

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA



PROPUESTA PARA LA DETERMINACIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO (VITAMINA C) EN
JUGO DE NARANJA ENVASADO, UTILIZANDO EL MÉTODO TITRIMÉTRICO CON 2,6-
DICLOROINDOFENOL

TRABAJO DE GRADO EN MODALIDAD DIPLOMADO DE ESPECIALIZACIÓN

PRESENTADO POR
DORIS RENEE ORANTES DE PIMENTEL
ELSA MARIA OVIEDO GAVIDIA

PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIADA EN QUÍMICA Y FARMACIA

SEPTIEMBRE 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

MAESTRA NANCY ZULEYMA GONZÁLEZ SOSA

SECRETARÍA

LICENCIADA EUGENIA SORTO LEMUS

DIRECCIÓN GENERAL DE PROCESOS DE GRADO

DIRECTORA GENERAL (AD-HONOREM)

MAESTRA KATIA LISSETTE MARTÍNEZ DE PALACIOS

TRIBUNAL EVALUADOR

ASESORA DE AREA EN ANÁLISIS DE ALIMENTOS

MAESTRA DINORAH DEL CARMEN RODRIGUEZ DE LAINEZ

ASESOR

LICENCIADO HENRY ALFREDO HERNANDEZ CONTRERAS

TUTOR

LICENCIADO JUAN AGUSTIN CUADRA SOTO

AGRADECIMIENTOS

A Dios todo poderoso por darnos la oportunidad de alcanzar una de las metas en nuestra vida académica, por darnos la sabiduría para seguir adelante y superar los obstáculos que se nos presentaron en el camino. A todas las personas que colaboraron con conocimiento y apoyo a lo largo de todo el diplomado de especialización de forma desinteresada. Pero en especial agradecemos a nuestro tutor por brindar su tiempo, paciencia, conocimientos y dedicación en el ordenamiento de ideas necesarias para la elaboración y estructuración de nuestro trabajo de grado.

A nuestros catedráticos por brindarnos los conocimientos a lo largo de la carrera académica para nuestra vida profesional. A nuestras familias por el apoyo y paciencia a lo largo de toda la carrera académica y el diplomado de especialización. A todas las personas que de una u otra manera nos brindaron su apoyo en todo momento.

DEDICATORIA

Dedico mi trabajo de graduación a DIOS, por brindarme sabiduría, perseverancia, a levantarme cuando creí no poder, superando los obstáculos que se presentaron durante este proceso para culminar mi carrera profesional. A mi madre, abuela y tíos, por la formación y guía en todos los momentos de mi vida, que con sacrificio me apoyaron siempre y me ayudaron a no rendirme en los momentos difíciles con sus consejos y esfuerzo junto a mí para culminar este sueño.

Gracias por instruirme, enseñarme valores para ser una persona de bien y tratar de mejorar para ser un agente de cambio. Agradezco a mis tíos por darme su ayuda durante mi carrera, y estar al pendiente de lo que necesitaba para lograrlo. A mis amigos que siempre estuvieron dándome ánimo para llegar hasta el final. Muchas gracias a todos por su apoyo.

Elsa Maria Oviedo Gavidia

DEDICATORIA

A ti, Dios misericordioso y guía supremo, dedico este logro que hoy celebro con humildad y gratitud. Tu luz ha iluminado mi camino en los momentos de oscuridad, tu sabiduría ha sido mi brújula en la búsqueda del conocimiento y tu amor incondicional ha sido mi fuerza en los momentos de debilidad.

En cada paso de esta travesía académica, he sentido tu presencia reconfortante y tu protección divina. Agradezco tus bendiciones que han hecho posible este logro y te ofrezco este trabajo de grado como una muestra de mi agradecimiento y devoción.

A mis padres, por ser mis primeros maestros y por inculcarme valores que me han guiado en este camino. A mi familia, por su apoyo incondicional y sus oraciones que han sido mi sostén en los momentos de dificultad.

A mis amigos, por su compañía y alegría que han hecho más llevadera esta travesía. A mis profesores, por su sabiduría y orientación que han enriquecido mi formación académica.

Que este logro sea un testimonio de mi fe en ti, Señor, y de mi agradecimiento por todas tus bendiciones. Que mi trabajo sea un reflejo de tu grandeza y misericordia.

Con reverencia y gratitud.

Doris Renee Orantes de Pimentel

ÍNDICE GENERAL

Pág. N°

ABREVIATURAS

GLOSARIO

RESUMEN

CAPÍTULO I

1.0 INTRODUCCIÓN 16

CAPÍTULO II

2.0 OBJETIVOS 18

CAPÍTULO III

3.0 MARCO TEÓRICO 20

3.1. Características químicas de la Vitamina C 20

3.1.1 Funciones de la Vitamina C en el organismo 22

3.1.2 Fuentes de Vitamina C 24

3.1.3 Causas de deficiencia de Vitamina C 26

3.2. Métodos de análisis de alimentos 29

3.2.1. Método del indofenol 32

3.3 Aplicabilidad del método AOAC 967.21 34

3.3.1 Equipos que debe adquirir el laboratorio de Análisis Bromatológico de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador 35

3.3.2 Recomendaciones de seguridad para los laboratorios de análisis bromatológico 36

3.3.3 Existencias en el laboratorio de Análisis Bromatológico 37

3.4 Estado actual de la industria de jugos en El Salvador 38

3.5 Marco regulatorio internaciona 39

CAPÍTULO IV

4.0 PRODUCTO FINAL 41

4.1 Introducción 42

4.1.1 Método de análisis 42

4.1.2 Fundamento 42

4.1.3 Información general de la muestra	44
4.1.4 Preparación de la muestra	45
4.2 Reactivos, materiales y equipos	45
4.2.1 Reactivos	45
4.2.2 Materiales y equipos	45
4.3 Preparación de reactivos	45
4.4 Marcha para la determinación de Vitamina C en jugo de naranja utilizando el reactivo 2,6 dicloroindofenol	46
4.4.1 Estandarización del indicador	47
4.4.2 Análisis de muestras de jugo	50
4.5 Cálculos involucrados	51
4.6 Normativas nacionales o internacionales a utilizar, para interpretar los resultados	52
CAPÍTULO V	
5.0 CONCLUSIONES	55
CAPÍTULO VI	
6.0 RECOMENDACIONES	57
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
ANEXOS	

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N°		Pág. N°
1	Resumen de las funciones de la Vitamina C.	23
2	Reacción de la Vitamina C con el 2,6-dicloroindofenol.	33
3	Propuesta de diseño para un Laboratorio de Análisis Bromatológico.	35
4	Ácido Ascórbico y deshidroascórbico tomado de Goodman y Gilman.	42
5	Reacción del ácido L-ascórbico con el indicador, 2,6-dicloroindofenol.	44
6	Cotización de Reactivos RGH.	65
7	Muestra de papel filtro poro grueso para la ejecución de la práctica.	66
8	Instrumentos y cristalería a utilizar en la práctica.	66

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N°		Pág. N°
1	Contenido de Vitamina C en mg por 100g de alimento.	24
2	Cantidad recomendada de Vitamina C en cada etapa de vida.	25
3	Límites superiores diarios para la Vitamina C.	28
4	Materiales y reactivos en existencia en el laboratorio de Toxicología.	37
5	Recolección de datos según la norma.	51
6	Recolección de datos por triplicado según la norma.	53

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N°

1	Cotización de Cristalería CSE para la ejecución de la práctica de laboratorio.
2	Cotización de reactivos en RGH
3	Fotografías de instrumentos y cristalería a utilizar en la práctica
4	Normativa CODEX para el Jugo de Naranja.
5	Norma Salvadoreña Directrices Del Codex Alimentarius Sobre Etiquetado Nutricional NSO CODEX CAC/GL 2.
6	AOAC Método Oficial 967.21
7	Presupuesto de certificados de calibración de insumos volumétricos

ABREVIATURAS Y SIGLAS USADAS

AA: Ácido Ascórbico.

ADA: Ácido dehidroascórbico.

AESAN: Agencia Española de seguridad Alimentaria y Nutrición.

AOAC: Association of Official Analytical Chemists.

APPCC: Análisis de peligro y puntos críticos de control.

dd: Agua destilada.

FAO: Organización de Alimentos y Agricultura.

HOAc: Ácido acético.

HPO₃: Ácido metafosfórico.

IFS: Internacional Food Estándar.

ISO 14000: Norma internacional de gestión medioambiental.

ISO 22000: Norma Internacional de Seguridad Alimentaria.

ISO 9000: Norma Internacional de Gestión de Calidad.

OMS: Organización Mundial para la Salud.

TNF: factor de necrosis tumoral.

US FDA: U.S. Food and Drug Administration.

USP: Farmacopea de los Estados Unidos.

UV: Ultravioleta.

GLOSARIO

Ácido Ascórbico: Nombre químico de la Vitamina C.

Absorción: Proceso por el cual los nutrientes son incorporados al organismo.

Análisis físico-químico: Técnica que caracteriza los alimentos desde el punto de vista físico-químico, enfocándose en la determinación de su composición química, incluyendo proteínas, grasas, vitaminas, minerales, carbohidratos, contaminantes, residuos de plaguicidas, toxinas y antioxidantes, entre otros.

Análisis microbiológico: Evaluación de la carga microbiana en los alimentos para controlar su nivel y prevenir el deterioro y la presencia de microorganismos patógenos que puedan causar enfermedades, garantizando la calidad higiénico-sanitaria de los alimentos.

Análisis sensorial: Disciplina científica que evalúa, mide, analiza e interpreta las características sensoriales de un alimento (color, olor, sabor y textura) mediante los sentidos humanos.

Antioxidante: Sustancia que protege las células del daño oxidativo.

Calidad higiénico-sanitaria: Nivel de calidad que asegura que los alimentos son seguros para el consumo humano y cumplen con los estándares de higiene y sanidad.

Carga microbiana: Cantidad de microorganismos presentes en un alimento, que debe ser controlada para garantizar su calidad y seguridad.

Composición química: Conjunto de sustancias presentes en un alimento, como proteínas, grasas, carbohidratos, vitaminas, minerales y otros compuestos.

Deficiencia: Carencia o falta de un nutriente esencial.

Dosis: Cantidad de un medicamento o nutriente que se administra en un momento determinado.

Escorbuto: Enfermedad causada por la deficiencia prolongada de Vitamina C.

Etiqueta nutricional: Información sobre el contenido de nutrientes de un alimento.

Impacto en la salud y el medio ambiente: Efecto que el reactivo utilizado puede tener en la salud humana y en el entorno ambiental, aspecto a considerar en la aplicación de este método

Indicador o tinte químico: Sustancia que cambia de color al llegar a la cantidad estequiométrica necesaria de titulante en un análisis titrimétrico.

Ingesta: Cantidad de un nutriente que se consume.

Método del Indo fenol: Método cuantitativo volumétrico basado en el poder reductor del Vitamina C sobre los reactivos utilizados, utilizando el indicador 2,6-dicloroindofenol como indicador.

Métodos clásicos: Técnicas de análisis basadas en propiedades químicas del analito, como la gravimetría y las volumetrías, que suelen involucrar reacciones químicas.

Métodos instrumentales: Técnicas de análisis basadas en la medición de propiedades fisicoquímicas del sistema estudiado, utilizando equipos especializados.

Microorganismos patógenos: Microorganismos que pueden causar enfermedades si se consumen en cantidades suficientes, siendo indeseables en los alimentos.

Oxidación: Proceso químico en el cual una sustancia pierde electrones.

Poder reductor: Capacidad de una sustancia para reducir a otra en una reacción química.

Punto de equivalencia: Momento en el que se completa la reacción química durante un análisis titrimétrico.

Punto final: Momento en el que se completa la reacción química durante la titulación.

Recta de calibrado: Gráfica que relaciona la concentración de una sustancia con una propiedad medida, utilizada para determinar la concentración de la muestra.

Seguridad alimentaria: Garantía de que los alimentos son seguros para el consumo humano y cumplen con los estándares de calidad e inocuidad.

Síntesis: Producción de una sustancia a partir de otras.

Titrimetría: Tipo de análisis volumétrico que se basa en la medición precisa del volumen de una disolución de concentración conocida necesaria para reaccionar completamente con el analito presente en la muestra.

Titulación: Proceso de determinar la concentración de una sustancia en una muestra mediante la adición controlada de un reactivo.

Volumetría: Técnicas de análisis basadas en la medición precisa del volumen de una disolución de concentración conocida necesaria para reaccionar completamente con el analito presente en la muestra.

RESUMEN

La ingesta adecuada Vitamina C es esencial porque participa en la síntesis de colágeno, metabolismo de fármacos y absorción de hierro. La sobredosificación de Vitamina C puede acelerar la formación de cálculos renales, causar problemas óseos e incluso escorbuto una enfermedad producida por la deficiencia de Vitamina C. Las personas pueden enfrentar una cotidiana lucha contra el tiempo y llevar una vida tan agitada que obliga a volverse prácticos incluso en lo que a dieta y nutrición se refiere, al punto de optar por alimentos envasados o de fácil preparación, poniendo en un gran riesgo su salud.

Las enfermedades no transmisibles han aumentado debido a la mala alimentación enfermedades como hipertensión y azúcar alta en sangre. La industria de los jugos de naranja envasados debe garantizar que sus productos contengan las cantidades de Vitamina C que rotula sus etiquetas nutricionales, es una tarea para los químicos farmacéuticos verificar a través de un método de análisis que sea fácil efectivo y de bajo costo para determinar Vitamina C en jugos de naranja envasados.

Se propone una adecuación del método de análisis para el laboratorio de Análisis Bromatológico de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador. La propuesta del método de determinación de Vitamina C incluye un presupuesto de reactivos, cristalería y equipos de calidad para garantizar su implementación. Este método beneficiará a estudiantes y profesores al proporcionar información que detalla cómo obtener muestras de jugo de naranja envasado para realizar la práctica de manera fácil y entendible. Los estudiantes podrán aplicar el método oficial Método 967.21 de la AOAC con el uso del indicador 2,6-dicloroindofenol a través de una titulación óxido-reducción para determinar la cantidad de Vitamina C en las muestras de jugo de naranja.

CAPÍTULO I

1.0 INTRODUCCIÓN

La Vitamina C es esencial para el organismo, dado que los humanos no pueden producir Vitamina C internamente, es crucial obtenerla a través de la alimentación, consumiendo frutas cítricas o alimentos enriquecidos como el jugo de naranja procesado. Es fundamental mantener un equilibrio en la ingesta de Vitamina C para evitar riesgos de sobre dosificación se requiere un control adecuado para garantizar un aporte justo de Vitamina C en los jugos de naranja procesados, asegurando un producto verdaderamente enriquecido para los consumidores.

La Vitamina C se degrada fácilmente por calor, oxígeno y procesamiento. Su inestabilidad dificulta asegurar una declaración precisa en etiquetas nutricionales. En el análisis de Vitamina C, la selección del método apropiado se vuelve crucial, considerando tanto la precisión requerida como los recursos disponibles. La industria de jugos envasados no está en la responsabilidad de cubrir todo el requerimiento de Vitamina C ya que la necesidad es individual y depende del peso y la altura de cada persona, así como de su dieta.

Al comprobar la aplicabilidad del método según las condiciones, calidad de los instrumentos con su respectiva calibración asegurando la validez de los resultados, así como reactivos e instalaciones del laboratorio de Análisis Bromatológico de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador se propone una adecuación del método y un presupuesto para garantizar su ejecución. La importancia de una propuesta de un método de análisis de Vitamina C es beneficiar a los estudiantes, profesores y encargados de los suministros con el fin de incorporar dicha práctica a un manual de laboratorio para su posterior ejecución; dicha marcha de laboratorio, describe cómo se deben obtener la muestra para realizar una determinación de Vitamina C utilizando un método económico y con fines didácticos.

Los estudiantes de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador que cursen materias de análisis de alimentos pueden realizar determinaciones utilizando una propuesta de método oficial con el indicador 2,6-dicloroindofenol (Método 967.21 de la AOAC). A través de una titulación óxido reducción con el volumen gastado de la titulación se puede determinar la cantidad de Vitamina C presente en la muestra.

CAPÍTULO II

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL:

Determinación de Ácido Ascórbico (Vitamina C) en jugo de naranja envasado, utilizando el método titrimétrico con 2,6-dicloroindofenol.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- 2.2.1 Realizar una investigación bibliográfica acerca del método titrimétrico AOAC 967.21 con 2,6 dicloroindofenol para la determinación de ácido ascórbico (Vitamina C) en jugo de naranja envasado.
- 2.2.2 Verificar la aplicabilidad del método AOAC 967.21 con 2,6 dicloroindofenol para la determinación de ácido ascórbico (Vitamina C) en jugo de naranja envasado según las condiciones del laboratorio de Análisis Bromatológico de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.
- 2.2.3 Redactar en forma de procedimiento una marcha analítica que describa el método titrimétrico AOAC 967.21 con 2,6 dicloroindofenol para determinar el contenido de ácido ascórbico (Vitamina C) en jugo de naranja envasado, para su posterior ejecución.

CAPÍTULO III

3.0 MARCO TEÓRICO

Una ingesta adecuada de Vitamina C es requerida diariamente por el hecho de no poder ser sintetizada endógenamente por el organismo humano y es vital para la respiración celular, para la función enzimática, por ser un componente en la formación de colágeno y últimamente se ha descubierto una participación importante de dicha vitamina en el proceso de absorción de hierro en el cuerpo, todo esto sumado al hecho de ser la única vitamina que ayuda a la prevención y cura del escorbuto, razón por la cual fue introducida a las necesidades diarias de la población ya que se comprobó que solo 10 mg de ésta son necesarios para curar el escorbuto y 60 mg diarios ayudan a prevenirlo. ¹

Al mismo tiempo, algunos estudios reportan una relación positiva entre el consumo de la Vitamina C y la prevención del cáncer, enfermedades cardiovasculares, estrés, mantiene saludables las venas, piel cartílagos y huesos. Si bien es cierto, existen mil fuentes de Vitamina C en la naturaleza, también debe enfrentarse la realidad que hoy en día, las personas pueden enfrentar una cotidiana lucha contra el tiempo y llevar una vida tan agitada que a muchos los obliga a volverse prácticos incluso en lo que a dieta y nutrición se refiere, al punto de optar por alimentos envasados o de “fácil preparación”, poniendo en un gran riesgo su salud.

Esta misma razón hace que los productores de alimentos opten por elaborar productos “enriquecidos” con algunas de las sustancias más necesarias para el consumidor. Sin embargo, no solo por el hecho de rotular un alimento que está “enriquecido” debe confiarse en él, es necesario comprobar dicho enriquecimiento y determinar si realmente el producto contiene lo que el productor le rotula. La U.S. Food and Drug Administration US FDA (organismo estadounidense para los alimentos y los medicamentos) requiere su inclusión en etiquetas nutricionales. ¹

3.1. Características químicas de la Vitamina C.

El descubrimiento de la Vitamina C se atribuye principalmente a dos científicos:

- Albert Szent-Györgyi: En 1928, Szent-Györgyi aisló una sustancia cristalina a partir de glándulas suprarrenales de ganado que tenía propiedades reductoras y antioxidantes. Inicialmente la llamó "hexuronic acid", pero más tarde se demostró que era idéntica al ácido ascórbico (AA), la forma activa de la Vitamina C. ²

- Charles Glen King: En 1932, King y sus colaboradores en la Universidad de Pittsburgh demostraron que la sustancia aislada por Szent-Györgyi curaba el escorbuto en conejillos de Indias, confirmando que se trataba de la Vitamina C. ²

La Vitamina C fue descubierta en 1535 y su molécula fue identificada en 1932. La Vitamina C puede presentarse en dos formas químicas interconvertibles: AA (2,3-enediol-L-gulona-1,4-lactona) (AA) y ácido dehidroascórbico (2,3- dicetogluonato) (ADA), siendo ambas formas funcionales biológicamente y manteniéndose en equilibrio fisiológico. Si el ADA sufre hidrólisis se transforma en ácido dicetogulónico, no activo biológicamente, siendo esta transformación irreversible. La hidrólisis ocurre espontáneamente en disolución neutra o alcalina. ²

La Vitamina C es un compuesto inestable, debido a la facilidad con la que se oxida e hidroliza. Se descompone con facilidad en el procesamiento y conservación de los alimentos, por lo que se utiliza como indicador de la pérdida vitamínica de un alimento durante su procesado y almacenamiento. Por otra parte, el calor y los cationes metálicos degradan la Vitamina C. ³

Está compuesta por 6 átomos de carbono de los cuales 4 forman un anillo con estructura de lactona. Es una vitamina hidrosoluble que se sintetiza a partir de la glucosa en la mayoría de las plantas y animales. El ser humano es incapaz de sintetizar la Vitamina C por la falta de una enzima llamada L-gluconolactona oxidasa que cataliza el último paso de la glucosa a la Vitamina C. Esto obliga a incorporar la vitamina a la dieta, se oxida de forma reversible a nivel hepático a ácido dehidroascórbico. Ambas formas son activas en el organismo.

Parte de la Vitamina C se metaboliza a compuestos inactivos. Su naturaleza hidrosoluble hace que se excrete con facilidad a través de la orina y no se pueda acumular, por lo que es necesario incluirla en la dieta de forma habitual. De esta manera se hace imprescindible contar con métodos analíticos que nos permitan medir las cantidades de esta vitamina. ³

La Vitamina C es soluble en agua y en alcohol su solubilidad es más baja el punto de ebullición es de 190 a 192°C, es una sustancia estable y cristalina. Contiene un grupo enediol que la hace tener propiedades reductoras. El grado de destrucción se ve afectado en presencia de metales pesados como cobre y hierro y con actividad enzimática. La presencia de compuestos quelantes estabiliza la Vitamina C.

Se utiliza la Vitamina C como antioxidante en alimentos como grasas, mejora la consistencia de la harina y es un agente reductor en vinos. Los jugos envasados al ser expuestos a la luz tienden a oxidarse en sus constituyentes saborizantes (terpenos instaurados) produciendo la rancidez de estos productos. El ácido ascórbico puede afectar la estabilidad de algunos colorantes artificiales por sus propiedades reductoras. Si la concentración es mayor 4g/oz se observan efectos secundarios el 4% de agua excedente presenta descomposición de la Vitamina C produciendo Dióxido de carbono aumentando la presión interna del envase.

3.1.1 Funciones de la Vitamina C en el organismo:

- Antioxidante hidrosoluble altamente eficaz que opera en las fases acuosas, tanto intra como extracelulares. (ver figura 1)
- Puede regenerar otros antioxidantes (por ejemplo, la vitamina E).
- Primariamente, cofactor de reacciones que requieren de metaloenzima reducida de cobre o hierro.
- Participa en la hidroxilación de colágeno y la biosíntesis de hormonas y aminoácidos.³

Consecuencias de su deficiencia:

- Disminución del interferón, actividad de los linfocitos T y la producción de colágeno.
- Disminución de la resistencia a las enfermedades.
- La suplementación con altas dosis, estimula la actividad fagocítica y la actividad de linfocitos T.³

También sabemos que influye en el sistema inmune de diferentes formas:

- Integridad del efecto barrera de la piel y mucosas:

Vitamina C actúa como cofactor para la enzima prolil y lisil hidroxilasa que estabiliza la estructura terciaria del colágeno. Este es importante para mantener la estructura de la piel y por

lo tanto es fundamental para reparar las heridas que rompen la barrera que la forman. Aparte, hay estudios que demuestran que la Vitamina C influye en el aumento de la expresión del gen del colágeno en los fibroblastos. Esto afecta no solo a la piel sino a estructuras como los vasos sanguíneos, encías y huesos. Por último, hay estudios que afirman que la ingesta de Vitamina C mejora la capacidad antioxidante de la piel lo que la protege no solo del estrés oxidativo sino de contaminantes ambientales. ⁴

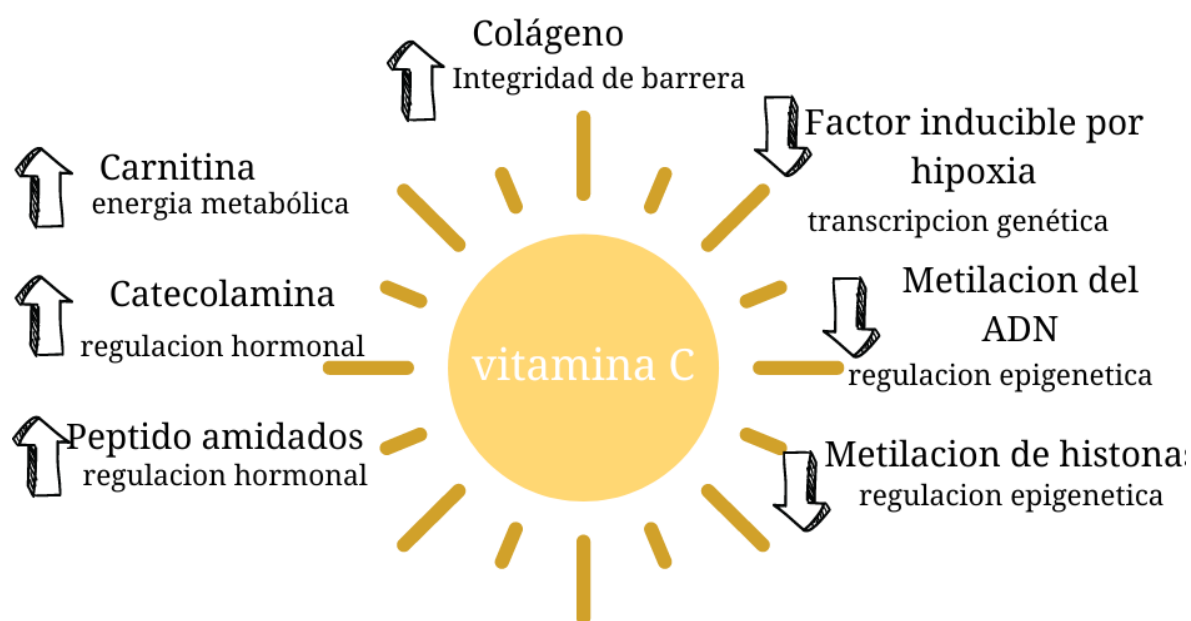


Figura N°1. Resumen de las funciones de la Vitamina C.³

– Función de los leucocitos:

Se cree que la Vitamina C en los neutrófilos es capaz de proteger a la célula del daño que produce el estrés oxidativo. Aparte es capaz de regenerar antioxidantes importantes como el glutatión. ⁵

– Quimiotaxis de los neutrófilos:

En diferentes estudios, tanto en cobayas con escorbuto como en pacientes con enfermedad granulomatosa crónica, se ha visto un aumento de la migración de los fagocitos al lugar de infección al suplementar la dieta con Vitamina C. ⁶

– Apoptosis de neutrófilos:

Hay estudios que sugieren que la Vitamina C es responsable de evitar la oxidación de la enzima caspasa, que está estrechamente ligada a los procesos de la apoptosis celular. ⁵

– Mediadores proinflamatorios:

La Vitamina C parece tener un efecto modulador sobre las citoquinas evitando la síntesis de citoquinas proinflamatorias como TNF (factor de necrosis tumoral), IL-6 (interleucina 6), IL-1beta (interleucina 1 beta).⁵

3.1.2 Fuentes de Vitamina

Debido a la termolabilidad de la Vitamina C se debe consumir alimentos crudos o con métodos de cocción menos intensos como al vapor o microondas unos minutos. Para su conservación se recomienda mantenerlos en lugares frescos, secos y oscuros o donde no les pueda dar la luz de forma directa, ya que es sensible a la luz y las radiaciones ultravioletas (UV). El consumo de alimentos vegetales frescos evitaba padecer la enfermedad del escorbuto, por lo que es justamente en esos alimentos donde encontraremos la mayor cantidad de esta vitamina. (Ver tabla 1)¹

Tabla N°1. Contenido de Vitamina C en mg por 100g de alimento.¹

Alimento	mg Vit C/100 g alimento	Alimento	mg Vit C/100 g alimento	Alimento	mg Vit C/100 g alimento
Pimiento	120	Coliflor	50	Mandarina	30
Col de Bruselas	100	Col	49	Espinacas	30
Berro	87	Caballa	47	Cebolla, habas tiernas	28
Papaya	82	Pomelo	40	Piña	27
Kiwi	71	Tomate	38	Guisantes	25
Fresas lichi	60	Mango	37		
Naranja, limón	50	Espárragos	33		

La cantidad de Vitamina C que necesita por día depende de su edad. (Ver tabla 2). Las cantidades promedio diarias de Vitamina C son expresadas en miligramos (mg), para las personas de diferentes edades.⁷

Tabla N°2. Cantidad recomendada de Vitamina C en cada etapa de vida. ⁷

Etapa de la vida.	Cantidad recomendada.
Bebés hasta los 6 meses de edad.	40 mg
Bebés de 7 a 12 meses de edad.	50 mg
Niños de 1 a 3 años de edad.	15 mg
Niños de 4 a 8 años de edad.	25 mg
Niños de 9 a 13 años de edad.	45 mg
Adolescentes (varones) de 14 a 18 años de edad.	75 mg
Adolescentes (niñas) de 14 a 18 años de edad.	65 mg
Adultos (hombres).	90 mg
Adultos (mujeres).	75 mg
Adolescentes embarazadas.	80 mg
Mujeres embarazadas.	85 mg
Adolescentes en período de lactancia.	115 mg
Mujeres en período de lactancia.	120 mg

Las frutas y verduras son las mejores fuentes de Vitamina C. Para ingerir las cantidades recomendadas de Vitamina C, se debe consumir alimentos variados como: frutas cítricas (por ejemplo: naranjas y toronjas) y sus jugos, así como pimientos rojos y verdes y kiwi, ricos en Vitamina C. Otras frutas y verduras, como brócoli, fresas, melón, papas horneadas y tomates, que también contienen Vitamina C. ⁷

El contenido de Vitamina C de un alimento podría disminuir al cocinarse o almacenarse por tiempo prolongado. Es posible que al cocinar los alimentos al vapor o en hornos de microondas la pérdida de Vitamina C sea menor. Afortunadamente, muchas de las mejores fuentes de Vitamina C, como las frutas y verduras, se comen crudas. ⁷

La mayoría de los suplementos multivitamínicos contienen Vitamina C. Además, esta vitamina se consigue sola, como suplemento dietético, o combinada con otros nutrientes. En general, la Vitamina C presente en los suplementos dietéticos se encuentra en forma de ácido ascórbico, pero algunos suplementos contienen otras formas, como ascorbato de sodio, ascorbato de calcio, otros ascorbatos minerales y AA con bioflavonoides. Los estudios científicos no han demostrado que ninguna forma de Vitamina C sea más eficaz que otras.⁷

Existen grupos de personas que son más propensos que otros a tener dificultades para obtener suficiente Vitamina C:⁷

- Los fumadores y las personas expuestas al humo del cigarrillo, en parte porque el humo aumenta la cantidad de Vitamina C que el cuerpo necesita para reparar el daño causado por los radicales libres. Los fumadores necesitan 35 mg más de Vitamina C por día que quienes no fuman.
- Los bebés alimentados con leche de vaca, evaporada o hervida, porque la leche de vaca contiene una cantidad muy escasa de Vitamina C y el calor puede destruir esta vitamina. No se recomienda la leche de vaca para bebés menores de 1 año de edad. La leche materna y la fórmula para bebés contienen cantidades suficientes de Vitamina C.⁷
- Las personas que consumen una variedad muy limitada de alimentos.
- Las personas con ciertos trastornos de salud, como hipo absorción (absorción insuficiente) grave, ciertos tipos de cáncer, y enfermedad renal que requiere hemodiálisis.⁷

3.1.3 Causas de deficiencia de Vitamina C.

Quienes ingieren escasa o ninguna cantidad de Vitamina C (menos de 10 mg por día) durante varias semanas pueden contraer escorbuto. El escorbuto causa cansancio, inflamación de las encías, pequeñas manchas en la piel de color rojo o violeta, dolor en las articulaciones, mala cicatrización de las heridas, y vello ensortijado o en forma de “sacacorchos”. Otros síntomas de esta enfermedad incluyen depresión, inflamación y sangrado de las encías y aflojamiento o pérdida de dientes. Las personas que padecen escorbuto también pueden sufrir anemia. Sin tratamiento, el escorbuto es mortal.¹

– Prevención y tratamiento del cáncer.

Es posible que quienes consumen gran cantidad de Vitamina C al comer frutas y verduras corran menos riesgo de tener varios tipos de cáncer, como cáncer de pulmón, seno y colon. Sin embargo, al parecer, tomar suplementos dietéticos de Vitamina C, con o sin otros antioxidantes, no ayuda a prevenir el cáncer.⁴

Las dosis orales de Vitamina C no pueden elevar los niveles de Vitamina C en la sangre casi a los niveles de las dosis administradas mediante inyecciones intravenosas. Algunos estudios en animales y tubos de ensayo indican que los niveles muy elevados de Vitamina C en la sangre podrían reducir los tumores. Sin embargo, se requieren estudios adicionales para determinar si altas dosis de Vitamina C por vía intravenosa contribuyen al tratamiento del cáncer.⁴

Los suplementos dietéticos de Vitamina C y otros antioxidantes podrían interactuar con la quimioterapia y la radioterapia para el cáncer en concentraciones elevadas.⁴

– Enfermedad cardiovascular.

Al parecer, quienes comen frutas y verduras en abundancia corren menos riesgo de sufrir una enfermedad cardiovascular. Los investigadores creen que el contenido de antioxidante de estos alimentos podría ser en parte responsable de esta asociación porque el daño oxidativo es una de las principales causas de la enfermedad cardiovascular.⁴

– Degeneración macular relacionada con la edad y cataratas.

Los estudios de investigación indican que la Vitamina C, combinada con otros nutrientes, podría retrasar la progresión de la degeneración macular relacionada con la edad.

En un estudio científico amplio de personas de edad avanzada con degeneración macular relacionada con la edad que corrían un alto riesgo de que empeore a una fase avanzada, aquellas que tomaron un suplemento dietético diario con 500 mg de Vitamina C, 80 mg de zinc, 400 UI de vitamina E, 15 mg de betacaroteno y 2 mg de cobre durante unos 6 años presentaron menos probabilidades de progresar a la fase avanzada de este trastorno de la visión. Además, presentaron una pérdida de la visión menor que aquéllos que no tomaron el suplemento dietético.⁴

- Resfriado común.

Quienes consumen suplementos de Vitamina C con regularidad podrían sufrir resfriados de duración levemente menor o síntomas algo más leves al resfriarse. El consumo de suplementos de Vitamina C tampoco parece ser de utilidad una vez que comienzan los síntomas del resfriado.⁴

El consumo de Vitamina C en concentraciones demasiado elevadas puede causar diarrea, náuseas y cólicos estomacales. (Ver tabla N°3) En las personas que padecen hemocromatosis, un trastorno que provoca una acumulación excesiva de hierro en el organismo, la Vitamina C en dosis elevadas podría empeorar el exceso de hierro y dañar los tejidos del cuerpo.⁴

Tabla N°3. Límites máximos recomendados diarios para la Vitamina C.⁴

Etapa de la vida.	Límite máximo recomendado.
Bebés hasta los 12 meses de edad.	No se ha determinado.
Niños de 1 a 3 años de edad.	400 mg
Niños de 4 a 8 años de edad.	650 mg
Niños de 9 a 13 años de edad.	1,200 mg
Adolescentes de 14 a 18 años de edad.	1,800 mg
Adultos.	2,000 mg

Los suplementos dietéticos de Vitamina C pueden interactuar o interferir con los medicamentos.

Por ejemplo:

- Los suplementos dietéticos de Vitamina C podrían interactuar con los tratamientos contra el cáncer, como la quimioterapia y la radioterapia.⁷
- En un estudio, la Vitamina C combinada con otros antioxidantes (como la vitamina E, el selenio y el betacaroteno) redujo los efectos de protección cardíaca de dos medicamentos ingeridos en forma combinada (una estatina y niacina) para controlar los niveles de colesterol.⁷

Los alimentos contienen vitaminas, minerales, fibra dietética y otros componentes que benefician la salud. En algunos casos, los alimentos enriquecidos y los suplementos dietéticos son útiles cuando no es posible satisfacer las necesidades de uno o más nutrientes (por ejemplo, durante algunas etapas específicas de la vida como el embarazo).⁴

Los jugos de naranja envasados son una buena opción para obtener Vitamina C, aunque su contenido puede variar según la marca y el tipo de procesamiento.²

Un jugo envasado es un producto líquido elaborado a partir de la extracción de jugo de frutas, como naranjas, manzanas, uvas, entre otras, que ha sido procesado y envasado para su comercialización y consumo. Estos jugos pueden ser naturales, sin adición de azúcares, conservantes o indicadores, pueden ser jugos procesados que han sido sometidos a tratamientos térmicos para su conservación y envasados en envases adecuados para su distribución y venta en el mercado. Los jugos envasados son una opción conveniente para disfrutar de los beneficios nutricionales de las frutas de forma práctica y rápida.²

La Vitamina C es sensible al oxígeno y su concentración disminuye durante la exposición, pero la reacción depende también de factores como temperatura y acidez. En jugos ácidos como el de naranja y a bajas temperaturas, la reacción es relativamente baja. Los jugos de naranja envasados son una buena fuente de Vitamina C, que se conserva bien mientras el envase permanece cerrado. Una vez abierto, se recomienda consumirlo en las siguientes horas y mantenerlo refrigerado para preservar su valor nutricional.²

3.2. Métodos de análisis de alimentos.

Los métodos de análisis de alimentos son técnicas utilizadas para determinar la composición química, propiedades físicas y características nutricionales de los alimentos.

Estos métodos permiten obtener datos sobre la calidad, seguridad e inocuidad de los productos alimenticios.

Algunos de los principales tipos de análisis de alimentos son:

- Análisis físico-químico:

Implica la caracterización de los alimentos desde el punto de vista físico-químico, haciendo énfasis en la determinación de su composición química, es decir, cuales sustancias están presentes en un

alimento (proteínas, grasas, vitaminas, minerales, hidratos de carbono, contaminantes metálicos, residuos de plaguicidas, toxinas, antioxidantes, entre otros) y en qué cantidades estos compuestos se encuentran. ^{8,9}

– Análisis microbiológico:

En todos los alimentos hay siempre una determinada carga microbiana, pero esta debe ser controlada y no debe sobrepasar ciertos límites, a partir de los cuales comienza a producirse el deterioro del producto con la consecuente pérdida de su calidad y aptitud para el consumo. Por otra parte, existen microorganismos patógenos que producen enfermedades y cuya presencia es por tanto indeseable y hace extraordinariamente peligroso su consumo. Este análisis constituye una poderosa herramienta en la determinación de la calidad higiénico-sanitaria de un proceso de elaboración de alimentos, lo que permite identificar aquellas etapas del proceso que puedan favorecer la contaminación del producto. ^{8,9}

– Análisis sensorial:

Constituye una disciplina científica que permite evaluar, medir, analizar e interpretar las características sensoriales de un alimento (color, olor, sabor y textura) mediante uno o más órganos de los sentidos humanos. A pesar de que la evaluación sensorial es el análisis más subjetivo, pues el instrumento de medición es el ser humano, muchas veces define el grado de aceptación o rechazo de un producto. Está claro que un alimento que no resulte grato al paladar, a la vista o al olfato, no será aceptado, aunque contenga todos los constituyentes nutritivos necesarios y esté apto desde el punto de vista microbiológico. ⁹

Los métodos de análisis de alimentos físico-químicos son técnicas utilizadas para evaluar las propiedades físicas y químicas de los alimentos con el fin de determinar su calidad, seguridad y valor nutricional. Estos métodos implican la caracterización de los alimentos desde un punto de vista físico-químico, centrándose en la determinación de su composición química, la presencia de nutrientes, contaminantes, pH, humedad y otros aspectos relevantes para la evaluación de los alimentos. ⁹

En el contexto de los métodos de análisis de alimentos, estos se clasifican en métodos clásicos e instrumentales. Los métodos clásicos, como la gravimetría y las volumetrías, se basan en propiedades químicas del analito y suelen involucrar reacciones químicas para la determinación de sustancias. Por otro lado, los métodos instrumentales se basan en la medición de propiedades físico-químicas del sistema estudiado, utilizando equipos especializados para la cuantificación de componentes en las muestras alimentarias.⁹

Dentro de los métodos clásicos se encuentran las volumetrías. Estas técnicas de análisis, como la volumetría de neutralización, de precipitación, de formación de complejos y redox, se basan en la medición precisa del volumen de una disolución de concentración conocida necesaria para reaccionar completamente con el analito presente en la muestra alimentaria. La relación entre el análisis volumétrico y titrimétrico radica en que ambos términos se refieren al mismo concepto.⁹

La titrimetría es un tipo de análisis volumétrico que se basa en la medición precisa del volumen de una disolución de concentración conocida necesaria para reaccionar completamente con el analito presente en la muestra. El método titrimétrico es una técnica utilizada en química analítica para determinar la concentración de una sustancia en una muestra mediante una reacción química de valoración. En este proceso, se añade un reactivo de concentración conocida, llamado titulante, a la muestra hasta que se alcanza un punto de equivalencia, donde se completa la reacción química. Este punto se detecta mediante un indicador químico que cambia de color al llegar a la cantidad estequiométrica necesaria de titulante.⁹

El método titrimétrico tiene una larga historia en el desarrollo de la química analítica.

Algunas de las etapas clave en su evolución son:

- En 1658, J. R. Glauber dirigió el primer método de análisis puramente titrimétrico descrito en la literatura química, utilizando la efervescencia como indicador en una reacción de neutralización.²
- En 1729, C. L. Geoffroy estudió la fuerza del vinagre tratando una muestra pesada con carbonato de potasio sólido hasta que no hubo efervescencia. A partir de la cantidad de carbonato de potasio consumido, calculó las fuerzas relativas (concentraciones) de los diferentes vinagres.²

- En 1767, William Lewis propuso que el punto final de una titulación fuera señalado mediante el uso de jugos de plantas, como soluciones de violeta o tornasol. ²

Durante los siguientes cien años, los químicos utilizaron los jugos naturales de plantas en titulaciones ácido-base, aunque se quejaban de que el cambio de color no era lo suficientemente nítido.

- En 1923, K. Fajans y O. Hassel introdujeron el uso de indicadores de adsorción en las titulaciones de precipitación, como la determinación argentométrica de cloruro en presencia de fluoresceína. ²
- En 1946, G. Schwarzenbach introdujo la murexida como el primer indicador metacromático para el método complejo métrico. ²
- Para la década de 1900, la exactitud y precisión de los métodos titrimétricos eran comparables a la de los métodos gravimétricos, estableciendo la titrimetría como una técnica analítica aceptada. ²

Aunque actualmente las técnicas analíticas instrumentales han desplazado en gran medida el uso de indicadores químicos, la aplicación de este tipo de compuestos aún tiene cabida en situaciones donde la rapidez tiene más peso que la exactitud, además de ser una herramienta pedagógica en el laboratorio. ²

La Association of Official Analytical Chemists (AOAC) aprobó el método titrimétrico AOAC 967.21 con 2,6 dicloroindofenol el 15 de diciembre de 1997. Ácido Ascórbico En los preparados vitamínicos y jugos 2,6-Dicloroindofenol el método de titulación. ¹⁰

3.2.1. Método del Indofenol.

Este método cuantitativo volumétrico se basa en el poder reductor del ácido ascórbico sobre los reactivos utilizados. Se trata de utilizar una disolución a una concentración y volumen conocida de un compuesto que se reduce, mientras el AA se oxida. Al añadir el indicador (2,6-dicloroindofenol) a la muestra, este es reducido mientras Vitamina C es oxidada (ver figura 2). Durante este proceso el indicador se vuelve incoloro. De esta forma, mientras haya Vitamina C en la muestra, no se verá el color del indicador.

Una vez se haya oxidado toda la Vitamina C presente en la muestra, el indicador dejará de verse incoloro y se verá de un color rojizo. Para determinar el fin de la titulación el color rojizo debe persistir durante unos segundos. Si desaparece al agitar la muestra a analizar, significa que aún queda Vitamina C sin oxidarse.^{2,10}

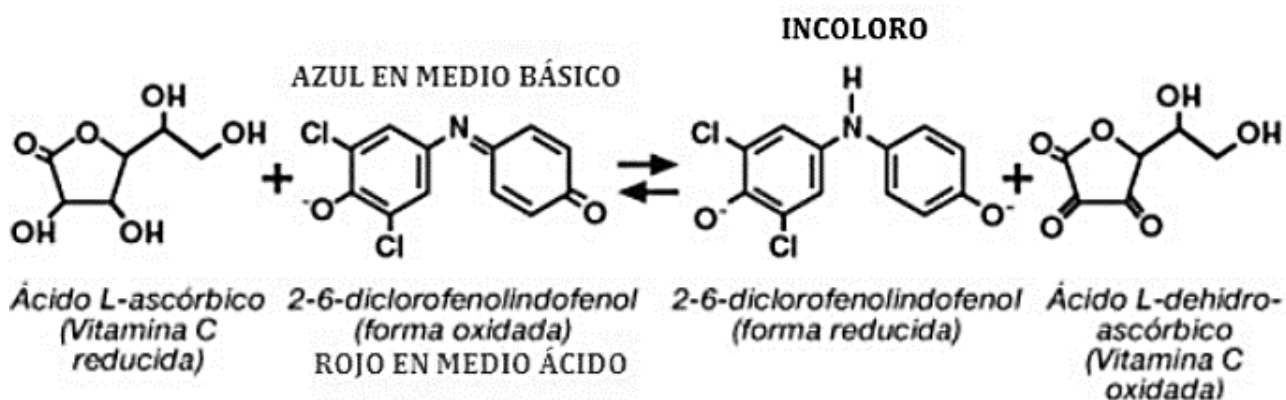


Figura N°2. Reacción de la Vitamina C con el 2,6-dicloroindofenol.²

Para calcular la concentración de Vitamina C primero hay que elaborar una recta de calibrado con muestras patrón de Vitamina C. Una vez conocida la recta de calibrado se valora la muestra de Vitamina C dejando caer gota a gota el indicador hasta que la muestra adquiera un color ligeramente rojizo. Para asegurarnos que el medio sea ácido, añadimos a la muestra antes de la valoración una mezcla de ácido acético (HOAc) y meta fosfórico. Para determinar el fin de la titulación, el color rojizo debe persistir durante unos segundos. Si desaparece al agitar la muestra a analizar significa que aún queda Vitamina C sin oxidarse, por lo que hay que seguir añadiendo el indofenol.

Una vez obtengamos el color rojizo, dejamos de añadir indicador y calculamos con el volumen gastado la cantidad de Vitamina C presente en la muestra.²

Las desventajas del método se relacionan con la necesidad de ver el viraje. Cualquier disolución que presente una coloración fuerte hará imposible la observación del punto final de la titulación. Para poder determinarlo se puede recurrir al uso de un espectrofotómetro, midiendo el cambio de transmitancia de la muestra a una longitud de onda de 545 nm. Aparte, el 2,6-dicloroindofenol reacciona con varios iones como el hierro o el cobre. Por lo tanto, el método es ideal para jugos de frutas o muestras débilmente coloreadas que no contengan esos iones. En esta técnica las ventajas son su simplicidad al realizar el ensayo y el bajo coste.²

Este método tiene el inconveniente que su punto final es retardado y difícil de discernir, el método no puede ser utilizado en muestras muy coloreadas y el 2,6- dicloroindofenol es reducido por las sales de Fe^{2+} que usualmente se encuentran presentes en las multivitaminas ²

3.3 Aplicabilidad del método AOAC 967.21.

Según las condiciones del laboratorio de Análisis Bromatológico de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador cuenta con un entorno dedicado a analizar la composición química y nutricional de los alimentos. Su estructura está diseñada para proporcionar las condiciones ideales para los análisis, importante que tenga un tamaño cómodo para dar cabida a posibles ampliaciones, tanto de trabajo como de personal.

El diseño del laboratorio determina la posición de los mesones de trabajo, gabinetes de seguridad química, duchas de emergencia y otros elementos esenciales. El ancho de los pasillos está diseñado para permitir la libre circulación de personas y el transporte de materiales y equipos. Además, el laboratorio cuenta puertas de fácil acceso, mientras que el suelo cuenta con antideslizante, resistente a agentes químicos y golpes mecánicos. Se reservan áreas aisladas para el almacenamiento de reactivos, sólo en la cantidad necesaria para realizar el trabajo, no recomendándose stock por períodos prolongados.

Cuenta con áreas específicas para equipos que liberan grandes cantidades de calor, como hornos de mufla, así como espacios para lavado de materiales, vestuarios internos y actividades de oficina. Posee instalaciones eléctricas diseñadas para posibles ampliaciones o adquisición de nuevos equipos, incluyendo tomas de 110 y 220 V debidamente identificadas y rotuladas de acuerdo con los cuadros de potencia. Las tuberías de agua, gas a presión, aire comprimido y vapor están construidas con materiales resistentes y disponen de válvulas en puntos de fácil acceso. Las mesas de trabajo están fabricadas con material no combustible, con altura adecuada y ergonómicamente funcionales, siendo resistentes a los agentes químicos que formarán parte de la rutina de trabajo. Los equipos de seguridad, como extintores de incendios y duchas con estaciones de lavado de ojos, están en lugares apropiados y en cantidad suficiente para garantizar la seguridad de los empleados.

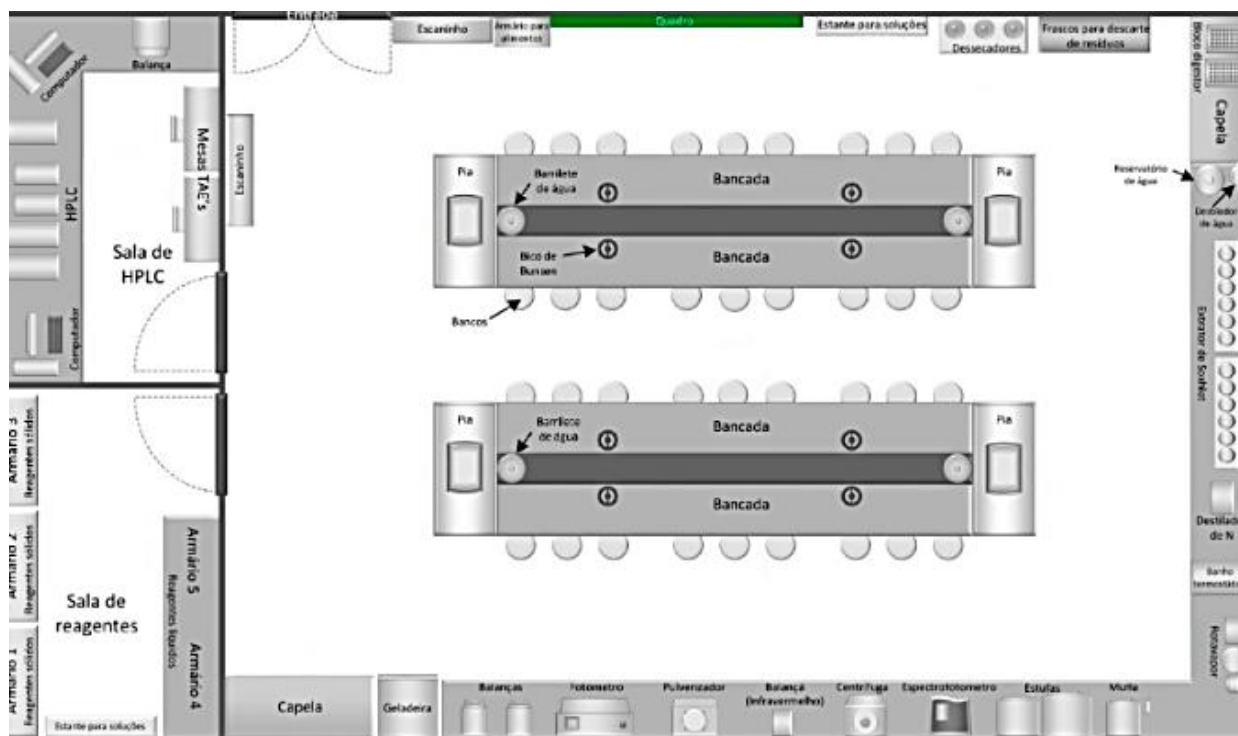


Figura N°3 Propuesta de diseño para un Laboratorio de Análisis Bromatológico.¹²

Además de la infraestructura física, el equipo técnico del laboratorio está calificado y capacitado para operar los equipos y realizar análisis según protocolos estandarizados. Sólo así es posible garantizar la precisión y la confiabilidad de los resultados obtenidos en el laboratorio.

El laboratorio cuenta una variedad de equipos especializados para realizar los análisis. Se cuenta con equipos de baño-maría y estufa con circulación y renovación de aire, cámara extractora de gases, balanzas analíticas, medidor de pH entre otros.

3.3.1 Equipos que debe adquirir el laboratorio de Análisis Bromatológico de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.

Entre los equipos que puede adquirir el laboratorio de Análisis Bromatológico de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador para mejorar la eficiencia del método propuesto:

- Agitador mecánico alto torque TE-039/1 Utilizado para agitación mecánica en fluidos, líquidos de alta viscosidad y material en suspensión.

- Matraces volumétricos Ámbar Clase A con tapón de vidrio.
- Agitador VORTEX BOECO V2H.
- Destilador estándar de producción continua DEST-4.

3.3.2 Recomendaciones de seguridad para el laboratorio de Análisis Bromatológico de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador

La seguridad en los laboratorios de bromatología es fundamental para proteger a los empleados y estudiantes, evitando accidentes, garantizando la integridad de las muestras y resultados de los análisis, para ello es fundamental seguir las normas de seguridad establecidas. Entre los riesgos más comunes se encuentran: manipulación de material de vidrio y productos químicos, trabajo a altas temperaturas, trabajo a presiones diferentes a la atmosférica, uso de fuego y electricidad. Todo profesional debe utilizar EPP (Equipo de Protección Personal) adecuado, como gabacha, gafas, guantes, máscaras antigás y calzado cerrado. Esto garantiza la protección contra sustancias químicas, salpicaduras, astillas y otros riesgos presentes en el ambiente del laboratorio.

Se debe conocer los riesgos químicos, físicos y toxicológicos asociados a cada sustancia química utilizada en el laboratorio y seguir las instrucciones de manejo seguro, esto incluye almacenamiento adecuado, manejo cuidadoso y eliminación correcta. En los laboratorios con sustancias inflamables o explosivas se deberá disponer de extintores, duchas de emergencia y estaciones lavavojos. Además de contar con una ventilación adecuada para asegurar la dispersión de gases y vapores nocivos, utilizándose cámaras de extracción de gases siempre que sea necesario. La manipulación de equipos y vidriería debe realizarse de forma adecuada y segura. Por lo tanto, es importante que los empleados tengan la capacitación adecuada sobre prácticas de seguridad y procedimientos operativos estándar.¹²

El análisis bromatológico de los alimentos permite determinar la composición química y los valores nutricionales. A través de este análisis es posible cuantificar los diferentes nutrientes, como vitaminas, minerales, aminoácidos, ácidos grasos, fibra y otros compuestos presentes en los alimentos, proporcionando información detallada sobre su calidad nutricional. Además, el análisis bromatológico juega un papel fundamental en la seguridad alimentaria, permitiendo la detección de contaminantes y la evaluación del cumplimiento de los alimentos en relación con los estándares

de calidad establecidos. A partir de la información obtenida a través del análisis bromatológico se pueden formular dietas específicas y personalizadas para satisfacer las necesidades nutricionales de cada especie animal, etapa de vida y finalidad, ya sea de producción, reproducción o salud. El uso de equipos especializados es fundamental para garantizar la confiabilidad y precisión de los resultados obtenidos. Desde la recogida y preparación de muestras hasta la realización del propio análisis, cada etapa del proceso requiere instrumentos adecuados y precisos, capaces de proporcionar resultados consistentes y confiables.

3.3.3 Existencias en el laboratorio de Análisis Bromatológico.

El laboratorio de Análisis Bromatológico de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador cuenta con la cristalería y reactivos necesarios para el análisis lo que indica la factibilidad de realizar la práctica de laboratorio.

Tabla N°4. Materiales y reactivos en existencia en el laboratorio.

MATERIALES REACTIVOS Y EQUIPOS.	Cantidad	Existencia
– Vaso de precipitados, 250 mL.	1	✓
– Frascos de vidrio, de 200 a 250 mL, uno de color ámbar y otro transparente, ambos con tapa.	2	✓
– Bureta volumétrica, 50 o 25 mL.	1	✓
– Erlenmeyer de 50 mL o 125 mL.	9	✓
– Papel filtro poro grueso.	3	✓
– Embudo, aprox. 6–9 cm de diámetro.	1	✓
– Embudo, aprox. 2-3 cm de diámetro.	1	✓
– Agitadores de vidrio.	3	✓
– Probeta graduada, 25 mL.	1	✓
– Probeta graduada, 100 mL.	1	✓
– Válvula o bomba.	1	✓
– Soporte.	3	✓
– Espátulas.	3	✓
– Balón volumétrico de 50 mL.	1	✓

Tabla N°4. (Continuación)

– Balón volumétrico de 200 mL.	1	✓	
– Balón volumétrico, 250 mL.	1	✓	
– Pipetas volumétricas de 2 mL.	1	✓	
– Pipeta volumétrica, 5 mL.	1	✓	
– Pipeta volumétrica, 7 mL.	1	✓	
– Pipeta volumétrica, 10 o 20 mL.	1	✓	
EQUIPO:			
– Cámara de extracción.			
– Balanza Analítica.			
– Refrigeradora.			
REACTIVOS			
– Estándar de ácido ascórbico.		✓	
– Indicador 2,6 Dicloro Indofenol.		✓	
– Ácido meta fosfórico (HPO₃).		✓	
– Ácido acético.		✓	
– Muestras de jugo de naranja.		✓	

Fuente: Elaboración propia.

3.4 Estado actual de la industria de jugos en El Salvador.

La Industria de Jugos Naturales es una industria que en los últimos años se encuentra tomando un gran auge en El Salvador, a consecuencia de la creciente práctica de consumo de alimentos saludables por parte de la población salvadoreña que, influenciada por cambios importantes en los hábitos alimenticios en muchos países, ha optado por esta nueva tendencia “alimenticia”. Otra causa del auge de esta industria, son los constantes estudios que demuestran que el consumo de alimentos “100 % Naturales”, sin ningún tipo de aditivos ni preservantes químicos, reduce los riesgos para la salud. En El Salvador se encuentran, al menos, 5 empresas dedicadas a la elaboración de este tipo de productos. ¹

3.5 Marco regulatorio internacional.

Desde sus comienzos, la Organización de Alimentos y Agricultura (FAO) y la Organización Mundial para la Salud (OMS) han colaborado en la mejora de las normas sobre calidad e inocuidad aplicadas a los alimentos. La máxima prioridad de la Comisión del Codex Alimentarius, como se declara en el Artículo 1 de sus Estatutos, es proteger la salud de los consumidores y asegurar prácticas equitativas en el comercio de los alimentos.

Es por ello, que el Codex Alimentarius contiene más de 200 normas para alimentos o grupos de alimentos, las cuales tienen por objeto asegurar prácticas leales en la venta de alimentos, al tiempo que proporcionan también orientación a los consumidores en la elección de los productos. Dentro de esas más de 200 normas, se encuentran las correspondientes a la Industria de Jugos Naturales (Codex Stan 45-1981. Norma del Codex para el Jugo de Naranja Conservado Por Medios Físicos Exclusivamente).¹¹

En cuanto a la calidad e higiene alimentaria, de España promovió y participó en la elaboración de la Guía para ayudar a los fabricantes de zumos en la implementación del Reglamento europeo 852/2004 sobre higiene de los productos alimentarios, que obliga a los operadores alimentarios a establecer un sistema de autocontrol basado en el análisis de peligros y puntos de control crítico (APPCC). Esta guía ha sido estudiada con resultado favorable según el “Procedimiento a seguir para el estudio y elaboración de guías nacionales de prácticas correctas de higiene y para la aplicación de los principios del sistema APPCC” de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) y se encuentra disponible en su página web.¹

Además, la industria del sector de jugos y néctares tiene implantados Sistemas de Gestión como:

- Normal Internacional de Gestión de Calidad ISO 9000.
- Norma Internacional de Seguridad Alimentaria ISO 22000.
- Protocolos Internacional Food Estándar (IFS) y también de Seguridad Alimentaria.
- Norma internacional de gestión medioambiental ISO 14000.

Todas estas normas garantizan al consumidor la calidad de los productos envasados, además que los procesos empleados son respetuosos con el medio ambiente.

CAPÍTULO IV

4.0 PRODUCTO FINAL

4.1 Introducción.

La Vitamina C es nutriente esencial en la dieta, pero se reduce o destruye fácilmente por exposición al calor o al oxígeno o durante el procesado, el empaquetado y el almacenamiento de los alimentos. La FDA exige que el contenido de Vitamina C sea relacionado en la etiqueta nutricional de los alimentos. La inestabilidad de la Vitamina C hace más difícil asegurar en la etiqueta nutricional una declaración exacta del contenido de Vitamina C. La determinación de la Vitamina C en los alimentos es importante porque, aparte de permitir inferir sobre el valor nutritivo del alimento. El método oficial de análisis para la determinación de la Vitamina C en los zumos es método volumétrico del 2,6-dicloroindofenol, Método 967.21 de la AOAC.¹³

Aunque este método no es oficial para otros tipos de productos alimentarios, se usa a veces como un ensayo de control de calidad rápido para una variedad de productos alimentarios. Se determina la Vitamina C en su forma reducida por titulación visual con 2,6-dicloroindofenol, el cual se basa en la reducción del indicador 2,6-dicloroindofenol por solución de ácido ascórbico. El contenido de ácido ascórbico es directamente proporcional a la capacidad de un extracto de la muestra para reducir una solución estándar de indicador determinado por titulación. El valor del reactivo, 2,6-dicloroindofenol se ve limitado por la presencia de sustancias reductoras, como sales ferrosas, sulfitos, compuesto sulfhídricos, etc. En ciertos productos que han sufrido un tratamiento térmico o almacenamiento se encuentran sustancias reductoras.

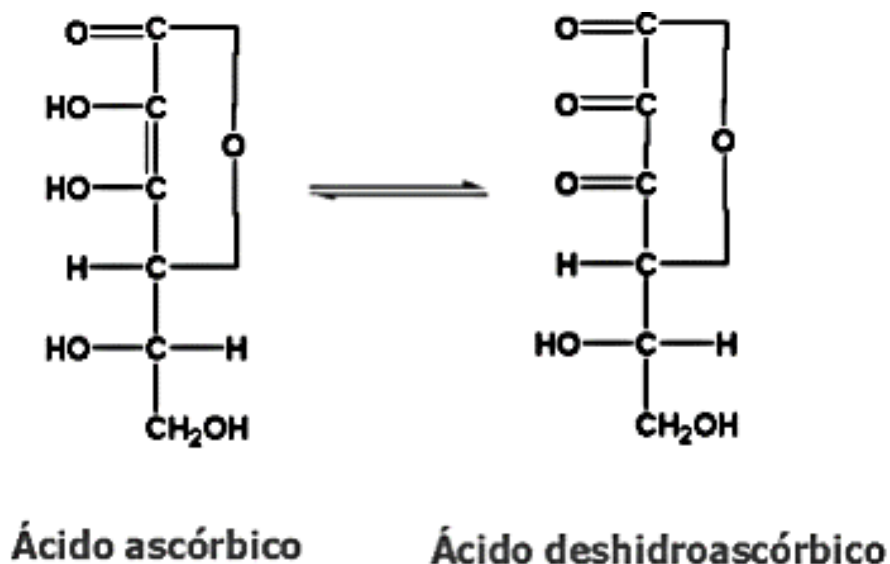


Figura N°4 Ácido Ascórbico y deshidroascórbico.²

Son muchas las características y propiedades de la Vitamina C debida, principalmente, a que es muy termo sensible y lábil a la acción del oxígeno y a las radiaciones ultravioletas. La Vitamina C corresponde al grupo de las vitaminas hidrosolubles, y como la gran mayoría de ellas no se almacena en el cuerpo por un largo período de tiempo. El ácido ascórbico tiene la estructura de una lactona con una configuración enediol, su acidez se deriva del carácter enólico de los grupos hidroxilos. Las reacciones de oxidación de la Vitamina C se aceleran por el calor, los álcalis, la presencia de algunos metales como el cobre y el hierro y la acción de la luz, etc. De todas las vitaminas, la Vitamina C es la más lábil e inestable y puede ser degradada a través de muchas vías: las de oxidación y degradación térmica son las más importantes; se considera, que si el ácido ascórbico resiste los tratamientos térmicos durante el procesamiento de alimentos todos los demás nutrimentos serán poco afectados.

4.1.1 Método de análisis.

Valoración volumétrica de Oxido Reducción con el indicador 2,6 dicloroindofenol.

Este método cuantitativo volumétrico se basa en el poder reductor del ácido ascórbico sobre los reactivos utilizados. Se trata de utilizar una disolución a una concentración y volumen conocida de un compuesto que se reduce, mientras el AA se oxida. Al añadir el indicador (2,6- dicloroindofenol) a la muestra, este es reducido mientras Vitamina C es oxidada. Durante este proceso el indicador se vuelve incoloro. De esta forma, mientras haya Vitamina C en la muestra, no se verá el color del indicador. Una vez se haya oxidado toda la Vitamina C presente en la muestra, el indicador dejará de verse incoloro y se verá de un color rojizo. Para determinar el fin de la titulación el color rojizo debe persistir durante unos segundos. Si desaparece al agitar la muestra a analizar, significa que aún queda Vitamina C sin oxidarse.

4.1.2 Fundamento.

La vitamina (ácido L-ascórbico y ácido L-deshidroascórbico) es muy susceptible al deterioro oxidativo, que se ve potenciado por el alto pH y la presencia de iones férricos y cúpricos. (Ver figura 3). Por estos motivos, todo el procedimiento analítico debe realizarse a pH bajo y, si es necesario, en presencia de un agente quelante. La oxidación leve del ácido ascórbico da como resultado la formación de ácido deshidroascórbico, que también es biológicamente activo y

reconvertible en ácido ascórbico mediante tratamiento con agentes reductores tales como β -mercaptoetanol y ditioneol. ²

El ácido ascórbico se oxida al-ácido deshidroascórbico por el indicador de oxidación-reducción, 2,6-dicloroindofenol. En el punto final, el exceso de indicador no reducido aparece de color rosa en solución ácida. ²

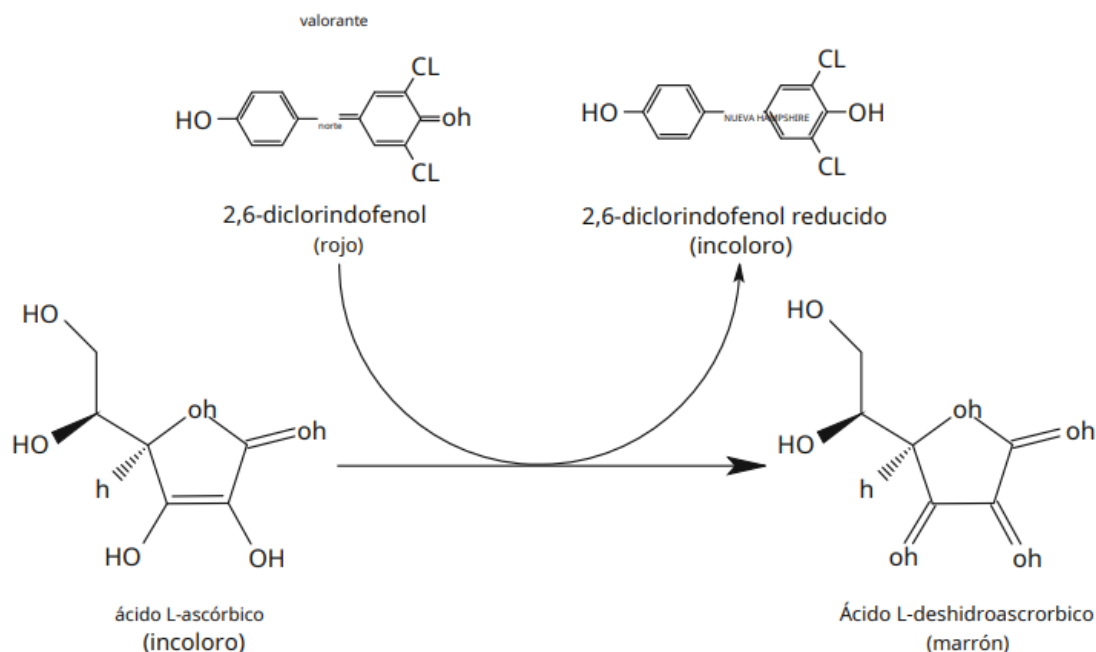


Figura N°5 Reacción química entre el ácido l-ascórbico y 2,6-dicloroindofenol.²

El ácido ascórbico reduce el indicador a una solución incolora. Al final de la valoración de una muestra que contiene AA con tinte, el exceso de tinte no reducido adquiere un color rosado en la solución ácida. El título del indicador se puede determinar utilizando una solución estándar de ácido ascórbico. Luego, las muestras de alimentos en solución se pueden valorar con el indicador y el volumen de la valoración se utiliza para calcular el contenido de ácido ascórbico.

4.1.3 Información general de la muestra.

Muestreo: Recolectar jugos envasados de diferentes marcas en hielera con tapadera en los alrededores de la Universidad de El Salvador, jugos de mayor demanda la recolección de las muestras se realiza en base a la Norma Técnica Ecuatorial INEN 15292:99.

- Tipo de Matriz: Jugo de naranja envasados.

Utilizar productos procesados y envasados de diversas maneras (por ejemplo, enlatados, concentrados congelados reconstituidos, recién exprimidos, no concentrados). Filtrar los jugos a través de una gasa para evitar problemas con la pulpa al pipetear. Registrar en la etiqueta nutricional de cada producto el porcentaje del valor diario de Vitamina C. ¹⁰

4.1.4 Preparación de la muestra.

Pesar y extraer homogeneizando la muestra problema en una solución de ácido meta fosfórico-ácido acético (es decir, 15 g de HPO_3 y 40 mL de HOAc en 500 mL de H_2O desionizado). Filtrar (y/o centrifugar) el extracto de muestra y diluir adecuadamente hasta una concentración final de 10 a 100 mg de ácido ascórbico/100 mL. ¹⁰

4.2 Reactivos, materiales y equipos.

4.2.1 Reactivos:

- Solución estándar de ácido ascórbico.
- Indicador de Indofenol.
- Solución de ácido metafosfórico-ácido acético.
- Muestras de jugo de naranja.
- Bicarbonato de sodio.

4.2.2 Materiales y equipos:

- Vaso de precipitados, 250 mL.
- 2 frascos de vidrio, de 200 a 250 mL, uno color ámbar y otro transparente, ambos con tapa.
- Bureta volumétrica, 50 o 25 mL.
- 9 Erlenmeyer de 50 ml o 125 mL.
- Papel filtro poro grueso.
- Embudo, aprox. 6–9 cm de diámetro (para sostener el papel de filtro).
- Embudo, aprox. 2-3 cm de diámetro (para llenar la bureta).
- 2 agitadores de vidrio.
- Probeta graduada, 25 mL.
- Probeta graduada, 100 mL.
- Válvula o bomba.
- Soporte.

- 3 espátulas.
- Balón volumétrico de 50 mL.
- Balón volumétrico de 200 mL.
- Balón volumétrico, 250 mL.
- 2 pipetas volumétricas de 2 mL.
- Pipeta volumétrica, 5 mL.
- Pipeta volumétrica, 7 mL.
- Pipeta volumétrica, 10 o 20 mL.

4.2.3 Equipo:

- Cámara de extracción.
- Balanza Analítica.
- Refrigeradora.

4.3 Preparación de reactivos.

Solución estándar de ácido ascórbico (preparar sólo en el momento de su uso).

- Pese con precisión (en una balanza analítica) aproximadamente 50 mg de ácido ascórbico [preferiblemente estándar de referencia de ácido ascórbico de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP)].
- Registre este peso.
- Transferir a un Erlenmeyer de 50 mL.
- Diluir al volumen inmediatamente antes de su uso con la solución de ácido meta fosfórico y ácido acético.

Solución del indicador indofenol.

- A 50 ml de agua destilada (dd) desionizada en un vaso de precipitados de 150 mL, agregue y revuelva para disolver 42 mg de bicarbonato de sodio.
- Agregue y revuelva para disolver 50 mg de sal sódica de 2,6- dicloroindofenol.
- Diluir la mezcla a 200 mL con agua destilada.
- Filtrar a través de papel de filtro en una botella de color ámbar.
- Cerrar el frasco con una tapa y conservar refrigerado hasta su uso.

Solución de ácido meta fosfórico-ácido acético.

- En un vaso de precipitados de 250 mL, agregue 100 mL de agua y luego 20 mL de ácido acético.
- Agregue y revuelva para disolver 7,5 g de ácido meta fosfórico.
- Diluir la mezcla a 250 mL con agua destilada.
- Filtrar a través de papel de filtro en una botella.
- Cerrar el frasco con una tapa y conservar refrigerado hasta su uso.

Muestras de jugo de naranja.

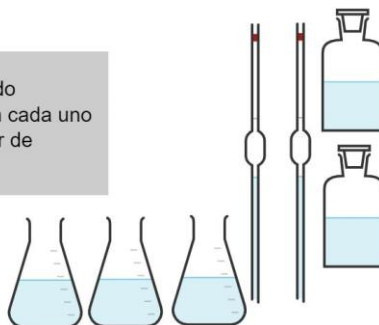
- Utilice productos procesados y envasados de diversas maneras (por ejemplo, enlatados, concentrados congelados reconstituidos, recién exprimidos, no concentrados).
- Filtrar los jugos a través de una gasa para evitar problemas con la pulpa al pipetear.
- Registre en la etiqueta nutricional de cada producto el porcentaje del valor diario de Vitamina C.

4.4 Marcha para la determinación Vitamina “C” en jugo de naranja utilizando el reactivo 2,6 dicloroindofenol.

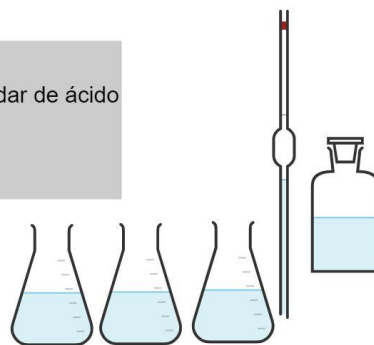
(Las instrucciones para el análisis se deben realizar por triplicado).

4.4.1 Estandarización del indicador.

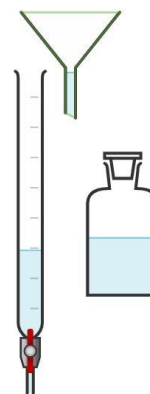
Pipetee 5 ml de solución de ácido metafosfórico y ácido acético en cada uno de los tres matraces Erlenmeyer de 50 ml.



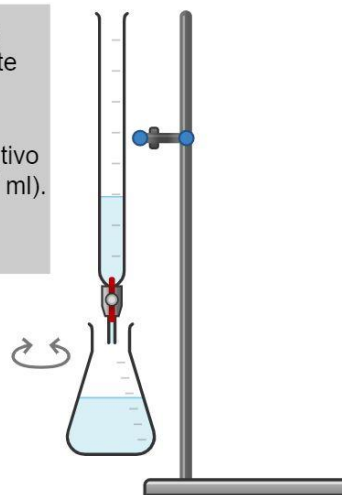
Agregue 2,0 ml de solución estándar de ácido ascórbico a cada matraz



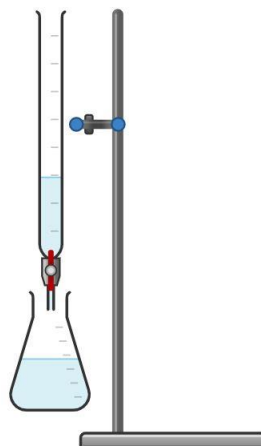
Usando un embudo, llene la bureta con la solución de indofenol (tinte) y registre la lectura inicial de la bureta.



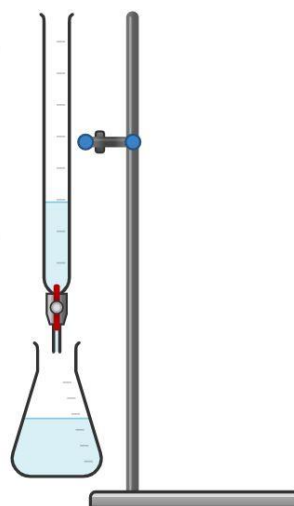
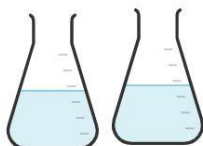
Coloque el matraz Erlenmeyer debajo de la punta de la bureta. Agregue lentamente la solución de indofenol a la solución estándar de ácido ascórbico hasta que persista un color rosado claro pero distintivo durante >5 s (se necesitan entre 15 y 17 ml). Agite el matraz mientras agrega la solución de indofenol.



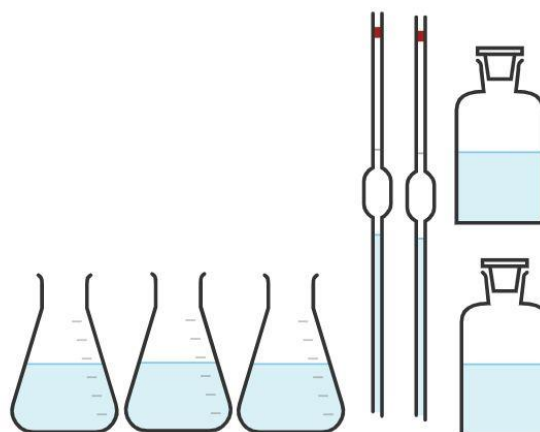
Anote la lectura final de la bureta y calcule el volumen de tinte utilizado.



Repita los pasos 3 a 5 para las otras dos muestras estándar. Registre las lecturas y calcule el volumen de tinte utilizado para cada muestra.



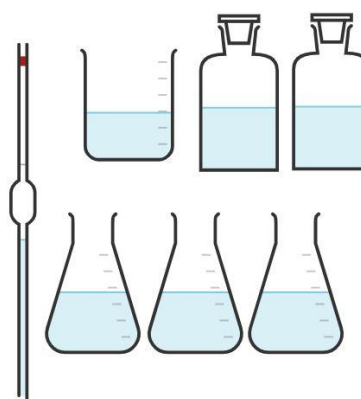
Prepare el blanco:
Pipetee 7,0 ml de solución de ácido meta fosfórico y ácido acético en cada uno de los tres matraces Erlenmeyer de 50 ml. Agregue a cada matraz un volumen de agua destilada aproximadamente igual al volumen de tinte usado anteriormente (es decir, el volumen promedio de tinte usado para valorar tres muestras estándar).



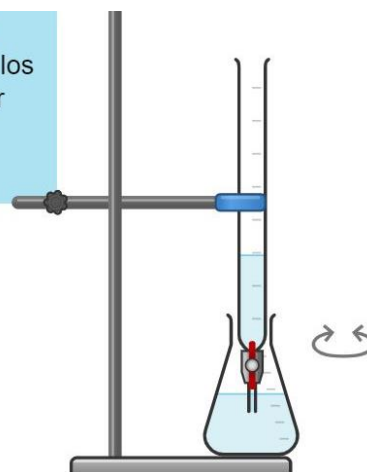
Valore los blancos de la misma manera que en los pasos 3 a 5 anteriores. Registre las lecturas iniciales y finales de la bureta para cada titulación del blanco y luego calcule el volumen de tinte utilizado.

4.4.2 Análisis de muestras de jugo

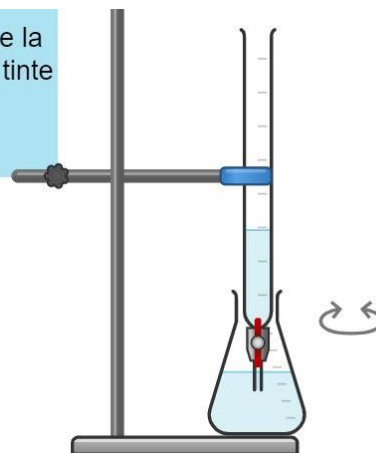
Pipetee en cada uno de los tres matraces Erlenmeyer de 50 ml 5 ml de solución de ácido metafosfórico y ácido acético y 2 ml de jugo de naranja



Valore cada muestra con la solución de colorante de indofenol (como lo hizo en los Pasos 3 a 5) hasta que persista un color rosa claro pero distintivo durante >5 s.



Registre las lecturas inicial y final y calcule la diferencia para determinar la cantidad de tinte utilizada para cada titulación.



4.5 Cálculos involucrados.

Tabla N°5 Recolección de datos según la norma¹³

	Réplica	Lectura inicial	Lectura final	Titulador	
Estándar de ácido ascórbico	1				
	2				
	3				
Blanco	1			$\bar{X} =$	
	2				
	3				
Ejemplo	1			$\bar{X} =$	
	2				
	3				

- Utilizando los datos obtenidos en la estandarización del titulante, calcular lo titulado utilizando la siguiente fórmula:

$$F = \frac{\text{mg de } \acute{a}\text{c. ascórbico en volumen de solución estandar titulada.}}{\text{mL promedio de titulante usado para estandares de titulación} - \text{mL promedio de titulante usado para el blanco}}$$

- Miligramos (mg) de ácido ascórbico en volumen de solución estándar titulada:

$$= \frac{(\text{mg de ácido ascórbico})}{50 \text{ mL}} \times 2 \text{ mL}$$

- Calcule el contenido de ácido ascórbico de la muestra de jugo en mg/mL, usando la siguiente ecuación y el volumen de valorante para cada una de sus réplicas. Calcule la media y la desviación estándar del contenido de ácido ascórbico de su jugo en (mg/mL). Obtenga de otros miembros del laboratorio el contenido medio de ácido ascórbico en (mg/mL) para otros tipos de jugo. Utilice estos valores medios para cada tipo de jugo para expresar el contenido de Vitamina C de las muestras de jugo como miligramos de ácido ascórbico/100 mL y como miligramos de ácido ascórbico/8 fl. onz. (29,56 mL/oz líquida).

$$\frac{\text{mg de ácido ascórbico}}{\text{mL}} = (X - B) \times \frac{F}{E} \times \left(\frac{V}{Y}\right)$$

Donde:

X= mL para titulación de muestra.

B= mL promedio para la titulación del blanco de muestra.

F= Titulante (= mg de ácido ascórbico equivalente a 1.0 ml de solución estándar de indofenol).

E=mL analizado 2 mL).

V=volumen de solución de ensayo inicial (=7 mL).

Y= volumen de alícuota de muestra titulada (=7 mL).

Tabla N°6 Recolección de datos por triplicado.¹³

Réplica	mg AA/mL
1	
2	
3	
	$\bar{X} =$
	SD=

Cálculo de ejemplo:

- Peso de ácido ascórbico utilizado= 50.2 mg.

Volumen medio de valorante utilizado:

- Estándares de ácido ascórbico = 15.5 mL.
- Blancos = 0.10 mL.
- Volumen de valorante utilizado para la muestra de jugo de naranja = 7.1 mL.

$$F = \frac{\left(50.2 \frac{mg}{5 mL}\right) \times 2 mL}{(15.5 mL - 0.10 mL)}$$

$$= 0.13 \frac{mg}{mL}$$

$$mg \text{ de ácido } \frac{ascórbico}{mL} = (7.1 mL - 0.10 mL)$$

$$\times \left(0.13 \frac{mg}{2 mL}\right) \times \left(\frac{7 mL}{7 mL}\right)$$

$$= 0.455 \frac{mg}{mL}$$

$$0.455 \frac{mg}{mL} = 45.4 \frac{mg}{100 mL}$$

$$0.455 \frac{mg \text{ de Ácido ascorbico}}{mL \text{ jugo}} \times 29.56 \frac{mL}{fl. oz \times 8 fl. oz}$$

$$= 107.6 mL \text{ ácido } \frac{ascórbico}{8 fl. oz}$$

4.6 Normativas nacionales o internacionales para interpretar resultados.

Los factores esenciales de composición y calidad de los jugos de naranja procesados podemos encontrarlo en Las normas Codex Para El Jugo de Naranja Conservado Por Medios Físicos exclusivamente Codex Stan 45 – 1981 donde hace referencia la cantidad de sólidos solubles, azúcares, cantidad de etanol y ácidos volátiles. También esta norma hace referencia al nivel máximo de contaminantes. (Ver Anexo N°4).^{2,11}

En la Norma Salvadoreña se presenta la forma en que debe realizarse el etiquetado nutricional Norma NSO CODEX CAC/GL 2 salvadoreña. La información numérica sobre vitaminas y

minerales debe expresarse en unidades del sistema métrico y/o porcentaje del valor de referencia de nutrientes por 100.0 g o por 100.0 mL por envase, si el envase contiene una sola porción. Además, esta información puede indicarse referida a la cantidad por ración que aparece en la etiqueta o por porción, siempre y cuando se declare el número de porciones contenidas en el envase.¹

La información sobre el contenido de proteínas se puede expresar también en porcentajes del valor de referencia de nutrientes. En el etiquetado, deberán utilizarse como valor de referencia de nutrientes para lograr una uniformidad y estandarización internacionales para la Vitamina C de 60 miligramos como valor de referencia. (Ver Anexo N°5).¹

CAPÍTULO V

5.0 CONCLUSIONES

1. Basado en la investigación bibliográfica sobre el método AOAC 967.21 con 2,6-dicloroindofenol para la determinación de Vitamina C en jugo de naranja envasado, se concluye que este método es altamente efectivo y confiable debido a su precisión y bajo costo, que lo convierte en una opción accesible para enriquecer la formación académica y práctica de los estudiantes en el análisis de alimentos. La aplicación del método no solo garantiza resultados claros en la determinación de Vitamina C, sino que también ofrece una herramienta para la evaluación de calidad en productos envasados.
2. La adaptación del método a las condiciones específicas del laboratorio demuestra que puede ser implementado con éxito, garantizando resultados precisos y fiables. La metodología no solo se ajusta a los requisitos técnicos del laboratorio, sino que también ofrece una solución económica y educativa que beneficia a estudiantes y profesores en sus prácticas de análisis.
3. La propuesta de práctica de laboratorio permitirá que los interesados puedan obtener un análisis actualizado y apegado al método AOAC para la determinación del ácido ascórbico y conocer el valor nutritivo del alimento. La metodología propuesta asegura una correcta aplicación del método, lo que permitirá obtener resultados precisos y reproducibles. En definitiva, contar con un procedimiento bien definido no solo optimiza la ejecución del análisis, sino que también enriquece la formación práctica de los estudiantes y mejora la capacidad técnica del laboratorio.
4. En el análisis de las cotizaciones realizadas se puede concluir que la determinación con 2,6 dicloroindofenol es una práctica que posee aplicabilidad en el laboratorio de Análisis Bromatológico de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador porque cuenta con el equipo, reactivos y cristalería para ejecutarla.

CAPÍTULO VI

6.0 RECOMENDACIONES

1. Al personal docente, modificar o redactar la práctica para determinar Vitamina C en jugo de naranja envasado, basándose en el método titrimétrico con 2,6-dicloroindofenol cada vez que exista un cambio en la actualización del método, se adquieran equipos que sean más eficientes para la ejecución de la práctica, o se modifiquen las instalaciones, para asegurar que cumple los requisitos del método.
2. Al personal de laboratorio, preparar la solución estándar de Vitamina C reciente y deberá refrigerarse. También, los jugos de muestra deben obtenerse uno o dos días antes del análisis y deberán guardarse en refrigeración de ser posible, a lo largo del análisis en el laboratorio, ya que la concentración de Vitamina C cambiará significativamente durante el día si se almacena a temperatura ambiente.
3. Al personal docente y encargados de los suministros del laboratorio, verificar la aplicabilidad del método AOAC 967.21 con 2,6 dicloroindofenol para la determinación de Vitamina C en jugo de naranja envasado según las condiciones del laboratorio de Análisis Bromatológico de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.
4. Se recomienda que el asistente de laboratorio prepare las muestras con anticipación. Esto garantizará que estén listas para su uso inmediato, optimizando el tiempo y facilitando el desarrollo eficiente de las actividades prácticas.
5. Se recomienda a los encargados de compras de cristalería y reactivos del laboratorio de Análisis Bromatológico de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador un presupuesto que permite adquirir reactivos y cristalería como alternativa para obtener resultados de calidad, con mayor efectividad y rapidez.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Salvalnet. Vitamina C más allá de prevenir el escorbuto Chile [Internet]. 2024 abr. 20 [citado 2024 ago. 18]. Disponible en: <https://www.savalnet.cl/cienciaymedicina/destacados/vitamina-c-m%C3%A1s-all%C3%A1-de-prevenir-el-escorbuto.html>
2. Metrohm. Historia y análisis de la Vitamina C [Internet]. 2024 Mar 29 [citado 2024 ago. 18]. Disponible en: https://www.metrohm.com/es_es/discover/blog/2023/history-and-analysis-of-vitamin-c-ascorbic-acid.html
3. Actas Dermo-Sifiliográficas. Vitamina C [Internet]. 2024 jun 2 [citado 2024 ago. 18]. Disponible en: <https://actasdermo.org/es-vitamina-c-articulo-resumen-13095269>
4. Marnys. Vitamina C y Sistema Inmune. Función en las Defensas [Internet]. 2024 abr 30 [citado 2024 ago. 18]. Disponible en: <https://www.marnys.com/es/magazine/vitamina-c-sistema-inmune-defensas/>
5. Farmacias Ecoceutics. La Vitamina C y el sistema inmunitario [Internet]. 2024 abr 03 [citado 2024 ago. 18]. Disponible en: <https://www.ecoceutics.com/respuestas-de-salud/salud/vitamina-c-sistema-inmunitario/>
6. Diz Dios P Ocampo Hermida A Fernández Feijoo J. Alteraciones cuantitativas y funcionales de los neutrófilos. Medicina Oral. 2002;7(3):206-21.
7. National Institutes of Health. Datos sobre la Vitamina C [Internet]. 2019 dic 18 [citado 2024 ago. 18]. Disponible en: <https://ods.od.nih.gov/factsheets/VitaminC-DatosEnEspaol/>

8. Saiz M, Martínez L. Diseño e implementación de un sistema de gestión de calidad en empresas del sector alimentario [Internet]. Disponible en:
<https://core.ac.uk/download/pdf/71396122.pdf> [citado 2024 ago. 18].
9. Zumbado Fernández H. Análisis químico de los alimentos. 2a ed. Miami: Ciudad Educativa; 2022.
10. AOAC 967.21: Titrimétrico con 2,6 dicloro-2,6 indofenol para la determinación de ácido ascórbico en preparados vitamínicos y jugos [Internet]. 1997 dic 15. AOAC International. Disponible en:
http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lia/milacatl_h_v/apendiceB.pdf
11. Codex Alimentarius. Norma del Codex para el jugo de naranja conservado por medios físicos exclusivamente. Codex Stan 45-1981. 1981.
12. Rodríguez RC. Métodos de análisis bromatológicos de alimentos: métodos físicos, químicos y bromatológicos Pelotas Embrapa Clima Temperado.2010 306 p.
13. S.S. Nielsen, Food Analysis Laboratory Manual, Food Science Text Series, Springer International Publishing 2017.

ANEXOS

ANEXO N°1

Cotización de Cristalería CSE para la ejecución de la práctica de laboratorio.

CSE ————— Compañía de Servicios y Equipos

Antiguo Cuscatlán, 31 de Mayo de 2024

EUROAROMAS S.A DE C.V
PRESENTE

Estimados:

Es un agrado presentarle la siguiente cotización:

			SIN IVA DOLARES	SIN IVA DOLARES
CNT.	CAT BIO	DESCRIPCION	P: UNIT	P. TOTAL
1	025.01.250	BEAKER DE VIDRIO GRAD. DE 250ML MARCA ISOLAB, ALEMANIA	\$ 4.00	\$ 4.00
1	026.01.250	BEAKER PLASTICO DE 250ML MARCA ISOLAB, ALEMANIA	\$ 2.00	\$ 2.00
1	017.02.050	BURETA DE VIDRIO CON LLAVE DE PTFE, 50ML MARCA ISOLAB, ALEMANIA	\$ 50.00	\$ 50.00
1	027.01.050	ERLENMEYER DE VIDRIO DE 50ML MARCA ISOLAB, ALEMANIA	\$ 3.10	\$ 3.10
1	027.01.100	ERLENMEYER DE VIDRIO DE 100ML MARCA ISOLAB, ALEMANIA	\$ 4.50	\$ 4.50
1	041.01.080	EMBUDO DE VIDRIO, 80MM MARCA ISOLAB, ALEMANIA	\$ 6.50	\$ 6.50
1	041.01.100	EMBUDO DE VIDRIO, 100MM MARCA ISOLAB, ALEMANIA	\$ 7.00	\$ 7.00
1	041.02.080	EMBUDO DE POLIPROPILENO, 80MM MARCA ISOLAB, ALEMANIA	\$ 2.50	\$ 2.50
1	041.02.100	EMBUDO DE POLIPROPILENO, 100MM MARCA ISOLAB, ALEMANIA	\$ 3.00	\$ 3.00
1	057.03.250	AGITADOR DE VIDRIO DE 250mm MARCA ISOLAB, ALEMANIA	\$ 3.00	\$ 3.00

CSE ————— Compañía de Servicios y Equipos —————

1	057.03.300	AGITADOR DE VIDRIO DE 300mm MARCA ISOLAB, ALEMANIA	\$ 3.25	\$ 3.25
1	015.01.025	PROBETA DE VIDRIO GRAD. B/VIDRIO, 25ML MARCA ISOLAB, ALEMANIA	\$ 7.55	\$ 7.55
1	015.01.100	PROBETA DE VIDRIO GRAD. B/VIDRIO, 100ML MARCA ISOLAB, ALEMANIA	\$ 11.00	\$ 11.00
1	016.05.025	PROBETA PLASTICA DE 25ML MARCA ISOLAB, ALEMANIA	\$ 3.00	\$ 3.00
1	016.05.100	PROBETA PLASTICA DE 100ML MARCA ISOLAB, ALEMANIA	\$ 3.50	\$ 3.50
1	013.01.051	BALON VOL. DE VIDRIO DE 50ML MARCA ISOLAB, ALEMANIA	\$ 9.00	\$ 9.00
1	013.01.200	BALON VOL. DE VIDRIO DE 200ML MARCA ISOLAB, ALEMANIA	\$ 11.00	\$ 11.00
1	013.01.250	BALON VOL. DE VIDRIO DE 250ML MARCA ISOLAB, ALEMANIA	\$ 13.00	\$ 13.00
1	021.05.002	PIPETA VOLUMETRICA DE 2ML MARCA ISOLAB, ALEMANIA	\$ 4.60	\$ 4.60
1	021.05.005	PIPETA VOLUMETRICA DE 5ML MARCA ISOLAB, ALEMANIA	\$ 5.75	\$ 5.75
1	021.05.010	PIPETA VOLUMETRICA DE 10ML MARCA ISOLAB, ALEMANIA	\$ 6.25	\$ 6.25
		TOTAL, NO INCLUYE IVA		\$ 163.50
		IVA		\$ 21.26
		TOTAL, INCLUYE IVA		\$ 184.76

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N°2
Cotización de Reactivos RGH

Señores:

Telefono:
Presente

San Salvador, junio 5, 2024

Código Cliente : **275**

COTIZACION No. JS0655/24

Estimados Señores:

Por este medio presentamos nuestra oferta y los tiempos de entrega para los productos de su interés:

Art. No.	Descripción	Controlado	Cantidad/ Presentación	P.Unitario\$ sin IVA	P.Total \$	Tiempo entrega
1004680100	L(+)-ÁCIDO ASCORBICO P.A. EMSURE ACS,ISO,REAG. PH EUR	No aplica	1 100 G	135.00	135.00	120 días
1030280005	2,6-DICLOROFENOLINDOFENOL, SAL SODICA DIHIDRATO P.A. PARA DETERMINAR ACIDO ASCORBICO	No aplica	1 5 G	505.00	505.00	120 días
1005460100	ÁCIDO META-FOSFORICO EN TROZOS P.A. (ESTABILIZADO CON METAFOSFATO SODICO) EMSURE	No aplica	1 100 G	210.00	210.00	120 días
1000632500	ÁCIDO ACETICO (GLACIAL) 100% ANHIDRO P.A. EMSURE ACS,ISO,REAG. PH EUR	No aplica	1 2,5 L	50.00	50.00	inmediato
					900.00	
13% de IVA					117.00	
Total \$					1,017.00	

Tiempo de entrega es según cada ítem y contado después de recibir la orden de compra.

Casilla de Producto Controlado: DEFENSA, son productos que requieren Permiso del Ministerio de la Defensa para su venta.

A partir del 2009 debe enviar el Permiso ORIGINAL de Defensa a la empresa proveedora. Como lo indica en parte baja del permiso
Garantía de la oferta: 30 días.

Forma de Pago: Crédito 30 días previa solicitud y aprobación, de lo contrario será contra entrega del producto.

Esperando contar con sus apreciables órdenes aprovechamos para enviarles un cordial saludo.

Atentamente,

RGH DE EL SALVADOR,S.A. DE C.V.

Lic. Josué Salazar

Representante de Ventas

e-mail: josue.salazar@gruporgh.com

Tel: 2523-2803 Cel. 7601-5153

Este documento ha sido generado electrónicamente y es válido sin una firma y sello.

RGH de El Salvador, S.A. de C.V.

Reg. 134360-7

MEDIANOS Contribuyentes

Figura N°6. Cotización de Reactivos RGH.

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO N°3

Fotografías de instrumentos y cristalería a utilizar en la práctica.

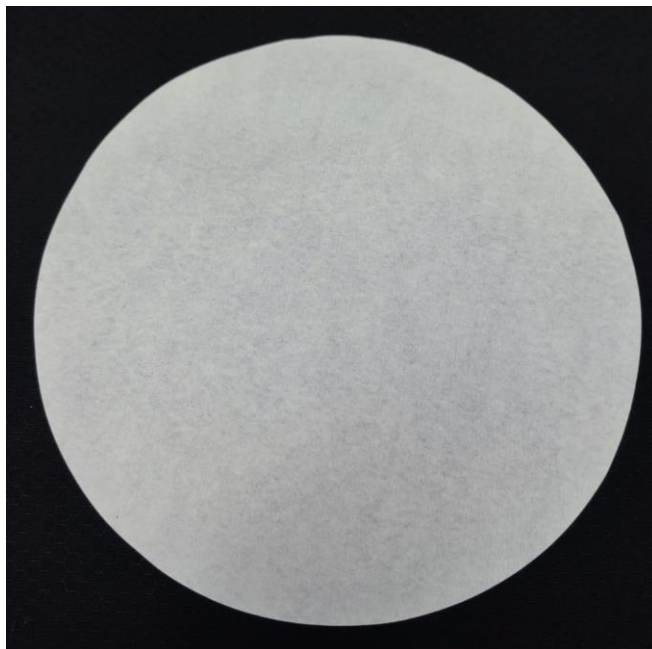


Figura N°7. Muestra de papel filtro poro grueso para la ejecución de la práctica.

Fuente: Elaboración propia.



Figura N°8. Instrumentos y cristalería a utilizar en la práctica.²

ANEXO N°4

Normativa CODEX para el Jugo de Naranja.¹⁰

2.7. **Uso de concentrados**

Se permite la adición de concentrados al zumo. Sólo podrán emplearse concentrados de naranja (*Citrus sinensis* (L) Osbeck) y de mandarina (*Citrus reticulata* Blanco).

3. **CONTAMINANTES NIVEL MÁXIMO**

3.1.	Arsénico (AS)	0,2 mg/kg
3.2.	Plomo (Pb)	0,3 mg/kg
3.3.	Cobre (Cu)	5 mg/kg
3.4.	Zinc (Zn)	5 mg/kg
3.5.	Hierro (Fe)	15 mg/kg
3.6.	Estaño (Sn)	250 mg/kg
3.7.	Suma de cobre, zinc y hierro	20 mg/kg
3.8.	Dióxido de azufre	10 mg/kg

4. **HIGIENE**

4.1. Se recomienda que los productos regulados por las disposiciones de esta norma se preparen de conformidad con el Código Internacional Recomendado de Prácticas de Higiene para las Frutas y Hortalizas en Conserva (Ref. CAC/RCP 2-1969), y los Principios Generales de Higiene de los Alimentos (Ref. CAC/RCP 1-1969, Rév. 2 (1985)) recomendados por la Comisión del Codex Alimentarius.

4.2. Analizado con métodos adecuados de muestreo y examen, el producto:

Estará exento de microorganismos que pueden desarrollarse en condiciones normales de almacenamiento; y

estará exento de toda sustancia originada por microorganismos en cantidad que pueda representar un riesgo para la salud.

5. **PESOS Y MEDIDAS**

5.1. **Llenado de los recipientes**

5.1.1. **Llenado mínimo**

El zumo (jugo) de naranja deberá ocupar, como mínimo, el 90% v/v de la capacidad de agua del envase. La capacidad de agua del envase es el volumen de agua destilada a 20°C, que el envase cerrado puede contener cuando está completamente lleno.

6. **MARCADO O ETIQUETADO**

6.1. **Envases destinados al consumidor final**

Además de los requisitos de la Norma General del Codex para el Etiquetado de los Alimentos Preenvasados (Ref. CODEX STAN 1-1985, Volumen 1 del Codex Alimentarius), se aplicarán las siguientes disposiciones:

6.1.1. **Nombre del alimento**

El nombre del producto será "zumo (jugo) de naranja", a menos que se haya añadido azúcar o azúcares en cantidad mayor de 15 g/kg, en cuyo caso el nombre "zumo (jugo) de naranja" deberá ir acompañado, en forma clara y visible, de las palabras "X añadido", donde "X" representa el nombre o nombres del azúcar o azúcares añadidos.

Si la proporción del total de sólidos solubles determinado según se indica en 2.1, respecto al total de ácido titulable, expresado como ácido cítrico anhidro, es mayor de 15 a 1, en lugar de la expresión "X añadido", podrá utilizarse la palabra "azucarado".

6.1.2. Lista de ingredientes

En la etiqueta deberá figurar la lista completa de los ingredientes, incluso la presencia de los zumos (jugos) de las variedades de Citrus reticulata, empleando, al menos, su nombre común, por orden decreciente de proporciones, con la excepción de que no será necesario declarar el agua añadida para la reconstitución del zumo, de conformidad con lo establecido en la Sección 1. Cuando se trate de zumo de naranja preparado a partir de un concentrado, el hecho de la reconstitución deberá declararse en la lista de ingredientes en la forma siguiente: "zumo (jugo) de naranja preparado a partir de un concentrado" o "zumo (jugo) de naranja reconstituido", o "zumo (jugo) de naranja preparado a partir de zumo (jugo) de naranja concentrado." Cuando no haya ingredientes que enumerar, de conformidad con la sección 6.1.2.1, deberá aparecer en la etiqueta la expresión "zumo (jugo) de naranja preparado a partir de un concentrado" o "zumo (jugo) de naranja reconstituido" o "zumo (jugo) de naranja preparado a partir de zumo (jugo) de naranja concentrado."

6.1.3. Requisitos adicionales

Se aplicarán las siguientes disposiciones específicas adicionales:

En la etiqueta no podrá representarse gráficamente otra fruta que no sea la naranja, ni otro zumo (jugo) que no sea el zumo de naranja.

Cuando el zumo (jugo) de naranja deba conservarse refrigerado, deberán darse instrucciones para su conservación y, en caso necesario, para la descongelación del producto.

6.1.4. Marcado de la fecha

La "fecha de durabilidad mínima" deberá declararse en mes y año, en secuencia numérica no codificada, salvo que, cuando se trate de productos con duración en almacén superior a 18 meses, bastará el año.

6.1.5. Instrucciones para la conservación

Cuando sea practicable, las instrucciones para la conservación deberán figurar lo más cerca posible de la marca que indica la fecha.

6.2. Recipientes no destinados a la venta al por menor

Cuando se trata de zumo de naranja a granel, la información exigida en la Sección 6.1 deberá figurar en el envase, o en los documentos que lo acompañan, salvo el nombre del producto y el nombre y la dirección del fabricante o del envasador que deberán aparecer en el envase. De todos modos, podrá sustituirse el nombre y la

ANEXO N°5

**Norma Salvadoreña Directrices Del Codex Alimentarius
Sobre Etiquetado Nutricional NSO CODEX CAC/GL 2.¹¹**

**NORMA
SALVADOREÑA**

NSO CODEX CAC/GL 2

**DIRECTRICES DEL CODEX ALIMENTARIUS SOBRE
ETIQUETADO NUTRICIONAL**

CORRESPONDENCIA: Esta Norma es una adaptación de la Norma Directrices del Codex Alimentarius sobre Etiquetado Nutricional CAC / GL 2-1985 (Rev. 1. (1993).

ICS 67.040

NSO 67.10.02:99

Editada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACYT, Colonia Médica, Av. Dr. Emilio Alvarez, Pje. Dr. Guillermo Rodríguez Pacas # 51, San Salvador, El Salvador, Centro América. Teléfonos : 226 2800, 225 6222 ; Fax. 226 6255 ; e-mail : info@ns.conacyt.gob.sv.

Derechos Reservados.

Carbohidratos 4 kcal/g - 17kJ

(1) Como norma, al decidir qué constituye una cantidad significativa, se debería considerar el 5 % de la ingesta recomendada (de la población pertinente) aportada por la ración cuantificativa en la etiqueta.

Proteínas 4 kcal/g - 17kJ

Grasas 9 kcal/g - 37kJ

Alcohol (etanol) 7 kcal/g - 29kJ

Acidos orgánicos 3 kcal/g - 13kJ

3.2.7.2 Cálculo de proteínas

La cantidad de proteínas que ha de indicarse, deberá calcularse utilizando la fórmula siguiente:

$$\text{Proteína} = \text{contenido de nitrógeno Kjeldahl} \times 6.25$$

a no ser que se dé un factor diferente en la norma de Codex o en el método de análisis del Codex para dicho alimento.

3.3 PRESENTACION DEL CONTENIDO EN NUTRIENTES

- 3.3.1 La declaración del contenido de nutrientes debería hacerse en forma numérica. No obstante, no se excluirá el uso de otras formas de presentación.
- 3.3.2 La información sobre el valor energético deberá expresarse en kJ (kilojulios) y kcal (kilocalorías) por 100 g o por 100 ml, o por envase, si éste contiene sólo una porción. Esta información podrá darse además por ración cuantificada en la etiqueta, o por porción, si se indica el número de porciones que contiene el envase.
- 3.3.3 La información sobre la cantidad de proteínas, carbohidratos y grasas que contienen los alimentos deberá expresarse en g por 100 g o por 100 ml o por envase, si este contiene sólo una porción. Además, esta información podrá darse por ración cuantificada en la etiqueta, o por porción, si se declara el número de porciones que contiene el envase.
- 3.3.4 La información numérica sobre vitaminas y minerales debe expresarse en unidades del sistema métrico y/o porcentaje del Valor de Referencia de Nutrientes por 100 g o por 100 ml o por envase, si el envase contiene una sola porción. Además, esta información puede indicarse referida a la cantidad por ración que aparece en la etiqueta o por porción, siempre y cuando se

declare el número de porciones contenidas en el envase.

Además, la información sobre el contenido de proteínas se puede expresar también en porcentajes del Valor de Referencia de Nutrientes. (1)

En el etiquetado, deberán utilizarse los siguientes Valores de Referencia de Nutrientes en aras de lograr una uniformidad y estandarización internacionales:

Proteína	(g)	50
Vitamina A	(Φg)	800 ²
Tiamina B	(Φg)	5 ³
Vitamina C	(mg)	60
Tiamina	(mg)	1.4
Riboflavina	(mg)	1.6
Niacina	(mg)	18 ²
Vitamina B ₆	(mg)	2
Folacina	(Φg)	200
Vitamina B ₁₂	(Φg)	1
Calcio	(mg)	800
Magnesio	(mg)	300
Hierro	(mg)	14
Zinc	(mg)	15
Yodo	(Φg)	150 ²
Cobre		valor no establecido
Selenio		valor no establecido

3.3.5 En los países en los que normalmente se indican raciones, la información exigida en las Subsecciones 3.3.2, 3.3.3, 3.3.4, podrá expresarse solamente por ración cuantificada en la etiqueta o por porción si se indica el número de porciones que contiene el envase.

3.3.6 La presencia de carbohidratos disponibles deberá declararse en la etiqueta como "carbohidratos". Cuando se declaren los tipos de carbohidratos, tal declaración deberá seguir inmediatamente a la declaración del contenido total de carbohidratos de la forma siguiente:

- 1 A fin de tomar en cuenta futuros progresos científicos, futuras recomendaciones FAO-OMS, de otros expertos y demás información pertinente, la lista de nutrientes y la lista de valores de referencia deberán mantenerse en revisión.
- 2 Adición propuesta a la Sección 3.2.7. (Cálculo de Nutrientes) de las Directrices del Codex sobre Etiquetado Nutricional: "Para la declaración de β -caroteno (provitamina A) se debe emplear el siguiente factor de conversión: 1 μ g retinol = 6 μ g de β -caroteno.
- 3 Los Valores de Referencia de Nutrientes para la Vitamina D, la Niacina, y el Yodo pueden no ser aplicables a los países cuyas políticas nacionales de nutrición o condiciones locales permiten disponer de una cantidad suficiente para asegurar que las necesidades individuales queden satisfechas. Véase también la Sección

ANEXO N°6
AOAC Método Oficial 967.21.¹³

15

chapter

Vitamin C Determination by Indophenol Method

S. Suzanne Nielsen

*Department of Food Science, Purdue University,
West Lafayette, IN, USA
e-mail: nielsens@purdue.edu*

- 15.1 Introduction
 - 15.1.1 Background
 - 15.1.2 Reading Assignment
 - 15.1.3 Objective
 - 15.1.4 Principle of Method
 - 15.1.5 Chemicals
 - 15.1.6 Reagents
 - 15.1.7 Hazards, Precautions,
and Waste Disposal
 - 15.1.8 Supplies
 - 15.1.9 Equipment
 - 15.1.10 Notes
- 15.2 Procedure
 - 15.2.1 Standardization of Dye
 - 15.2.2 Analysis of Juice Samples
- 15.3 Data and Calculations
 - 15.3.1 Data
 - 15.3.2 Calculations
- 15.4 Questions

15.1 INTRODUCTION

15.1.1 Background

Vitamin C is an essential nutrient in the diet, but is easily reduced or destroyed by exposure to heat and oxygen during processing, packaging, and storage of food. The US Food and Drug Administration requires the vitamin C content to be listed on the nutrition label of foods. The instability of vitamin C makes it more difficult to ensure an accurate listing of vitamin C content on the nutrition label.

The official method of analysis for vitamin C determination of juices is the 2,6-dichloroindophenol titrimetric method (AOAC Method 967.21). While this method is not official for other types of food products, it is sometimes used as a rapid, quality control test for a variety of food products, rather than the more time-consuming microfluorometric method (AOAC Method 984.26). The procedure outlined below is from AOAC Method 967.21.

15.1.2 Reading Assignment

AOAC International. 2016. *Official Methods of Analysis*, 20th ed., (On-line). Method 976.21, AOAC International, Rockville, MD.

Pegg, R.B., and Eitenmiller, R.R. 2017. Vitamin analysis. Ch. 20, in *Food Analysis*, 5th ed. S.S. Nielsen (Ed.), Springer, New York.

15.1.3 Objective

Determine the vitamin C content of various orange juice products using the indicator dye 2,6-dichloroindophenol in a titration method.

15.1.4 Principle of Method

Ascorbic acid reduces the indicator dye to a colorless solution. At the endpoint of titrating an ascorbic acid-containing sample with dye, excess unreduced dye is a rose-pink color in the acid solution. The titer of the dye can be determined using a standard ascorbic acid solution. Food samples in solution then can be titrated with the dye and the volume for the titration used to calculate the ascorbic acid content.

15.1.5 Chemicals

	CAS no.	Hazards
Acetic acid (CH ₃ COOH)	64-19-7	Corrosive
Ascorbic acid	50-81-7	
2,6-Dichloroindophenol (DCIP) (sodium salt)	620-45-1	
Metaphosphoric acid (HPO ₃)	37267-86-0	Corrosive
Sodium bicarbonate (NaHCO ₃)	144-55-8	

15.1.6 Reagents

(**It is recommended that samples be prepared by the laboratory assistant before class.)

- Ascorbic acid standard solution (prepare only at time of use)
 - Accurately weigh (on an analytical balance) approximately 50 mg ascorbic acid [preferably US Pharmacopeia (USP) Ascorbic Acid Reference Standard]. Record this weight. Transfer to a 50-mL volumetric flask. Dilute to volume *immediately before use* with the metaphosphoric acid-acetic acid solution (see below for preparation of this solution).
- Indophenol solution – dye
 - To 50 mL deionized distilled (dd) water in a 150-mL beaker, add and stir to dissolve 42 mg sodium bicarbonate, and then add and stir to dissolve 50 mg 2,6-dichloroindophenol sodium salt. Dilute mixture to 200 mL with dd water. Filter through fluted filter paper into an amber bottle. Close the bottle with a stopper or lid and store refrigerated until used.
- Metaphosphoric acid-acetic acid solution
 - To a 250-mL beaker, add 100 mL dd water then 20 mL acetic acid. Add and stir to dissolve 7.5 g metaphosphoric acid. Dilute mixture to 250 mL with distilled water. Filter through fluted filter paper into a bottle. Close the bottle with a stopper or lid and store refrigerated until used.
- Orange juice samples**
 - Use products processed and packaged in various ways (e.g., canned, reconstituted frozen concentrate, fresh squeezed, not-from-concentrate). Filter juices through cheesecloth to avoid problems with pulp when pipetting. Record from the nutrition label for each product the percent of the Daily Value for vitamin C.

15.1.7 Hazards, Precautions, and Waste Disposal

Preparation of reagents involves corrosives. Use appropriate eye and skin protection. Otherwise, adhere to normal laboratory safety procedures. Waste likely may be put down the drain using a water rinse, but follow good laboratory practices outlined by environmental health and safety protocols at your institution.

15.1.8 Supplies

(Used by students)

- Beaker, 250 mL
- 2 Bottles, glass, 200–250 mL, one amber and one clear, both with lids or stoppers
- Buret, 50 or 25 mL

- 9 Erlenmeyer flasks, 50 mL (or 125 mL)
- Fluted filter paper, two pieces
- Funnel, approx. 6–9 cm diameter (to hold filter paper)
- Funnel, approx. 2–3 cm diameter (to fill buret)
- 2 Glass stirring rods
- Graduated cylinder, 25 mL
- Graduated cylinder, 100 mL
- Pipette bulb or pump
- Ring stand
- 3 Spatulas
- Volumetric flask, 50 mL
- Volumetric flask, 200 mL
- Volumetric flask, 250 mL
- 2 Volumetric pipettes, 2 mL
- Volumetric pipette, 5 mL
- Volumetric pipette, 7 mL
- Volumetric pipette, 10 or 20 mL
- Weighing boats or paper

15.1.9 Equipment

- Analytical balance

15.1.10 Notes

The instructor may want to assign one or two types of orange juice samples to each student (or lab group) for analysis, rather than having all students analyze all types of orange juice samples. Quantities of supplies and reagents specified are adequate for each student (or lab group) to standardize the dye and analyze one type of orange juice sample in triplicate.

15.2 PROCEDURE

(Instructions are given for analysis in triplicate.)

15.2.1 Standardization of Dye

1. Pipette 5 mL metaphosphoric acid-acetic acid solution into each of three 50-mL Erlenmeyer flasks.
2. Add 2.0 mL ascorbic acid standard solution to each flask.
3. Using a funnel, fill the buret with the indophenol solution (dye) and record the initial buret reading.
4. Place the Erlenmeyer flask under the tip of the buret. Slowly add indophenol solution to standard ascorbic acid solution until a light but distinct rose-pink color persists for >5 s (takes about 15–17 mL). Swirl the flask as you add the indophenol solution.
5. Note final buret reading and calculate the volume of dye used.
6. Repeat Steps 3–5 for the other two standard samples. Record the initial and final buret

readings and calculate the volume of dye used for each sample.

7. Prepare blanks: Pipette 7.0 mL metaphosphoric acid-acetic acid solution into each of three 50-mL Erlenmeyer flasks. Add to each flask a volume of distilled water approximately equal to the volume of dye used above (i.e., average volume of dye used to titrate three standard samples).
8. Titrate the blanks in the same way as Steps 3–5 above. Record initial and final buret readings for each titration of the blank, and then calculate the volume of dye used.

15.2.2 Analysis of Juice Samples

1. Pipet into each of three 50-mL Erlenmeyer flasks 5 mL metaphosphoric acid-acetic acid solution and 2 mL orange juice.
2. Titrate each sample with the indophenol dye solution (as you did in Sect. 15.2.1, Steps 3–5) until a light but distinct rose-pink color persists for >5 s.
3. Record the initial and final readings and calculate the difference to determine the amount of dye used for each titration.

15.3 DATA AND CALCULATIONS

15.3.1 Data

	Rep	Buret start (mL)	Buret end (mL)	Vol. titrant (mL)
Ascorbic acid standards	1			
	2			
	3			
				$\bar{X} =$
Blank	1			
	2			
	3			
				$\bar{X} =$
Sample	1			
	2			
	3			

15.3.2 Calculations

1. Using the data obtained in standardization of the dye, calculate the titer using the following formula:

$$\text{Titer} = F = \frac{\text{mg ascorbic acid in volume of standard solution titrated**}}{\left(\begin{array}{c} \text{average mL} \\ \text{dye used to} \\ \text{titrate standards} \end{array} \right) - \left(\begin{array}{c} \text{average mL} \\ \text{dye used to} \\ \text{titrate blank} \end{array} \right)}$$

**mg ascorbic acid in volume of standard solution titrated:

$$= (\text{mg of ascorbic acid} / 50\text{mL}) \times 2\text{mL}$$

- Calculate the ascorbic acid content of the juice sample in mg/mL, using the equation that follows and the volume of titrant for each of your replicates. Calculate the mean and standard deviation of the ascorbic acid content for your juice (in mg/mL). Obtain from other lab members the mean ascorbic acid content (in mg/mL) for other types of juice. Use these mean values for each type of juice to express the vitamin C content of the juice samples as milligrams ascorbic acid/100 mL and as milligrams ascorbic acid/8 fl. oz. (29.56 mL/fl. oz.).

$$\text{mg ascorbic acid/mL} = (X - B) \times (F / E) \times (V / Y)$$

where:

- X = mL for sample titration
- B = average mL for sample blank titration
- F = titer of dye
(= mg ascorbic acid equivalent to 1.0 mL indophenol standard solution)
- E = mL assayed (=2 mL)
- V = volume of initial assay solution (=7 mL)
- Y = volume of sample aliquot titrated (=7 mL)

Ascorbic acid (AA) content for replicates of orange juice sample:

Replicate	mg AA/ml
1	
2	
3	
	\bar{X} =
	SD =

Summary of ascorbic acid (AA) content of orange juice samples:

Sample identity	mg AA/mL	mg AA/100 mL	mg AA/8 fl. oz.
1			
2			
3			
4			

Example calculation:

Weight of ascorbic acid used = 50.2 mg

Average volume of titrant used:

Ascorbic acid standards = 15.5 mL

Blanks = 0.10 mL

Volume of titrant used for orange juice sample = 7.1 mL

$$\text{Titer} = F = \frac{[(50.2\text{mg} / 5\text{ mL}) \times 2\text{mL}]}{(15.5\text{mL} - 0.10\text{ mL})}$$

$$= 0.130\text{mg} / \text{mL}$$

$$\text{mg ascorbic acid} / \text{mL} = (7.1\text{mL} - 0.10\text{ mL})$$

$$\times (0.130\text{mg} / 2\text{mL}) \times (7\text{ mL} / 7\text{mL})$$

$$= 0.455\text{mg} / \text{mL}$$

$$0.455\text{mg} / \text{mL} = 45.4\text{mg} / 100\text{mL}$$

$$0.455\text{mg ascorbic acid} / \text{mL juice} \times 29.56\text{ mL} / \text{fl.oz.} \times 8\text{fl.oz.}$$

$$= 107.6\text{mL ascorbic acid} / 8\text{fl.oz.}$$

15.4 QUESTIONS

- By comparing results obtained for various orange juice products, did heat and/or oxygen exposure during processing and storage of the samples analyzed seem to affect the vitamin C content?
- How do results you have available for the juice samples analyzed compare to (1) values listed on the nutrition label for the same juice product and (2) values in the US Department of Agriculture Nutrient Database for Standard Reference (web address: <http://ndb.nal.usda.gov/>)? For the nutrition label values, convert percent of Daily Value to mg/8 fl. oz., given that the Daily Value for vitamin C is 90 mg. Why might the vitamin C content determined for a specific orange juice product not match the value as calculated from percent of Daily Value on the nutrition label?

Ascorbic acid content of orange juices (mg AA/8 fl. oz.):

Sample identity	Lab values	USDA database	Nutrition label
1			
2			
3			
4			

- Why was it necessary to standardize the indophenol solution?
- Why was it necessary to titrate blank samples?
- Why might the vitamin C content as determined by this method be underestimated in the case of the heat-processed juice samples?

RESOURCE MATERIALS

AOAC International (2016) Official methods of analysis, 20th edn. (On-line). AOAC International, Rockville, MD

Pegg RB, Eitenmiller RR (2017) Vitamin analysis. Ch. 20. In: Nielsen SS (ed) Food analysis, 5th edn. Springer, New York

ANEXO N°7

Presupuesto de certificados de calibración de insumos volumétricos

ANEXO No.2 PRECIOS REFERENCIA INSUMOS, MATERIALES Y REACTIVOS

No.	NOMBRE DEL BIEN O SERVICIO	ESPECIFICACIONES DEL BIEN O SERVICIO SOLICITADO	UNIDAD	CANTIDAD	VALOR PROMEDIO
1	Balones volumétricos	De 500 mL, clase A y con certificado de calibración,	cajajx12	1	\$ 134,228.57
2	Balones volumétricos	Balones volumétricos con capacidad de 50 ml, clase A, con certificado de calibración por lote.	Caja X 12	1	\$ 1,478,304.00
3	Balones volumétricos	Balones volumétricos con capacidad de 25 ml, clase A, con certificado de calibración por lote.	Caja X 12	1	\$ 691,824.00
4	Balones volumétricos	Balones volumétricos con capacidad de 100 ml, clase A, con certificado de calibración por lote	Caja X 12	1	\$ 1,085,064.00
5	Asas desechables	Asas desechables estériles, de polipropileno, en arto de 10ul	Empaque X10	20	\$ 600,000.00
6	Pipeta volumétrica 1 mL	clase A con certificado de calibración por lote	Unidad	6	\$ 66,120.00
7	Pipeta volumétrica 5 mL	clase A con certificado de calibración por lote	Unidad	12	\$ 165,648.00
8	pipeta volumétrica 10 mL	clase A con certificado de calibración por lote	Unidad	12	\$ 193,488.00
9	pipeta volumétrica 25 mL	clase A con certificado de calibración por lote	Unidad	18	\$ 501,120.00
10	pipeta volumétrica 50 mL	clase A con certificado de calibración por lote	Unidad	18	\$ 438,480.00
11	bureta 25 ml	clase A con certificado de calibración por lote	Unidad	12	\$ 3,271,200.00
12	pipeta volumétrica 100 mL	clase A con certificado de calibración por lote	Unidad	36	\$ 2,088,000.00
13	puntas Azules	compatibles con pipeta de 100 a 1000 ul marca sure petite. Paquete x 1000 puntas	paquete x 1000	5	\$ 271,505.00
14	puntas Blancas	compatibles con pipeta de 0.5 a 5 ml marca brand transferpette . Paquete x 200 puntas	paquete x 200	3	\$ 383,167.50
15	Puntas blancas	compatibles con pipeta de 1 a 10 ml marca brand transferpette . Paquete x 200 puntas	paquete x 200	2	\$ 420,152.00
16	Puntas de desplazamiento directo	Puntas PD estériles con codificación compatibles con pipeta repetidora HandyStep electrónica-Brand de capacidad 12.5 mL ref. 7023 92	Paquete x 100 uds	20	\$ 99,428.57
17	Beaker	De 600 mL de vidrio, caja x 6 unidades	caja	1	\$ 21,045.71
18	Beaker	De 1000 mL de vidrio, caja x 6 unidades	unidad	3	\$ 94,457.14
19	Beaker graduado, Vidrio de 250ml	Beaker graduado. Vidrio de 250ml	Unidad	24	\$ 392,544.00
20	Beaker graduado, Vidrio de 50ml	Beaker graduado. Vidrio de 50ml	Unidad	46	\$ 768,384.00
21	Balón volumétrico 5 mL	Balón en vidrio borosilicato, clase A, volumétrica de 1 aforo, con certificado de calibración por unidad de acuerdo a las normas ASTM E-542, ASTM E-961, DIN ISO 648.	Unidad	3	\$ 124,285.71

22	Balón volumétrico 10 mL	Balón en vidrio borosilicato, clase A, volumétrica de 1 aforo, con certificado de calibración por unidad de acuerdo a las normas ASTM E-542, ASTM E-961, DIN ISO 648.	Unidad	3	\$	159,085.71
23	Balón volumétrico 25 mL	Balón en vidrio borosilicato, clase A, volumétrica de 1 aforo, con certificado de calibración por unidad de acuerdo a las normas ASTM E-542, ASTM E-961, DIN ISO 648.	Unidad	3	\$	159,085.71
24	Balón volumétrico 50 mL	Balón en vidrio borosilicato, clase A, volumétrica de 1 aforo, con certificado de calibración por unidad de acuerdo a las normas ASTM E-542, ASTM E-961, DIN ISO 648.	Unidad	3	\$	174,000.00
25	Balón volumétrico 100 mL	Balón en vidrio borosilicato, clase A, volumétrica de 1 aforo, con certificado de calibración por unidad de acuerdo a las normas ASTM E-542, ASTM E-961, DIN ISO 648.	Unidad	3	\$	183,942.86
26	Balón volumétrico 150 mL	Balón en vidrio borosilicato, clase A, volumétrica de 1 aforo, con certificado de calibración por unidad de acuerdo a las normas ASTM E-542, ASTM E-961, DIN ISO 648.	Unidad	3	\$	198,856.00
27	Balón volumétrico 200 mL	Balón en vidrio borosilicato, clase A, volumétrica de 1 aforo, con certificado de calibración por unidad de acuerdo a las normas ASTM E-542, ASTM E-961, DIN ISO 648.	Unidad	3	\$	213,771.43
28	Balón volumétrico 250 mL	Balón en vidrio borosilicato, clase A, volumétrica de 1 aforo, con certificado de calibración por unidad de acuerdo a las normas ASTM E-542, ASTM E-961, DIN ISO 648.	Unidad	3	\$	218,742.86
29	Balón volumétrico 500 mL	Balón en vidrio borosilicato, clase A, volumétrica de 1 aforo, con certificado de calibración por unidad de acuerdo a las normas ASTM E-542, ASTM E-961, DIN ISO 648.	Unidad	3	\$	248,571.43
30	Balón volumétrico 1000 mL	Balón en vidrio borosilicato, clase A, volumétrica de 1 aforo, con certificado de calibración por unidad de acuerdo a las normas ASTM E-542, ASTM E-961, DIN ISO 648.	Unidad	3	\$	422,571.43
31	Balón volumétrico 2000 mL	Balón en vidrio borosilicato, clase A, volumétrica de 1 aforo, con certificado de calibración por unidad de acuerdo a las normas ASTM E-542, ASTM E-961, DIN ISO 648.	Unidad	3	\$	696,000.00
32	Panel de identificación de microorganismos Gram negativos fermentadores y no fermentadores	Panel de lectura en 18 horas BD 24500 (validado)	Panel x 20 pruebas	2	\$	1,453,760.00
33	Postal pack (material absorbente)	21 largo x 12.5 ancho x 3,1 alto	1 caja x 12	20	\$	8,480,000.00
34	Láminas para EEDD	Cajas	Cajas x 10	15	\$	4,800,000.00
35	Aceite de inmersión	Botella	100 ml	3	\$	312,000.00
36	Asas desechables	Asa de aro redondo por 10 microlitro	Caja de 300 por paquetes de 10 und	1	\$	200,000.00
37	Ertellian Resina protector de láminas, Densidad 0.95g/cm3(20°C)	Frasco	100 ml	2	\$	360,000.00
38	Bolsas Whirl-Pak	Bolsas estériles de 18 onz /532 ml	Caja x 500 und	6	\$	4,474,284.00
39	Bolsas whirl pak 36 onz	Bolsas estériles de 36 onzas de capacidad, 2.5 milisimas de pulgatas de espesor, lengüeta, resistentes a temperaturas de -210°C hasta 80°C, tapa amarilla	Caja x 500 uds	1	\$	1,044,000.00
40	bombillo microscopio	lámpara led compatible con microscopio olympus cx22 r1s1	unidades	6	\$	378,624.00