponible en: [https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-06222002000400013](https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222002000400013)

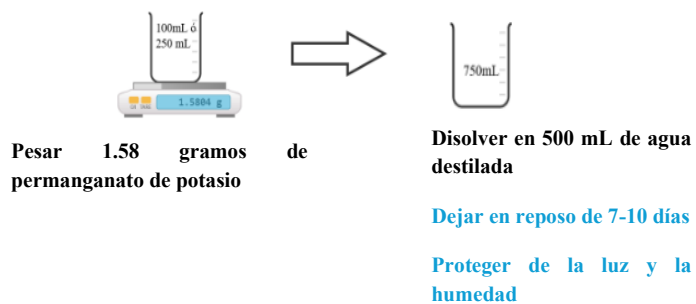
11. N. Campillo Sena. Introducción al análisis volumétrico. España : Universidad de Murcia , Open Courseware [Internet]. [Consultado 10 de octubre del 2024] . Disponible en:<https://www.um.es/documents/4874468/11830096/tema-4.pdf/0ef11661-8d05-43e3-8edb-10b8bc21351b>
12. Zumbado Fernández H M. Análisis químicos de los alimentos. Segunda edición. Miami, FL 33160: Editorial universitaria 2004; 2022.p. 7, 267-269 .}
13. Analíticos en alimentación, métodos oficiales de análisis. Leche y productos lácteos [Internet]. España: Panreac 1992. [ citado 10 de octubre del 2024] .disponible en : <https://www.usc.gal/caa/MetAnalisisStgo1/leche.pdf>
14. De Carias MJ. Gómez Revelo RE. Propuesta de un manual de métodos analíticos oficiales y no oficiales para análisis de productos farmacéuticos y alimenticios por diferentes valoraciones [Tesis de pregrado]. San Salvador: Universidad de El Salvador; 2019. Recuperado a partir de: <https://repositorio.ues.edu.sv/server/api/core/bitstreams/d4ae0af2-b3f1-416c-8d97-9cf46ab098d1/content>

## ANEXOS

### Anexo 1

#### DIAGRAMA DE MARCHA ANALÍTICA

#### Preparación de solución permanganato de potasio 0.1 N



A photograph showing a laboratory setup for filtration. A glass funnel is placed in a Gooch crucible, which is supported by a stand. A beaker is positioned below the funnel to catch the filtrate. A person wearing a white lab coat is partially visible, performing the filtration.

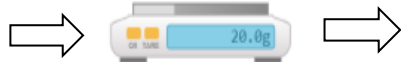
Posteriormente se separa el precipitado de  $\text{MnO}_2$  por filtración a vacío empleando un crisol de Gooch



Trasvase la solución a un frasco ámbar limpio y seco, agite y rotule el frasco

## Estandarización de $\text{KMnO}_4$ 0.1 N

Primero realizar una solución de permanganato de potasio 0.1 N



Pesar 0.1 g de oxalato de sodio en un matraz aparte

Agregar de 25 mL- 50 mL de agua destilada



Agregar de 7.5 mL- de ácido sulfúrico 2N



Calentar un hot plate 60-70 ° c.

Preparar una bureta con un permanganato de potasio.

Anadir gota con gota con la bureta durante 30 segundos hasta mantener una solución de color rosada



Tomar una alícuota en un matraz volumétrico 250 mL

## Preparación y digestión de solución muestra



Pese 20 gramos de leche muestra reconstituida



La muestra debe de tener las siguientes condiciones:  $20^\circ \pm 2^\circ\text{C}$

Además de ser tarado y pesado en un matraz de 50 mL



Posteriormente se añade 15 mL de solución de ácido tricloroacético 20% p/v despacio



Transferir la solución anterior y aforar



Agitar fuertemente y esperar por 30

Filtrar con un matraz y embudo la solución

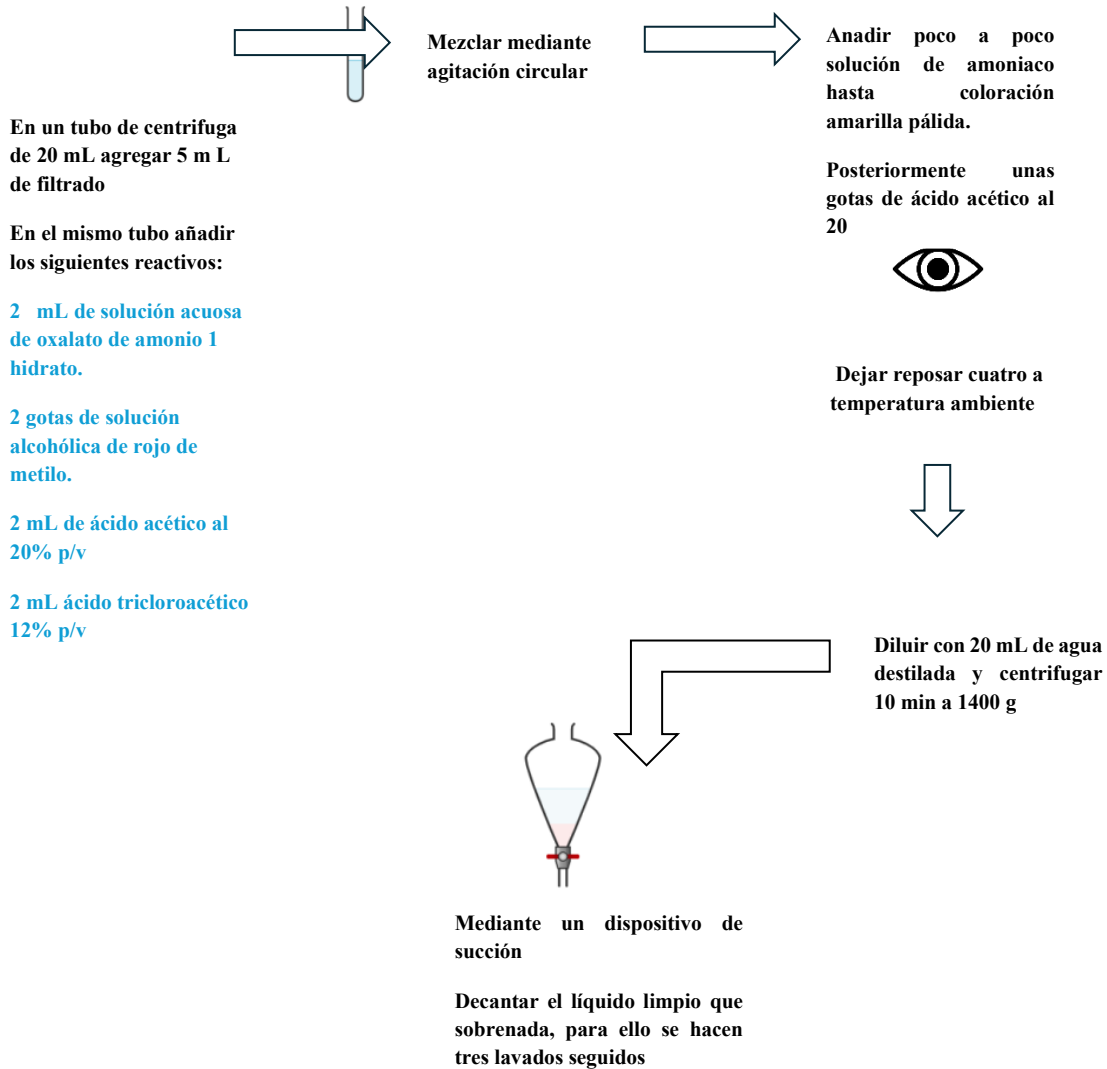


Filtrar con un matraz y embudo la solución



Usando un papel filtro sobre membrana filtro de nylon ( $20\ \mu\text{m}$ ) de 5.5 cm

## Precipitación del calcio en forma de oxalato y separación del oxalato



## Valoración de oxalato

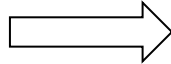


Agregar 10 o 25 mL de solución de oxalato de calcio al matraz

Posteriormente añadir 15 mL de solución de ácido sulfúrico 1:8 V:V

Solución no debe hervir, solo se debe controlar temperatura.

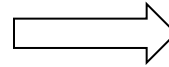
**Valor inmediatamente.**



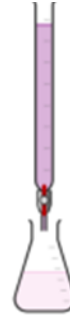
Con ayuda de un termómetro calentar a 80 -90°C



Realizar la valoración gota a gota hasta la aparición de un **color rosa pálido durante 30 segundos**



Permanganato de potasio



Realizar por triplicado o hasta que la diferencia entre valoraciones no supere 0.1 mL de permanganato de potasio consumido