

Montaje de un método para la cuantificación de vitamina C en puré de fruta fortificado para niños menores de 3 años según la norma cubana NC-ISO 6557-2: 2002

Collado Coello, Anna Karelia¹

Fernández Triana, Ivette²

García Pino, Carlos A.³

Iglesias León, Nuris⁴

Mill Ballester, Ariadna⁵

¹ INHEM/Laboratorio de Residuos Tóxicos, La Habana, Cuba, karelia@inhem.sld.cu

² INHEM/Laboratorio de Química Sanitaria, La Habana, Cuba, ivette@inhem.sld.cu

³ INHEM/Laboratorio de Contaminantes Metálicos, La Habana, Cuba, carlos.garcia@infomed.sld.cu

⁴ INHEM/Laboratorio de Aditivos Alimentarios, La Habana, Cuba, nuris@inhem.sld.cu

⁵ INHEM/Laboratorio de Composición de los Alimentos, La Habana, Cuba, arimill@inhem.sld.cu

Resumen: Introducción: En uso de las propiedades de la vitamina C de potenciar la asimilación del hierro en el organismo, se comenzó a partir del año 2005, la fortificación de los purés de frutas con hierro y vitamina C para los niños cubanos de 6 meses a 2 años de edad. La Norma Cubana NC-ISO 6557-2: 2002 establece dos métodos de rutina para la determinación del contenido de vitamina C (ácido ascórbico) en frutas, vegetales y sus productos derivados. Nos dimos a la tarea de desarrollar este trabajo con el objetivo de montar el método para cuantificar la concentración de la vitamina C en los purés de fruta fortificados. Materiales y Métodos: Se emplearon reactivos de calidad analítica y el agua fue de calidad para análisis. Resultados: Los valores de concentración de ácido ascórbico obtenidos en ambos métodos (0,5 y 0,49mg por cada 100g de producto), no mostraron diferencias significativas y fueron similares a los reportados por el fabricante y a los niveles de fortificación (no menos de 30mg) declarados para este tipo de producto. La repetibilidad llevada a cabo en uno de los métodos sobre la misma porción de ensayo y por el mismo analista no debía exceder su valor del 3% dando como resultado 0.02% por lo que la diferencia no fue significativa entre las determinaciones analíticas. Conclusión: Se estableció el método de valoración con 2,6 DCIF en el laboratorio de composición de los alimentos como método de rutina y vigilancia.

Palabras clave: Ácido ascórbico, 2,6 diclorofenolindofenol (DCIF), vitamina C, vigilancia, fortificación.

I. INTRODUCCION

Los purés de frutas son productos de consumo diario en niños en edades comprendidas entre los 6 meses y 2 años de edad. Dichos purés se encuentran fortificados con ácido ascórbico o vitamina C, la cual es de suma importancia ya que es un excelente agente antioxidante que participa en 7 reacciones metabólicas en el ser humano; además se sabe que su deficiencia produce escorbuto, que es una enfermedad en la que se produce colágeno defectuosamente por lo que la reparación tisular no es normal, es lenta, hay fragilidad capilar con procesos hemorrágicos y anomalías óseas que pueden ser potencialmente letales (1). Es de suma importancia conocer si estos productos están fortificados correctamente, es decir, si cumplen o no con la normativa vigente, ya que son de consumo constante. Se eligió el puré de fruta de la marca comercial OSITO debido a que desde el año 2005 se fortifica con esta vitamina y con hierro y se destina al consumo de niños en la canasta básica. La producción y distribución de los purés de frutas fortificados que consumen los niños cubanos responde al plan nacional de muestreo en el programa de vigilancia que desarrolla el Departamento de Higiene de los alimentos del Instituto de Higiene, Epidemiología y Microbiología (INHEM) en conjunto a los laboratorios de Química Sanitaria, en el que hasta el momento se realiza la determinación de los niveles de hierro alcanzados en la fortificación realizada al puré de fruta. Contando con los recursos humanos, científico-técnicos y de infraestructura para contribuir al fortalecimiento del programa de vigilancia, nos propusimos como objetivo general de este trabajo:

1. Determinar si la concentración de ácido ascórbico (vitamina C) en los puré de frutas que consumen los niños se encuentra dentro de los parámetros establecidos según la normativa vigente correspondiente (NC-ISO 6557-02:2002 y Codex Alimentarius, Codex Stan 161-1989) mediante el montaje de dos métodos de rutina y como objetivos específicos nos propusimos:

1. Determinar contenido de ácido ascórbico por un método valorimétrico, en puré de frutas fortificado.
2. Determinar contenido de ácido ascórbico por un método espectrofotométrico, en puré de frutas fortificado y comparando los resultados obtenidos por ambos métodos desde un punto de vista cualitativo. La Norma Cubana NC-ISO 6557-2: 2002(2) establece dos métodos de rutina para la determinación del contenido de ácido ascórbico en frutas, vegetales y sus productos derivados. Aunque existen otros métodos para este tipo de análisis, en los laboratorios de la Sección está regulado el trabajo analítico principalmente con normas cubanas. Por ejemplo está la determinación de vitamina C por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) que es el método más preciso, pero el más costoso de todos mientras que los métodos desarrollados permiten la cuantificación lograr el alcance previsto ya que muestran sensibilidad en un rango de concentraciones de 10 a 160 mg/100g.

A. Dosis Diaria Recomendada de Vitamina C

Diariamente, un adulto necesita 90 mg máximo para un hombre y 75 mg máximo para una mujer. Estas dosis pueden variar de acuerdo a otros condicionantes o necesidades especiales. Así las mujeres deben aumentar las dosis de consumo de esta vitamina durante el embarazo y la lactancia (4).

Durante el embarazo hay una moderada necesidad de aumentar la dosis diaria de vitamina C, particularmente durante el último trimestre. 8 mg/día de vitamina C son suficientes para prevenir signos de escorbuto en infantes de 4 a 17 meses de edad; de allí que se necesite aumentar 10mg/día durante el

embarazo para el desarrollo del feto en el último trimestre. Durante la lactancia, 20 mg/día de vitamina C son secretados en la leche. Para una absorción asumida de 85%, las necesidades maternas requerirán un extra de 25 mg/día, es por tanto recomendable que la dosis debe ser de 70 mg/día para cumplir con las necesidades de la madre y del infante (5).

Aunque la vitamina C se degrada rápidamente de los alimentos, como se mencionó anteriormente, es de igual manera muy sencillo adquirir las necesidades básicas diarias de esta vitamina a través de una alimentación rica en alimentos vegetales naturales.

Tabla 1. Cantidades requeridas de Vitamina C en mg/día

INFANTES Y NIÑOS mg / día
0 – 6 meses 25
7 – 12 meses 30
1 – 3 años 30
4 – 6 años 30
7 – 9 años 35
ADOLESCENTES mg / día
10 – 18 años 40
ADULTOS mg / día
19 - 65 años 90
65 y más 90
Mujeres Embarazadas 100
Mujeres Lactando 120

Fuente: Vitamin and Mineral Requirements in Human Nutrition

En la Tabla 1, se reporta la cantidad requerida para saturar la mitad de los tejidos humanos con vitamina C en el 97.5% de la población. Según la FDA (Food and Drug Administration), para que la Vitamina C provea una protección antioxidante, la Dosis Dietética Recomendada (Recommended Dietary Allowance), RDA, es de 90mg/día para adultos hombres y de 75mg/día para mujeres adultas, considerando una mínima excreción de ascorbato por medio de la orina. Sin embargo, fumar, implica un aumento diario de aproximadamente 35mg/día. El nivel superior de consumo de Vitamina C es de 2g/día, concentración a la cual, los efectos adversos son la diarrea osmótica y disturbios gastrointestinales.

II. METODOS

A. Método de valoración con 2,6 DCIF:

El método se basa en la extracción del ácido ascórbico con una solución ya sea de ácido oxálico o de ácido meta fosfórico-ácido acético. Se procedió a extraer el analito de interés con una mezcla de ácido meta fosfórico y ácido acético preparada previamente. Se valoró con el colorante 2,6 DCIF hasta obtener un color rosado-salmón permanente por más de 5 segundos.

B. Valoración de la solución del colorante:

Se diluyó una alícuota de 5 mL de la solución patrón de ácido ascórbico con igual volumen de la solución de extracción. Se valoró rápidamente con la solución colorante (2,6 DCIF) hasta que persistió un color rosado salmón en la solución durante 5 segundos. La determinación se realizó por duplicado. Paralelamente se corrió un blanco, donde se reemplazó el volumen de la solución patrón de ácido ascórbico por igual cantidad de la solución de extracción.

C. Valoración de la muestra:

Se tomaron 3 alícuotas del filtrado resultante de la preparación de la muestra, y se valoraron rápidamente con la solución colorante hasta que se observó un color rosado salmón por no menos de 5 segundos⁽³⁾.

D. Método espectrofotométrico con 2,6 diclorofenolindofenol:

El método se basa en la extracción del ácido ascórbico de la porción de ensayo usando una solución de ácido oxálico y una de ácido meta fosfórico-ácido acético. Reducción cuantitativa del 2,6 DCIF por el ácido ascórbico, extracción del exceso de colorante con Xileno y su determinación cuantitativa en un espectrofotómetro empleando una longitud de onda de 500 nm.

En ambos métodos se trabajó con reactivos de calidad analítica reconocida, agua para análisis de acuerdo a la ISO 3696:1987 Water for analytical laboratory use.

E. Solución patrón de ácido ascórbico:

Se pesó empleando balanza analítica una cantidad exacta de ácido ascórbico (1 g) con balanza analítica de sensibilidad de alrededor de los 0.1 mg, transfiriéndolos a un matraz aforado de 50 mL y se enrasó con la solución de extracción preparada previo al análisis.

F. Gráfico de calibración:

Se transfirieron a 4 tubos de centrifuga, la misma cantidad de solución de extracción empleada en las determinaciones. Se le añadió a cada uno de ellos la misma cantidad de solución tampón de pH 4 aceta- to de sodio-acido acético y se añadieron respectivamente 0.2, 0.4, 0.6 y 0.8mL de la solución colorante. Luego se procedió a leer en un espectrofotómetro de la firma SHIMADZU, modelo y con las lecturas se graficó una curva de calibración, ploteando valores de absorbancia contra concentración ^(1,7).

III. RESULTADOS

Se muestran los resultados de dos métodos montados para la determinación de vitamina C en puré de frutas fortificado con ácido ascórbico reportados en la NC-ISO 6557-02:2002

D. Método espectrofotométrico con 2,6 diclorofenolindofenol: Expresión de resultados

La Tabla 2, muestra los valores de concentración de la solución colorante y sus respectivos valores de absorbancia obtenidos en el espectrofotómetro.

Tabla 2. Valores ploteados de concentración contra absorbancia

<i>Concentración de solución colorante (mg/mL)</i>	<i>Valores de absorbancia</i>
<i>0.2</i>	<i>0.154</i>
<i>0.4</i>	<i>0.199</i>
<i>0.6</i>	<i>0.249</i>
<i>0.8</i>	<i>0.333</i>

Fig.1 Curva de calibración absorbancia contra concentración.

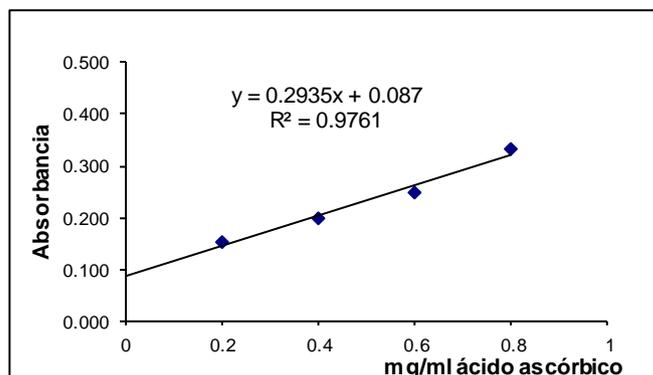


Tabla 3. Determinación de la concentración de 2 muestras de puré de frutas fortificado

Muestra	Conc. Vit. C (mg/mL)
M1	0.51
M2	0.49

A. Método de valoración volumétrica

Se mezclaron 20g de muestra con 30 mL de solución de extracción. Se filtró empleando embudo y algodón. Del filtrado se tomaron 3 alícuotas de tal forma que contengan alrededor de 2 mg de ácido ascórbico y se adicionaron a 3 enlermeyers de 100mL cada uno. Se cargó la bureta ámbar de vidrio con 25mL de la solución colorante 2,6 DCIF y se valoraron rápidamente arrojando los siguientes resultados.

IV. CONCLUSIONES

1. Los métodos para la cuantificación de ácido ascórbico en purés de frutas fortificados mediante valoración con 2,6 DCIF y espectrofotometría con previa extracción con xileno, fueron montados en el laboratorio de Composición de los alimentos del INHEM, no existiendo diferencias significativas entre los valores de concentración de vitamina C, ni entre los métodos desarrollados.
2. Según ambos métodos empleados en la determinación de la fortificación con vitamina C, se determinó que la cantidad de la misma declarada en productos fortificados para niños es la adecuada y cumple con los requisitos de calidad establecidos (no menos de 30mg por 100g de producto).
3. Se estableció el método de valoración para análisis de rutina en el laboratorio de Composición de alimentos del INHEM y para seguimiento de los niveles de fortificación en los productos que lo requieran.

IV. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda proceder a la validación del método que se eligió para dar seguimiento a la vigilancia en las fortificaciones del producto analizado.

REFERENCIAS

(1) VITAMIN AND MINERAL REQUIREMENTS IN HUMAN NUTRITION, 2nd EDITION. WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2004. Consultado 05 de mayo del 2009. Disponible en http://whqlibdoc.who.int/publications/2004/92415461_23_chap7.pdf

(2) Norma Cubana. Frutas, Vegetales y Productos derivados. Determinación del contenido de Acido ascórbico. Métodos de rutina.ISO 6557-2:2002.1 Edición. Noviembre 2002.ONN. Cuba.

(3) Instituto de Nutrición de los Alimentos de Centroamérica y Panamá –INCAP-. 2002. Organización Panamericana de la Salud OPS. VALOR NUTRICIONAL DE LOS ALIMENTOS DE CENTROAMÉRICA.

(4) Latham Michael C., (2004). Nutrición humana en el mundo en desarrollo, <http://www.fao.org>, consultado el 16 de abril de 2010.

(5) Cervera, Pilar. 1993. ALIMENTACIÓN Y DIETOTERAPIA. Editorial Interamericana, McGraw Hill. 2da. Edición. México. Pp 54-62.

(6) USP 30. 2007. The United States Pharmacopeia. NF 25. The National Formulary.

(7) Norman N. Potter, Ph D. 1998. LA CIENCIA DE LOS ALIMENTOS. Harla. México. pp 74-75.