



**UNIVERSIDAD  
DEL AZUAY**

## **Facultad de Ciencia y Tecnología**

**Escuela de Ingeniería en Alimentos**

**Desarrollo de un método analítico para determinar la pureza  
del Ácido Ascórbico, Ascorbato de Sodio y Eritorbato de  
Sodio para la empresa “La Italiana”**

**Trabajo de graduación previo a la obtención del título de:  
Ingeniera en Alimentos**

**Autora:**

**ANA BELÉN CALLE DÍAZ**

**Director:**

**ANDRÉS PÉREZ GONZÁLEZ**

**Codirector:**

**JAVIER MOSCOSO**

**CUENCA, ECUADOR**

**2021**

**DEDICATORIA**

*A Dios quien ha sido mi guía y mi fortaleza a lo largo de mi carrera universitaria, quien junto a su mano me ha dirigido en mi formación como profesional. A mis padres Marco y Fanny quienes, con su amor, su paciencia y su gran esfuerzo me han permitido alcanzar un sueño tan grande como es este, además de educarme bajo el ejemplo de esfuerzo y honestidad, permitiendo convertirme el ser humano que soy ahora e inspirarme a seguir siendo una mejor profesional y persona día con día. A mi hermano Paúl por su cariño y apoyo incondicional, durante este proceso y por permanecer siempre junto a mi brindándome palabras de aliento que me acompañaran toda la vida.*

## AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi gratitud a Dios, quien con su bendición siempre llena mi vida y a toda mis padres y hermano por estar siempre estar junto a mí en cada etapa de la misma.

Mi profundo agradecimiento a dos grandes profesionales que me han brindado su apoyo en este trabajo de tesis. Ingeniero Andrés Pérez González, mi tutor y mi guía quien su conocimiento, experiencia y profesionalismo me han ayudado a crecer tanto en la parte humana como en la profesional Ingeniero Javier Moscoso Calle por haberme dado la oportunidad de desarrollar este trabajo en la empresa “La Italiana” y quien ha tenido siempre la predisposición de ayudarme con su apoyo profesional, además de la apertura en la elaboración de este trabajo.

De igual manera mis agradecimientos a dos importantes instituciones. Universidad del Azuay, Facultad de Ciencia y Tecnología y a mis profesores de la carrea de Ingeniería en Alimentos quienes a lo largo de este periodo de aprendizaje me brindaron sus valiosos conocimientos para formarme como una excelente profesional.

Además, mi profundo agradecimiento a la Empresa ITALIMENTOS Cía. Ltda. y de manera extendida al Sr. Juan Jetón y al Sr. Andrés Jetón por brindarme, la oportunidad de realizar mi trabajo de titulación en sus instalaciones.

Finalmente quiero agradecer a mis buenos amigos Belén, Antonio, Andrés y Juan quienes me han acompañado durante mi etapa universitaria, compartiendo grandes memorias juntos además de su amistad durante todos estos años.

**Desarrollo de un método analítico para determinar la pureza del Ácido Ascórbico,  
Ascorbato de Sodio y Eritorbato de Sodio para la empresa “La Italiana”**

**RESUMEN**

El presente trabajo de investigación tiene como finalidad proporcionar un método de aplicación analítico vinculándolo con uno espectrofotométrico para control y calidad de antioxidantes aplicados en la formulación de derivados cárnicos para la empresa “La Italiana”. La importancia de la implementación de antioxidantes dentro de la formulación de productos cárnicos radica en evitar el enranciamiento oxidativo y pérdidas económicas en producciones masivas. Se adecuó un método en base a la norma INEN 2326 en donde se realizó la construcción de una curva de calibración a partir de una solución patrón de hierro que permitirá delimitar el grado de concentración que posee el ácido ascórbico, eritorbato de sodio y ascorbato de sodio. Los resultados obtenidos tras la delimitación de parámetros de trabajo en pruebas aplicadas soportan el desarrollo de un modelo fiable que facilita la determinación de la pureza del aditivo previo a la aplicación en el embutido.

**Palabras clave:** Embutidos y derivados cárnicos, antioxidantes, oxidación lipídica, análisis químicos, fotometría



Andrés Pérez González.

**Director de tesis**



María Fernanda Rosales M.

**Coordinadora de escuela**



Ana Belén Calle Díaz

**Autor**

**ABSTRACT**

The purpose of this research work is to provide an analytical application method linked to a spectrophotometric one for the control and quality of antioxidants applied in the formulation of meat derivatives for the company "La Italiana". The importance of implementing antioxidants in the composition of meat products lies in avoiding oxidative rancidity and economic losses in mass production. A method was adapted based on the INEN 2326 standard, in which a calibration curve was constructed from a standard solution of iron that will allow delimiting the degree of concentration of ascorbic acid, sodium erythorbate and sodium ascorbate. The results obtained after the delimitation of working parameters in applied tests support the development of a reliable model that facilitates the determination of the purity of the additive prior to its application in the sausage.

**Keywords:** Sausages and meat by-products, antioxidants, lipid oxidation, chemical analysis, photometry



Andrés Pérez González.

**Thesis Director**



María Fernanda Rosales M.

**Food Engineering Faculty Coordinator**



Ana Belén Calle Díaz

**Author**



Translated by

## INDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTOS .....	iii
RESUMEN .....	iv
ABSTRACT .....	v
INDICE DE CONTENIDOS.....	vi
INDICE DE FIGURAS .....	ix
INDICE DE TABLAS .....	x
INDICE DE ECUACIONES .....	xi
1. CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO .....	12
1.1. Composición de los Embutidos .....	12
1.1.1. Definición de Lípidos .....	12
1.1.2. Definición de Embutidos.....	12
1.2. Proceso de producción de derivados cárnicos.....	12
1.2.1. Materia prima que interviene en la elaboración de embutidos .....	12
1.2.1.1. Materia prima cárnica.....	13
1.2.1.2. Materia prima no cárnica .....	13
1.3. Mecanismos de degradación lipídica en derivados cárnicos .....	15
1.3.1. Oxidación lipídica en embutidos .....	15
1.3.1.1. Fase de iniciación.....	15
1.3.1.2. Fase de propagación .....	16
1.3.1.3. Fase de terminación.....	16
1.4. Mecanismos de acción de los antioxidantes .....	16
1.4.1. Acción anticatalítica .....	16
1.4.2. Acción antirradicalaria .....	16
2. CAPITULO II: MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
2.1. Validación de análisis químicos .....	17
2.2. Métodos de validación para análisis químico .....	17
2.3. Parámetros para validación estadísticos .....	18
2.3.1. Linealidad y rango de trabajo .....	18
2.3.2. Regresión lineal por mínimos cuadrados .....	19
2.3.3. Límites de detección .....	19
2.3.4. Límites de cuantificación.....	19
2.3.5. Precisión.....	20
2.3.6. Exactitud.....	20

2.3.7. Incertidumbre y errores.....	20
2.3.8. Métodos para establecer la exactitud en análisis químicos.....	22
2.4. Validación de análisis fotométricos.....	22
2.4.1. Transmitancia .....	23
2.4.2. Absorbancia.....	23
2.4.3. Ley de Lambert-Beer.....	24
2.4.4. Espectro de absorción.....	24
2.4.5. Valoración fotométrica .....	24
2.5. Curva de valoración.....	25
2.6. Calidad de ensayos químicos .....	25
2.7. Muestras .....	26
2.8. Delimitación de método analítico .....	26
2.8.1. Método yodométrico.....	26
2.8.2. Método del Indofenol .....	27
2.8.3. Determinación de Hierro .....	27
3. CAPITULO III: RESULTADOS.....	30
3.1. Método Yodométrico .....	30
3.2. Método Indofenol .....	30
3.3. Método de determinación de hierro.....	30
3.3.1. Delimitación de parámetros para pruebas .....	30
4. DISCUSIÓN .....	48
4.1. Método Yodométrico .....	48
4.2. Determinación de hierro .....	48
5. CONCLUSIONES .....	52
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53
ANEXOS .....	566
Anexo 1 .....	56
Anexo 2 .....	57
Anexo 3 .....	58
Anexo 4 .....	59
Anexo 5 .....	60
Anexo 6 .....	61
Anexo 7 .....	62
Anexo 8 .....	63
Anexo 9 .....	64
Anexo 10 .....	65

Anexo 11 .....	66
Anexo 12 .....	67
Anexo 13 .....	68
Anexo 14 .....	69
Anexo 15 .....	70
Anexo 16 .....	71
Anexo 17 .....	72
Anexo 18 .....	73
Anexo 19 .....	74
Anexo 20 .....	75
Anexo 21 .....	76
Anexo 22 .....	
777	
Anexo 23 .....	78
Anexo 24 .....	79

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Indica los criterios para determinar estos procedimientos analíticos que se basan en el siguiente esquema operativo.....	18
<b>Figura 2.</b> Espectro UV visible .....	30
<b>Figura 3.</b> Soluciones patrón vs Absorbancia.....	31
<b>Figura 4.</b> Soluciones patrón vs Absorbancia (sin patrón 25 ppm) .....	311
<b>Figura 5.</b> Soluciones patrón vs Absorbancia (sin patrón 25 y 50 ppm).....	322
<b>Figura 6.</b> Soluciones patrón vs Absorbancia (sin patrón 50 ppm) .....	322
<b>Figura 7.</b> Cálculo de regresión lineal en función de 2.2 g de Ácido ascórbico y 1.2 g de Bpiridina/ Prueba 1 .....	333
<b>Figura 8.</b> Cálculo de regresión lineal en función de 2.2 g de Ácido ascórbico y 1.2 g de Bpiridina/ Prueba 2 .....	344
<b>Figura 9.</b> Cálculo de regresión lineal en función de 2.2 g de Ácido ascórbico y 1.2 g de Bpiridina/ Prueba 3 .....	344
<b>Figura 10.</b> Cálculo de regresión lineal en función de 2.2 g de Ácido ascórbico y 1.2 g de Bpiridina/ Prueba 4 .....	355
<b>Figura 11.</b> Cálculo de regresión lineal en función de 2.2 g de Ácido ascórbico y 1.2 g de Bpiridina/ Prueba 5 .....	355
<b>Figura 12.</b> Cálculo de regresión lineal en función de 2.2 g de Ácido ascórbico y 1.2 g de Bpiridina/ Prueba 6 .....	366
<b>Figura 13.</b> Cálculo de regresión lineal en función de 2.2 g de Ácido ascórbico y 1.2 g de Bpiridina/ Prueba 7 .....	366
<b>Figura 14.</b> Cálculo de regresión lineal en función de 2.2 g de Ácido ascórbico y 1.2 g de Bpiridina/ Prueba 8 .....	377
<b>Figura 15.</b> Cálculo de regresión lineal en función de 2.2 g de Ácido ascórbico y 1.2 g de Bpiridina/ Prueba 9 .....	377
<b>Figura 16.</b> Cálculo de regresión lineal en función de 2.2 g de Ácido ascórbico y 1.2 g de Bpiridina/ Prueba 10 .....	388
<b>Figura 17.</b> Prueba de aceleración en mezcla de reactivos .....	388
<b>Figura 18.</b> Prueba de aceleración en reactivos individuales .....	39
<b>Figura 19.</b> Prueba de aceleración en reactivos individuales (sin día 0) .....	40
<b>Figura 20.</b> Prueba final de ácido ascórbico.....	41
<b>Figura 21.</b> Prueba final de eritorbato de sodio.....	422
<b>Figura 22.</b> Prueba final de ascorbato de sodio .....	433
<b>Figura 23.</b> Curva de calibración en la empresa "La Italiana" .....	444
<b>Figura 24.</b> Análisis de correlación lineal de datos correspondientes al ácido ascórbico .....	444
<b>Figura 25.</b> Análisis de correlación lineal de datos correspondientes al ascorbato de sodio .....	445
<b>Figura 26.</b> Análisis de correlación lineal de datos correspondientes al eritorbato de sodio .....	445
<b>Figura 27.</b> Prueba final ácido ascórbico en planta.....	446
<b>Figura 28.</b> Prueba final ascorbato de sodio en planta .....	456
<b>Figura 29.</b> Prueba final eritorbato de sodio en planta .....	457

**INDICE DE TABLAS**

<b>Tabla 1.</b> Longitud de onda para espectros coloreados .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<b>Tabla 2.</b> Resumen de cálculo de $R^2$ en función de 2.2 g de Ácido ascórbico y 1.2 g de Bipiridina (sin patrón 50 ppm) .....	33
<b>Tabla 3.</b> Desviación estándar de pruebas de aceleración en mezcla de reactivos .....	39
<b>Tabla 4.</b> Desviación estándar de pruebas de aceleración en reactivos individuales .....	40
<b>Tabla 5.</b> Desviación estándar de las pruebas en ácido ascórbico .....	41
<b>Tabla 6.</b> Desviación estándar de las pruebas en eritorbato de sodio .....	42
<b>Tabla 7.</b> Desviación estándar de las pruebas en ascorbato de sodio .....	43
<b>Tabla 8.</b> Desviación estándar de las pruebas en ácido ascórbico en planta .....	43
<b>Tabla 9.</b> Desviación estándar de las pruebas en ascorbato de sodio en planta .....	43
<b>Tabla 10.</b> Desviación estándar de las pruebas en eritorbato de sodio en planta .....	43

**INDICE DE ECUACIONES**

**Ecuación 1** .....24

## 1. CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

### 1.1. Composición de los Embutidos

#### 1.1.1. Definición de Lípidos

Los lípidos son moléculas biológicas que tienen la particularidad de ser no polares y ser insolubles en agua, pero solventes en soluciones orgánicas. Los componentes que estos poseen dentro de su estructura son carbono, hidrógeno y oxígeno, además de contener grupos amino, sulfatos y fosforilos. Los lípidos conforman un grupo diversamente heterogéneo en donde los aceites, grasas, esteroides, ceras y compuestos con similares características físicas forman parte de él. En función de su estructura química, estos compuestos pueden clasificarse en lípidos simples, lípidos complejos y lípidos derivados (Carvajal, 2019).

Los ácidos grasos saturados corresponden al grupo de los lípidos simples y son uno de los más relevantes dentro de la industria cárnica, ya que constituye en gran proporción la estructura de la grasa empleada en los embutidos. La grasa tiene la propiedad de mantenerse sólida en temperatura ambiente, pero al estar en presencia de elevadas temperaturas tiene la tendencia de transformarse a un estado líquido (Rojas, 2011).

#### 1.1.2. Definición de Embutidos

De acuerdo a la norma INEN 1338-3 (2012), establece que un producto cárnico procesado es el producto elaborado a base de carne, grasa, viseras u otros subproductos de origen animal comestibles, con la adición de sustancias permitidas, especias o ambas, sometido a procesos tecnológicos adecuados. Se considera que el producto cárnico está terminado cuando ha concluido con todas las etapas de procesamiento y está listo para la venta. Estos productos pueden clasificarse en productos cárnicos crudos, productos cárnicos precocidos, productos cárnicos acidificados, productos cárnicos congelados, productos cárnicos refrigerados, productos cárnicos ahumados, productos cárnicos preformados y productos cárnicos recubiertos.

### 1.2. Proceso de producción de derivados cárnicos

#### 1.2.1. Materia prima que interviene en la elaboración de embutidos

Los elementos más relevantes dentro de la producción de cárnicos y sus derivados son los detallados a continuación.

#### 1.2.1.1. Materia prima cárnica

##### Carne

La norma INEN 1217 (2013), establece que la carne es un tejido muscular estriado posterior a su rigidez cadavérica (post-rigor), la cual es comestible, limpia y sana e inocua procedente de animales de abasto que mediante la inspección veterinaria oficial antes y después del faenamiento son declarados aptos para consumo humano. Las condiciones de la carne deben ser de un pH próximo a 7 y además que su consistencia proporcione cortes limpios, ya que debe tener un nivel de humedad aceptable para que no facilite el crecimiento microbiano, garantizando condiciones óptimas durante su posterior procesado (Horcada y Polvillo, 2010).

##### Grasa Animal

La importancia de esta materia prima en la formulación radica en proporcionar la textura, jugosidad y sabor al producto cárnico generando la aceptabilidad de los derivados cárnicos al consumidor. Esta se encuentra sometida a parámetros de calidad relacionados al contenido de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados. En productos cárnicos hay que considerar el constante empleo de materiales grasos que poseen un elevado punto de fusión, a los que se deben someter a tratamientos térmicos idóneos o caso contrario se producirían embutidos viscosos y con un exudando de grasa que al estar en contacto con la carne no permita la ligazón y la penetración de sustancias antioxidantes como los curantes (Carrión, 2017).

#### 1.2.1.2. Materia prima no cárnica

La formulación de un embutido tiene varios componentes siendo estos la materia prima cárnica y la materia prima no cárnica, los segundos son elementos de procedencia no cárnica. La finalidad de dichos integrantes son el actuar como ligantes, extensores proteicos, emulsionantes, aditivos que ayuden a una mejor retención de agua, antioxidantes o inclusive con la finalidad de proporcionar el sabor deseado al producto cárnico (Carrión, 2017).

Los condimentos o especias son aquellos que otorgan determinadas características sensoriales dentro del producto cárnico. El condimento más empleado dentro de la elaboración de embutidos es la sal. La sal posee tres tipos de acciones dentro de la formulación, siendo estas el actuar como contrarrestante microbiano, el conferir sabor al producto y el solubilizar proteínas. El sabor de los embutidos está determinado por el empleo de mezclas de condimentos los cuales pueden ser pimentón, ajo, orégano, entre otros, los cuales se encuentran en función del producto que se esté desarrollando (Jiménez & Carballo, 1989).

#### 1.2.1.2.1. Antioxidantes

Las sustancias antioxidantes dentro de los alimentos cumplen la función de prevenir o postergar daños ocasionados dentro de las matrices alimentarias inhibiendo reacciones de oxidación, ya que al estar en estrecha relación los componentes del alimento y encontrarse en condiciones desfavorables de almacenamiento, se acelerarán procesos de descomposición lo que conllevará a que el producto sufra cambios perjudiciales que afectarán su perdurabilidad. (Vilaplana, 2007). Los antioxidantes usados dentro del área cárnica son el ácido ascórbico y su sal sólida conocida como ascorbato de sodio. El primero se lo encuentra de manera natural mientras que el segundo, es producto de un tratamiento químico del ácido ascórbico convirtiéndolo en un aditivo sintético (Laboratorio Vitafor S.R.L, 2011) (Benzzo, 2005).

Los antioxidantes de origen natural como sintético actúan en los productos cárnicos ante daños dentro de la estructura nutricional como en la estructura externa del alimento. Estos aditivos previenen alteraciones en productos por procesos de descomposición en los elementos que conforman al embutido en su matriz. El cambio de color y otras características del producto pueden deberse a un proceso de oxidación, en donde la formación de olores y aspectos desagradables dentro del alimento son el resultado del proceso previamente mencionado y además se debe recalcar que se puede llegar a formar compuestos tóxicos para el consumidor, efectos negativos que pueden darse dentro de los alimentos (Echeverría, 2020).

Los antioxidantes naturales son extraídos principalmente de frutas, vayas, hierbas entre otros por su potencial contenido de compuestos fenólicos, tocoferoles, antocianinas, ácido ascórbico e isómeros, entre otras vitaminas debido al efecto inhibitor contra el enranciamiento de las grasas (Food News Latam, 2017). Los antioxidantes sintéticos son producto de una transformación en laboratorio, en donde el resultado de estos es un mayor grado de estabilidad ante elevadas temperaturas, eficacia de acción y el factor de accesibilidad desde el punto de vista económico (Echeverría, 2020).

El ácido ascórbico es un antioxidante natural, el cual impide reacciones de oxidación lipídica en cárnicos. La respuesta de acción siempre se va a ver en función de la cantidad que esté presente dentro del producto. Estudios demuestran que, al evaluar la estabilidad de la carne picada sometida en presencia de ácido ascórbico, esta indica una considerable mejora dentro de la pigmentación y una menor oxidación lipídica además de una acción sinérgica de este aditivo al estar combinado con otros. (Perlo et al., 2019).

El eritorbato al ser de la misma familia que el ácido ascórbico tiene características similares dentro de su acción. Además de su poder antioxidante se caracteriza como reductor del ion nitrato y lo cambia a ion nítrico confiriendo el característico color rosado de los embutidos y proporciona estabilidad en el sabor y a evita la formación de nitrosaminas cancerígenas (Calcaneo, 2013).

El ascorbato de sodio al igual que eritorbato de sodio es un aditivo derivado del ácido ascórbico, el cual posee el mismo poder antioxidante que los mencionados previamente, otorgando propiedades antisépticas, antioxidantes y conservantes dentro el embutido. A este aditivo se recomienda que sea empleado en mezcla con eritorbato de sodio en una magnitud de 550 ppm (Armijos et al., 2016).

### 1.3. Mecanismos de degradación lipídica en derivados cárnicos

#### 1.3.1. Oxidación lipídica en embutidos

La oxidación de lípidos es una alteración que se genera a partir de una fracción de fosfolípidos que se encuentra presente en las membranas del musculo de la carne, al estar presentes ácidos grasos poliinsaturados y metales de transición generan especímenes capaces de atraer un potrón de ácido graso insaturado (Isaza et al., 2013).

Este efecto puede deberse a múltiples causas, siendo estas la composición de los ácidos grasos, factores de procesamiento, concentración y el tipo de oxígeno, compuestos térmicamente oxidados y pigmentos dentro de los mismos. El resultado de este proceso da como consecuencia una alteración desde el punto de vista sensorial, ya que cambian los sabores, existe aparición de olores y el cambio de color, así mismo ocurre desde el punto de vista físico químico en donde se alteran características como el pH y la acidez, entre las consecuencias más importantes, se da una disminución en la calidad y vida útil del producto (Isaza et al., 2013). El proceso oxidación está conformado por tres etapas que constan desde una iniciación, propagación hasta una terminación (Badui, 2006)

##### 1.3.1.1. Fase de iniciación

Los iones hidrógeno que son apartados de los ácidos grasos generan una reacción catalítica de autooxidación, en donde al estar en presencia de elevadas temperaturas, humedad, presencia de metales oxidantes o incidencia del factor de la luz, inducen una reacción de inestabilidad en cadena de los ácidos grasos insaturados de doble y triple enlace rompiendo los mismos (Landines y Zambrano, 2009) (Kemin, 2018).

#### 1.3.1.2. Fase de propagación

Los radicales libres resultantes de la etapa previa al estar en presencia de oxígeno atmosférico generan compuestos denominados peróxidos además de hidroperóxidos, estos son indicadores de la formación de nuevos radicales libres de manera exponencial. El aumento de manera exponencial de dichos compuestos se debe a que al estar en presencia de una gran cantidad de oxígeno, la formación de estos complejos aumentará en gran proporción (Landines y Zambrano, 2009) (Kemin, 2018).

#### 1.3.1.3. Fase de terminación

Los compuestos formados, peróxidos e hidroperóxidos, al ser de una naturaleza inestable se degradan y tienden a la formación de cetonas, aldehídos, alcoholes que producen un olor y sabor desfavorable al alimento, categorizándolo como un producto dañado y de riesgo al consumidor (Kemin, 2018).

### 1.4. Mecanismos de acción de los antioxidantes

La estabilidad de los ácidos grasos presentes en la matriz del embutido se verá ligada a la cantidad remanente del antioxidante empleado en la producción, ya que al ser aplicado durante la formulación, este se consume por las reacciones de prevención contra la oxidación de lípidos en el producto final (Carrión, 2017).

#### 1.4.1. Acción anticatalítica

La aplicación de sustancias anticatalizadoras o también conocidas como antioxidantes secundarios tienen la particularidad de inactivar la formación de la oxidación lipídica provocada por la presencia de radicales libres inestabilizando el sistema. Los metales de transición cuando están en presencia de secuestrantes o agentes quelantes evitan que los lípidos al estar en un estado excitado absorban energía y así mitigan la propagación de una reacción de descomposición. Los principales aditivos usados son ácido fosfórico, ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido tartárico y sus sales derivadas (Carrión, 2017).

#### 1.4.2. Acción antirradicalaria

Esta acción consiste en prevenir el proceso de formación de radicales de los ácidos grasos, donde el resultado es disminuir la oxidación primaria (Amaguay, 2020). El comportamiento en esta modalidad es la capacidad de reacción que tienen las moléculas de los antioxidantes con respecto a los radicales libres provenientes de los ácidos grasos disminuyendo su accesibilidad a reacciones oxidativas y deteniendo la reacción en cadena de degradación. Las sustancias que ejercen este proceso inhibitor se las denomina antioxidantes primarios o verdaderos (Carrión, 2017).

## 2. CAPITULO II: MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. Validación de análisis químicos

La validación de un método químico analítico consiste en verificar estadísticamente la aptitud que posee un ensayo en específico, asegurando la fiabilidad de los datos resultantes. Los resultados de este proceso valorarán la reproductibilidad de los datos, desarrollo y estandarización de métodos, destrezas de técnicas en el laboratorio y el sistema de control y calidad (Lamiña, 2011).

De acuerdo a la norma ISO/IEC 17025 establece que todo tipo de procedimiento para conformidad del área de trabajo dentro del laboratorio se debe validar, incluyendo a todas aquellas técnicas recopiladas de bibliografías o desarrolladas dentro del área de trabajo (INEN, 2018). Los principios de calidad que deben corroborarse son la trazabilidad, la precisión y la incertidumbre de los datos finales del método, ya que de esta manera pueden ser comparables (Maroto, 2002).

### 2.2. Métodos de validación para análisis químico

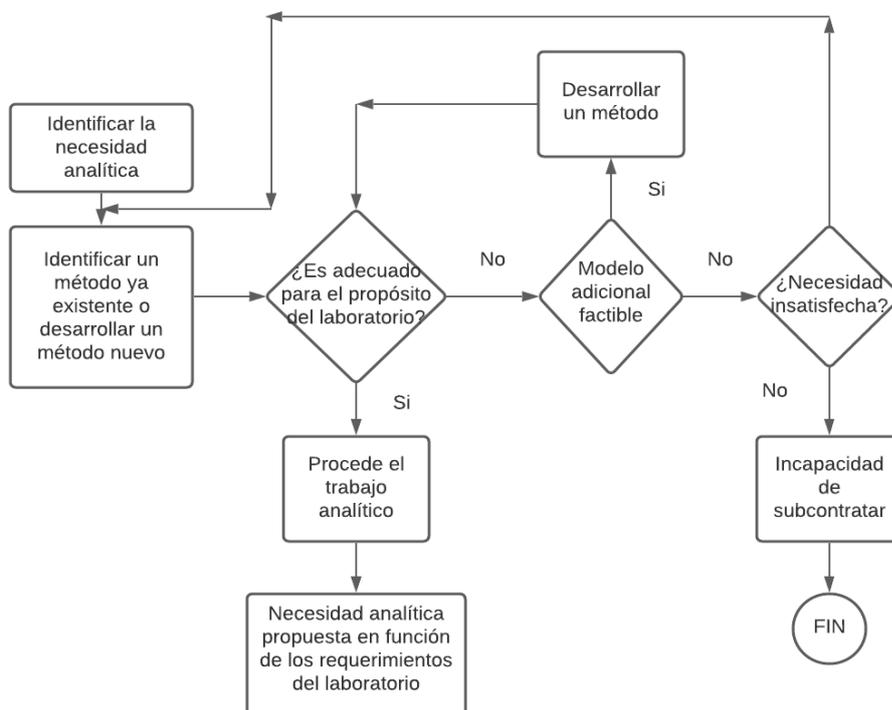
En este grupo se consideran diferentes acciones al momento de trabajar para un determinado método de análisis, dentro de los cuales se encuentran los siguientes:

**Método Normalizado:** Es un método analítico desarrollado por un ente regulador u otros organismos técnicos para una directa aplicación. Los parámetros de este método radican en la trazabilidad, especificidad, límites de detección, límites de cuantificación, precisión en la reproductibilidad de los datos y la exactitud de los mismos (Lamiña, 2011).

**Métodos No Normalizados:** Son métodos desarrollados por una fuente externa, los cuales son aplicados dentro del laboratorio a partir de un método normalizado. Los parámetros relevantes que rigen dentro de estas determinaciones comprenden el rango de trabajo y la linealidad, límites de cuantificación, límites de detección, reproductibilidad de los datos, incertidumbre y exactitud, además de incluir otros lineamientos que de acuerdo al criterio profesional del laboratorista se deban incorporar (Lamiña, 2011).

**Métodos Internos del Laboratorio:** Consiste en un método en el cual no se encuentra en normas, publicaciones y no se ha implementado dentro del laboratorio de trabajo, no presenta referencias sólidas para una validación, viéndose determinado por la selección de ya sea un método normalizado o un método no normalizado teniendo como objetivo la obtención de datos fiables y un método adecuado desde el punto de vista del profesional (Lamiña, 2011).

Figura 1. Criterios para determinación de procedimientos analíticos.



Fuente. Lamiña (2011)

### 2.3. Parámetros para validación estadísticos

Los parámetros de validación corresponden a la aptitud y las cualidades del método analítico empleado, las cuales influyen dentro de la exactitud, efecto matricial, repetibilidad de los resultados, precisión, especificidad, límites de detección y cuantificación, linealidad, el rango de trabajo en el estudio y la incertidumbre o error (Kovachev, 2014).

#### 2.3.1. Linealidad y rango de trabajo

Lamiña (2011) manifiesta que “se debe determinar un rango de trabajo dentro del cual exista una respuesta lineal proporcional a la lectura del analito y podrá coincidir este entre el límite de cuantificación y el valor asignado al mayor patrón empleado, sin embargo, su determinación se basa en función a lo establecido por cada método analítico correspondiente.”

La proporcionalidad resultante es también el nombre con el que se conoce a la linealidad y esta se encuentra en función de la concentración del analito. La verificación de la linealidad de datos necesita mínimo 4 estándares en la curva de calibración. El método analítico no tiene que ser específicamente lineal para que demuestre su efectividad, se puede determinar

su efectividad únicamente con que la curva de calibración sea reproducible “n” número de veces con resultados iguales o muy similares.

### 2.3.2. Regresión lineal por mínimos cuadrados

Este se considera como uno de los métodos más efectivos para determinar los coeficientes a y b de la ecuación de la recta. El procedimiento se basa en que al sistema se lo debe someter a diferentes condiciones, estableciendo valores distintos para la variable x, de modo que el resultado de “a” corresponde a la magnitud de la concentración del blanco y b es la sensibilidad de la recta pendiente del calibrado para poder obtener el resultado teórico de la ecuación. Dentro de una regresión lineal 2 factores importantes a considerar son el coeficiente de correlación ( $r^2$ ) esto manteniéndose dentro de un rango de -1 y 1. El coeficiente indica qué relación existe entre todos los datos resultantes y si el valor corresponde a un dato cercano a 1, el análisis presenta una armonía lineal. La desviación estándar es otro parámetro a considerar ya que indica la dispersión de los datos individuales en función de la media de los mismos (Lamiña, 2011).

### 2.3.3. Límites de detección

El límite de detección se lo denomina a la cantidad mínima del analito que puede generar señal dentro del instrumento, su determinación es particularmente importante debido a que produce una amplitud de ruido o señal de la línea base de fondo superior a  $3\sigma$  (Quino et al., 2007). El valor de  $3\sigma$  corresponde a tres veces la desviación estándar, este dato se torna relevante ya que, al comenzar la validación, el blanco analizado es una solución de reactivos donde no comprende el analito y el resultado de la muestra problema debe tener una respuesta de blanco +  $3\sigma$  por motivos de aceptación de calidad dentro del proceso analítico, además de considerar que las condiciones del ensayo deben estar a un 95% de nivel de confianza (Dosal y Villanueva, 2008).

### 2.3.4. Límites de cuantificación

El límite instrumental de cuantificación es la cantidad mínima de analito que puede ser medida confiablemente por el instrumento con un estado de exactitud y repetibilidad óptimas para procedimientos establecidos (Quino et al., 2007).

Hay que considerar que los límites de cuantificación y de detección mencionados previamente sirven únicamente para presentar el límite de concentración mínimo que puede ser cuantificado del analito por el instrumento de manera fiable (Quino et al., 2007).

### 2.3.5. Precisión

Este parámetro de acuerdo a la FAO (1997) expresa que se encuentra vinculado con 2 o más mediciones que estén alrededor del valor central y se lo define como la coherencia entre las experimentaciones realizadas reiterativamente a muestras problema, existiendo diversos métodos de evaluación para este, como la desviación típica, desviación respecto a la media, varianza, intervalo y coeficiente de variación representando la magnitud de la dispersión de los resultados (Fernández, 2001).

Las 2 medidas de la precisión son la reproductibilidad y la repetibilidad. La reproductibilidad consiste en proporcionar un mayor grado de variabilidad entre todos los resultados ya que pueden alterarse por diversos parámetros donde se incluye el laboratorio que puede afectar los datos finales. La repetibilidad por otra parte indica un menor valor de variabilidad entre respuestas, ya que esta es resultante de pruebas en un corto periodo de tiempo en donde no se alteran factores que infieren en la obtención del resultado (Maroto, 2002).

### 2.3.6. Exactitud

Está definido como el intervalo de concentración del analito que puede ser calculado por medio del empleo de una curva de calibración comprendido dentro de un límite de detección acotado. Este resultado determina la cercanía que tienen los valores medidos con respecto al valor considerado como aceptado y se emplea el cálculo de error.

Los efectos sistemáticos exteriores pueden afectar la exactitud del proceso, pero para evitar interferencias de este tipo puede establecerse una validación mediante la comparación de resultados provenientes del diseño experimental con respecto a unos teóricos, determinando la coherencia que estos presenten y posteriormente viéndose analizado el dato obtenido con respecto al valor esperado (Skoog et al, 2015).

### 2.3.7. Incertidumbre y errores

Las mediciones exactas inherentemente vienen acompañadas de una proporción mínima de errores que se deben a equivocaciones por parte del analista. El efecto de la incertidumbre y errores pueden mitigarse si se calibran, estandarizan y se realizan análisis constantes en muestras previamente conocidas. La estimación de la confiabilidad de los valores sacados es de suma importancia, ya que al no garantizar esto, la calidad de dichos datos carecerá de relevancia (Skoog et al., 2015).

#### 2.3.7.1. Tipos de errores

El sesgo dentro de un proceso analítico siempre se encuentra presente y este sesgo puede encontrarse en diferentes categorías.

Errores determinados: Skoog et al. (2015) define errores determinados como aquellos que poseen causas concretas y asignables además en cantidades definidas que pudieron ser consideradas, el sesgo producido afecta de manera general a todos los datos obtenidos haciendo que estos sean o bien muy altos o muy bajos. Estos se subdividen de la siguiente manera:

- Errores instrumentales: Son problemas atribuidos a los equipos de medición. Este tipo de situaciones se ven inducidas por cambios o distorsiones dentro del material que se está utilizando. Este tipo de errores se eliminan fácilmente con una calibración correcta (Skoog et al., 2015).
- Errores de método: Son causados por condiciones poco ideales en el sistema, siendo estas de tipo químico o físico. Estas condiciones desfavorables pueden darse por reacciones incompletas, velocidad de reacción lenta, falta de especificidad de reactivos o porque se ocasionan reacciones secundarias que causan interferencia en el resultado final (Fernández, 2001).
- Errores personales: Se las considera como las limitaciones físicas o psicológicas del analista, ya que muchas de las veces los análisis requieren juicios personales que ocasionan perjuicios a los resultados finales, debido a un problema en la estimación de lecturas, creando incertidumbres unidireccionales sistemáticas (Skoog et al., 2015).

Errores indeterminados: Estos sesgos están ligados a interferencias generadas dentro de las mediciones empleadas por parte del analista a cargo y se manifiestan en un sistema de medida con alta sensibilidad, siendo concluyente que estos errores son difíciles de medir y que los resultados fluctúan drásticamente viéndose imposible la eliminación de ellos (Fernández, 2001).

#### 2.3.7.2. Efecto de los errores determinados sobre los resultados analíticos

Además de los errores cometidos por parte del operador, pueden distinguirse los siguientes sesgos dentro del análisis analítico:

- Sesgo proporcional: Se considera como sesgo proporcional a un error que está en función de la magnitud de cambio que presenta la variable analizada y este resultado siempre será en un porcentaje constante.
- Sesgo constante: Se considera un error promedio en función del fallo de los datos obtenidos.

- Sesgo indeterminado: Estos errores suelen darse debido al operador del laboratorio o también a que la metodología empleada no es la más óptima para el procedimiento del ensayo analítico, indicando que no existe ninguna relación entre dichos elementos contrastados.

### 2.3.8. Métodos para establecer la exactitud en análisis químicos

#### 2.3.8.1. Análisis de muestra patrón

Se debe realizar un análisis en una solución de concentración conocida y cuya composición se encuentra determinada, con la finalidad de garantizar la concentración exacta del analito a estudiar, certificando calidad en los resultados de los ensayos.

#### 2.3.8.2. Análisis independientes

Cuando se desconoce la composición de la muestra se debe implementar un estudio paralelo con un método diferente que proporcione fiabilidad (Fernández, 2001).

#### 2.3.8.3. Determinación de blanco

Un blanco analítico es una muestra que no contienen el analito mensurado de interés, la respuesta obtenida se usa para determinar interferencias que pueden provenir de los reactivos o de los materiales implementados en el análisis (Fernández, 2001).

#### 2.3.8.4. Variación del tamaño de la muestra

Delimitar una magnitud considerable de la muestra a analizar es muy relevante, ya que su finalidad es disminuir los errores dentro de la medición, considerando un método adecuado de muestreo (Fernández, 2001).

#### 2.3.8.5. Empleo de normas

El empleo de documentos que después de estudios y pruebas han sido considerados como fiables, ayuda al analista a evitar tentativas y suposiciones dentro del estudio (Fernández, 2001).

### 2.4. Validación de análisis fotométricos

Se considera a la espectrofotometría como una técnica analítica que permite determinar la cantidad de un compuesto dentro de una concentración en solución. Este proceso se fundamenta en la capacidad de absorción de radiación de las moléculas. Las moléculas al obtener energía luminosa y retenerla, pasan a un estado excitado que genera diversos tipos de transiciones entre distintos orbitales, además de transiciones rotacionales y vibracionales. El resultado de esto, es el cambio de la especie molecular por la absorción de energía

radiante. Las condiciones del estudio y la estructura del átomo están influenciadas altamente por la longitud de onda y la capacidad y eficacia de absorber la luz (Díaz et al, 2005).

La región UV es la región visible dentro de un rango entre 195-400 nanómetros de longitud de onda, en donde la energía es muy elevada. Compuestos de triples enlaces, dobles enlaces aislados, enlaces peptídicos, grupos carbonilos y sistemas aromáticos poseen una máxima absorbancia en la región U-Visible dentro de la longitud de onda mencionada y es muy relevante este procedimiento para la determinación cualitativa y cuantitativa de compuestos orgánicos. Díaz et al (2005) menciona que el color absorbido es el color transmitido por el analito, debido a esto se tiene que emplear la longitud de onda apropiada para absorber la luz de la solución coloreada:

**Tabla 1.** Longitud de onda para espectros coloreados

Longitud de onda aprox.	Color de luz que se absorbe	Color de luz que se refleja
390-435	Violeta	Amarillo verdoso
435-490	Azul	Amarillo
490-580	Verde	Rojo
580-595	Amarillo	Azul
595-650	Naranja	Azul verdoso
650-780	Rojo	Verde azulado

Fuente. Díaz et al (2005)

#### 2.4.1. Transmitancia

Corresponde a la fracción o cantidad de luz que ha sido absorbida por parte del instrumento, esto indica la cantidad e intensidad transmitida que ha atravesado la muestra en condiciones geométricas determinadas. La relación entre la concentración del analito y el porcentaje de transmitancia no es lineal sino logarítmicamente inversa, es decir, una función exponencial (Porras et al., 2005) (Brunatti y Martín, 2010).

#### 2.4.2. Absorbancia

La absorbancia hace referencia a la porción de luz que ha sido absorbida cuando atraviesa el elemento analizado. Ésta se expresa en un logaritmo que vincula la intensidad que sale e ingresa de la solución; cuando las intensidades son iguales y el valor de la transmitancia es de 100% indica que la muestra analizada no absorbe a esa longitud de onda por lo que es necesario determinar otra longitud o realizar una dilución nueva a la solución estudiada (Ramírez, 2017).

### 2.4.3. Ley de Lambert-Beer

Se define a esta ley como un método matemático que expresa la cantidad de luz absorbida por la muestra que contiene una concentración específica del analito. La absorbancia se encuentra en una relación directamente proporcional con la concentración y mientras mayor sean estos valores, menor va a ser la transmitancia. Otro factor que también se considera es la distancia que recorre la luz a través de la cubeta (Herrera, 2014).

El valor de  $\epsilon$  corresponde a una constante denominada de coeficiente de extinción en el cromóforo. La relación que estos poseen se define en la siguiente ecuación 1:

$$A = -\epsilon cd$$

Donde A de acuerdo a la Real academia de la lengua la define como “la atenuación de la radiación electromagnética al atravesar una sustancia” y esta se encuentra en función de ( $\epsilon$ ) épsilon o coeficiente de extinción el cual está determinado en función de la naturaleza de la sustancia, longitud de onda y las condiciones físicas y químicas a las que esté sometida dicha mezcla coloreada, (c) la concentración del analito a estudiar y (D) la longitud de recorrido del haz de luz en la cubeta (Herrera, 2014).

### 2.4.4. Espectro de absorción

Baroni (2019), establece que el espectro de absorción es la fracción de la radiación electromagnética que incide en la materia que absorbe a un rango frecuencia determinada. Este espectro determina la longitud de onda apropiada para la cuantificación del analito. El procedimiento se da con la medición de la absorbancia de las soluciones que contiene el analito a varias longitudes de onda y posteriormente a eso se grafica estos parámetros, obteniendo la longitud de onda máxima ideal para trabajar cuantitativamente el análisis (Montes, 2018).

### 2.4.5. Valoración fotométrica

La valoración fotométrica es un procediendo en el que se mide el punto final de una reacción química usando la absorción de la luz a una longitud de onda fija, posteriormente se suma volúmenes añadidos correspondientes al reactivo valorante y finalmente las absorbancias resultantes se miden en función de la cantidad de reactivo valorante adicionado (Montes, 2018). Existen dos valoraciones fotométricas:

#### 2.4.5.1. Valoraciones directas fotométricas

Consiste en que el valorante reacciona de manera directa con el analito, es decir, la absorbancia es generada por uno de los reactivos que se encuentran dentro de la matriz a una longitud de onda establecida (Fischer, 2012).

#### 2.4.5.2. Valoraciones indirectas fotométricas o con indicador

Estas valoraciones concluyen que ninguno de los reactivos que están dentro de la reacción participan y no presentan una óptima absorción a una longitud de onda delimitada, por ello se adiciona una sustancia indicadora que muestre un cambio de color indicando el punto de equivalencia y dicho punto final o equivalente de la reacción se determinará mediante una curva de valoración (Montes, 2018).

### 2.5. Curva de valoración

Según Montes (2018) las curvas de calibrado son aquellas que indican el progreso de una valoración cualitativa, en donde se representa la absorbancia en función de la cantidad presente de valorante, siendo el punto final del proceso de fácil detección, las curvas de valoración espectrofotométricas son de carácter lineal por la relación proporcional entre la absorbancia y la concentración del analito presente o el producto resultante de la terminación de la reacción química. Las curvas de calibración pueden presentar dos tipos de características:

- Cuando absorbe solo un solo analito a la longitud de onda de trabajo establecida, en donde al inicio de la curva solo se observa al analito de la muestra, posterior a eso se añade el valorante para que reaccione con el analito generándose el producto final, viéndose incrementada la absorbancia y esto se visualiza gráficamente y el punto de equivalencia de todo el analito ha reaccionado con el valorante y finalmente la absorbancia se mantiene constante ya que no se originan nuevos productos (Montes, 2018).
- Cuando absorben dos o más participantes de la reacción, al empezar la valoración de la muestra, únicamente se encuentra el analito de la solución a testear por lo que no existe absorbancia, luego de añadir un volumen de valorante éste reacciona y se genera productos a partir del mismo, teniendo como resultado que la absorbancia aumente considerablemente (Montes, 2018).

### 2.6. Calidad de ensayos químicos

La calidad dentro del contexto de ensayos químicos tiene el objetivo de proporcionar información técnica fiable con la finalidad de generar una toma de decisiones segura. El

control interno de calidad de análisis de laboratorio tiene una serie de disposiciones que establecen la ejecución de un determinado método en base de protocolos y verificaciones de seguridad de los mismos (Rodríguez y Alemán, 2008).

La exactitud y precisión de los resultados además de estar ligados con la forma de manipulación del analista al igual que de la técnica implementada están relacionados con factores como la disposición del laboratorio, condiciones ambientales y de manipulación de muestras, protocolos de calibración y rigurosidad de verificaciones técnicas de los equipos implementados. El control externo hace referencia a que el laboratorio debe llevar a cabo análisis bajo la supervisión de otro agente de coordinación con la finalidad de crear ejercicios colaborativos de valoración de métodos analíticos proporcionando material de referencia a otros laboratorios sobre el proceso llevado a cabo. La implementación de materiales de referencia dentro de una validación es muy importante, ya que para determinar la viabilidad de la muestra a utilizar siempre se debe hacer pruebas por triplicado de la misma, las cuales resultan costosas, por lo que al aplicar este tipo de materiales que previamente cuentan con propiedades definidas y parámetros homologados garantizan la seguridad de los datos y que dichos valores sean mucho más eficaces (Rodríguez y Alemán, 2008).

## 2.7. Muestras

Las muestras del presente trabajo correspondientes al ácido ascórbico y eritorbato de sodio fueron proporcionadas por los encargados del área de aditivos de la empresa “La italiana” de Cuenca y la que corresponde al ascorbato de sodio se envió desde la ciudad de Quito por la empresa Top Trading.

## 2.8. Delimitación de método analítico

En esta etapa se evaluó el uso de diversos métodos analíticos tradicionales siendo estos el método volumétrico yodométrico, método de indofenol y el empleo del método de determinación de hierro de la norma INEN 2326 acoplado al procedimiento a realizar.

### 2.8.1. Método yodométrico

El método yodométrico se basa en el siguiente procedimiento se pesa 0,1 g del ácido ascórbico que es un al cual se le adiciona 25 ml de ácido sulfúrico 2N y 3 ml de una mezcla de almidón y ácido ascórbico y procede a titular con solución de Yodo 0.1 N cambiando el color a azul-negro que significa ya no existe ácido ascórbico (Cedeño, 2018).

La solución indicadora de almidón en concentración al 1% se preparó a partir de fécula de yuca y se pesó 1 gramo de este almidón y se le agrego 25 ml de agua destilada a 20°C hasta formar una pasta delegada, posterior se adicionó la pasta a un erlenmeyer y se lo aforó hasta

100 ml de agua hirviendo en condiciones de constante agitación con el propósito de que se llegue a mezclar todos los componentes de manera idónea, se dejó enfriar. Se trasvasó a tubos Falcon de 50 ml y se colocó en la centrifuga a 280 RPM durante 5 minutos. El líquido incoloro sobrenadante se empleó en la titulación volumétrica. Las soluciones sobrenadantes se almacenaron a tres temperaturas (7°C, 20°C y 37.5°C) respectivamente y se determinó cual es la condición más estable para almacenar este reactivo.

La solución almacenada a temperatura ambiente (20°C) se llevó al espectrofotómetro para determinar el rango de turbiedad que presenta la solución y se delimitó que este comprendía entre 400-700 nanómetros y a partir de ese rango poder establecer una longitud de onda para y realizar las lecturas con las demás soluciones almacenadas (7°C y 37°C).

La solución de yodo 0.1N se preparó a partir de una ampolla de yodo puro y se aforó a 1000 mililitros y se almacenó en un balón de aforo cubierto de papel aluminio que hizo de acción protectora contra la luz. El ácido sulfúrico 2N se preparó a partir de 2.74 ml de ácido sulfúrico al 95-97% de concentración para análisis aforado a 500 ml de agua y finalmente la solución de ácido ascórbico se preparó pesando 2.5 gramos del reactivo y aforando a 500 ml.

La titulación se realizó en condiciones de temperatura ambiente y se observó el cambio de color de incoloro a azul-negro, posterior a este procedimiento se realizó la lectura del espectrofotómetro a una longitud de onda de 440 nanómetros en base al rango de turbiedad (400-700 nm).

#### 2.8.2. Método del Indofenol

Para el método del Indofenol, Pinzón (2017) dice que se debe tomar 0.5 g de sólido y ser homogenizado en 50 ml de ácido fosfórico al 1% en donde se centrifuga por 5 minutos a 3000 RPM y el sobrenadante se utiliza para proceder con la titulación. Al sobrenadante se usa en la titulación. En una solución aparte se adiciona 2 ml de 2,6-diclorofenol-indofenol y posterior a eso 18 ml de agua destilada. El punto final de la situación se definirá cuando la solución titulada presente una coloración idéntica a la solución titulante, reservándose un periodo de 15 segundos para la confirmación del punto de viraje de color.

#### 2.8.3. Determinación de Hierro

La norma INEN 2326 (2002) establece que para la preparación del reactivo de color se debe a partir 1 gramo de Bipyridina 2,2 que se mezcla con 20 cm<sup>3</sup> de ácido acético glacial y se afora a 500 ml. La solución estándar de hierro se prepara a partir de 3.512 gramos de hierro y amonio hexahidratado y se transfirió a un balón de 500 ml y se adiciona 0.1 ml de ácido

clorhídrico concentrado y afora al volumen del balón de aforo agitando esto de manera vigorosa.

La calibración de este método se da al preparar soluciones diluidas del patrón principal de hierro en alícuotas de 0, 2, 5, 10, 20 y 30 ml y se afora a 100 ml con agua destilada para poder obtener soluciones que contengan 0, 0.2, 0.5, 1, 2 y 3 mg de hierro por cada litro de agua. La preparación de ácido ascórbico fue pesar 25 mg de reactivo sólido, agregar 2 ml de Bpiridina y 25 ml de las diluciones de la solución de hierro mezclando esto a 60°C durante 15 minutos y dejando enfriar al ambiente. La medición de la absorbancia se dio a una longitud de onda de 520 nm.

Posterior a estas mediciones se realizó una experimentación que consistió en tener 5 soluciones diferentes de ácido ascórbico con pesos de 1.8, 1.9, 2, 2.1 2.2 gr respectivamente, además se preparó 3 soluciones de Bpiridina con 0.9, 1.2 y 1.5 gr del reactivo en ellas y manteniendo la solución estándar de hierro tal cual la norma establece. Las mediciones se hicieron testeando cada una de las soluciones que contiene el analito con los diferentes preparados del reactivo de color. Los datos leídos a través del espectrómetro fueron tabulados y se hizo una gráfica de relación entre las concentraciones en partes por millón con respecto a la absorbancia y se analizó los  $r^2$  de cada una de las gráficas.

Una vez que se observó cuál de los experimentos es el que tiene el valor de  $r^2$  más cercano a 1 se realizó nuevamente la preparación de reactivos de acuerdo las mejores condiciones resultantes del procedimiento anterior (1 litro de solución de ácido ascórbico con 2 gr de reactivo, 500 ml de reactivo colorante con 1.2 gr de Bpiridina y la solución de hierro establecida de acuerdo a la norma INEN 2326) y además se realizó una solución mezcla que estaba compuesta con 40 ml de solución de Bpiridina y 500 ml de solución estándar de hierro.

A los nuevos reactivos preparados se les sometieron a pruebas de aceleración de vida útil con la finalidad de determinar su estabilidad de almacenaje esto a una estufa a una temperatura de 37 °C por un periodo de 8 días, donde periódicamente se fue midiendo la absorbancia de la muestra (Barboza y Yoelinson, 2016).

Una vez vista la respuesta de absorbancia de cada uno de los reactivos preparados individualmente y mezcla, se delimitó que la forma más idónea para la conservación y elaboración de los mismos durante un periodo de prueba de 8 días almacenados a temperatura ambiente (20 °C).

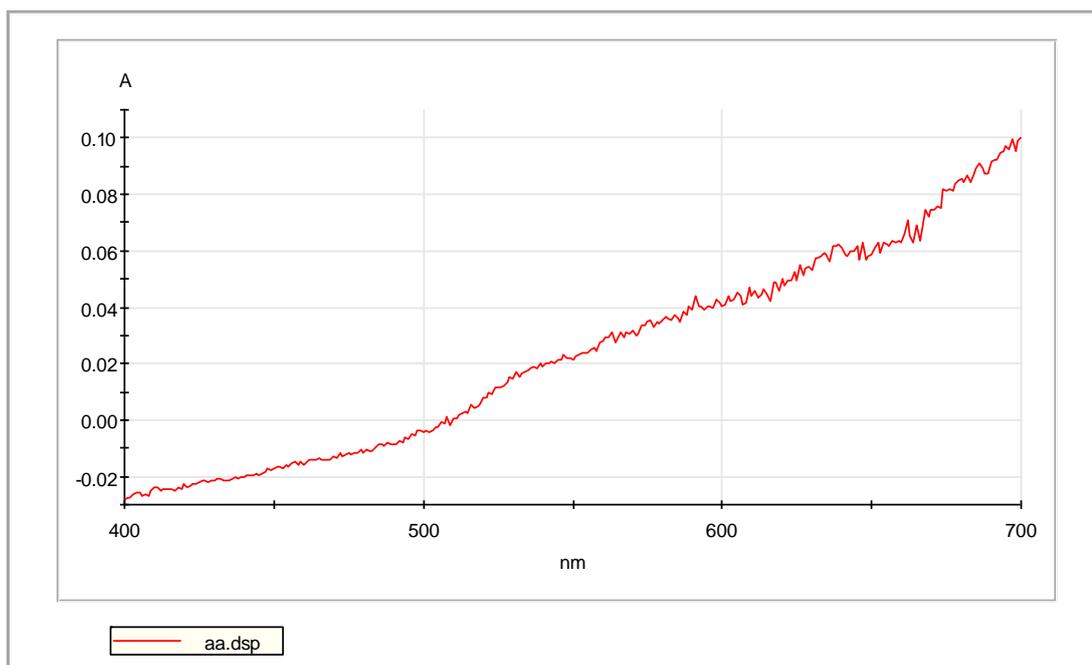
Delimitado los datos de los análisis previos se procedió a realizar las pruebas finales de cada uno de los aditivos de la empresa, ácido ascórbico, eritorbato de sodio y ascorbato de sodio, con la respectiva dilución de la solución patrón de hierro y amonio hexahidratado para la formación de la respectiva grafica de la absorbancia. La implementación del método se dio en las condiciones de trabajo de la fábrica en donde se realizó nuevamente el proceso anterior y se extrapolaron los datos resultantes del método en la Universidad del Azuay al igual que en la empresa “La Italiana”.

### 3. CAPITULO III: RESULTADOS

#### 3.1. Método Yodométrico

El método yodométrico, aplicado no pudo entregar los resultados esperados, como evidencia se puede observar en la figura 2, la no presencia de un pico de absorción específico en una zona del espectro.

**Figura 2.** Espectro UV visible



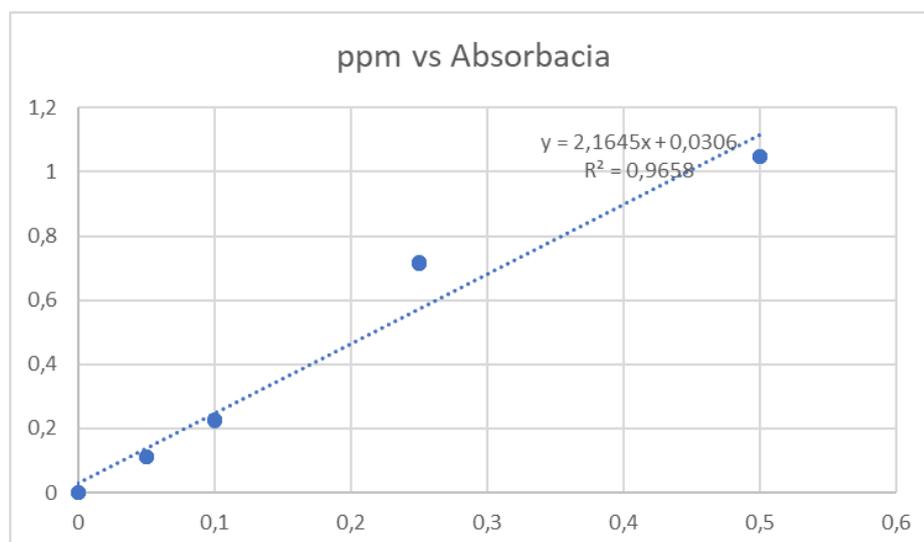
#### 3.2. Método Indofenol

El método del indofenol se descartó debido a la falta de reactivos para la implementación del mismo.

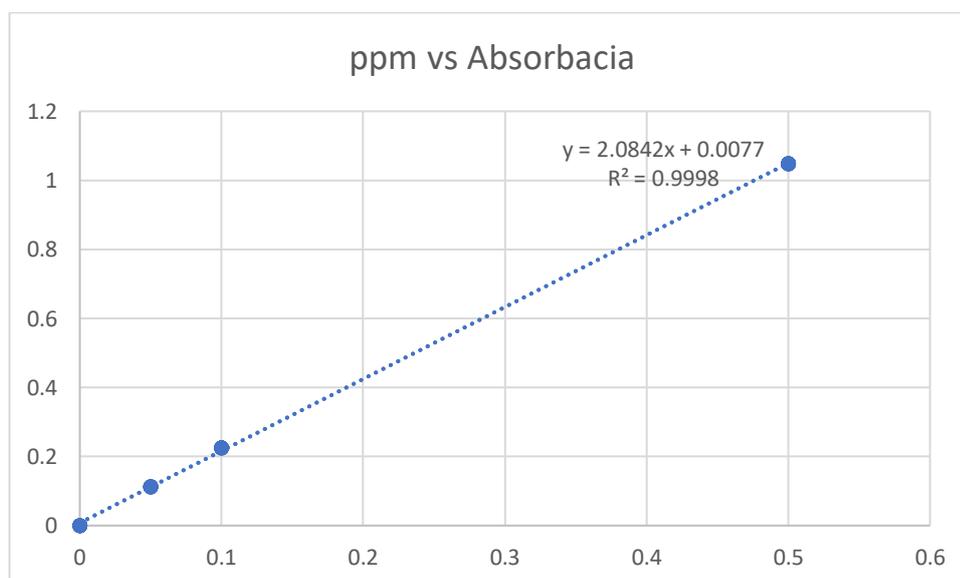
#### 3.3. Método de determinación de hierro

##### 3.3.1. Delimitación de parámetros para pruebas

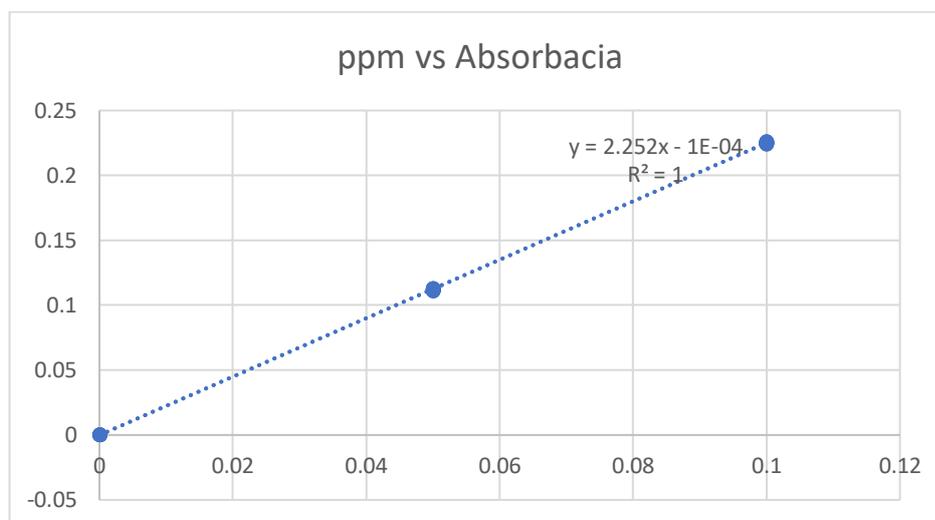
Se desarrolló una curva de calibración, con 5 puntos para observar el rango en el cual el método mantiene linealidad. Los resultados se pueden observar en la figura 3. Los patrones que se utilizaron para construir la figura fueron de 0.05 ppm; 0.1 ppm; 0.25 ppm; 0.5 ppm incluyendo el 0 analítico de una solución de ácido ascórbico.

**Figura 3.** Soluciones patrón vs Absorbancia

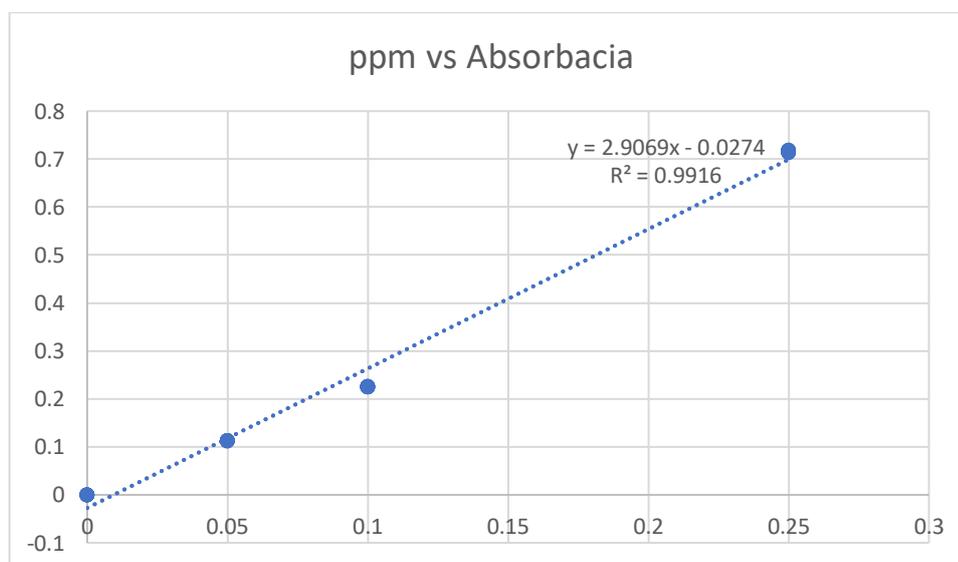
Para obtener una mejor respuesta lineal se eliminó el patrón de 0.25 ppm, teniendo entonces la curva que se presenta en la figura 4.

**Figura 4.** Soluciones patrón vs Absorbancia (sin patrón 0.25 ppm)

En la figura 5 se observan los 2 patrones (0.05 ppm; 0.1 ppm incluyendo el 0 analítico) en la curva de calibración con respecto a la absorbancia que cada una presenta.

**Figura 5.** Soluciones patrón vs Absorbancia (sin patrón 0.25 y 0.50 ppm)

En la figura 6 se observan los 3 patrones (0.05 ppm; 0.1 ppm; 0.25 ppm incluyendo el 0 analítico) en la curva de calibración con respecto a la absorbancia que cada una presenta.

**Figura 6.** Soluciones patrón vs Absorbancia (sin patrón 0.50 ppm)

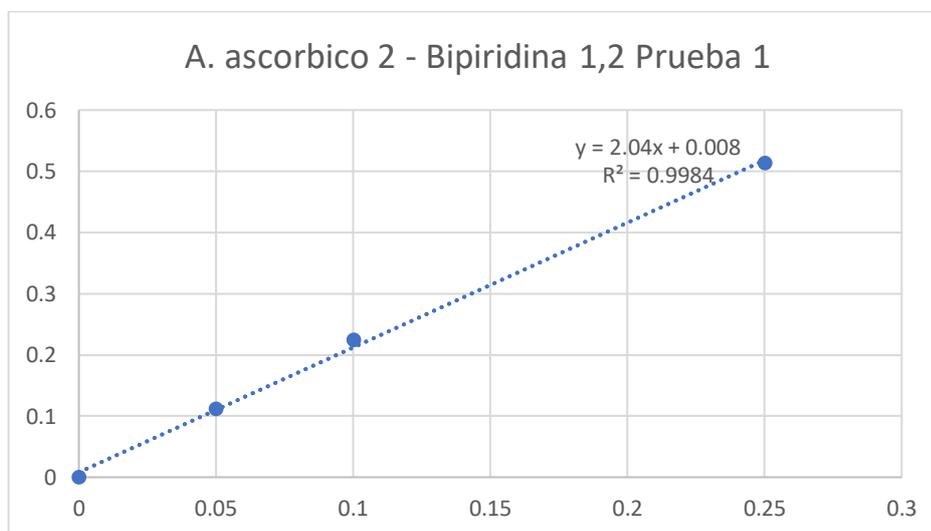
En la tabla 2 se muestra el resumen del cálculo de regresión lineal de las pruebas elaboradas en ácido ascórbico (Ac. Asc.) a condiciones específicas en la cantidad del reactivo. Se plantearon 10 pruebas en las que se utilizó 2 g de Ácido Ascórbico y 1.2 g de Biperidina, establecidos en la norma INEN, utilizada como referencia.

**Tabla 2.** Resumen de cálculo de  $R^2$  en función de 2 g de Ácido ascórbico y 1.2 g de Bpiridina (sin patrón 0.50 ppm)

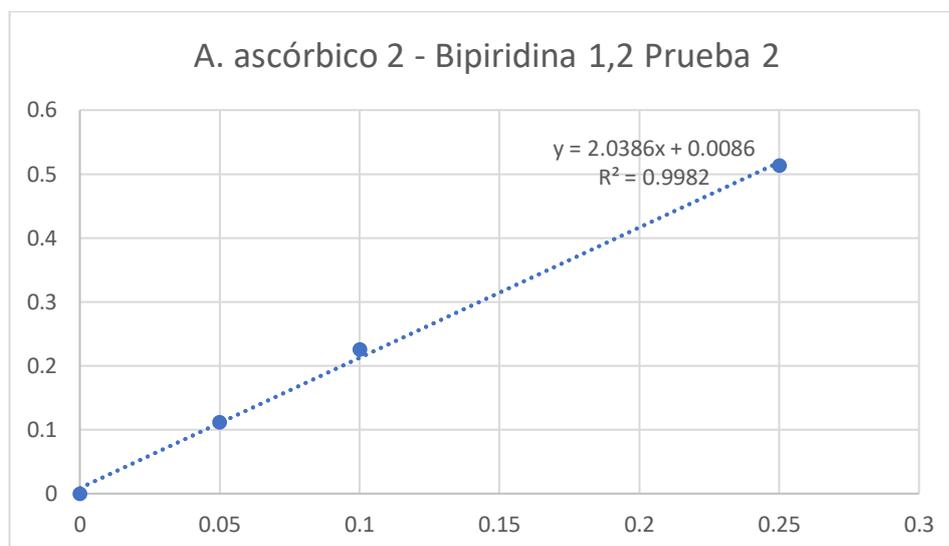
Prueba	$R^2$	Ecuación
Ac. Asc. 2 – 1,2 Bpiridina	0,9984	$y = 2,04x + 0,008$
Ac. Asc. 2 – 1,2 Bpiridina	0,9982	$y = 2,0386x + 0,0086$
Ac. Asc. 2 – 1,2 Bpiridina	0,9983	$y = 2,0429x + 0,0085$
Ac. Asc. 2 – 1,2 Bpiridina	0,9983	$y = 2,0429x + 0,0085$
Ac. Asc. 2 – 1,2 Bpiridina	0,9984	$y = 2,0514x + 0,0081$
Ac. Asc. 2 – 1,2 Bpiridina	0,9984	$y = 2,0514x + 0,0081$
Ac. Asc. 2 – 1,2 Bpiridina	0,9985	$y = 2,0543x + 0,0083$
Ac. Asc. 2 – 1,2 Bpiridina	0,9983	$y = 2,0543x + 0,0086$
Ac. Asc. 2 – 1,2 Bpiridina	0,9984	$y = 2,0586x + 0,0084$
Ac. Asc. 2 – 1,2 Bpiridina	0,9984	$y = 2,0586x + 0,0084$

De la figura 7 a la figura 16, se muestran las curvas de calibración correspondientes a cada una de las columnas de la tabla 2.

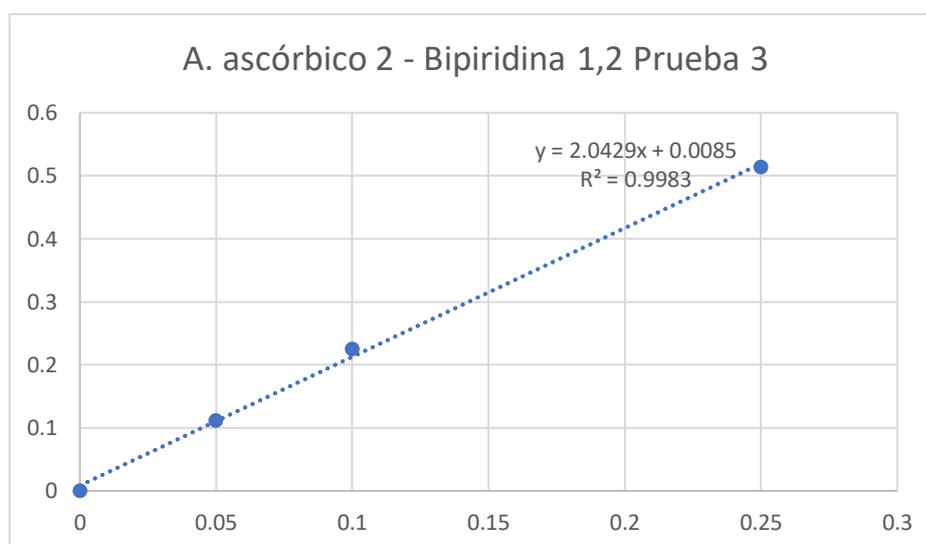
**Figura 7.** Cálculo de regresión lineal en función de 2 g de Ácido ascórbico y 1.2 g de Bpiridina/ Prueba 1



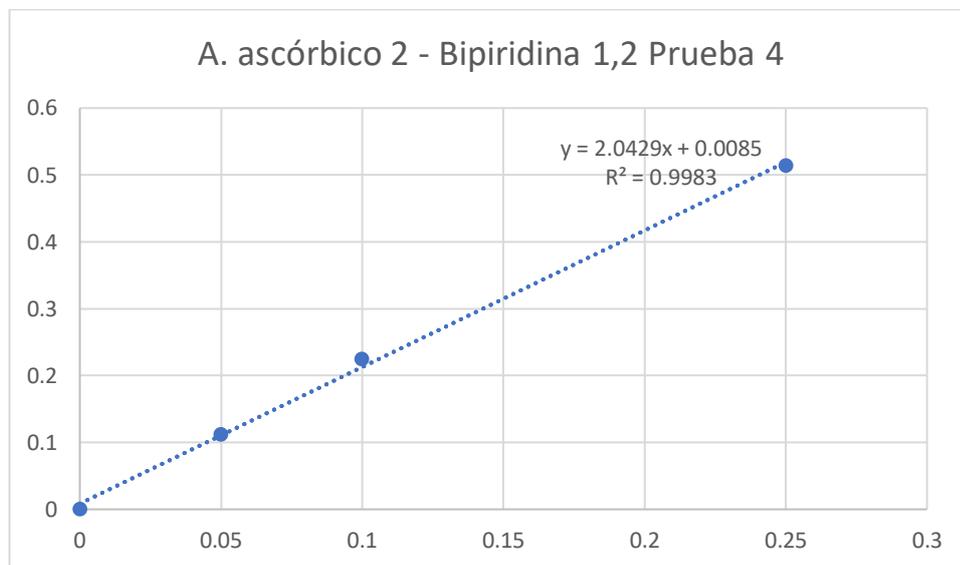
**Figura 8.** Cálculo de regresión lineal en función de 2 g de Ácido ascórbico y 1.2 g de Bpiridina/ Prueba 2



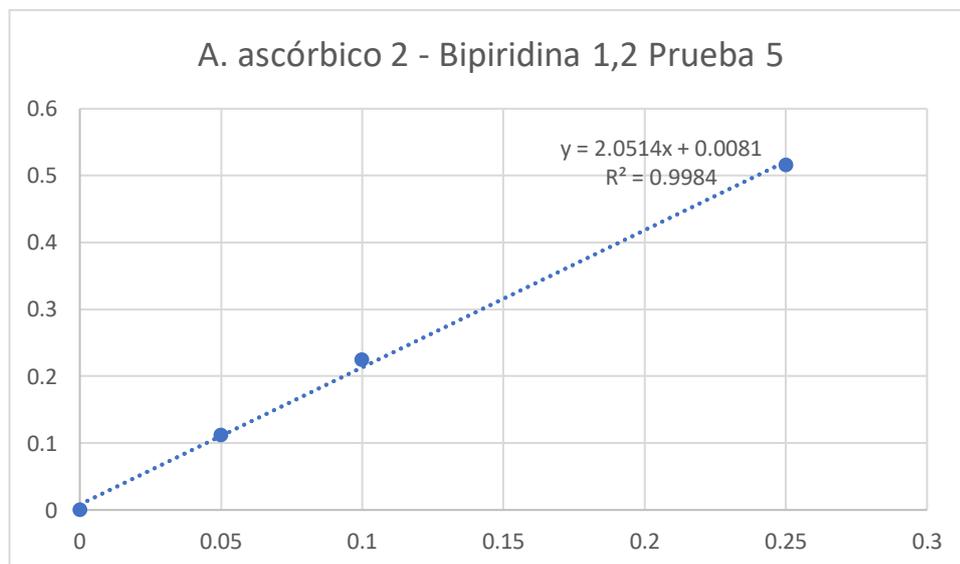
**Figura 9.** Cálculo de regresión lineal en función de 2 g de Ácido ascórbico y 1.2 g de Bpiridina/ Prueba 3



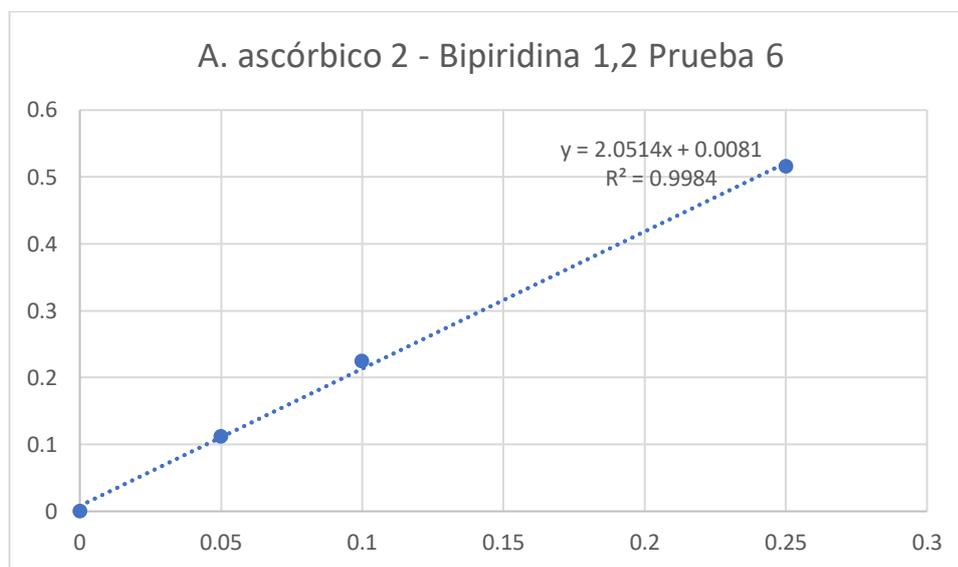
**Figura 10.** Cálculo de regresión lineal en función de 2 g de Ácido ascórbico y 1.2 g de Bpiridina/ Prueba 4



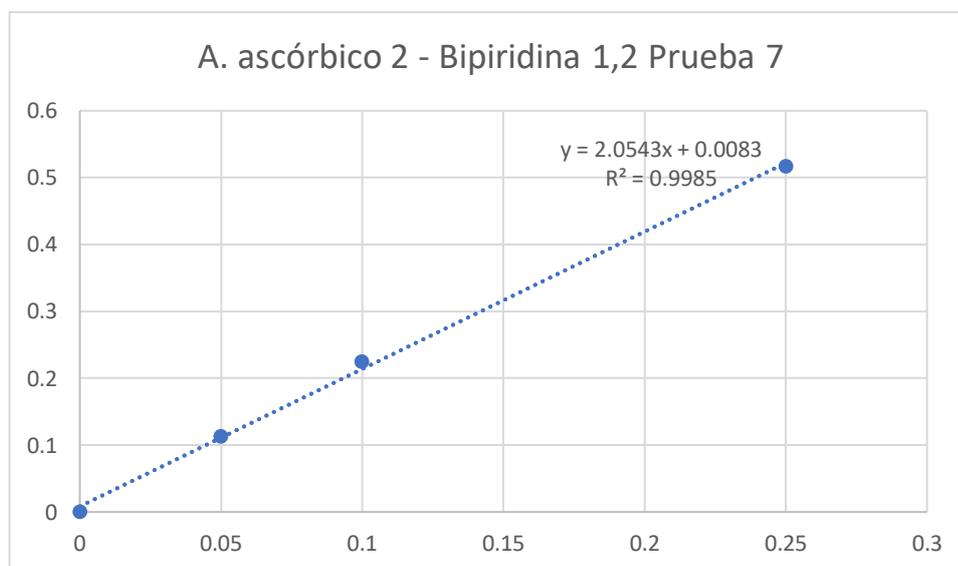
**Figura 11.** Cálculo de regresión lineal en función de 2 g de Ácido ascórbico y 1.2 g de Bpiridina/ Prueba 5



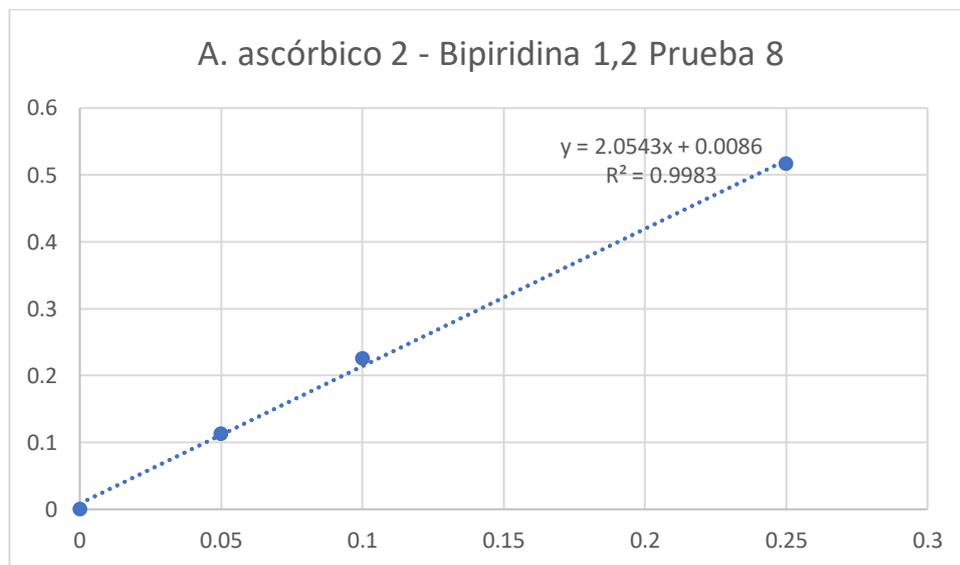
**Figura 12.** Cálculo de regresión lineal en función de 2 g de Ácido ascórbico y 1.2 g de Bpiridina/ Prueba 6



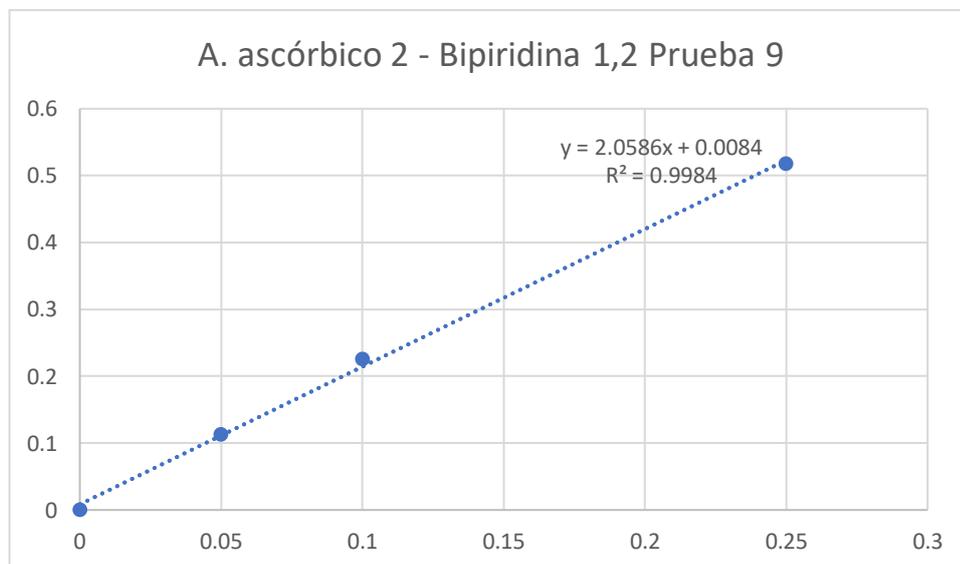
**Figura 13.** Cálculo de regresión lineal en función de 2 g de Ácido ascórbico y 1.2 g de Bpiridina/ Prueba 7



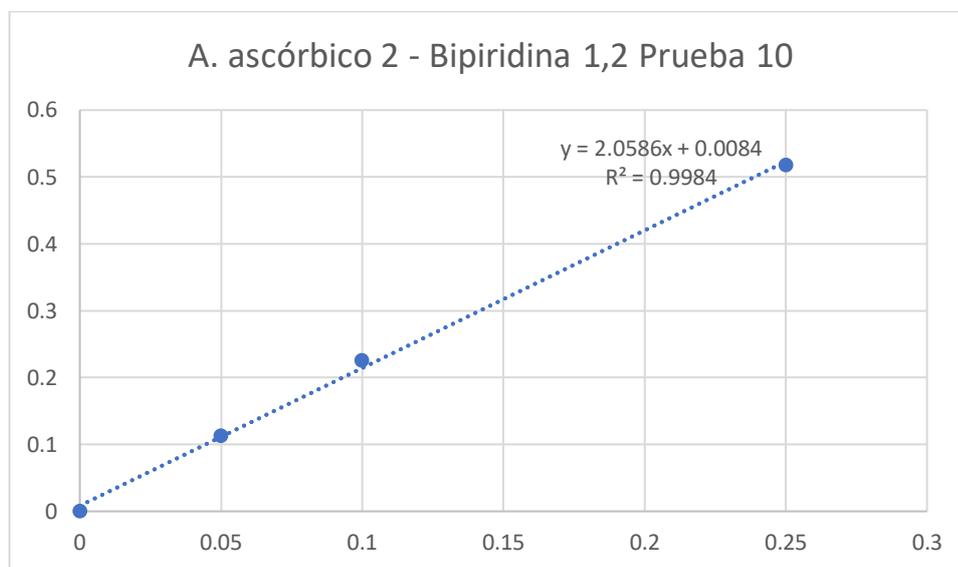
**Figura 14.** Cálculo de regresión lineal en función de 2 g de Ácido ascórbico y 1.2 g de Bpiridina/ Prueba 8



**Figura 15.** Cálculo de regresión lineal en función de 2 g de Ácido ascórbico y 1.2 g de Bpiridina/ Prueba 9

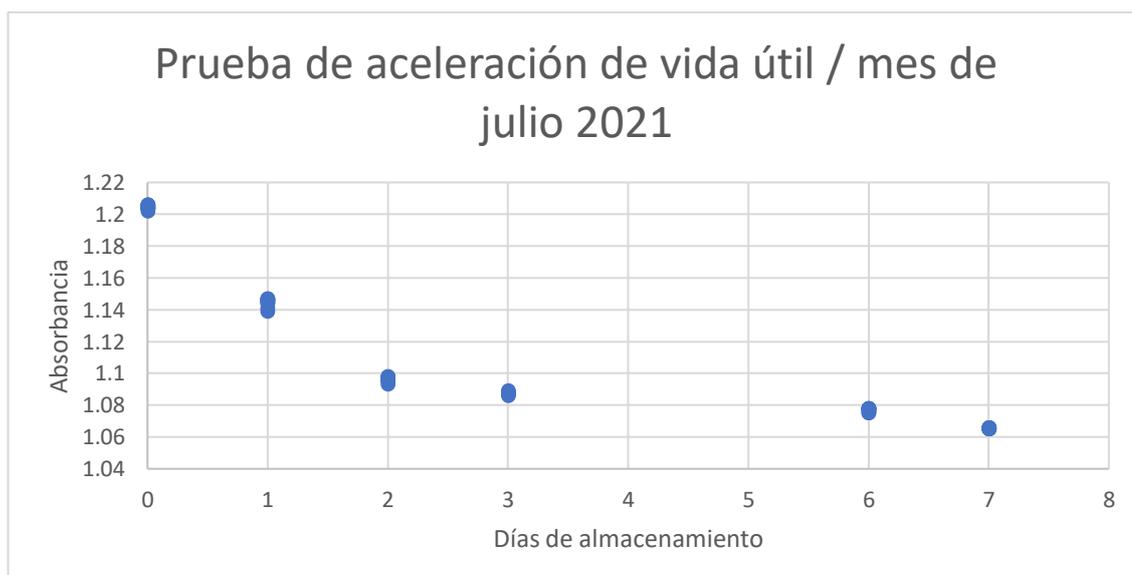


**Figura 16.** Cálculo de regresión lineal en función de 2 g de Ácido ascórbico y 1.2 g de Bpiridina/ Prueba 10



Para determinar la estabilidad de los reactivos utilizados en las pruebas, se utilizaron pruebas de estabilidad de vida útil acelerada, utilizando una estufa a 37° C, se planteo almacenar los reactivos de coloración mezclados, para considerar si pueden mantenerse almacenados de esta forma y sea de mayor facilidad de utilización. Se utilizó un patrón de 0.5 ppm de hierro y 25 ml de ácido ascórbico de concentración de 2 ppmil. Los resultados se pueden observar en la figura 17. Se muestra las 2 réplicas de cada punto.

**Figura 17.** Prueba de aceleración en mezcla de reactivos



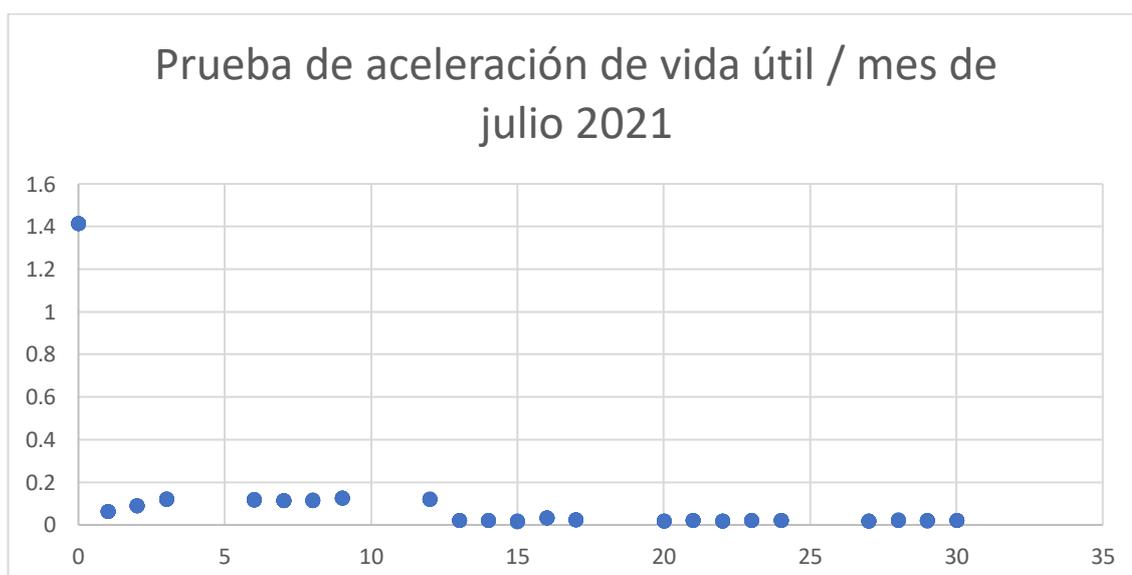
Después de analizar los resultados de las determinaciones realizadas durante este periodo, se evaluó las diferencias existentes entre las mediciones utilizando la desviación estándar de las replicas medidas. Teniendo una desviación estándar baja, como se muestra en la tabla 3. Se muestra un comportamiento decreciente en la curva, sin tener una zona de estabilización.

**Tabla 3.** Desviación estándar de pruebas de aceleración en mezcla de reactivos

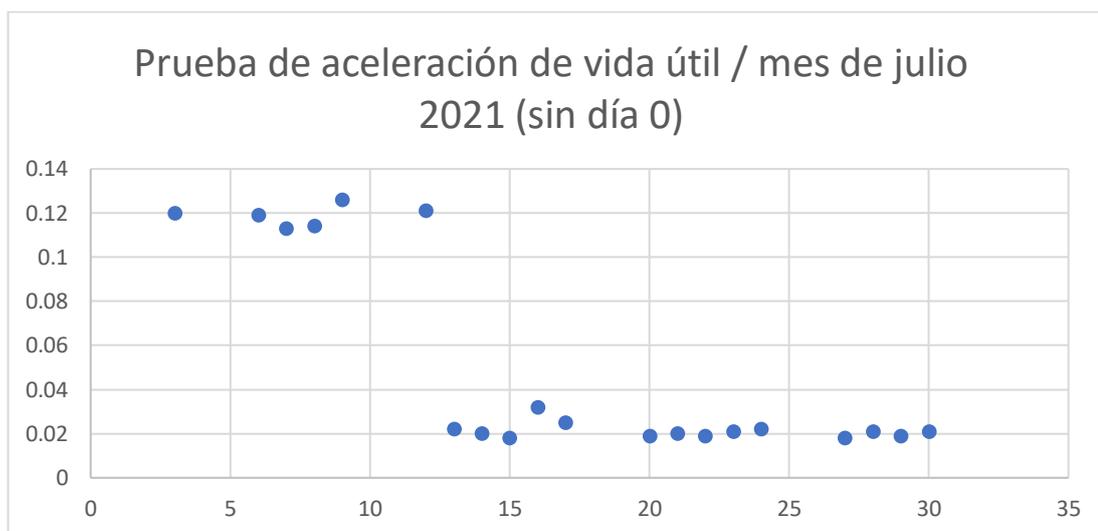
ÁCIDO ASCORBICO	$\sigma$
Prueba de 7 días de almacenaje	0,0484

Para establecer la estabilidad de los reactivos, sin combinar a lo largo del tiempo, se establecieron los mismos parámetros de aceleración en el almacenamiento los reactivos, obteniendo el comportamiento que se presenta en la figura 18.

**Figura 18.** Prueba de aceleración en reactivos individuales



Para una mejor observación de los resultados obtenidos, se eliminó de la gráfica el dato del día 0, teniendo como resultado la presencia de 2 zonas, que se podrían considerar estables para el uso de los reactivos.

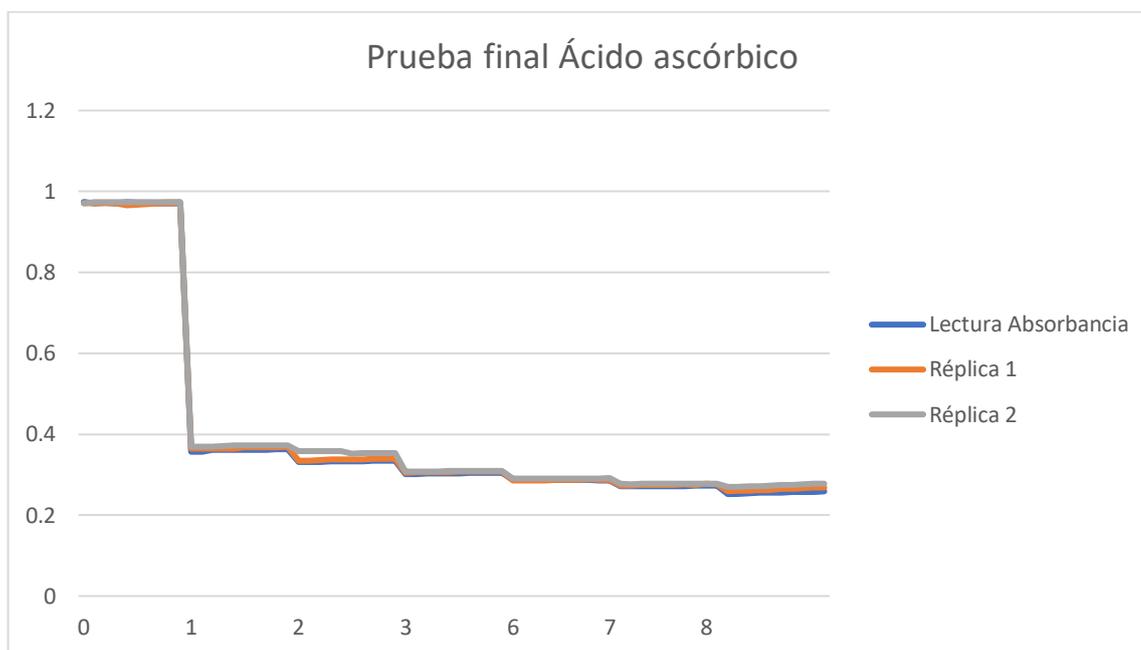
**Figura 19.** Prueba de aceleración en reactivos individuales (sin día 0)

Después de analizar los resultados de las determinaciones realizadas durante este periodo, se evaluó las diferencias existentes entre las mediciones utilizando la desviación estándar de las réplicas medidas. Teniendo una desviación estándar mayor al uso de reactivo combinado, el valor de la desviación estándar se muestra en la tabla 4.

**Tabla 4.** Desviación estándar de pruebas de aceleración en reactivos individuales

ÁCIDO ASCORBICO	$\sigma$
Prueba de 31 días de almacenaje	0,2902

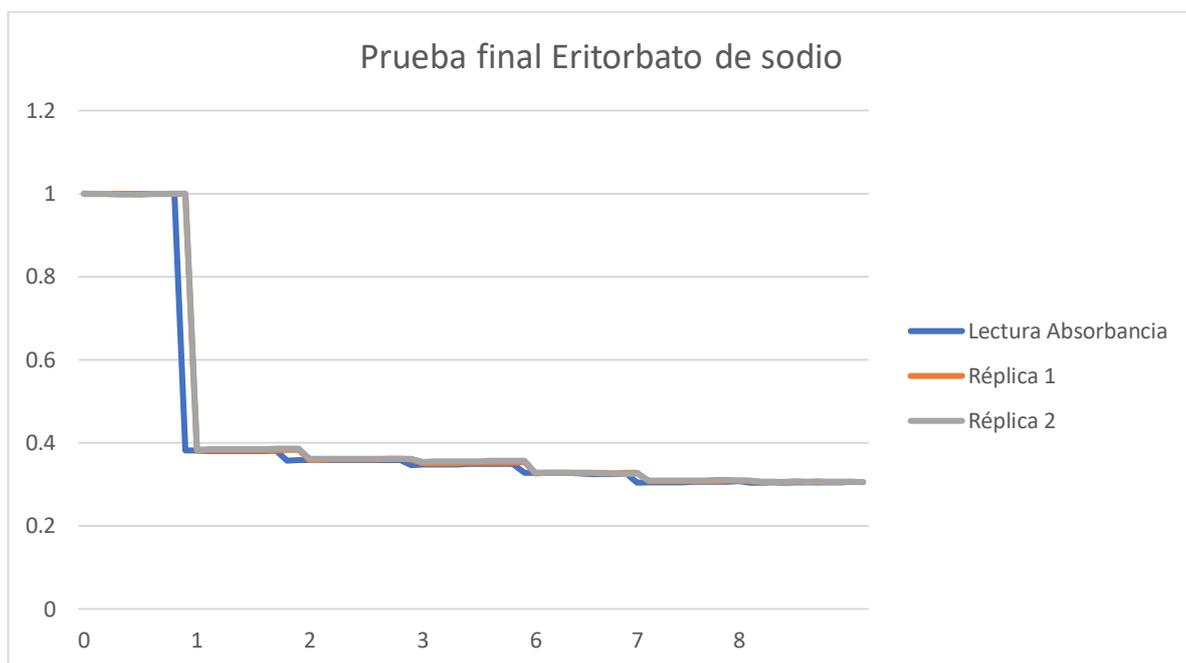
Ya definida la concentración de la solución de cada antioxidante, la biperidina y la solución de hierro, además de observar que los reactivos mezclados no fueron viables, se realizó la prueba final en cada uno de los aditivos con 2 réplicas en un periodo de 8 días con reactivo almacenado a temperatura ambiente como se puede observar desde la figura 20 hasta la figura 22.

**Figura 20.** Prueba final de ácido ascórbico

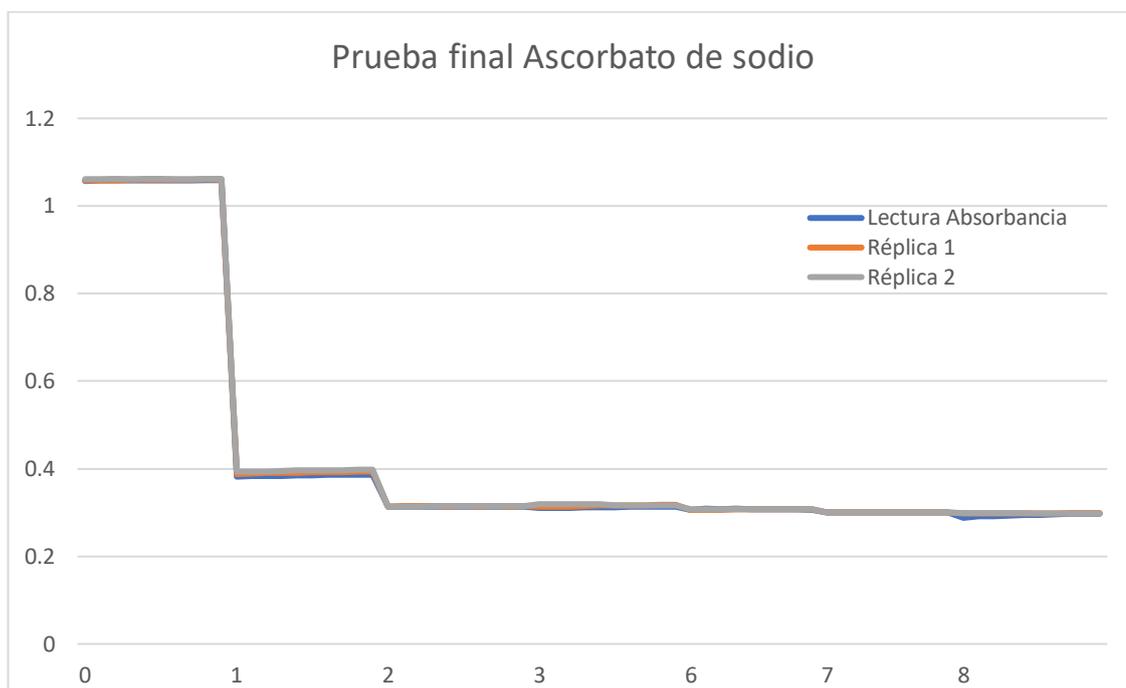
La desviación estándar en los días de experimentación se puede observar desde la tabla 5 hasta la tabla 7, en donde estos datos corresponden a las pruebas finales aplicadas en los antioxidantes con 2 réplicas en un periodo de 8 días con reactivo almacenado a temperatura ambiente, viéndose un valor de desviación estándar bajo entre las réplicas, además de observar que todos los datos se mantienen dentro del mismo rango.

**Tabla 5.** Desviación estándar de las pruebas en ácido ascórbico

ÁCIDO ASCÓRBICO	$\sigma$
Lectura inicial	0,2383
Réplica 1	0,2363
Réplica 2	0,2353

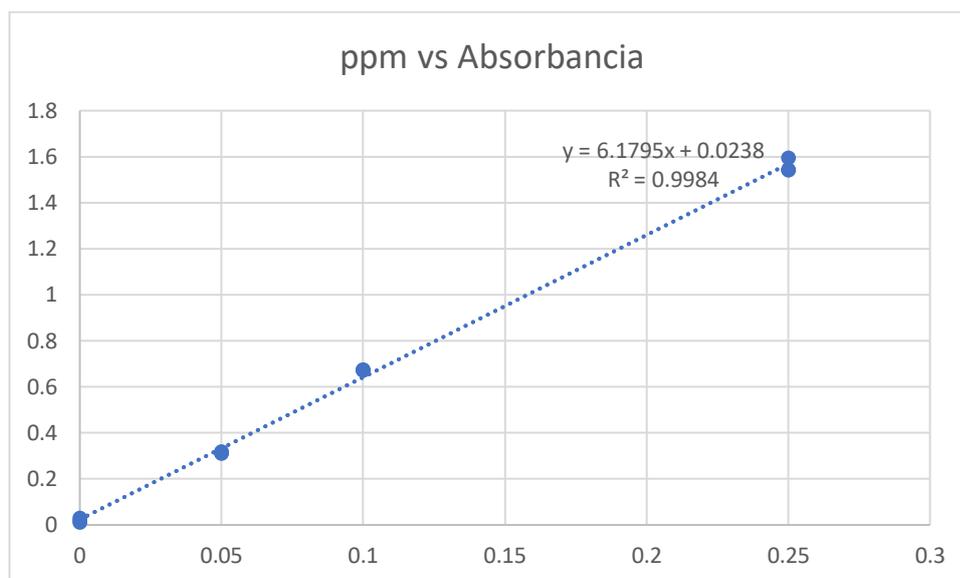
**Figura 21.** Prueba final de eritorbato de sodio**Tabla 6.** Desviación estándar de las pruebas en eritorbato de sodio

ERITORBATO DE SODIO	$\sigma$
Lectura inicial	0,2347
Réplica 1	0,2340
Réplica 2	0,2334

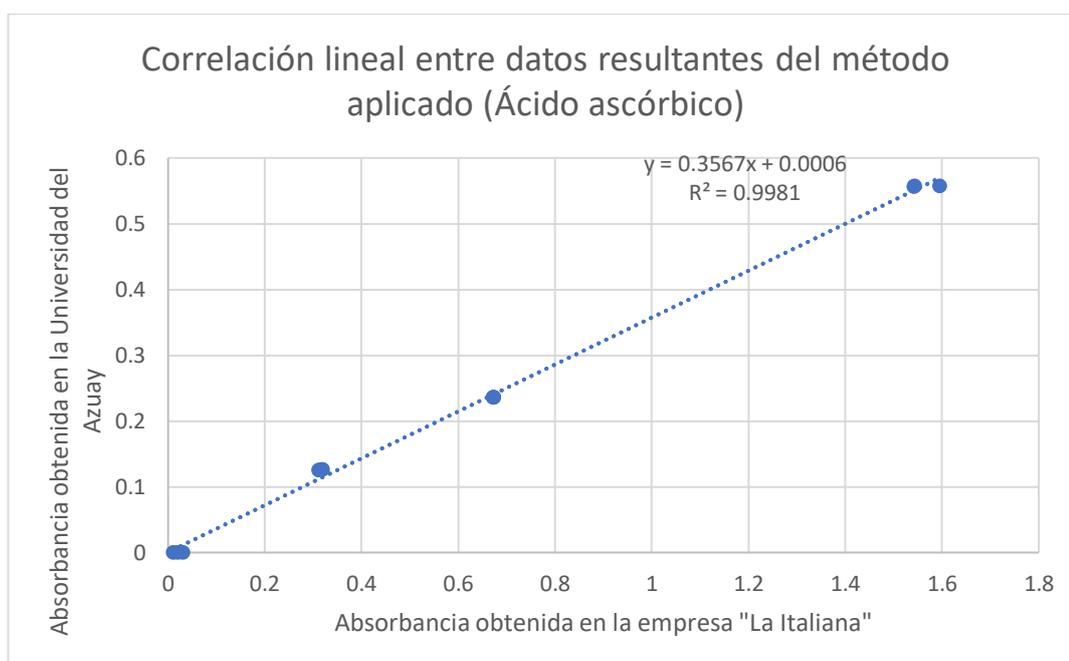
**Figura 22.** Prueba final de ascorbato de sodio**Tabla 7.** Desviación estándar de las pruebas en ascorbato de sodio

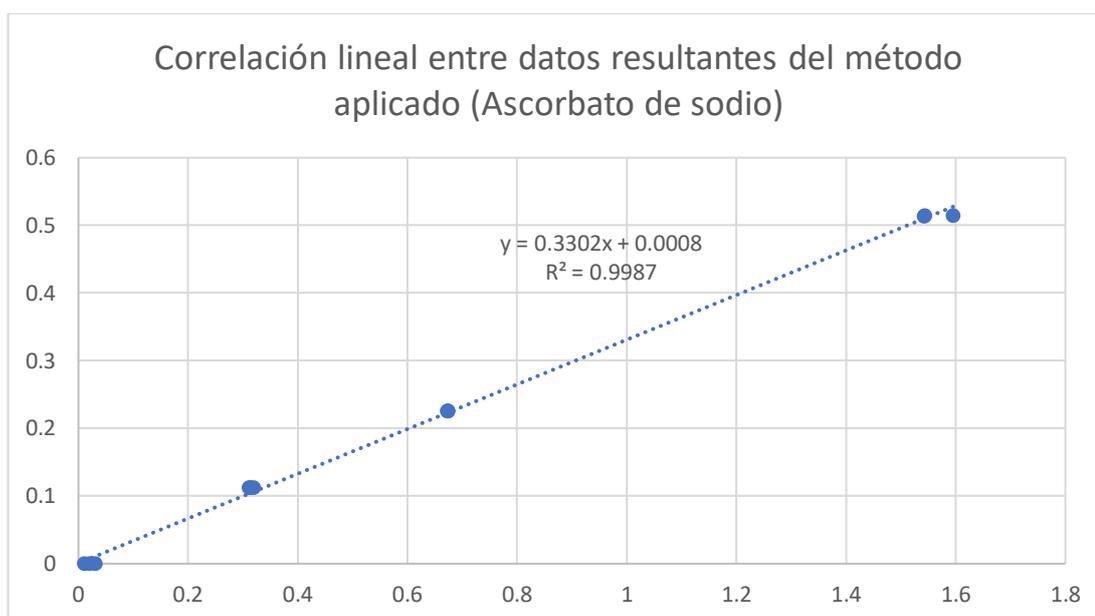
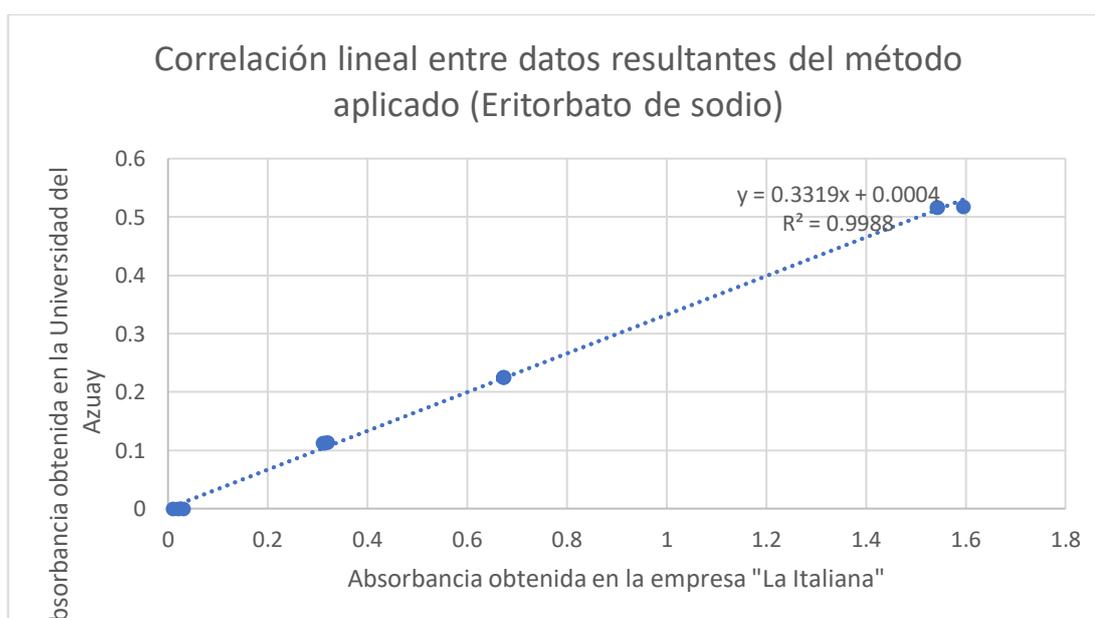
ASCORBATO DE SODIO	$\sigma$
Lectura inicial	0,2651
Réplica 1	0,2650
Réplica 2	0,2653

En la figura 23, se muestra la construcción de la curva de calibración en la empresa “La Italiana”, siendo el mismo proceso realizado en la Universidad del Azuay, obteniendo los datos de regresión lineal correspondientes a la elaboración de la misma.

**Figura 23.** Curva de calibración en la empresa "La Italiana"

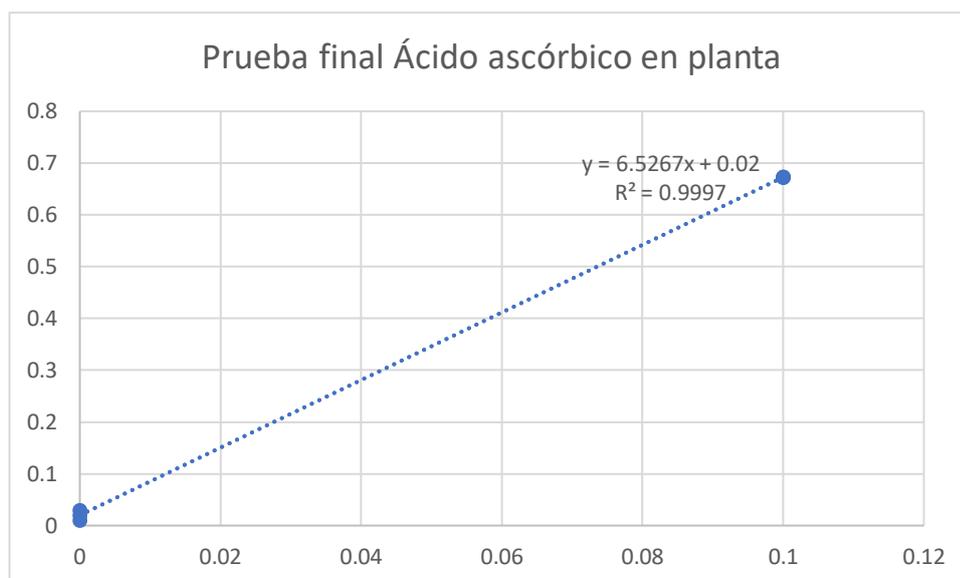
Para validar los datos, se calculó la correlación existente entre los datos analíticos de las mediciones realizadas previamente en la Universidad del Azuay y los resultados obtenidos en la fábrica "La Italiana", indicando un valor muy cercano a 1, lo que representa una reproductibilidad del método en ambas instalaciones debido a que se ajustó de manera ideal por la baja variabilidad de datos en ambos lugares. Este comportamiento se puede observar en la figura 24, figura 25 y figura 26.

**Figura 24.** Análisis de correlación lineal de datos correspondientes al ácido ascórbico

**Figura 25.** Análisis de correlación lineal de datos correspondientes al ascorbato de sodio**Figura 26.** Análisis de correlación lineal de datos correspondientes al eritorbato de sodio

Una vez los valores obtenidos en el laboratorio de la Universidad del Azuay fueron correlacionados con los obtenidos en la planta de la fábrica "La Italiana", se realizaron las pruebas finales en los 3 aditivos, con 2 réplicas y con reactivo fresco elaborado el día 8 de septiembre del 2021. De la figura 27 hasta la figura 29, se puede ver este método de ensayo final.

**Figura 27.** Prueba final ácido ascórbico en planta

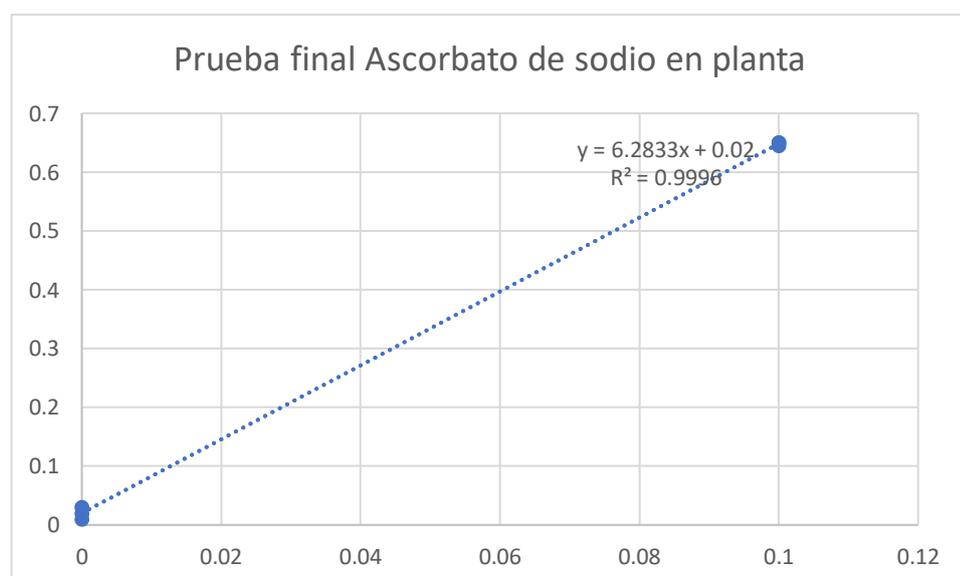


En la tabla 8, 9 y 10, se muestra el valor de la desviación estándar de los resultados obtenidos de las pruebas finales en ácido ascórbico, ascorbato de sodio y eritorbato en la empresa, los cuales se presentan dentro del mismo rango por la baja dispersión que tienen los datos.

**Tabla 8.** Desviación estándar de las pruebas en ácido ascórbico en planta

ÁCIDO ASCÓRBICO	$\sigma$
Lectura	0,010

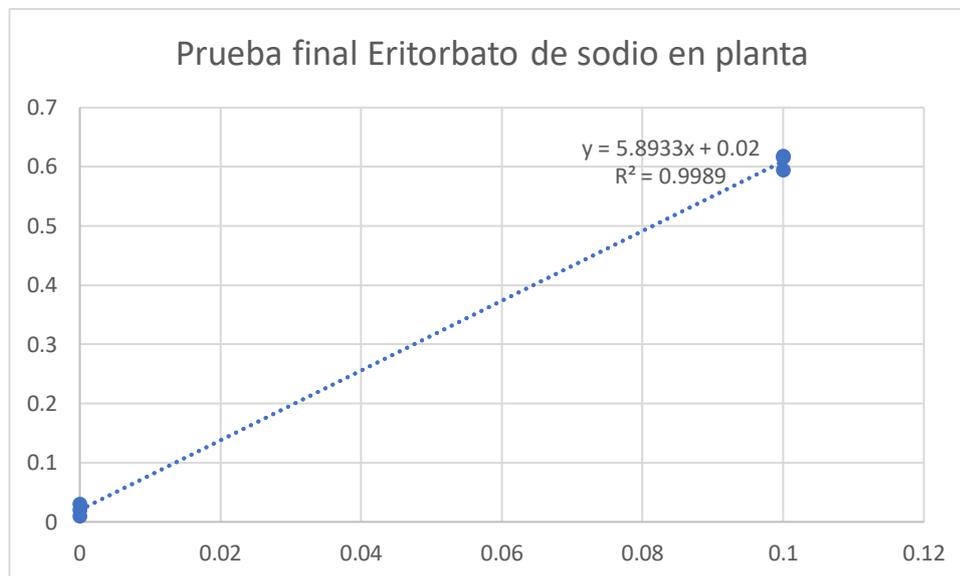
**Figura 28.** Prueba final ascorbato de sodio en planta



**Tabla 9.** Desviación estándar de las pruebas en ascorbato de sodio en planta

ASCORBATO DE SODIO	$\sigma$
Lectura Inicial	0,011

**Figura 29.** Prueba final eritorbato de sodio en planta



**Tabla 10.** Desviación estándar de las pruebas en eritorbato de sodio en planta

ERITORBATO DE SODIO	$\sigma$
Lectura inicial	0,013

## 4. DISCUSIÓN

### 4.1. Método Yodométrico

En la figura 2 se puede observar una elevada lectura de absorbancia medida por el espectrofotómetro durante el análisis en la muestra de ácido ascórbico. Al analizar estos resultados se determina que el método yodométrico es un análisis muy sensible. Pero la inestabilidad de sus reactivos, provoca que la solución indicadora de almidón no sea homogénea para el paso de la luz, además la solución de yodo presenta foto-degradación. La efectividad de la solución indicadora, entendiéndose como efectiva a la capacidad de formación de color y la presencia de sólidos suspendidos, es inconsistente debido a la variabilidad con respecto a la presencia y cantidad de partículas floculantes de la misma, generando así sesgo dentro de las múltiples lecturas y alterando la perdurabilidad durante el almacenaje, considerando que las condiciones de temperatura a la que estaba sometida la misma fueron a temperatura ambiente y en refrigeración.

Otro factor que presento la solución de almidón fue la precipitación de los sólidos suspendidos. Así mismo cabe mencionar que una vez preparado el reactivo y al momento de emplearlo, este interfirió de manera considerable las múltiples lecturas que se llevaron a cabo ya que este se degradaba de manera acelerada y la constante degradación que se daba por parte de esta solución provocó que no pueda ser estandarizado, concluyéndose de esta manera la dificultad de empleo de este análisis al no poseer parámetros fijos y constantes de trabajo.

### 4.2. Determinación de hierro

Al aplicar para la empresa italiana el desarrollo un método simplificado y adaptado a partir de la Norma INEN 2329, las condiciones de trabajo fueron establecidas a partir de la misma norma, debido a que se está adecuando un método de ensayo para cerveza y este a su vez es aplicado para pruebas de control de calidad de antioxidantes. La construcción de la curva de calibración de las 4 diferentes concentraciones a partir de la solución patrón de hierro y amonio hexahidratado y sus respectivas lecturas fueron realizadas en función a las condiciones de acuerdo a lo escrito en la guía.

Al comparar los resultados, el dato que corresponde al  $R^2$  de los 4 patrones de la figura 3 de acuerdo lo indica la norma, tiene un valor de 0.9659 y al analizar este valor y observar que la línea de tendencia no se acerca con todos los puntos, se decide eliminar el patrón de 0.25 ppm como se puede observar en la figura 4, en donde el  $R^2$  corresponde a un valor de 0.9998

siendo el más idóneo para trabajar analíticamente. Con respecto a la figura 5, al retirar los patrones de 25 y 50 ppm el  $R^2$  posee un valor de 1, indicando que existe una ideal correlación entre los resultados obtenidos.

Al comparar el comportamiento de estos 2  $R^2$ , se puede observar de manera clara un efecto de apalancamiento entre los puntos, es decir que un punto de la recta es capaz de determinar la regresión de la recta además de generar un sesgo en el resultado. El efecto en los puntos de palanca en la gráfica, hizo que se descartara trabajar en estas condiciones y que se determine que los patrones óptimos así este no posea un  $R^2$  tan cercano a 1 para el estudio comprendiendo en 0 ppm, 5 ppm, 10 ppm y 25 ppm.

Dentro de las condiciones para la reproductibilidad del método se fijaron evaluaciones con varias cantidades de ácido ascórbico en una solución de 1 litro con agua (1.8 g; 1.9g; 2 g; 2.1 g; 2.2 g) y de biperidina (0.9 g; 1.2 g; 1.5 g). Se generaron las lecturas de absorbancia y se desarrolló una curva de calibración en función de los datos obtenidos, calculando sus respectivos datos de regresión lineal. Al comparar los  $R^2$  resultantes de las pruebas preliminares, se observó que las mismas que estaban en un rango de 2 gramos de ácido ascórbico y 1.2 gramos de biperidina tuvieron una media en sus  $R^2$  de la tabla 2 con el valor de 0,99836 y al comparar en función de los demás  $R^2$  resultantes, este se aproximó más a 1, indicando que existe una mínima variabilidad en los datos de la lectura.

Haciendo alusión a la delimitación de la tasa de estabilidad que tienen los reactivos para el ensayo químico, el proceso realizado fue relevante para poder establecer la vida útil que los mismos tienen. Al analizar los datos obtenidos de la incubación de los reactivos, se visualiza una disminución gradual en su estabilidad siendo estos resultados correspondientes al análisis de la mezcla de reactivos como se indica en la figura 17. Este factor de reducción genera que la absorbancia al transcurrir los días disminuya y no se mantenga dentro de un rango constante, generando una conducta de deterioro rápida.

A diferencia de la respuesta anterior, los datos provenientes de la prueba de aceleración en reactivos individuales indican la presencia de 2 gradas entre los valores, esto siendo indicado en la figura 18. La respuesta del día 0 de la absorbancia tiene un valor de 1.4 A y a partir de este día se ve una caída en el valor de la absorbancia. Además, en la figura 19 se puede apreciar que desde el día 1 hasta el 11 existe un límite de estabilidad en la absorbancia y posterior a este límite, se observa un nuevo descenso de la cantidad de absorbancia desde el día 12 manteniéndose estable hasta el día 30.

La comparación en los descensos de absorbancia de la prueba anterior de aceleración indica que la diferencia radica entre las 2 fases de estabilidad una siendo desde el periodo de 1-11 días y el otro de entre 12-30 días y puede ser originado a causa que el reactivo empleado es de calidad reciente y por ende posee una mejor estabilidad estimando un periodo de alrededor de 12 días hasta llegar a un nuevo nivel de estabilidad en donde se va a mantener nuevamente constante para dar nuevas lecturas.

En cuanto a la figura 20 que pertenece al ácido ascórbico, se determina un mismo comportamiento de la lectura inicial con respecto a la réplica 1 y réplica 2, la conducta de las 3 gráficas es muy similar, evidenciándose esto en la tabla 5 con un valor de desviación estándar muy semejante entre ellas. Este valor de desviación estándar indica que no existe mayor dispersión de datos, lo que en las lecturas no se generó ningún ruido estadístico dentro de la medición.

Al analizar la figura 21 correspondiente al eritorbato de sodio, se puede determinar nuevamente un comportamiento similar al del ácido ascórbico en la lectura inicial con respecto a la réplica 1 y réplica 2, el comportamiento de las 3 réplicas es el mismo, evidenciándose esto en la tabla 6 con un valor de desviación estándar parecido entre las mismas, ya que en las lecturas no se presentó ningún ruido estadístico dentro de la medición. Con respecto a la figura 22 del ascorbato de sodio, se puede concluir que al igual que la ilustración del eritorbato de sodio tiene un mismo comportamiento debido a que estos son derivados del ácido ascórbico y su comportamiento es igual o muy semejante entre sí.

Con respecto a la transferencia tecnológica del método adaptado para la empresa “La Italiana” se presentaron varias condicionantes dentro de la aplicación de este en la fábrica, una de ellas es la presencia de hierro en el agua destilada. La cantidad de hierro que se encuentra en el agua hace que reaccione el reactivo sulfato de amonio y hierro hexahidratado, generando una posible interferencia en la lectura de la absorbancia de los antioxidantes.

Al revisar los datos correspondientes a la presencia de hierro en el agua de la empresa “La Italiana”, se detectó una cantidad de 0.037 ppm lo que aumenta el resultado de la absorbancia e interfiere en la lectura, concluyendo que existen diferentes condiciones entre los reactivos preparados y utilizados inicialmente en el laboratorio de la Universidad del Azuay y el laboratorio de la empresa. Considerando todas estas condiciones, se volvió a realizar el método, pero en las condiciones que posee la empresa. La construcción de la nueva curva de calibración se puede observar en la figura 23, la cual posee el valor de 0.9984

$R^2$  viéndose una ligera diferencia con respecto a los valores decimales con respecto a la obtenida en la figura 6.

Al analizar los resultados obtenidos de la correlación lineal entre el modelo desarrollado en el laboratorio de la Universidad del Azuay y el laboratorio de la empresa "La Italiana" indican que los datos se están directamente relacionados como se puede ver en las figuras 24, 25 y 26 y poseen semejanza entre los mismos, indicando que el método desarrollado en la Universidad del Azuay, es aplicable en la empresa "La Italiana" debido a que los equipos (espectrofotómetros) utilizados en tanto como en las instalaciones de la empresa como en las de la Universidad del Azuay tienen una sensibilidad muy parecida lo que no altera considerando la presencia del metal hierro dentro del agua que ellos poseen.

Finalmente, en la figura 27 del ácido ascórbico se puede ver un comportamiento muy similar al que se dio en los análisis de la Universidad del Azuay, además de un comportamiento similar con respecto al ascorbato de sodio y eritorbato de sodio de las figuras 28 y 29, permitiendo concertar una conducta semejante de los datos resultantes entre ambas pruebas.

## 5. CONCLUSIONES

Se concluye que la aplicación del método correspondiente a la Norma INEN 2329 es viable para el análisis de control de calidad los aditivos antioxidantes de uso alimenticio para la empresa “La Italiana” demostrando ser un ensayo confiable y permitiendo una fácil detección en la concentración de estos en la empresa. De esta forma, se puede garantizar la estabilidad en los productos manufacturados en planta hasta el momento que llega al consumidor, sin que exista una sobredosificación o una subdosificación de los mismos en la formulación.

La estabilidad de los reactivos empleados maneja dos periodos de estabilidad en donde el periodo idóneo para realizar lecturas corresponde a un lapso de 11 días a partir de su preparación y considerando una baja de absorbancia prevista. Los resultados del análisis en los aditivos de la empresa de embutidos se manejan dentro del siguiente rango establecido, permitiendo determinar el grado de pureza que los aditivos poseen.

Finalmente, la aplicación de las pruebas elaboradas en la fábrica con sus respectivas respuestas en contraste con las respuestas obtenidas en el laboratorio de la Universidad del Azuay, dio un comportamiento idóneo en la correlación en las curvas de calibración de ambos establecimientos, considerando que existe un 0.037 de interferencia debido a la presencia de hierro en el agua. Al observar los valores del  $R^2$  en los 3 aditivos en las figuras de correlación indican que se encuentran muy cercanos estos valores, mostrando que el método es replicable y efectivo en sus instalaciones para un control de calidad rápido y óptimo de antioxidantes previo a la aplicación en productos cárnicos.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amaguay, D. (2020). Evaluación de 3 niveles de aceite de Sacha Culantro (*Eryngium foetidum*), como agente antioxidante en la elaboración de salchicha Frankfurt. [Tesis de grado]. Universidad Estatal Amazónica
- Armijos, H., García, C., Sánchez, R., Jirón, Y. y Espinoza, W. (2016). Efecto de la adición de ácido ascórbico en la degradación de nitratos y nitritos en mortadela. ISSN 2528-7737.
- Badui, S. (2006). *Química de los alimentos*. Pearson Educación.
- Barboza, B. y Yoelinson, A. (2016). Estimación de la vida útil de una bebida alchocolatada mediante pruebas aceleradas por temperaturas. [Tesis de grado]. Universidad de Los Andes.
- Baroni. (2019). Espectrometría de absorción atómica y espectrometría de emisión atómica. <https://www.alsglobal.com/%2Fes-co%2Fnews%2Farticulos%2F2019%2F08%2Fespectrometra-de-absorcin-atmica-y-espectrometra-de-emisin-atmica>
- Benzzo, M. (2005). Determinación objetiva del color en la elaboración de pastas modelo de embutidos crudo-curados. [Tesis de magister]. Universidad Nacional del Litoral.
- Brunatti, C. & Martín, A. (2010). Introducción a la Espectroscopía de Absorción Molecular Ultravioleta, Visible e Infrarrojo Cercano. <http://materias.fi.uba.ar/6305/download/Espectrofotometria.pdf>
- Calacaneo, G. (2013). Eritorbato de Sodio aplicado en la Industria Alimentaria. [Entrada de blog]. *QuimicoGlobal*. <https://quimicoglobal.mx/eritorbato-de-sodio-aplicado-en-la-industria-alimentaria/>
- Carrión, P. (2017). Análisis del efecto antioxidante de diferentes concentraciones del ají escabeche (*Capsicum baccatum* L.) sobre chorizo ahumado. [Tesis de grado]. Universidad de Cuenca
- Carvajal, C. (2019). Lípidos, lipoproteínas y aterogénesis. Ed. EDNASSS. ISBN: 978-9968-916-78-3. <https://repositorio.binasss.sa.cr/repositorio/bitstream/handle/20.500.11764/721/lipidos.pdf?sequence=1&isAllowed=y#:~:text=Los%20l%C3%ADpidos%20son%20un%20grupo,que%20por%20sus%20propiedades%20qu%C3%ADmicas.>
- Cedeño, E. (2018). Control de Calidad de Patrones de Vitamina C. [https://issuu.com/elizabethcedeno0/docs/pr\\_\\_ctica\\_\\_6\\_vitamina\\_c](https://issuu.com/elizabethcedeno0/docs/pr__ctica__6_vitamina_c)
- Díaz, N., Bárcena, A., Fernández, E., Galván A., Jorrín, J., Peinado, J., Toribio, F. y Túnez, I. (2005). Espectrofotometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas. <https://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/practicasgenerales.htm>
- Echeverría, M. (2020). Antioxidantes: naturales vs sintéticos. Recuperado de: <https://thefoodtech.com/ingredientes-y-aditivos-alimentarios/antioxidantes-naturales-vs-sinteticos/>

- FAO. (1997). Calidad de métodos analíticos. <http://www.fao.org/3/ah833s/AH833S15.htm>
- Fernández, M. (2001). La estadística en química analítica. [Tesis de grado]. Universidad de Navarra
- Fischer, K. (2012). El ABC de la valoración: Guía básica de la teoría de la valoración. <https://www.mt.com/es/es/home/library/guides/lab-analytical-instruments/theory-practical-titration-kf.html>
- Food News Latam. (2017). Oxidación Lipídica y antioxidantes naturales en derivados cárnicos. <https://www.carnicoslatam.com/index.php/sectores/36-embutidos/3054-oxidaci%C3%B3n-lip%C3%ADica-y-antioxidantes-naturales-en-derivados-c%C3%A1rnicos.html>
- Herrera, A. (2014). Ley de Bouguer- Lambert- Beer. <https://www.uv.mx/personal/aherrera/files/2014/05/L.-Ley-de-Bouguer-Lambert-Beer-0.pdf>
- Horcada, A. y Polvillo, O. (2010). Conceptos básicos sobre la carne. <https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/40940/horconcep113a140.pdf>
- INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN. (2002). Bebidas alcohólicas. Cerveza. Determinación de hierro. <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/2326.pdf>
- INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN. (2012). Carne y productos cárnicos. productos cárnicos crudos, productos cárnicos curados - madurados y productos cárnicos precocidos - cocidos. requisitos. [https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte\\_inen\\_1338-3.pdf](https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_1338-3.pdf)
- INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN. (2013). CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS. DEFINICIONES. <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte-inen-1217-2.pdf>
- Isaza, Y., Restrepo, D. y López, J. (2013). Oxidación lipídica y antioxidantes naturales en derivados cárnicos. *Journal of Engineering and Technology*, 2(2013). <http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1422/1/933-2732-1-PB.pdf>
- Jiménez, F. y Carballo, J. (1989). Principios básicos de elaboración de embutidos. Ed. MINISTERIO DE AGRICULTURA PESCA Y ALIMENTACION. [https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd\\_1989\\_04.pdf](https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1989_04.pdf)
- Kemin. (2018). El proceso de oxidación y la formación de los compuestos relacionados con la rancidez. [Entrada de blog]. *Kemin*. <https://www.kemin.com/sa/es/company/contact>
- Kovachev, N. (2014). Desarrollo y evaluación de nuevas estrategias y técnicas para mejorar la eficacia en la preparación de muestra para el análisis químico. [Tesis de grado]. Universidad de Alicante.
- Laboratorios Vitafor S.R.L. (2011). ANTIOXIDANTES. [http://www.dirico.com.ec/archivos/Presentacion\\_Antioxidantes.pdf](http://www.dirico.com.ec/archivos/Presentacion_Antioxidantes.pdf)

- Lamiña, A. (2011). Desarrollo de métodos químicos por espectrofotometría y titulaciones en el laboratorio de medio ambiente. [Tesis de grado]. Escuela Politécnica del Ejército.
- Landines, M. y Zambrano, A. (2009). La oxidación lipídica en la cadena de producción acuícola. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*. 0(1), 13-22.
- Maroto, A. (2002). Incertidumbre en métodos analíticos de rutina. [Tesis de doctorado]. Universidad Rovira I Virgili
- MedLinePlus. (2019). Antioxidantes. <https://medlineplus.gov/spanish/antioxidants.html#:~:text=Los%20antioxidantes%20son%20sustancias%20naturales,encuentran%20disponibles%20como%20suplementos%20diet%C3%A9ticos>.
- Montes, H. (2018). Valoraciones Fotométricas. [Tesis de grado]. Universidad de Sevilla
- Perlo, F., Fabre, R., Bonato, P., Jenó, C., Tissoco, O. y Teira, G. (2019). Uso de extracto de romero y ácido ascórbico en la conservación refrigerada de carne de cerdo. *Revista Ciencia, Docencia y Tecnología*, 31(60), 208-227. <https://doi.org/10.33255/3160/738>. <https://www.redalyc.org/jatsRepo/145/14563165011/html/index.html>
- Pinzón, K. (2017). Determinación de ácido ascórbico por 3 diferentes métodos. [https://issuu.com/kathpinzon/docs/determinaci\\_n\\_de\\_\\_cido\\_asc\\_\\_rbico](https://issuu.com/kathpinzon/docs/determinaci_n_de__cido_asc__rbico)
- Porras, M., Rojas, J. & Delgado, J. (2005). Medición de la transmitancia espectral de filtros de gelatina. *REVISTA MEXICANA DE FÍSICA*. 52(1), 47-50. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmfe/v52n1/v52n1a7.pdf>
- Quino I., Ramos, O y Guisbert, E. (2007). Determinación del Límite de Detección Instrumental (LDI) y Limite de Cuantificación instrumental (LCI) en elementos traza de agua subterránea. *Revista Boliviana de Química*, 24(1). ISSN 0250-5460. [http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0250-54602007000100010](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0250-54602007000100010)
- Ramírez, J., Gómez, B., Díaz, C. y Gascatirado, R. (2017). Análisis de la Absorbancia y Transmitancia Espectral del Mucílago de Salvia hispánica L. para la Fotoprotección de la Piel. *Revista de Ciencias de la Salud*. 4(10), 13-22. [https://www.ecorfan.org/bolivia/researchjournals/Ciencias\\_de\\_la\\_Salud/vol4num10/Revista\\_Ciencias\\_de\\_la\\_Salud\\_V4\\_N10\\_2.pdf](https://www.ecorfan.org/bolivia/researchjournals/Ciencias_de_la_Salud/vol4num10/Revista_Ciencias_de_la_Salud_V4_N10_2.pdf)
- Rodríguez, M. y Alemán, C. (2008). Aseguramiento de la calidad en análisis químicos. *La revista de química útil*. ISSN 1692 – 4991. <https://www.mollabs.com/pdf/analisisqui.pdf>
- Rojas, E. (2011). Estructura y función de los lípidos. <https://es.slideshare.net/evelinro/unidad-ii-tema-3>
- Skoog, D., West, D., Holler., J y Crouch, S. (2015). *Fundamentos de Química Analítica*. CENGAGE Learning.
- Vilaplana, M. (2007). Antioxidantes presentes en los alimentos. Vitaminas, minerales y suplementos. *Revista ÁMBITO FARMACÉUTICO Nutrición*. 26(10), 79-86. <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-antioxidantes-presentes-los-alimentos-vitaminas-13112893>

## ANEXOS

## Anexo 1

Absorbancia de soluciones patrón en función de 1.8 g de Ácido ascórbico y 0.9 g de  
Bipiridina

<b>A. ascorbico 1.8 g - Bipiridina 0.9 g</b>	
<b>ppm</b>	<b>A</b>
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0,05	0,087
0,05	0,088
0,05	0,089
0,05	0,089
0,05	0,09
0,05	0,09
0,05	0,09
0,05	0,09
0,05	0,091
0,05	0,091
0,1	0,174
0,1	0,174
0,1	0,175
0,1	0,175
0,1	0,176
0,1	0,176
0,1	0,177
0,1	0,177
0,1	0,178
0,1	0,178
0,25	0,568
0,25	0,57
0,25	0,571
0,25	0,572
0,25	0,573
0,25	0,575
0,25	0,576
0,25	0,577
0,25	0,58
0,25	0,582
0,5	1,09
0,5	1,09
0,5	1,088
0,5	1,087
0,5	1,092
0,5	1,092
0,5	1,092
0,5	1,092
0,5	1,092



## Anexo 3

Absorbancia de soluciones patrón en función de 1.8 g de Ácido ascórbico y 1.5 g de  
Bipiridina

ppm	A
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0,05	0,15
0,05	0,13
0,05	0,13
0,05	0,14
0,05	0,14
0,05	0,13
0,05	0,13
0,05	0,12
0,05	0,11
0,05	0,12
0,1	0,205
0,1	0,205
0,1	0,205
0,1	0,206
0,1	0,206
0,1	0,207
0,1	0,207
0,1	0,208
0,1	0,208
0,1	0,209
0,25	0,561
0,25	0,562
0,25	0,563
0,25	0,564
0,25	0,565
0,25	0,566
0,25	0,567
0,25	0,566
0,25	0,566
0,25	0,566
0,25	0,566
0,5	0,998
0,5	0,998
0,5	0,998
0,5	0,998
0,5	0,999
0,5	0,999
0,5	1,01
0,5	1,01
0,5	1,02

## Anexo 4

Absorbancia de soluciones patrón en función de 1.9 g de Ácido ascórbico y 0.9 g de  
Bipiridina

<b>A. ascorbico 1.9 g - Bipiridina 0.9 g</b>	
<b>ppm</b>	<b>A</b>
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0,05	0,058
0,05	0,059
0,05	0,06
0,05	0,059
0,05	0,06
0,05	0,061
0,05	0,06
0,05	0,061
0,05	0,061
0,05	0,061
0,05	0,061
0,1	0,114
0,1	0,115
0,1	0,115
0,1	0,116
0,1	0,116
0,1	0,116
0,1	0,116
0,1	0,116
0,1	0,117
0,1	0,116
0,25	0,483
0,25	0,483
0,25	0,483
0,25	0,484
0,25	0,485
0,25	0,486
0,25	0,486
0,25	0,486
0,25	0,486
0,25	0,487
0,5	0,812
0,5	0,812
0,5	0,812
0,5	0,812
0,5	0,813
0,5	0,814
0,5	0,815
0,5	0,815
0,5	0,816

## Anexo 5

Absorbancia de soluciones patrón en función de 1.9 g de Ácido ascórbico y 1.2 g de  
Bipiridina

<b>A. ascorbico 1.9 g - Bipiridina 1,2 g</b>	
<b>ppm</b>	<b>A</b>
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0,05	0,066
0,05	0,067
0,05	0,067
0,05	0,067
0,05	0,068
0,05	0,067
0,05	0,068
0,05	0,068
0,05	0,068
0,05	0,068
0,05	0,068
0,1	0,132
0,1	0,133
0,1	0,133
0,1	0,134
0,1	0,134
0,1	0,134
0,1	0,134
0,1	0,134
0,1	0,135
0,1	0,135
0,1	0,135
0,25	0,495
0,25	0,496
0,25	0,496
0,25	0,497
0,25	0,497
0,25	0,498
0,25	0,498
0,25	0,498
0,25	0,499
0,25	0,5
0,5	1,137
0,5	1,138
0,5	1,138
0,5	1,138
0,5	1,14
0,5	1,141
0,5	1,142
0,5	1,143
0,5	1,143

## Anexo 6

Absorbancia de soluciones patrón en función de 1.9 g de Ácido ascórbico y 1.5 g de  
Bipiridina

<b>A. ascorbico 1.9 g - Bipiridina 1,5 g</b>	
<b>ppm</b>	<b>A</b>
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0,05	0,075
0,05	0,076
0,05	0,076
0,05	0,076
0,05	0,077
0,05	0,077
0,05	0,077
0,05	0,077
0,05	0,077
0,05	0,078
0,05	0,077
0,1	0,15
0,1	0,15
0,1	0,151
0,1	0,151
0,1	0,151
0,1	0,152
0,1	0,153
0,1	0,154
0,1	0,154
0,1	0,155
0,25	0,5
0,25	0,5
0,25	0,502
0,25	0,502
0,25	0,502
0,25	0,503
0,25	0,503
0,25	0,504
0,25	0,504
0,25	0,504
0,5	1,126
0,5	1,128
0,5	1,128
0,5	1,128
0,5	1,128
0,5	1,129
0,5	1,13
0,5	1,13
0,5	1,131

## Anexo 7

Absorbancia de soluciones patrón en función de 2 g de Ácido ascórbico y 0.9 g de Bipiridina

<b>A. ascorbico 2 g - Bipiridina 0.9 g</b>	
<b>ppm</b>	<b>A</b>
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0,05	0,128
0,05	0,128
0,05	0,129
0,05	0,129
0,05	0,129
0,05	0,129
0,05	0,129
0,05	0,129
0,05	0,13
0,05	0,129
0,05	0,13
0,1	0,222
0,1	0,222
0,1	0,223
0,1	0,223
0,1	0,224
0,1	0,224
0,1	0,224
0,1	0,224
0,1	0,224
0,1	0,224
0,1	0,225
0,25	0,761
0,25	0,762
0,25	0,763
0,25	0,763
0,25	0,763
0,25	0,763
0,25	0,764
0,25	0,764
0,25	0,764
0,25	0,764
0,25	0,764
0,5	1,146
0,5	1,147
0,5	1,148
0,5	1,148
0,5	1,15
0,5	1,15
0,5	1,15
0,5	1,151
0,5	1,151





## Anexo 10

Absorbancia de soluciones patrón en función de 2.1 g de Ácido ascórbico y 0.9 g de  
Bipiridina

<b>A. ascorbico 2,1 g - Bipiridina 0,9 g</b>	
<b>ppm</b>	<b>A</b>
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0,05	0,054
0,05	0,054
0,05	0,054
0,05	0,054
0,05	0,055
0,05	0,055
0,05	0,055
0,05	0,055
0,05	0,055
0,05	0,055
0,05	0,055
0,1	0,142
0,1	0,142
0,1	0,142
0,1	0,142
0,1	0,143
0,1	0,143
0,1	0,143
0,1	0,143
0,1	0,143
0,1	0,143
0,25	0,528
0,25	0,528
0,25	0,529
0,25	0,529
0,25	0,53
0,25	0,53
0,25	0,53
0,25	0,53
0,25	0,531
0,25	0,531
0,5	1,042
0,5	1,043
0,5	1,044
0,5	1,045
0,5	1,045
0,5	1,045
0,5	1,046
0,5	1,047



## Anexo 12

Absorbancia de soluciones patrón en función de 2.1 g de Ácido ascórbico y 1.5 g de  
Bipiridina

<b>A. ascorbico 2,1 g - Bipiridina 1,5 g</b>	
<b>ppm</b>	<b>A</b>
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0,05	0,12
0,05	0,121
0,05	0,121
0,05	0,121
0,05	0,121
0,05	0,121
0,05	0,121
0,05	0,121
0,05	0,121
0,05	0,121
0,05	0,121
0,05	0,121
0,1	0,249
0,1	0,249
0,1	0,249
0,1	0,249
0,1	0,249
0,1	0,249
0,1	0,25
0,1	0,25
0,1	0,25
0,1	0,251
0,25	0,741
0,25	0,742
0,25	0,543
0,25	0,543
0,25	0,544
0,25	0,544
0,25	0,544
0,25	0,545
0,25	0,545
0,25	0,545
0,5	1,097
0,5	1,098
0,5	1,099
0,5	1,1
0,5	1,101
0,5	1,102
0,5	1,102
0,5	1,102
0,5	1,102

## Anexo 13

Absorbancia de soluciones patrón en función de 2.2 g de Ácido ascórbico y 0.9 g de  
Bipiridina

<b>A. ascorbico 2,2 g - Bipiridina 0,9 g</b>	
<b>ppm</b>	<b>A</b>
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0,05	0,065
0,05	0,066
0,05	0,066
0,05	0,066
0,05	0,067
0,05	0,067
0,05	0,067
0,05	0,067
0,05	0,067
0,05	0,067
0,05	0,067
0,05	0,067
0,1	0,239
0,1	0,239
0,1	0,24
0,1	0,24
0,1	0,243
0,1	0,242
0,1	0,243
0,1	0,243
0,1	0,243
0,1	0,243
0,1	0,243
0,25	0,531
0,25	0,532
0,25	0,532
0,25	0,533
0,25	0,533
0,25	0,533
0,25	0,533
0,25	0,533
0,25	0,533
0,25	0,534
0,25	0,534
0,5	1,083
0,5	1,083
0,5	1,084
0,5	1,085
0,5	1,086
0,5	1,087
0,5	1,087
0,5	1,087
0,5	1,087

## Anexo 14

Absorbancia de soluciones patrón en función de 2.2 g de Ácido ascórbico y 1.2 g de  
Bipiridina

<b>A. ascorbico 2,2 g - Bipiridina 1,2 g</b>	
<b>ppm</b>	<b>A</b>
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0,05	0,053
0,05	0,053
0,05	0,054
0,05	0,054
0,05	0,054
0,05	0,055
0,05	0,055
0,05	0,054
0,05	0,055
0,05	0,055
0,1	0,188
0,1	0,188
0,1	0,188
0,1	0,188
0,1	0,189
0,1	0,188
0,1	0,189
0,1	0,188
0,1	0,188
0,1	0,189
0,1	0,188
0,1	0,189
0,25	0,523
0,25	0,524
0,25	0,524
0,25	0,524
0,25	0,524
0,25	0,524
0,25	0,525
0,25	0,525
0,25	0,525
0,25	0,525
0,25	0,525
0,5	1,076
0,5	1,075
0,5	1,074
0,5	1,073
0,5	1,072
0,5	1,071
0,5	1,07
0,5	1,069
0,5	1,068







## Anexo 18

Absorbancia de soluciones patrón en función de 2.2 g de Ácido ascórbico y 1.2 g de  
Bipiridina (sin patrón 25 y 50 ppm)

ppm	A
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0,05	0,111
0,05	0,112
0,05	0,112
0,05	0,112
0,05	0,112
0,05	0,112
0,05	0,112
0,05	0,113
0,05	0,113
0,05	0,113
0,05	0,113
0,05	0,113
0,1	0,224
0,1	0,225
0,1	0,225
0,1	0,225
0,1	0,225
0,1	0,225
0,1	0,225
0,1	0,225
0,1	0,226
0,1	0,226
0,1	0,226

## Anexo 19

Absorbancia de soluciones patrón en función de 2.2 g de Ácido ascórbico y 1.2 g de  
Bipiridina (sin patrón 50 ppm)

ppm	A
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0	0
0,05	0,111
0,05	0,112
0,05	0,112
0,05	0,112
0,05	0,112
0,05	0,112
0,05	0,112
0,05	0,113
0,05	0,113
0,05	0,113
0,05	0,113
0,05	0,113
0,1	0,224
0,1	0,225
0,1	0,225
0,1	0,225
0,1	0,225
0,1	0,225
0,1	0,225
0,1	0,225
0,1	0,225
0,1	0,226
0,1	0,226
0,1	0,226
0,25	0,713
0,25	0,713
0,25	0,714
0,25	0,714
0,25	0,716
0,25	0,717
0,25	0,717
0,25	0,717
0,25	0,718
0,25	0,718

## Anexo 20

Absorbancia de soluciones patrón en función de 2 g de Ácido ascórbico y 1.2 g de Biperidina aplicado en la empresa "La Italiana" con 2 réplicas.

A. ascórbico 2 gr - Biperidina 1,2 gr	
ppm	A
0	0,02
0	0,03
0	0,01
0,05	0,313
0,05	0,311
0,05	0,319
0,1	0,672
0,1	0,673
0,1	0,673
0,25	1,542
0,25	1,543
0,25	1,595

## Anexo 21

Absorbancia resultante de la medición en la empresa "La Italiana" (Ácido ascórbico) con 2 réplicas.

Solución en ppm	Lectura Absorbancia
0	0,02
0,1	0,672
Solución en ppm	Réplica 1
0	0,03
0,1	0,673
Solución en ppm	Réplica 2
0	0,01
0,1	0,673

## Anexo 22

Absorbancia resultante de la medición en la empresa "La Italiana" (Ascorbato de sodio) con 2 réplicas.

Solución en ppm	Lectura Absorbancia
0	0,02
0,1	0,645
Solución en ppm	Réplica 1
0	0,03
0,1	0,65
Solución en ppm	Réplica 2
0	0,01
0,1	0,65

## Anexo 23

Absorbancia resultante de la medición en la empresa "La Italiana" (Eritorbato de sodio) con 2 réplicas.

Solución en ppm	Lectura Absorbancia
0	0,02
0,1	0,594
Solución en ppm	Réplica 1
0	0,03
0,1	0,616
Solución en ppm	Réplica 2
0	0,01
0,1	0,618

Anexo 24

**PROCESO DE ESTANDARIZADO PARA CUANTIFICACIÓN DE ANTIOXIDANTES**

**1. OBJETIVO**

Cuantificación de capacidad antioxidante de aditivos para empresa “La Italiana” mediante un método analítico espectrofotométrico.

**2. PREPARACION DE LA MUESTRA**

- El aditivo debe estar almacenado a temperatura ambiente.
- Pesar 2 gramos de aditivo antioxidante y mezclar con agua hasta tener una solución homogénea y aforar en un balón de 1000 ml.

**3. MÉTODO DE ENSAYO**

3.1. Resumen

El método se basa en la reacción de biperidina con el ion ferroso que da como resultado la formación de un complejo coloreado, y este se mide en el espectrofotómetro con una longitud de onda de 520 nm.

3.2. Equipos

Espectrofotómetro de marca THERMI SCIENTIFIC y modelo GENESYS 305 VIS

Pipetas serológicas de 1 y 5 ml

Balón de aforo de 1000 ml y 500 ml.

3.3. Reactivos

3.3.1. Reactivo de color

Biperidina: Disolver 1.2 gramos de 2,2' Biperidina ( $\mu, \mu'$ -diperidil) en 20 ml de ácido acético glacial y aforar a 500 ml con agua destilada.

3.3.2. Solución patrón de Hierro

Sulfato de hierro y amonio hexahidratado: Pesar 3,512 g del reactivo mencionado previamente  $[\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$  y transferir a un balón aforado de 500 ml. Disolver la sal de hierro en agua destilada, agregar 0,1 ml de HCl concentrado y completar el volumen con agua destilada, mezclar la solución vigorosamente.

3.4. Calibración

- Diluir 1 ml de la solución patrón de hierro (inciso 3.3.2) a 100 ml con agua destilada para obtener una solución que contiene 0,01 mg de hierro por ml de solución.
- Diluir alícuotas de 0 ml; 0.05 ml; 0.1 ml; 0.25 ml y 0.5 ml de esta solución y aforar hasta 100 ml con agua destilada para obtener soluciones que contienen 0; 0.05; 0.1; 0.25 y 0.5 mg de hierro por litro.
- Tomar una alícuota de 25 ml del inciso 2, adicionar 2 ml de reactivo de color (inciso 3.3.1) y 25 ml de las alícuotas de la solución patrón de hierro.
- Medir la absorbancia a 520 nm y graficar la absorbancia contra mg/l de hierro para obtener una línea recta.

### 3.5. Procedimiento

- Preparar un blanco o cero analítico que contenga 25 ml de agua destilada, añadir 2 ml de biperidina y 25 ml de alícuota de la solución 0.1 ppm del patrón de hierro previamente preparada en el inciso 3.4.
- Medir la absorbancia de la muestra contra el blanco a 520 nm y determinar la ecuación de la recta que se forma.

### 3.6. Cálculos

$$\text{Concentración del antioxidante: } \frac{A+b}{m}$$

**A:** Absorbancia

**b:** Valor de la intersección

**m:** Pendiente

$$\text{- Concentración } C_6H_8O_6 \text{ (Ácido ascórbico): } \frac{A+b}{m}$$

$$\text{Concentración } C_6H_8O_6: \frac{0.673+0.0008}{0.3302}$$

$$\text{Concentración } C_6H_8O_6: 2.039$$

$$\text{- Concentración } C_6H_7NaO_6 \text{ (Eritorbato de sodio): } \frac{A+b}{m}$$

$$\text{Concentración } C_6H_7NaO_6: \frac{0.648+0.0004}{0.3319}$$

$$\text{Concentración } C_6H_7NaO_6: 1.954$$

- Concentración  $C_6H_7NaO_6$  (Ascorbato de sodio):  $\frac{A+b}{m}$

$$\text{Concentración } C_6H_7NaO_6: \frac{0.609+0.0006}{0.3567}$$

Concentración  $C_6H_7NaO_6$  : 1.709

#### 4. Recomendaciones

- Verificar que el espectrofotómetro se encuentra calibrado.
- Calibrar el espectrofotómetro de manera periódica y adecuar el tamaño de los pocillos para colocar las cubetas previas su lectura.
- Observar que el equipo (espectrofotómetro) de la fábrica "La Italiana" presenta condiciones de trabajo muy fluctuantes entre lecturas de muestras.
- Considerar la cantidad de cloro presente en el agua ya que este puede generar interferencia dentro de las mediciones.
- Mantener un óptimo lavado de material de vidrio utilizado previo a la aplicación de este método de ensayo.