

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

CONTRIBUCION AL ESTUDIO DE RETENCION VITAMINICA DE ALGUNOS ALIMENTOS PROCESADOS

 1979
T E S I S

Que para obtener el título de:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

p r e s e n t a

MA. DE LOS ANGELES GOMEZ RIVERA

México, D. F.

1 9 7 6



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

LAB Tosil
AGE 1926
FECHA 1926
PROC 164

202



JURADO ASIGNADO ORIGINAL-
MENTE SEGUN EL TEMA

PRESIDENTE	NINFA GUERRERO DE CALLEJAS
VOCAL	ENRIQUE GARCIA GALEANO
SECRETARIO	CARMEN REYNA BORDES
1er. SUPLENTE	RUBEN BERRA GARCIA COSS
2do. SUPLENTE	ALEJANDRO GARDUÑO TORRES

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA: DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA DE -
LA NUTRICION Y TECNOLOGIA DE --
ALIMENTOS. DIVISION DE NUTRI--
CION. I.N.N.

SUSTENTANTE:	MARIA DE LOS ANGELES GOMEZ RIVERA
ASESOR DEL TEMA:	Q.F.B. NINFA GUERRERO DE CALLEJAS
ASESOR TECNICO:	I.B.Q. JOSE LUIS CAMACHO CUEVAS

A mis padres Francisco Gómez R.
y Guadalupe R. de Gómez con --
profundo agradecimiento, cariño
y admiración.

A mis hermanos

A Carlos

El costo de este trabajo fué cubierto parcialmente por el Instituto Nacional de Nutrición y por un donativo al Programa Nacional de Alimentación del CONACYT y Secretaría de la Presidencia.

La presente tesis fué dirigida por el I.B.Q. José Luis Camacho C. del Instituto Nacional de Nutrición y asesorado por parte de la Universidad Nacional Autónoma de México - por la Q.F.B. Ninfa Guerrero de C. a quienes agradezco la ayuda y facilidades brindadas para el desarrollo y culminación de este trabajo.

Con especial agradecimiento al
Dr. Héctor Bourges R. Jefe del
Depto. Fisiología de la Nutri-
ción y Tecnología de Alimen- -
tos, por su acertada y valiosa
dirección.

Con agradecimiento al
I.B.Q. Eduardo Mendoza
y al Dr. Adolfo Chávez
por las facilidades brin
dadas.

Al Ing. Alejandro Garduño
por sus valiosas sugerencias
y recomendaciones.

A mis compañeros y amigos
del laboratorio, en quienes
siempre encontré cooperación
y amistad.

A mis maestros.

I N D I C E

	PAGINA
CAPITULO I	
INTRODUCCION	1
CAPITULO II	
MATERIAL Y METODOS	24
CAPITULO III	
RESULTADOS	65
CAPITULO IV	
DISCUSION	86
CAPITULO V	
CONCLUSIONES	88
CAPITULO V	
BIBLIOGRAFIA	90

I INTRODUCCION

Son bien conocidas las causas y los efectos de los problemas a los que el hombre ha tenido que enfrentarse y resolver en lo que va del presente siglo, en forma muy especial durante las últimas décadas, esto es, explosión demográfica, hambre, desnutrición, contaminación ambiental, etc.

Quizá uno de los más graves por su magnitud y sus consecuencias, al atacar principalmente a organismos en pleno desarrollo, es el de la desnutrición.

La buena salud y una nutrición adecuada dependen de factores tales como la alimentación, la higiene, el clima, la actividad física, además de ciertas cuestiones de tradición y herencia que en muchas ocasiones afectan, de un modo directo, los hábitos alimentarios y, por tanto, actúan sobre la salud del individuo.

A fin de ayudar a resolver el problema de la desnutrición, el hombre ha creado organismos de investigación tanto a nivel nacional como internacional, los que han dedicado gran parte de su atención al examen de las necesidades humanas de calorías, proteínas y de otros elementos nutritivos esenciales entre los que se incluyen a las vitaminas.

Los estudios de nutrición realizados en diferentes partes del mundo durante las últimas tres décadas, y los datos registrados en los hospitales, así como las estadísticas de

morbilidad y mortalidad, indican claramente que, en muchos países en vías de desarrollo, se presentan con frecuencia trastornos nutricionales atribuibles a deficiencias vitamínicas, especialmente de vitamina A, tiamina, riboflavina y niacina. (33)

De acuerdo con los estudios llevados a cabo por el Instituto Nacional de Nutrición (35) se puede decir que existen en México, deficiencias en el consumo de vitaminas siendo más afectado el medio rural, en especial las zonas del sur y sureste del país. Las principales deficiencias vitamínicas observadas a nivel nacional fueron las de vitamina A, riboflavina, niacina, y ácido ascórbico.

Algunos de los factores más importantes que influyen en la ingestión de vitaminas son el factor socioeconómico, del cual depende la cantidad y composición de las dietas consumidas, la estación del año, la localización geográfica del sitio que ha bite el hombre, el factor cultural que es decisivo en la determinación de los hábitos alimentarios y, en consecuencia, en la ingestión de los elementos nutritivos y el factor tecnológico.

Las vitaminas son compuestos orgánicos que se requieren para el crecimiento normal y mantenimiento de la vida de los animales, inclusive el hombre, quien es incapaz de sintetizar la mayoría de ellas; son efectivas en pequeñas cantidades, actuando COMO COFACTORES, con acción catalítica, cuantitativa y marcadamente específica. (38) (40)

Debido a que las vitaminas son un conjunto de sustancias químicamente muy heterogéneas, se les ha clasificado de diversas maneras, una de ellas, la que las clasifica de acuerdo con su función bioquímica, y distingue una categoría que proporciona coenzimas, tal como tiamina en pirofosfato de tiamina, riboflavina en flavin-adenín-dinucleóteidos, y niacina en nicotina-mida-adenin-dinucleótidos. Las vitaminas que suministran coenzimas serán, en algún momento de su ciclo vital en el organismo, - substratos de reacciones intermedias que conduzcan a su incorporación en los grupos prostéticos.

Otra clasificación es la que se refiere a sus características de solubilidad. Así, las vitaminas A, D, E y K constituyen el grupo de las liposolubles y, la tiamina, la riboflavina, la niacina, la piridoxina, el ácido fólico, el ácido panto--ténico, la biotina, la cianocobalamina y el ácido ascórbico constituyen el grupo de las hidrosolubles (23).

Vitamina A.- Se encuentra abundantemente distribuída en el reino animal, fué la primera en recibir el nombre de vitamina en 1915 (40). Es necesaria para mantener sana y húmeda la mucosa que recubre a los aparatos respiratorio, urogenital y - otros conductos del cuerpo e interviene en el proceso natural de la visión nocturna, formando parte del complejo proteico-vitámico llamado rodopsina, el cual se encuentra en los bastones de la retina. El primer síntoma de la deficiencia de vitamina A es la ceguera nocturna. La manifestación clínica más grave es la -

xeroftalmía que puede conducir a la ceguera parcial o total, según sea la gravedad de la deficiencia.

Las fuentes alimenticias más importantes de esta vitamina son: la leche y sus derivados, el huevo, el pescado, la carne y las vísceras como el hígado, riñón y corazón. (33) (14).

(4) Recomendaciones diarias.

Niños (hasta 10 años cumplidos) = 500 μg equivalentes de retinol

Adolescentes y Adultos = 1000 μg equivalentes de retinol

Mujer Embarazada y Lactante = 1500 μg equivalentes de retinol

NOTA: Vitamina A = Retinol

1 μg equivalente de retinol = 1 μg de retinol

En el reino vegetal existe un grupo de pigmentos llamados carotenoides (son cien los conocidos hasta ahora aproximadamente) (3), cuyas tonalidades van desde el amarillo hasta el rojo oscuro, de estructura alifática o alifática acíclica, presentes junto con las xantofilas amarillas en una proporción 1:2 con respecto a ellas (32). La importancia de los carotenoides radica en que muchos de ellos presentan actividad provitamínica, siendo el beta-caroteno, el más importante para la nutrición humana, ya que posee una actividad biológica dos veces mayor que otros carotenoides debido a la presencia de dos anillos β -ionona en su molécula. El beta-caroteno está presente como complejo lipoproteico en todas las partes verdes de las plantas (33). La eficiencia de absorción y de conversión en vitamina A dentro del

organismo es diferente para cada caroteno; el beta-caroteno sólo rinde un 16% de su peso en vitamina A siendo aún otros carotenos menos eficientes (0.8% de rendimiento) (4).

Las fuentes principales de carotenos son: la zanahoria, la espinaca, la acelga, el perejil, las hojas de nabo, el berro, el jitomate y algunas frutas como el durazno, el chabacano y la naranja, pero éstas en menor grado. (19) (21).

Vitamina D.- Todos los derivados de la provitamina D son útiles para prevenir el raquitismo y se obtienen por irradiación. La vitamina D, (ergocalciferol) se produce comercialmente por la irradiación de un esteroide, el ergosterol, presente en los vegetales. El 7 dehidrocolesterol, se transforma en vitamina D₃ por la acción de la luz ultravioleta sobre la piel. (8)

El síndrome característico de la carencia de vitamina D es el raquitismo, frecuente en los niños, en donde se altera el metabolismo del calcio y el fósforo al extremo de producir cambios estructurales en los huesos y dientes. La administración de vitamina D estimula la absorción de calcio en el intestino y, entonces, desaparece la enfermedad. (8)

Las fuentes principales de vitamina D son: los huevos, la manteca, las harinas de trigo enteras, el hígado de res, el tocino y la carne de cerdo. (21) (16).

(4) Recomendaciones diarias:

Niños	400 U.I.
Mujer embarazada y Lactante	400 U.I.
Resto	Nada (síntesis en la piel)

Vitamina E.- Se han encontrado un conjunto de sustancias con actividad de vitamina E llamadas tocoferoles los cuales se encuentran ampliamente distribuídas en los aceites vegetales. También se encuentran tocoferoles en grasas animales.

El efecto más notorio que tiene el tocoferol sobre preparaciones in vitro es una fuerte actividad antioxidante. Se ha sugerido que la función del tocoferol es proteger los sistemas mitocondriales, tan sensibles, de la inhibición irreversible que les producen los peróxidos grasos. (8).

Los síntomas característicos de la avitaminosis E varían según la especie animal. En el hombre no se ha encontrado un síndrome característico de la carencia de vitamina E.

(4) Recomendaciones diarias:

Niños	10-15 U.I.
Adultos Fem.	25 U.I.
Adultos Mas.	30 U.I.

Vitamina K.- En el año de 1939 fueron aisladas y establecidas las estructuras de dos compuestos que presentaban actividad vitamínica, una a partir de alfalfa designada como vitamina K, y la otra, a partir del pescado, que fué designada como

vitamina K₂ (17).

La vitamina K, o fitoquinona se encuentra en los vegetales verdes, mientras que los miembros de la serie vitamínica K₂ se encuentran en el reino animal y en las bacterias. Todas son liposolubles.

La vitamina K participa en la síntesis de protrobina en el hígado. Las experimentaciones llevadas a cabo han implicado también a la vitamina K en la fosforilación oxidativa y sistemas transportadores de electrones en bacterias, pero todavía esto se somete a discusión. (8)

No existe una verdadera deficiencia en los mamíferos debido a que la síntesis de vitamina K se lleva a cabo por las bacterias intestinales. La única manifestación de deficiencia de vitamina K es la coagulación defectuosa de la sangre. (17)

Vitamina B₁ o Tiamina.- Fué aislada en 1925 (27), se encuentra libre en la naturaleza en las semillas de los cereales. En los tejidos animales y en la levadura se encuentra como pirofosfato de tiamina y, de esta forma participa como coenzima en diversos sistemas enzimáticos como por ejemplo:

- a) α - cetoácido descarboxilasas,
- b) α - cetoácido oxidasas
- c) fosfocetolasas
- d) transacetolasas (8)

La deficiencia de tiamina causa, en términos generales edema, fatiga muscular, anorexia, palpitaciones y degeneración de los nervios, padecimiento que es conocido como beriberi. (8) (17).

(4) Recomendaciones diarias:

0.5 mg/1000 kcal ingeridas.

En adultos la ingesta no debe ser menor de 1 mg de tiamina

Riboflavina o Vitamina B₂.- Se encuentra en la naturaleza exclusivamente como integrante de las dos flavinas coenzimas, el mononucleótido (F M N) y el adenin dinucleótido (F A D). Estas coenzimas prostéticas F M N y F A D, se encuentran firmemente unidas a la proteína; funcionan aceptando átomos de hidrógeno de los piridín nucleótido reducidos y en la eliminación de dos átomos de hidrógeno de carbonos adyacentes, dando lugar a un doble enlace. (8).

La deficiencia de riboflavina provoca cambios en el color de los labios, la mucosa bucal y otras zonas mucocutáneas (arriboflavinosis) (33) (14).

(4) Recomendaciones diarias:

0.6 mg/1000 kcal ingeridas.

En adultos la ingesta no debe ser menor de 1.2 mg

Las fuentes principales de esta vitamina son: Las vísceras como hígado, riñón y corazón, los cereales, la levadu-

ra y la carne de cerdo (14) (16)

Niacina.- Existen relativamente pocos organismos -- que no son capaces de sintetizar niacina; esto puede llevarse a cabo por las plantas verdes, levaduras, bacterias, hongos y - la mayoría de los animales, incluyendo al hombre, a partir del aminoácido triptofano. (17)

El papel fisiológico de la niacina es la participa-- ción en las oxidaciones biológicas en sus formas coenzimáticas que son: D.P.N. o N.A.D. y T.P.N. o N.A.D.P. (8) (17).

Cuando hay deficiencia de niacina se produce en el - hombre una enfermedad conocida como pelagra, cuyas característi-- cas son: dermatitis de aquellas zonas que se exponen al sol, - estomatitis, úlcera atrófica, lengua magenta, incapacidad para digerir la comida y diarrea. Por otra parte, hay con frecuen-- cia perturbaciones del sistema nervioso que pueden, en parte, - ser debidos a deficiencia concomitante de tiamina.

(4) Recomendaciones diarias:

9 mg equivalentes de niacina /1000 kcal

NOTA.- 1 mg equivalente de niacina = 1 mg de niacina o a 60 mg de triptofano.

La niacina está ampliamente distribuída en fuentes - animales y vegetales, las carnes, y sobre todo el hígado, son - las fuentes dietéticas más importantes. (14) (17).

Vitamina B₆.- La piridoxina, el piridoxal y la piridoxamina son las tres formas como se le conoce a la vitamina B₆. Todas son igualmente efectivas para la nutrición. La piridoxina, aislada en 1938 es la sustancia responsable de la cura de dermatitis en ratas. (17)

Los fosfoderivados son las formas coenzimáticas de la vitamina. Participa en la catálisis de reacciones importantes en el metabolismo de los aminoácidos, como transaminación, descarboxilación y racemización. (8)

No se conoce ningún síndrome de enfermedad específica en adultos humanos que sea debida a deficiencia de vitamina B₆. No obstante, en niños puede presentarse anemia y convulsiones cuando éstos son alimentados con una dieta deficiente en vitamina B₆. (17).

(4) Recomendaciones diarias:

Niños	0.5-1.2 mg
Adultos	2.0 mg
Mujer embarazada o lactante	2.5 mg

El grupo B₆ está ampliamente distribuido en la naturaleza, y aquellos alimentos ricos en otros miembros del complejo B, son fuentes excelentes de estos materiales. Entre tales alimentos pueden mencionarse los gérmenes de diversos granos y semillas, la yema de huevo, la levadura y la carne particularmente hígado y riñón. (17).

Acido Pantoténico.- Es un factor descrito originalmente como una porción del complejo "bios" (formado por inositol, ácido pantoténico y biotina) necesario para el crecimiento de levaduras. (17).

El ácido pantoténico puede ser sintetizado por la mayoría de los microorganismos y por las plantas verdes, pero no por la rata, gallina, cerdo, mono, ratón y zorro. (17).

El papel metabólico del ácido pantoténico es su incorporación en coenzima A, la cual toma parte en infinidad de reacciones llevadas a cabo en el organismo, actuando como un tioéster de ácidos carboxílicos. (11) (8).

(4) Recomendaciones diarias:

Niños y adultos 5-10 mg

En general la distribución de ácido pantoténico se asemeja a la de las otras vitaminas B; levadura, hígado y huevos se encuentran entre las fuentes más ricas. La carne y la leche son fuentes importantes debido a la concentración de la vitamina y de las cantidades que se consumen de estos alimentos. (16) (17).

Vitamina H o Biotina.- Es un factor de crecimiento para levaduras y humanos. (27). Se halla muy difundida y, en especial se encuentra en la levadura y el hígado combinada con proteínas a través del grupo ϵ -N-lisina formando así la bioci-

tina. (17).

La biotina, unida a su proteína específica, está íntimamente asociada con las reacciones de carboxilación. Parece ser que el complejo carboxil-biotinil-proteína es una verdadera unidad carboxilante donadora de CO_2 . (8).

Debido a que la síntesis de la biotina se lleva a cabo por parte de las bacterias intestinales, no es posible estimar el requerimiento nutricional exacto de la misma. Sin embargo, se considera que una dieta que aporte de 150-300 mg de biotina diariamente, es adecuada. (4)

El hígado vacuno, y la levadura figuran entre las fuentes más ricas, pero la mayor parte de los tejidos animales son escasos de este factor. Los cacahuates y los huevos contienen cantidades abundantes de biotina. (17).

Acido Fólico.- El ácido fólico y sus derivados, fundamentalmente los péptidos tri y herptaglutamil, están ampliamente distribuidos en la naturaleza. La vitamina cura la anemia aviar y sirve como factor específico de crecimiento para gran cantidad de microorganismos. Debido a que los animales necesitan pequeñas cantidades, es muy difícil establecer cuadros carenciales de ácido fólico. Las pequeñas cantidades necesarias para el crecimiento las producen las bacterias intestinales. En la neoformación de eritrocitos los derivados de ácido fólico desempeñan un papel muy importante, pero hasta la fecha todavía

desconocido. (8).

Las formas coenzimáticas para esta vitamina son sus productos de reducción como el ácido dehidrofólico (FH_2) y el ácido tetrahidrofólico (FH_4). El principal papel del FH_4 es transportar un carbono (C_1) o unidad formiato, la cual posteriormente se utiliza en la síntesis de purinas, serina y glicina. (8).

El ácido fólico está presente en el reino animal y vegetal y la deficiencia nutricional debe ser, por consiguiente poco frecuente. Sin embargo, la deficiencia dietética del ácido fólico parece ser un factor en la etiología de la psilosis, así como en el desarrollo de la anemia macrocítica del embarazo y ciertas anemias macrocíticas en los niños. (17).

(4) Recomendaciones diarias:

Niños	0.1-0.3 mg
Adultos	0.4 mg
Mujer embarazada	0.8 mg
Mujer lactante	0.5 mg

Vitamina B₁₂ o Cianocobalamina.- Se identificó primero como un agente terapéutico en la prevención y tratamiento de la anemia perniciosa. Ahora se ha visto también que es un factor de crecimiento para varias bacterias, un protozoo, la Euglena, y puede tomar parte en la fijación simbiótica de nitró

geno. (8).

Esta vitamina toma parte en dos tipos de reacciones:

- a).- isomerización de los ácidos dicarboxílicos y
- b).- conversión de compuestos dihidroxivecinales a grupos desoxi y monoxihidroxilados. (8).

Las evidencias indican que la formación del grupo - metilo de la metionina está relacionado con la vitamina B₁₂ tanto en extractos de E.Coli como en sistemas de mamíferos. También se ha sugerido una secuencia de reacciones para la interacción de la vitamina B₁₂, ácido fólico y metionina. (8).

La vitamina B₁₂ o cianocobalamina ha sido aislada - del tejido hepático, en extractos de hígado se encuentra como hidroxicobalamina. Sólo se ha encontrado en animales y microorganismos y no se conoce su presencia en vegetales. (17).

(4) Recomendaciones diarias:

Niños	1-5 µg
Adultos	5-6 µg
Mujer embarazada o lactante	8 µg

Vitamina C o Acido Ascórbico.- Es otro elemento vitamínico esencial para el hombre y otros primates ya que presentan incapacidad para sintetizarlo. La propiedad química más sobresaliente que presenta la vitamina C o ácido ascórbico es -

su fácil oxidación a ácido de hidroascórbico, reacción que es catalizada por pequeñas concentraciones de iones metálicos. (17).

La función principal de la vitamina C es intervenir en la formación de tejido conectivo y facilitar la absorción de hierro en el intestino. Su carencia produce una enfermedad llamada escorbuto. (14), la cual se caracteriza por encías esponjosas y doloridas, caídas de los dientes, integridad capilar defectuosa con hemorragias subcutáneas y edema, dolor de articulaciones, angorexia y anemia. Esta enfermedad es rara en el mundo occidental. Sin embargo, aún se ve en ocasiones escorbuto en niños como resultado de una alimentación pobre. (17).

(4) Recomendaciones diarias:

Niños	40 mg
Adultos	50 mg
Mujer embarazada o lactante	80 mg

Las fuentes principales de esta vitamina son las frutas y las verduras frescas. (14) (16).

ESTABILIDAD DE LAS VITAMINAS (11) (14) (15)

Estos nutrimentos se destruyen cuando se procesan por determinado tiempo debido a que son sensibles y, por lo tanto, presentan poca estabilidad a diversos factores como el pH de la solución, al oxígeno del aire, a la luz y al calor o a la combinación de éstos. Las trazas de elementos (especialmente cobre y

fierro) y las enzimas pueden catalizar estos efectos.

El conocimiento de la estabilidad que presenta cada vitamina frente a los factores antes mencionados es importante - ya que permite controlar, hasta cierto grado, las pérdidas vitamínicas, durante el proceso a que se someten los alimentos industrializados.

- 1.-) Vitamina A y Carotenos.- Los destruye el calor en presencia del aire y luz; también se pierden por acción del cobre y, en menor proporción, por la del hierro. Son estables a elevadas temperaturas y pueden resistir la ebullición en una solución alcalina, pero no en una ácida.
- 2.-) Vitamina D.- Generalmente es estable al calor, ácidos y oxígeno se destruye lentamente en alimento que son ligeramente alcalinos especialmente en presencia de aire y luz.
- 3.-) Vitamina E.- Los tocoferoles, sustancias con actividad vitamínica E, son estables al calor en solución ácida en ausencia de oxígeno y también son estables a la luz visible. Inestables a la temperatura ambiente en presencia de oxígeno, álcalis, sales férricas y cuando se exponen a la luz ultravioleta.
- 4.-) Vitamina K.- Es lábil en presencia de luz, agentes oxidantes ácidos fuertes y en soluciones alcalinas. Por otra parte, es estable al calor y en presencia de agentes reductores.
- 5.-) Tiamina.- Es estable en medio ácido, aún en el punto de ebullición, pero inestable en condiciones neutras y alcalinas, así -

como a la acción oxidante del aire.

6.-) Riboflavina.- En presencia de aire y en soluciones ácidas se mantiene estable, pero el calor excesivo y la luz la destruyen.

7.-) Niacina.- Es la más estable de las vitaminas del complejo B; no la afectan la luz, el calor ni el aire. El pH de la solución no la afecta. Las únicas pérdidas que sufre son al disolverse en el agua de cocción.

8.-) Vitamina B₆.- Estable al calor y en soluciones ácidas o alcalinas. Es sensible a la luz, especialmente ultra-violeta y al aire.

9.-) Acido Pantoténico.- Es muy estable a un pH entre 5.5-7 y se hidroliza rápidamente bajo condiciones alcalinas o ácidos fuertes. Es lábil al calor seco y a los ácidos y bases calientes.

10.-) Biotina.- La destruye el calor y se inactiva por agentes que oxidan el átomo de azufre, así como en presencia de ácidos y bases fuertes. Es relativamente estable al aire y a la luz.

11.-) Acido Fólico.- Es estable durante el hervido a pH de 8 por 30 minutos, pero pueden ocurrir grandes pérdidas durante la esterilización de los alimentos en soluciones ácidas o alcalinas. Esta destrucción se acelera con el oxígeno y la luz.

12.-) Vitamina B₁₂.- Se destruye en presencia de aire y luz. En medio neutro el calor no la afecta, pero se destruye cuando se calienta en preparaciones ácidas o alcalinas.

13.-) Vitamina C.- La acción del aire, el calor y la actividad enzimática la destruyen. La presencia de sales metálicas catalizan su oxidación. Pasa rápidamente al agua de cocción.

En los países industrializados y, en menor grado - en los no industrializados, ha habido en las décadas pasadas un notable incremento en el consumo de alimentos transformados industrialmente, los cuales, ya sea por motivos de conservación o con el propósito de facilitar su preparación y consumo, se sujetan a tratamientos que pueden afectar su contenido vitamínico.

Los procesos más comunes a los que se sujetan los alimentos a fin de conservarlos, comprenden desde los más anti--guos y baratos (salado) hasta los más sofisticados y caros (lio--filizado) y, se pueden dividir en:

1.-) Métodos Físicos.- Comprenden la pasterización, la esterili--zación, el escaldado, la refrigeración, la congelación, el liofi--lizado, el secado, el molido y la irradiación.

2.-) Métodos Químicos.- Corresponde la acidificación, el salado el ahumado y el blanqueado.

3.-) Métodos Biológicos.- Abarcan fundamentalmente las fermenta--ciones. (10)

En todos estos procesos ocurren pérdidas, en mayor o menor proporción, sobre el contenido vitamínico del alimento - tratado, siendo los factores más comunes causantes de dichas pér--didas la temperatura y tiempo de calentamiento, pH del jugo o - mezcla, la presencia de sales metálicas, la oxidación, la activi--dad enzimática y el tiempo de almacenamiento. (21).

Se sabe también que el simple procedimiento de calentamiento lento, cocción prolongada y enfriamiento lento, causan pérdidas muy significativas de vitaminas. (21).

Los informes en la literatura con respecto a las pérdidas de vitaminas debido a la industrialización muestran resultados muy diversos.

Harris y Von Loesecke reportan que la cocción puede causar destrucción en proporciones muy variables que van desde - cero por ciento hasta diferentes valores según la vitamina; las que más pueden perderse son el ácido ascórbico, la tiamina y la niacina (100%, 80% y 75% respectivamente), en contraste con la - vitamina A y carotenos en donde la máxima pérdida fué de 40%. (15)

Examinando los tratamientos de esterilización Farrer encontró pérdidas para la vitamina B₂ y ácido nicotínico, entre - 10-15% para la tiamina y de 50% para la vitamina C. (24) (9). Pa - ra este mismo tratamiento Kon y Thompson (9) no detectaron pérdi - das de vitamina A y carotenos, sin embargo Wagner (41) reportó - pérdidas muy significativas de estos elementos nutritivos.

Clifcorn (6) determinó la retención durante las ope - raciones de enlatado de vitamina C, niacina y carotenos. La re - tención de vitamina C fué de 54-92%, según la duración del calen - tamiento, notando que un precalentamiento a 57.3°C por 15 segun - dos, disminuía las pérdidas. La retención de carotenos oscilaba entre 60-70%, la de tiamina entre 75-86%, para la niacina los va -

lores eran de 89-100%, y la de riboflavina de 94-100%.

En otro estudio realizado, Clifcorn (7) determinó los efectos del tiempo y la temperatura en productos enlatados durante su almacenamiento por un período de 12 meses. La retención de ácido ascórbico fué de 98%, 85%, 72% para 10°C, 18.5°C y 26.7°C respectivamente, mientras que para carotenos las retenciones máximas fueron de 95%, 90% y 86% para similares condiciones de almacenamiento.

Cameron et. al (5) estudiaron el efecto del enlatado en el jugo de tomate y encontraron una retención promedio de 67% para ácido ascórbico y carotenos, de 89% para tiamina, y de 98% para riboflavina y niacina. Estudiaron después el efecto del almacenamiento 10°C, 18°, y 26°C, encontrando las siguientes retenciones:

	10°C	18°C	26°C
Acido Ascórbico	100%	92%	74%
Niacina	94%	97%	98%
Riboflavina	92%	94%	94%
Tiamina	100%	94%	77%

En resumen, las vitaminas más susceptibles al proceso de enlatado en el jugo de tomate, fueron el ácido ascórbico y caroteno, y las más susceptibles a la temperatura de almacenamiento fueron la tiamina y el ácido ascórbico.

Ezzell y Wilcox (12) señalan que las verduras y -

las frutas son particularmente lábiles a las pérdidas de vitamina C, ya que durante 8 días de almacenamiento a 10°C, detectaron pérdidas de 50% ó más en chícharos y ejotes.

Mapson (30) comparó la retención de vitamina C en chícharos sujetos a un proceso de escaldado y esterilización, encontrando que el primer tratamiento destruye el 30% de la vitamina C, y la esterilización un 37% de la misma.

Lushburgh y Wunschman Rice, (26) encontraron que durante la cocción se puede perder 50% ó más de tiamina, ácido pantoténico y vitamina B₆. La riboflavina y el ácido nicotínico son más estables ya que las pérdidas alcanzan apenas un 10%.

Krehl y Cowgil (25) reportaron pocos cambios en -- biotina, ácido fólico, piridoxina e inositol en jugos de frutas durante el enlatado y almacenamiento durante 6 meses.

De esta breve revisión se desprende que existe una gran variación en las pérdidas de vitaminas de diferentes alimentos sujetos a diversos tratamientos industriales.

Debido a la discrepancia que presentan los datos anteriores y, en vista de que existen claras deficiencias de vitamina A, riboflavina, niacina, ácido ascórbico y, en menor grado de tiamina, en el país; se creyó importante determinar las pérdidas de estas vitaminas en los tratamientos más comunes en México, como son el enlatado ⁽¹⁾ y el envasado en frascos herméticos

especialmente utilizados en la preparación de alimentos infantiles. Esta información es de interés para determinar la trascendencia que estas pérdidas pueden tener en la nutrición, el grado de enriquecimiento que es necesario llevar a cabo para restaurar a los distintos productos su contenido vitamínico original los cambios tecnológicos apropiados para disminuir las pérdidas y, para orientar las campañas de educación que pudieran surgir en este sentido.

OBJETIVO.-

Los objetivos de este trabajo fueron:

- 1).- Medir la retención de vitamina C y β -caroteno en un jugo de verduras elaborado básicamente con la mezcla de los jugos de las siguientes verduras: jitomate, zanahoria, espinaca, apio, lechuga, betabel, berro y perejil (las cuales se escogieron por ser fuentes ricas de estas vitaminas) a través de la extracción, cocción, esterilización y almacenamiento durante un mes, a fin de determinar el efecto de la temperatura y el tiempo de almacenamiento sobre dichas vitaminas.
- 2).- Determinar la retención de vitamina A, tiamina, riboflavina y niacina en una papilla a base de hígado de res (esta víscera es una de las fuentes más ricas de estas vitaminas) durante su preparación, cocción, esterilización y almacenamiento durante un mes, con el propósito de determinar el efecto que tiene la tempe

ratura y el tiempo de almacenamiento en las vitaminas antes mencionadas.

(1) La producción total de alimentos enlatados para el año de 1974, fué de 110 millones de latas y de 157 millones de latas para el año de 1975. (22).

II MATERIAL Y METODOS.

DISEÑO EXPERIMENTAL

La parte experimental comprendió las siguientes fases:

- 1).- Elaboración de Jugo de Verduras.
- 2).- Elaboración de la Papilla a Base de Hígado de Res.
- 3).- Análisis Bromatológico de las materias primas y de los productos terminados el cual comprendió las siguientes determinaciones:
 - a).- Humedad
 - b).- Cenizas
 - c).- Grasa Cruda
 - d).- Proteínas
 - e).- Fibra Cruda
 - f).- Carbohidratos
 - g).- Vitaminas
- 4).- Determinación de Vitaminas en las diferentes etapas de elaboración de los productos. Las vitaminas estudiadas fueron: vitamina A, tiamina, niacina, riboflavina, vitamina C y β -caroteno.

Las materias primas, en este caso, las verduras y el hígado de res, fueron adquiridas en un supermercado, tomándolas de un solo lote.

Las determinaciones experimentales se llevaron a cabo utilizando los métodos oficiales de la A.O.A.C.; los casos en donde hubo alguna modificación serán señalados.

1).- ELABORACION DEL JUGO DE VERDURAS.

En el Diagrama I se muestra la metodología seguida para la elaboración del jugo, así como los sitios en donde se practicaron los análisis tanto de materia prima, como de productos intermedios y finales.

Las materias primas utilizadas fueron las siguientes verduras: jitomate, zanahoria, espinaca, lechuga, apio, berro, betabel y perejil.

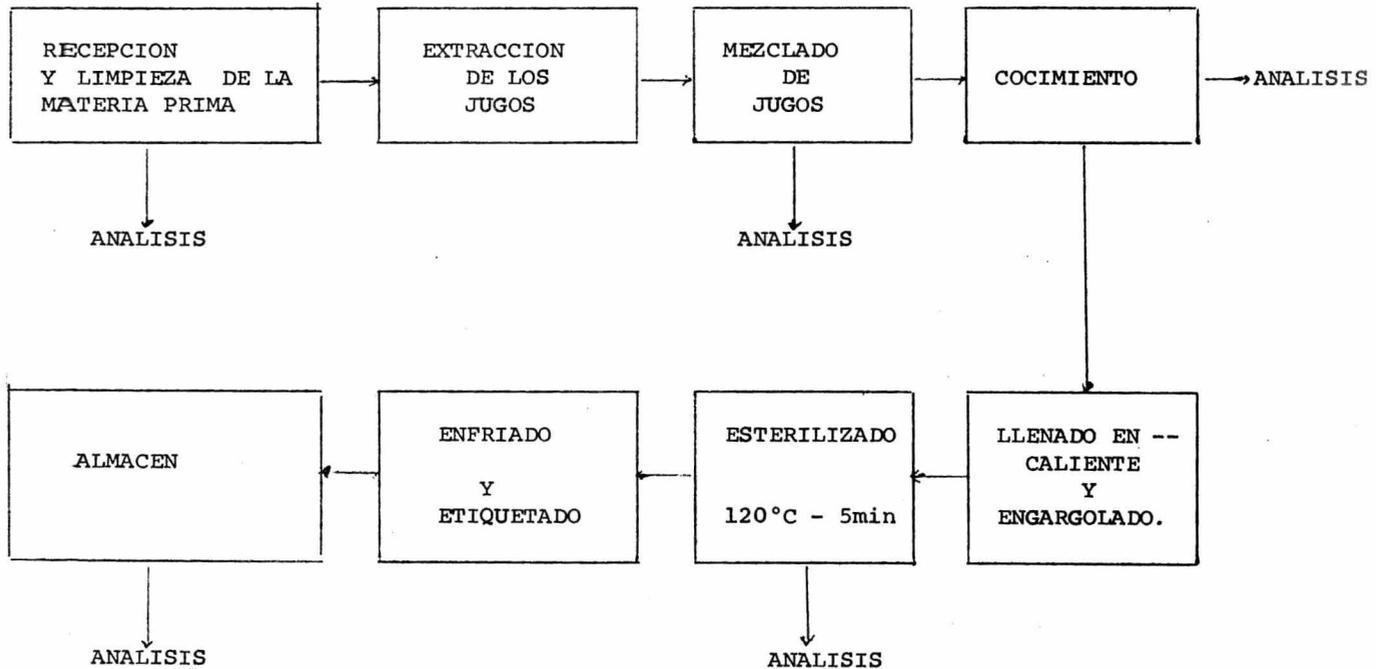
I.- Recepción y Limpieza de la Materia Prima.- Las verduras se adquirieron de un mismo lote.

La limpieza de la verdura se llevó a cabo mediante un lavado directo al chorro del agua durante algunos minutos e inmediatamente se procedió a la eliminación de las cáscaras o capas superficiales de las verduras que así lo requerían (zanahoria, betabel, jitomate) o la selección de las partes comestibles del resto de las mismas (apio, perejil, espinaca, berro y lechuga). A todas estas verduras se les determinó inicialmente la cantidad de vitamina C y β -caroteno presente.

II.- Extracción de los Jugos.- Para esta operación se utilizó una licuadora de uso doméstico. Cada verdura se molió por separado y, los jugos obtenidos, se filtraron a fin de eliminar la fibra cruda presente.

III.- Mezclado de Jugo.- Mediante el ensayo de diferentes com--

DIAGRAMA DE BLOQUE PARA LA ELABORACION DEL JUGO DE VERDURAS



0, 7, 14, 21, 28.

(DIAS)

binaciones de los ocho jugos obtenidos, se encontró que la siguiente fórmula daba como resultado un jugo de sabor, color y aspecto más agradables.

Formulación del Jugo de Verduras:

Jugo de jitomate	2000 ml.
Jugo de zanahoria	1000 ml.
Jugo de lechuga	50 ml.
Jugo de apio	40 ml.
Jugo de espinaca	20 ml.
Jugo de betabel	10 ml.
Jugo de berro	10 ml.
Jugo de perejil	10 ml.
Sal	28-30 g.
Cebolla en polvo	1 g.
Ajo en polvo	0.5 g.
Pimienta en polvo	1 g.

De esta mezcla cruda, se tomó una muestra para determinar en ella cantidad de vitamina C y β -caroteno.

IV.- Cocimiento. - Se colocó el jugo de verduras en una marmita de acero inoxidable (tratando así de evitar pérdidas de vitamina C por contacto con metales como cobre o fierro que pudieran catalizar su oxidación). La temperatura de cocimiento fué de 90°C y se tomaron muestras del jugo a los 5 y 10 minutos para el análisis de vitamina C y β -caroteno.

V.- Llenado en Caliente y Engargolado.- Estas dos operaciones se llevaron a cabo simultanea y rápidamente con el propósito de evitar pérdidas de vitaminas por contacto con el oxígeno del aire. Se utilizaron latas sanitarias con capacidad para 300 ml. El cerrado de las latas se realizó con una engargoladora manual.

VI.- Esterilización.- Las latas se pasaron a una a una autoclave para ser sometidas a esterilización.- Esta operación se realizó bajo las siguientes condiciones: temperatura del 120°C y presión de 15 lb/pg² durante 5 minutos. Se tomó una muestra para análisis bromatológico, y de vitamina C y β -caroteno inmediatamente después de la esterilización.

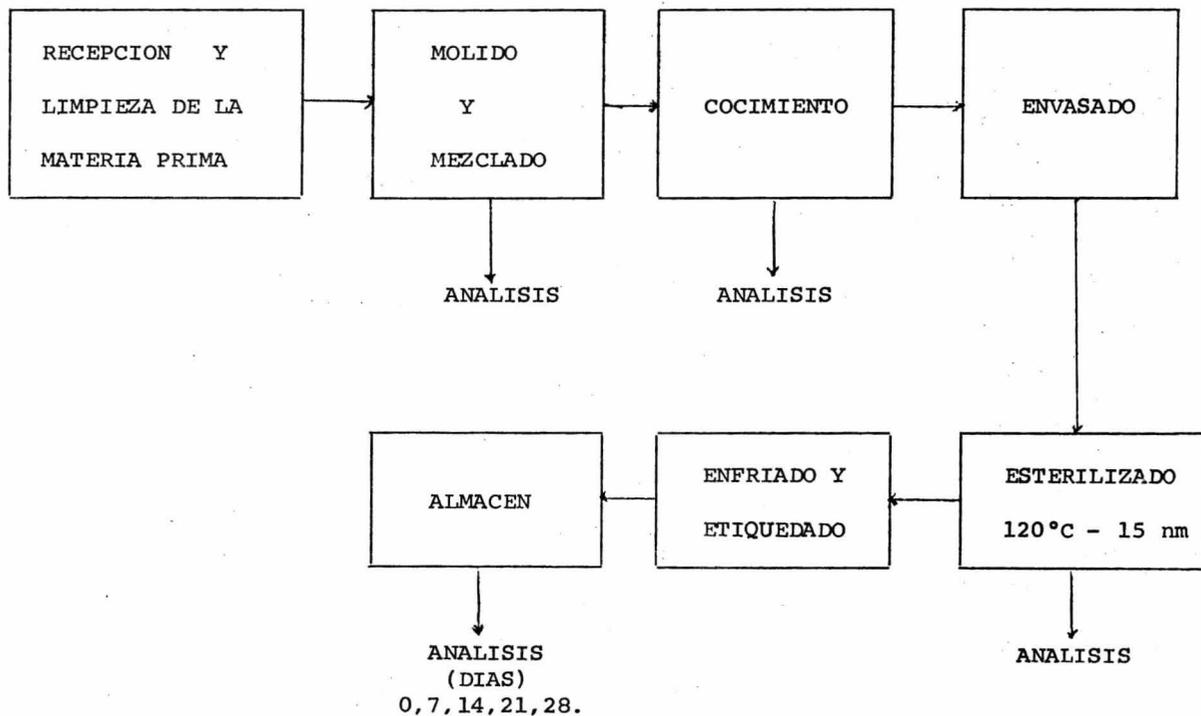
VII.- Enfriado y Etiquetado.- La primera operación se efectuó sumergiendo las latas en agua helada, para efectuar un enfriamiento rápido. En seguida se efectuó el etiquetado con el fin de identificar las latas posteriormente.

VIII.- Almacenamiento.- Las latas se mantuvieron almacenadas a temperatura ambiente (21°C) durante un mes, tomándose muestras a los siete, catorce, veintiuno y veintiocho días para su cuantificación vitamínica.

2).- METODOLOGIA SEGUIDA PARA LA ELABORACION DE LA PAPILLA A BASE DE HIGADO DE RES.

En el Diagrama II se muestra la secuencia llevada a cabo para la elaboración de la papilla, indicándose además los

DIAGRAMA DE BLOQUE PARA LA ELABORACION DE LA PAPILLA A BASE DE HIGADO



sitios en donde fué practicado el análisis de productos intermedios y finales.

Las materias primas requeridas en este caso, fueron las siguientes: hígado de res, chayote y papa, los cuales se tomaron de un solo lote.

I.- Recepción y Limpieza de la Materia Prima.- El hígado de res fué recibido en paquetes de 500 g y colocado inmediatamente en recipiente de vidrio a temperatura ambiente; con la ayuda de un cuchillo se eliminaron las partes cartilaginosas que lo acompañan. Las papas y los chayotes se lavaron al chorro de agua durante algunos minutos, eliminándoles la cáscara, con la ayuda de un molidor. Una vez limpia la verdura, ésta fué sumergida en agua para prevenir el oscurecimiento que sufren al contacto con el oxígeno del aire.

II.- Molido y Mezclado.- Tanto el hígado como las papas y el chayote se pesaron por separado; el molido se llevó a cabo en una licuadora, adicionando una pequeña cantidad de agua para facilitar la operación. Las verduras y el hígado se molieron por separado obteniéndose así dos pastas, la de chayote y papa que fué filtrada para eliminar la fibra cruda y, la de hígado. Ambas partes se mezclaron y se molieron y posteriormente volvieron a molerse obteniéndose así una nueva pasta homogénea a la que se le agregaron todos los ingredientes tales como sal, pimienta, cebolla y ajo en polvo para darle buen sabor.

Una muestra para análisis fué tomada de esta pasta cruda con el fin de cuantificar la cantidad de vitamina A, tiamina, riboflavina y niacina presentes.

III.- Cocimiento.- Esta operación se efectuó en un recipiente de aluminio cerrado para evitar al máximo el contacto con el aire y trazas de metales como cobre o fierro que pudieran acelerar la oxidación de las vitaminas.

El cocimiento se efectuó durante 10 minutos a 90°C, tomándose también una muestra para su análisis vitamínico, en este paso.

IV.- Envasado.- Una vez transcurridos los 10 minutos de cocimiento, se procedió a la operación de envasado. Se utilizaron frascos de vidrio usados para alimentos infantiles. Cabe aclarar que, por no contar con el equipo adecuado para el sellado al vacío de estos frascos, esta operación se realizó de manera manual obteniéndose resultados defectuosos en el cerrado.

V.- Esterilización.- Los frascos conteniendo la papilla se llevaron a la autoclave para su esterilización bajo las siguientes condiciones: temperatura de esterilización de 120°C durante 15 minutos a una presión de 15lb/pulg.² Se tomó un frasco como muestra para el análisis de la papilla esterilizada.

VI.- Enfriado y Etiquetado.- Los frascos fueron llevados a un recipiente con agua helada en donde fueron enfriados rápidamente.

te. Se procedió al etiquetado de los frascos con el fin de identificarlos posteriormente.

VII.- Almacenamiento.- Todos los frascos se mantuvieron almacenados a temperatura ambiente (21°C) durante un mes, tomándose una muestra semanal para las determinaciones vitamínicas.

3).- ANALISIS BROMATOLOGICO (1)

PREPARACION DE LA MUESTRA

La muestra se prepara, por medio de un mortero o con un molino, dependiendo de la consistencia del alimento; se homogeneiza mezclándola manualmente y se toma para el análisis una muestra representativa de la misma por el método del cuarteo.

DETERMINACION DE HUMEDAD

Funcionamiento:

El agua se encuentra en los alimentos en varias formas. Mediante una estufa podemos obtener la muestra seca. El alimento se modifica completamente debido a que se rompe el equilibrio de los componentes químicos del alimento.

Material:

Cajas de Petri

Estufa al vacío (lab-line Instruments, Inc.)

Termómetro

Desecador

Balanza analítica

Procedimiento:

En una caja de Petri previamente tarada, se pesan aproximadamente 5 g de la muestra bién mezclada, que se esparce por toda la superficie de la misma. Posteriormente se coloca dentro de la estufa formando vacío a una presión equivalente de 25 mm de Hg ó menos, a una temperatura de 98° a 100°C; - por un tiempo de 5 hs. Transcurrido el tiempo se cubre la caja Petri dejando que se enfríe a temperatura ambiente en un -- desecador y se pesa, se continúa la determinación hasta obtener peso constante.

Cálculos:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{Peso de la humedad}}{\text{Peso de la muestra}} \cdot 100$$

DETERMINACION DE CENIZAS

Fundamento:

Forman la parte mineral de un alimento. La materia orgánica a elevada temperatura se quema produciendo bióxido de - carbono, agua y calor, quedandolos minerales que no sufren ningún cambio.

Material:

Crisoles

Mecheros Bunsen

Mufla

Pinzas para crisol

Procedimento:

Se pesan de 1 a 2 g. de muestra en un crisol tarado, primero se quema la muestra con el mechero hasta que deje de producir humo y de inmediato se mete en la mufla, a una temperatura de 550° a 600°C durante el tiempo necesario para que queden cenizas blancas o grises sin partículas de carbón, en caso contrario se adiciona unas gotas de agua destilada y se vuelve a calcinar. Se deja que se enfríe a temperatura ambiente en un desecador y se pesa.

Cálculo:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{\text{Peso de las cenizas}}{\text{Peso de la muestra}} 100$$

DETERMINACION DE GRASA CRUDA

Fundamento:

Se le da el nombre de grasa cruda, porque usando solventes como éter, cloroformo y éter de petróleo, durante la extracción no sólo se disuelven las grasas; también se disuelven otros componentes orgánicos como pueden ser: ácidos grasos, grasa neutra, fosfolípidos, esteroides, vitaminas, hidrocarburos, pigmentos y terpenos.

Material:

Aparato extractor de grasa "Lab-Conco"

Vasos para grasa

Cartuchos de porcelana

Estufa

Desecador

Reactivo:

Solvente orgánico

Procedimiento:

En un cartucho de porcelana tratado previamente, se introduce de 2 a 5 g de muestra. Posteriormente en un vaso para grasa puesto a peso constante, se adicionan de 70 a 80 ml de solvente. Se colocan el cartucho y el vaso en el aparato - extractor de grasa y la extracción se lleva a cabo por goteo - continuo durante 6 a 8 horas; transcurrido este tiempo se eva - pora el solvente hasta su total eliminación. Se coloca el va - so en una estufa a 100°C hasta obtener pero constante, se en - fría en un desecador y se pesa.

Cálculos:

$$\% \text{ Grasa} = \frac{\text{Peso de la grasa}}{\text{Peso de la muestra}} 100$$

DETERMINACION DE FIBRA CRUDA

Fundamento:

La fibra cruda contenida en un alimento es un índi - ce de la cantidad de materia indigerible. Se determina empíri - camente, por hidrólisis controladas, ácida y alcalina sucesiva - mente, quedando un residuo insoluble formado por celulosa, - -- hemicelulosa, pentosanas, ligninas y materia inorgánica.

Material:

Consensador de fibra cruda "Lab-conco"

Vasos de Berzelius 600 ml

Matraces Kitasato 750 ml

Filtros California de 200 mallas

Crisoles de porcelana

Gendarmes

Estufa

Mufla

Reactivos:

Acido sulfúrico, R.A. al 1.25% (0.25% (0.255 N)

Hidróxido de sodio, R.A. al 1.25% (0.313 N)

Alcohol etílico al 99.5%

Asbesto tratado

Procedimiento:

Se pesan de 2 a 3 g. de muestra desengrasada y se coloca en un vaso de Berzelius junto con 0.5 a 1 g. de asbesto - tratado, después se le adicionan 200 ml. de ácido sulfúrico hirviendo al 1.25%. De inmediato se mezcla perfectamente mediante un agitador con gendarme y se coloca el vaso sobre la parrilla - encendida del condensador de fibra cruda; iniciada la ebullición se mantiene ésta por 30 minutos exactos. Se filtra al vacío a - través del filtro California y se lava con agua destilada y ca-- liente, hasta la neutralidad del filtrado. Se coloca nuevamente el contenido del filtrado al vaso de Berzelius, adicionando --

200 ml. de hidróxido de sodio hirviendo al 1.25% y se sigue el mismo procedimiento efectuado durante la hidrólisis ácida. - Una vez neutro, se lava con dos porciones de 20 ml. de alcohol etílico y se pasa el residuo a un crisol tarado. Este último se coloca en una estufa a 130°C por 2 horas, se enfría en un - desecador y se pesa. Finalmente se coloca en la mufla a 600°C durante una hora hasta calcinación completa, se enfría en un desecador y se pesa.

Cálculos:

Fibra cruda = Peso muestra seca - Peso muestra -
calcinada.

$$\% \text{ Fibra cruda} = \frac{\text{Peso de la fibra cruda}}{\text{Peso de la muestra}} \cdot 100$$

DETERMINACION DE PROTEINAS

(método de Kjeldahl)

Fundamento:

Las proteínas y demás materia orgánica son oxidadas por el ácido sulfúrico, y el nitrógeno que se encuentra en forma orgánica se fija como sulfato de amonio. Esta sal se hace reaccionar con una base fuerte desprendiéndose amoníaco que se destilla y se recibe en un volúmen conocido de ácido bórico. Por titulación del ácido se calcula la cantidad de amoníaco liberado y - de esta manera, la cantidad de nitrógeno orgánico contenido en - el alimento, multiplicada por factor (generalmente 6.25), nos da la cantidad de proteínas.

Material:

Aparato de Digestión y Destilación, Kjeldahl
"Lab-conco"

Matraces Erlenmeyer de 500 ml.

Matraces Kjeldahl de 800 ml.

Probetas

Buretas

Reactivos:

Acido sulfúrico concentrado, R.A.

Acido sulfúrico, R.A., 0.1 N.

Hidróxido de sodio, Q.P., 50%

Acido Bórico, R.A., 2%

Sulfato de Potasio, R.A.

Sulfato de Cobre, R.A.

Oxido de Selenio, R.A.

Zinc metálico, R.A.

Solución de Rojo de Metilo 0.1%

Mezcla digestora:

Se mezcla 200 g de sulfato de potasio, 20 g. de sulfato de cobre y 5 g. de óxido de selenio.

Procedimiento:

Digestión.- En un matraz de Kjeldahl se introducen de 0.5 a 1 g. de muestra, envuelta en papel filtro, libre de nitrógeno para evitar que quede muestra pegada en las paredes del matraz. Se adicionan 8.5 g de la mezcla digestora, -

unas perlas de vidrio y 25 ml, de ácido sulfúrico concentrado. Se coloca el matraz en el aparato de Kjeldahl y se calienta a ebullición hasta que la muestra queda transparente, debido a la desaparición de la materia orgánica. Después del calentamiento se enfría y se procede a la destilación.

Destilación.- Se agregan 300 ml. de agua destilada, una pequeña cantidad de polvo de zinc y 90 ml. de hidróxido de sodio al 50%. Se coloca inmediatamente el matraz al destilador con la extremidad del condensador sumergida en 50 ml. de la solución de ácido bórico al 2% y 2 gotas de rojo de metilo. Se calienta el matraz y se destila por un tiempo necesario para obtener un volumen de 250 a 300 ml.; posteriormente se titula con solución valorada de ácido sulfúrico 0.1 N hasta el vire del indicador. Al mismo tiempo se hace un blanco con reactivos para corrección.

Cálculos:

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{(\text{ml } \text{H}_2\text{SO}_4 \text{ prob} - \text{ml } \text{H}_2\text{SO}_4 \text{ blanco}) \times N \text{ H}_2\text{SO}_4 \times \text{meq. N}_2}{\text{Peso de la muestra en g.}} \cdot 100$$

$$\% \text{ Proteína} = \% \text{ Nitrógeno} \times \text{Factor}$$

HIDRATOS DE CARBONO TOTALES

La cantidad de carbohidratos totales se calcula por diferencia. La suma de los valores obtenidos en las determinaciones de proteínas, grasa, humedad, cenizas y fibra cruda,

restada de 100, representa la cantidad de carbohidratos totales presentes en la muestra.

DETERMIACION DE VITAMINAS

(1) (2) (18) (20) (39).

Debido a que las vitaminas son microelementos que se encuentran combinados normalmente en el alimento con los principales macroelementos que lo constituyen, como son proteínas, carbohidratos y grasas, es necesario separarlas de dichos constituyentes para efectuar su determinación cuantitativa.

Los procedimientos más comunes que se utilizan para la separación de vitaminas son: la hidrólisis ácida, indudablemente más rápida y, la hidrólisis enzimática que es más lenta pero brinda resultados más satisfactorios.

Las condiciones de la hidrólisis enzimática, como son concentración y tipo de enzima, pH de la solución, tiempo y temperatura de incubación se señalarán más adelante.

Las enzimas más comunmente usadas son las proteolíticas, las cuales actúan sobre las proteínas hidrolizándolas, liberando de esta forma, a las vitaminas que se hallan atrapadas. La papaína y la tripsina son las enzimas más apropiadas para estos fines. La acción conjunta con la enzima diastasa - ayuda a obtener mejores resultados, al desdoblar los carbohidratos, los cuales son otro obstáculo en la liberación de las vitaminas.

HIDROLISIS ENZIMATICA POR MEDIO DE PAPAÑA Y DIASTASA (34)

MATERIAL:

Olla de presión

Estufa de Incubación

Matraces Erlenmeyer para la hidrólisis de 125 ml

Matraces Voluméticos de 100 ml

Embudos

Frascos de color ámbar de 100 ml.

Papel Whatman No. 42.

Papel Aluminio.

REACTIVOS:

Papaína en polvo con actividad de 0.2 unidades -
de hidrólisis de la leche.

Diastasa, Taka Diastasa o Clarasa 900, capaz de
licuar en 10 minutos 450 veces su peso de almidón seco.

Solución Reguladora de Acetado de Sodio con un -
pH de 4.62.

PROCEDIMIENTO:

Se pesa exactamente 1 g de muestra, la cual esta-
rá ya desengrasada y perfectamente homogeneizada, pasándose al
matríz erlenmeyer que servirá de recipiente para la hidrólisis
y, por lo tanto, estará protegido de la luz forrándolo con pa-
pel aluminio. De las enzimas papaína y diastasa, se pesa exac

tamente 200 mg y, todo este material se disgrega en el matraz de hidrólisis añadiéndose posteriormente 80 ml de solución reguladora de acetado de sodio pH 4.62. Se lleva el matraz de hidrólisis a la estufa de incubación, a una temperatura de 37°C por un lapso de 24 horas.

Pasado este tiempo se transfiere el matraz a la olla de presión y, se calienta a 120°C por 30 minutos a una presión de 21b/pg², después de lo cual, se enfría el matraz perfectamente y el contenido se pasa al matraz volumétrico en donde se afora a 100 ml. con agua destilada. Se homogeneiza perfectamente la solución y se filtra a través de papel Whatman No. 42, desechando los primeros 5 ml y, recibiendo los restantes en los frascos de color ámbar, los cuales se protegen de la luz cubriéndolos con papel aluminio y se guardan en refrigeración.

Las operaciones de aforo y filtrado de la solución deberán realizarse en un cuarto oscuro para evitar el efecto de la luz sobre algunas vitaminas.

La solución filtrada es útil para la determinación de las siguientes vitaminas; tiamina, riboflavina y niacina.

DETERMINACION DE TIAMINA (18)

Principio.- Está basado en la oxidación de la tiamina a tiocromo, el cual exhibe una fluorescencia azul, que puede ser medida en un radiofluorómetro, y cuya intensidad es proporcional a la

cantidad de tiamina presente.

MATERIAL:

Radiofluorómetro Beckman
Buretas de 50 ml
Centrífuga
Tubos de Centrífuga
Agitador de tubos
Pipetas serológicas de 1, 2 y 5 ml.
Propipetas
Matraces Volumétricos de 100 ml, 25 ml.
Cronómetro

REACTIVOS:

Hidróxido de Potasio R.A.
Ferricianuro de Potasio R. A.
Alcohol Isobutílico R.A.
Alcohol Etilico R.A. al 94%
Solución A.- Se prepara disolviendo 30 g de Hidróxi
do de Potasio en 100 ml. de agua destilada.
Solución B.- Se prepara disolviendo 300 mg de Fe--
rricianuro de Potasio en 6 ml. de agua destilada.
Mezcla Oxidante.- Se prepara disolviendo 300 mg de
Ferricianuro de Potasio en 6 ml. de agua destilada.

SOLUCION TIPO DE TIAMINA:

Se pesan exactamente 50 mg de clorhidrato de Tiami
na U.S.P. previamente secada a 105°C por espacio de 2 horas y -
se disuelven en 500 ml de ácido clorhídrico 0.01 N, con lo cual

se tiene una concentración de 100 µg/ml. Esta solución puede conservarse en refrigeración guardada en frasco de vidrio ámbar.

SOLUCION INTERMEDIA

Se toma 1 ml. de la solución tipo y se pasa a un matraz volumétrico de 100 ml en donde se afora con agua destilada, de esta solución se tiene una concentración de 1.0 µg/ml de clorhidrato de tiamina.

SOLUCION DE TRABAJO

Se toman 2 ml de la solución intermedia y se llevan a un volumen de 25 ml con agua destilada, de esta manera se tiene una concentración de 0.08 µg/ml de clorhidrato de tiamina.

PROCEDIMIENTO

Se toman por duplicado 5 ml de la solución desproteinizada y se colocan en los tubos de centrifuga añadiéndoles después 5 ml de la solución oxidante medidos con bureta. Se mezclan perfectamente con un agitador de tubos y se dejan en reposo durante 90 segundos, procediéndose inmediatamente a la adición de 10 ml, gota a gota y de una sola vez, de alcohol isobutílico libre de fluorescencia utilizando una bureta para tal fin. Se agita vigorosamente y se centrifugan los tubos durante 1 minuto a 2000 rpm para la perfecta separación de las dos fases formadas.

Se toman 5 ml de la capa superior, con la ayuda de propipeta y se pasan a los tubos de ensayo, se añaden 2 ml. de alcohol etílico al 94% y se mezclan nuevamente con el agitador de tubos. Se procede a la lectura de la solución de trabajo y de la solución problema en el radiofluorómetro utilizando un filtro primario (360-365 mμ) y un secundario (460-489 mμ).

Esta determinación debe hacerse en un cuarto obscuro y corriendo siempre un blanco de reactivos.

CALCULOS:

La cuantificación de la cantidad de clorhidrato de tiamina presente tanto en el problema como en la solución de trabajo, se lleva a cabo mediante la aplicación de la siguiente fórmula:

μg de Clorhidrato de Tiamina/100g de muestra

$$= \frac{F_a \times 0.08}{F_b} \times F.D. \times 100$$

en donde:

F_a.- es la lectura fluorométrica de la solución problema.

F_b.- es la lectura fluorométrica de la solución de trabajo.

F.D.- es el factor de dilución.

0.08.- es la concentración de en μg/ml de la solución de trabajo.

DETERMINACION DE RIBOFLAVINA (1)

Principio.- La medida de la fluorescencia amarillo-verdosa -

que se produce al reaccionar la riboflavina con la piridina - en ácido acético glacial y cuya intensidad es proporcional a la cantidad de vitamina B₂ presente, constituye el principio de esta determinación.

Se sabe que el rango de pH en el que se trabaje es definitivo, ya que a un pH de 6-7 se manifiesta la máxima intensidad, pero en rango de 3-5 la intensidad es más o menos constante y se elimina con ello factores adversos como son la concentración de fierro y otros minerales que interfieren; - por lo tanto, la zona de lectura se realiza en dicho rango - teniéndose así la seguridad de que la fluorescencia medida corresponde únicamente a la cantidad de riboflavina presente en la muestra.

MATERIAL:

Radiofluorómetro Beckman.

Bureta automática

Matraces aforados de 10, 100 y 200 ml.

Parrilla eléctrica

Baño de vapor

Pipeta Serológicas de 2 y 5 ml.

REACTIVOS

Piridina R.A.

Acido Acético Glacial R.A.

MEZCLA DE DISOLVENTES (volumen a volumen)

Piridina	10 ml
Acido Acetico Glacial	1 ml.
Agua Destilada	40 ml.

SOLUCION TIPO DE RIBOFLAVINA

La riboflavina U.S.P. es secada dentro de un desecador con vacío y ácido sulfúrico durante 24 horas, después de lo cual queda lista para ser utilizada.

En balanza analítica se pesan exactamente 80 mg de riboflavina y se llevan a un matraz volumétrico de 200 ml. en donde se añaden 100 ml de la mezcla de disolventes. El matraz se coloca durante 10 minutos en un baño de vapor para la disolución total de la riboflavina. Transcurrido este tiempo se enfría el matraz y se afora con la mezcla de disolventes. Esta solución tiene una concentración de 400 µg/ml.

SOLUCION INTERMEDIA

De la solución tipo, se toman 5 ml y se aforan a 100 ml con la mezcla de disolventes para tener una concentración de 20 µg/ml. en dicha solución.

SOLUCION DE TRABAJO

Se toman 2 ml. de la solución anterior y se aforan a 100 ml con la mezcla de disolventes, obteniéndose una -

nueva solución cuya concentración es de 0.4 µg/ml.

PROCEDIMIENTO:

En matraces volumétricos de 10 ml se colocan, - por duplicado 2ml de la solución desproteïnizada y se les añade 5 ml de la mezcla de disolventes. Los matraces se colocan en baño de vapor durante 30 minutos y, pasado este tiempo, se enfrían y aforan a 10 ml con la mezcla de disolventes. Se mide la fluorescencia de la solución problema y de la solución de trabajo en un fluorómetro con un filtro primario (420-440) y un filtro secundario (550-700).

Es recomendable también, en este caso, correr un blanco de reactivos y, efectuar la determinación de esta vitamina en un recinto oscuro.

CALCULOS:

La cantidad de vitamina B₂ presente en la muestra puede ser calculada a partir de la siguiente fórmula:

$$\mu\text{g de Riboflavina}/100 \text{ g. de muestra} = \frac{\text{Fa} \times 0.4}{\text{Fb}} \times \text{F.D.} \times 100$$

en donde:

Fa es la lectura fluorométrica de la solución problema.

Fb es la lectura fluorométrica de la solución de trabajo.

F.D. es el factor de dilución.

y 0.4 corresponde a la concentración de la solución de trabajo.

NOTA.- El material que se utiliza para la determinación de tiamina y riboflavina debe dejarse durante algunos días, en una solución de ácido nítrico diluído 1:1 con agua destilada a fin de eliminar la fluorescencia que traen consigo dichos materiales.

DETERMINACION DE NIACINA (1)

PRINCIPIO.- El método está basado en las reacciones que se llevan a cabo, primero entre el anillo de piridina y el bromuro de cianógeno y la posterior e inmediata reacción de este último con el ácido sulfanílico para dar como resultado un complejo colorido amarillo (Polimetina) que puede ser medido en un fotocolorímetro a 440 m μ .

MATERIAL:

Fotocolorímetro Carl Zeiss.

Agitador de tubos

Cronómetro

Embudos de filtración rápida

Probetas de 25 ml con tapón esmerilado

Pipetas volumétricas de 10 ml.

Pipetas serológicas de 0.5, 1, 2, 5 y 10 ml.

Propipeta

Tubos de ensayo

Matraces volumétricos de 50 ml.

Papel Whatman del No. 42

REACTIVOS:

Solución de Bromuro de Cianógeno R.A. al 10%

Solución de Hidróxido de Amonio R.A. 1 : 50

Solución de Acido Clorhídrico R.A. 1 : 6

Solución de Acido Sulfanílico R.A. al 10%

Alcohol etílico R.A. al 25%

SOLUCION TIPO DE NIACINA

Se pesan cuidadosa y exactamente 50 mg de Niacina U.S.P. y se disuelven en 500 ml de alcohol etílico al 25% para tener de esta manera, una solución cuya concentración es de 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de niacina.

SOLUCION INTERMEDIA

Se toman 2 ml de la solución anterior y se añoran a 50 ml con agua destilada. Esta solución tiene una concentración de 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de Niacina.

SOLUCION DE TRABAJO

De la solución anterior se toman 10 ml y se colocan en una probeta de 25 ml. con tapón esmerilado, la cual debe contener 4.5 g de sulfato de amonio. Se agita fuertemente hasta que se haya disuelto por completo el sulfato de amonio. Se completa el volumen hasta 12 ml (si fuera necesario) con agua destilada y se filtra esta solución a través de papel Whatman - No. 42; el filtrado se utiliza para la determinación de niaci-

na.

El desarrollo de la coloración, tanto en la solución de trabajo como en la solución problema, se lleva a cabo añadiendo, uno por uno, los reactivos que a continuación se exponen en forma de cuadro siguiendo el orden que en él aparecen.

SOLUCION BLANCO DE LA SOLUCION TIPO	SOLUCION BLANCO DE LA SOLUCION PROBLEMA
1.0 ml de solución tipo	1.0 ml de la solución - problema.
6.0 ml de agua destilada	6.0 ml de agua destilada
0.5 ml de hidróxido de amonio	0.5 ml de hidróxido de - amonio.
2.0 ml de ácido sulfanílico	2.0 ml de ácido sulfanílico.
0.5 ml de ácido clorhídrico	0.5 ml de ácido clorhídrico.
SOLUCION TIPO	SOLUCION PROBLEMA
1.0 ml de la solución tipo	1.0 ml de solución proble ^{ma} .
1.0 ml de agua destilada	1.0 ml de agua destilada.
0.5 ml de hidróxido de amonio	0.5 ml de hidróxido de - amonio.
5.0 ml de bromuro de cianógeno	5.0 ml de bromuro de cianógeno.
2.0 ml de ácido sulfanílico	2.0 ml de ácido sulfanílico.
0.5 ml de ácido clorhídrico	0.5 ml de ácido clorhídrico.

Para el buen desarrollo de esta determinación, es importante seguir los pasos que a continuación se enuncian:

- 1.- Se debe realizar la determinación tubo por tubo.
- 2.- Se agitan los tubos perfectamente después de cada adición, excepción hecha cuando se añade el bromuro de cianógeno, - en el tubo respectivo, ya que este reactivo debe actuar durante 30 segundos, para después añadir el resto de los reactivos.
- 3.- Se lee inmediatamente la solución en el fotocolorímetro.

NOTA.- Es recomendable realizar esta determinación en campana o en un lugar provisto de extractor de aire. El manejo del bromuro de cianógeno debe hacerse con todas las precauciones que el caso requiere, esto es, utilizar guantes y mascarilla para su preparación y uso.

CALCULO:

La fórmula que a continuación se menciona, es - útil para la determinación cuantitativa de la niacina presente en la muestra;

$$\mu\text{g de niacina}/100\text{g de Muestra} = \frac{\text{D.O. Problema}}{\text{D.O. Sol.Tipo}} \text{ Conc. sol. trab.} \times \text{F.D.} \times 100$$

en donde:

F.D. es el factor de dilución

D.O. Prob. es la densidad óptica del problema

D.O. sol. tipo es la densidad óptica de la solución tipo y 3.3 es la concentración en $\mu\text{g/ml}$ de la solución de trabajo

DETERMINACION DE VITAMINA C (28) (37)

PRINCIPIO.- El ácido ascórbico presente en una muestra, es oxidado a ácido dehidroascórbico en presencia de carbón activado. Posteriormente el ácido dehidroascórbico se hace reaccionar - con la 2, 4 dinitrofenilhidracina para formar la 2, 4 dinitrofenilhidrazona, la cual es tratada con ácido sulfúrico para dar aparición de un color amarillo que, a su vez, puede ser medido en un fotocolorímetro a 515 m μ para su cuantificación.

MATERIAL:

Fotocolorímetro Bausch & Lomb

Celdas fotocolorimétricas

Baño de agua a ebullición

Baño de hielo

Cronómetro

Matraces erlenmeyer de 50 ml

Embudos de vidrio

Probetas con tapón esmerilado de 50 ml

Pipetas serológicas de 2, 5 y 10 ml.

Papel filtro Whatman No. 42

Reactivos:

2,4 dinitrofenilhidracina R.A. al 2%

Carbón activado

Acido Oxálico al 0.5%

Acido Sulfúrico al 85%

Tiourea al 10%

SOLUCION TIPO

Se prepara pesando 50 mg. de ácido ascórbico - U.S.P., los cuales se disuelven en 100 ml de ácido oxálico al 0.5%. Esta solución tiene una concentración de 500 µg/ml.

SOLUCION DE TRABAJO

Se toman 4 ml de la solución intermedia y se aforan a 50 ml con ácido oxálico al 0.5%. Esta nueva solución tiene una concentración de 0.8 µg/ml.

PROCEDIMIENTO

Se toman 2 ml de problema y se aforan a 100 ml con ácido oxálico al 0.5%; se homogeniza perfectamente la solución. En una probeta de 50 ml con tapón esmerilado, se colocan 40 ml de la solución anterior añadiendo aproximadamente 1 g de carbón activado y se agita vigorosamente la mezcla durante un minuto. Se filtra la solución a través de papel Whatman - No. 42 y se toman 4 ml del filtrado para colocarlos en un tubo marcado "blanco", se toman por duplicado otros 4 ml del filtro y se colocan en 2 tubos marcados "problema". Se añade a cada tubo 2 gotas de tiourea y se agitan vigorosamente. A los tubos marcados "problema", se les adiciona 1 ml de 2,4 dinitrofenilhidracina y se agita nuevamente. Se colocan todos los tubos en el -

baño de agua a ebullición durante 10 minutos, para inmediatamente después pasarlos al baño de hielo, dentro de este baño se agrega a cada tubo cuidadosamente 5 ml de ácido sulfúrico al 85%. Mezclar suavemente y una vez que se han enfriado, a los tubos "blanco" añadir 1 ml de la solución 2, 4 dinitrofenilhidracina y se mezclan suavemente.

Se procede a la lectura en el fotocolorímetro a 515 m μ ajustando con un blanco de agua o a 100% de trasmittancia. Se toman las lecturas de densidad óptica del problema y se le resta a éste la del blanco; se interpola el valor obtenido en la curva patrón para saber la cantidad, en microgramos de vitamina C presente en la alícuota.

La fórmula siguiente permite calcular la cantidad total de vitamina C presente en la muestra:

$$\text{mg Vit.C/100ml} = \frac{\text{Lectura de la curva (conc. } \mu\text{g)} \times \text{F.D.} \times 100}{1000 \times \text{ml de problema}}$$

en donde:

F.D. es el factor de dilución

CURVA PATRON

Se toman 2 ml de la solución tipo y se aforan a 100 ml con ácido oxálico al 0.5%. Se colocan 40 ml de esta solución en una probeta de 50 ml y se adicionan 0.5 g de carbón activado, se agita vigorosamente durante un minuto. Se filtra la solución como ya se mencionó y se toman de este filtrado las siguientes alícuotas: 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 4.0 y 5.0 ml, completando el volumen, en donde sea necesario, a 5 ml

completando el volumen, en donde sea necesario, a 5 ml con - ácido oxálico al 0.5%. Se sigue el procedimiento ya mencionado para la determinación de vitamina C y elaborar, con las lecturas obtenidas de cada alícuota, la curva patrón correspondiente.

DETERMINACION DE VITAMINA A (20) (39).

PRINCIPIO.- El método está basado en la medida de la coloración azul obtenida al reaccionar la vitamina A con el $SbCl_3$ (reacción Carr Price) en cloroformo a 620 nm. La intensidad de la coloración es proporcional a la cantidad de vitamina A presente.

MATERIAL

Fotocolorímetro Bausch & Lomb

Celdas fotocolorimétricas

Tubo de cromatografía de 30 cm de long. y 1 cm. de ancho.

Evaporador Rotatorio

Refrigerante de Vidrio

Matraces volumétricos de 50, 100 y 250 ml.

Matraces Erlenmeyer de 125, 250 ml.

Pipetas Serológicas de 1, 5 y 10 ml.

Pipetas volumétricas de 5, 10 y 20 ml.

Embudos de Separación de 250 ml

Probetas de 100 ml.

Anillo de hierro

Soporte para buretas

Mechero

Baño de agua

Lámpara de luz Ultravioleta de longitud de onda de 254 - 366 nm.

REACTIVOS

Cloroformo R.A.

Eter de Petróleo p. de eb. 40 - 60°C

Eter Dietílico R.A.

Alcohol Etílico Absoluto R.A.

Alúmina Activada.- Se pesan 100 g de alúmina (óxido de aluminio estandarizado para Análisis Cromatográfico) y se calcinan en la mufla durante 4 horas a 600°C. Se deja enfriar el adsorbente en un desecador y se le agregan después 6 ml de agua, agitando vigorosamente hasta la completa desaparición de los grumos que se pudieron haber formado. Este material se guarda durante 24 horas y se agita vigorosamente antes de ser usado. La columna de cromatografía se empaca con este material dejando caer la alumina dentro del tubo de cromatografía que contendrá éter de petróleo, permitiendo que se asiente después de cada adición. La altura de la columna debe ser de 15 - 20 cm de acuerdo a la cantidad de sustancias interferentes.

Solución de Hidroxido de Potasio al 50%

Solución de Hidróxido de Amonio al 10%

Solución de Tricloruro de Antimonio .- Se pesan

22 g de tricloruro de antimonio R.A. y se disuelven en 100 ml.

de cloroformo; se reflujan hasta la completa disolución de tri-
ple papel filtro y se guarda la solución en un frasco ámbar.

Solución de Fenolftaleína al 1% en alcohol.

Tanque de Nitrógeno

Solución de tartrato de Na y K al 20% para la-
var las celdas y las pipetas.

PROCEDIMIENTO

Se pesan 5 g de muestra y se colocan en un ma-
traz erlenmeyer de 250 ml., se le añaden uno a uno y, agitando
fuertemente después de cada adición, los siguientes reactivos:

10 ml de solución de hidróxido de amonio al 10%

40 ml de alcohol etílico absoluto

80 ml de éter dietílico

80 ml de éter de petróleo

La mezcla se deja reposando durante 15 minutos -
para la completa separación de las 2 fases formadas (una acuosa
y otra etérea). Transcurrido este lapso, se transfiere la capa -
etérea a otro matraz y se procede a la evaporación cuidadosa -
del éter utilizando para ello un evaporador rotatorio. El resi-
duo se somete a saponificación añadiendo, 5 ml de KOH al 50% y
30 ml de alcohol etílico absoluto. Se calienta a reflujo en -
un baño de agua durante 30 minutos, bajo una atmósfera de ni-
trógeno. La mezcla se enfría a temperatura ambiente y se le -
añaden después 30 ml de agua. Se transfiere la mezcla a un -
embudo de separación y se extrae la fracción insaponificable,

con 4 porciones de 50 ml cada una de éter de petróleo. Los extractos etéreos obtenidos se combinan y se lavan con 3 ó 4 porciones de 50 ml cada una de agua destilada, hasta que la fase acuosa no dé coloración rosa con la solución de fenolftaleína. - Se afora la solución con éter de petróleo hasta un volumen determinado (para muestras que contienen poca cantidad de vitamina A, esta dilución puede omitirse).

Se toma una alícuota y se evapora cuidadosamente teniendo la precaución de evaporar los últimos 5 ml. con corriente de nitrógeno. Se somete toda la alícuota a cromatografía redisolviendo el residuo en la menor cantidad posible de éter de petróleo. Se añaden lentamente fracciones de 1, 5 y 10 ml de éter de petróleo para permitir el desarrollo de la cromatografía y se sigue el curso de la misma utilizando una lámpara de luz ultravioleta a una longitud de onda de 366 nm, aprovechando la propiedad que tiene la vitamina A de presentar una fluorescencia amarillo-verdosa en dicha longitud. Se recolecta la fracción fluorescente en un matraz y se evapora el éter con corriente de nitrógeno. Se redisuelve en suficiente cloroformo para tener una solución que contenga aproximadamente 10 - 15 U.I. de vitamina A por ml; de esta solución se toma 1 ml por duplicado y se coloca en las celdas fotocolorimétricas. Se introduce la celda dentro del fotocolorímetro y se añaden 3 ml de la solución de tricloruro de antimonio, efectuando la lectura correspondiente dentro de los 5 - 10 segundos siguientes a la adición. Se extrapola la lectura obtenida en la curva de calibración para saber la cantidad de vi-

tamina A en μg ó Unidades Internacionales.

CURVA DE CALIBRACION

Se pesa cuidadosamente 50 mg de acetato o palmi-
tato de Vitamina A y se afora a 50 ml con cloroformo. Se toma
1 ml de esta solución y se disuelve a 100 ml. con cloroformo. -
De esta solución se toman las siguientes alícuotas: 0.6, 0.5, -
0.4, 0.3, 0.2 ml. y se completa el volumen hasta 1 ml. con clo-
roformo en las celdas fotocolorimétricas. Se añaden 3 ml de la
solución de tricloruro de antimonio, tubo por tubo, y se lee in
mediatamente a 620nm contra una celda con cloroformo. Se grafi
can los valores de extinción obtenidos para cada tubo, contra -
las cantidades de vitamina A en μg o Unidades Internacionales.

NOTA: Se recomienda, debido a la fugacidad de la coloración, rea
lizar la parte correspondiente a dicha operación esto es, adición
del reactivo y lectura en el aparato mediante dos personas.*

Es conveniente desarrollar simultaneamente con el
problema otra cromatografía con una solución de referencia bajo -
las mismas condiciones que el problema a fin de facilitar la loca
lización de la vitamina A en la columna problema y calcular su -
recuperación.

Todas las operaciones que implica esta determina-
ción deben hacerse en un cuarto oscuro.

* Se agradece a la Q.F.B. Marisela López M. la ayuda brindada en
esta determinación.

El tiempo de permanencia de la vitamina A en la columna de cromatografía no debe de exceder de 30 minutos, ya que mayores estancias dentro de la misma provocan pérdidas de la vitamina.

DETERMINACION DE BETA-CAROTENO EN VEGETALES FRESCOS. (36) (29)

PRINCIPIO.- Los carotenos presentes en los vegetales frescos se extraen por agitación, con solventes orgánicos como la acetona, hexano, metanol etc. El extracto obtenido suele presentar otros pigmentos naturales, entre ellos las xantofilas, clorofilas, criptoxantinas, antocianinas etc, los cuales pueden separarse en base a su diferente grado de adsorción en una placa cromatográfica. El β -caroteno separado así de los otros pigmentos se valora espectrofotométricamente por comparación con una curva patrón preparada con los resultados obtenidos para soluciones de concentración conocida de β -caroteno cuya absorbancia se mide a 452-454 nm.

MATERIAL

Embudos de Separación de 250 ml.

Matraces Erlenmeyer de 125 y 250 ml.

Matraces volumétricos de 50, 100 ml.

Pipetas Serológicas de 1, 2, 5 y 10 ml.

Pipetas Volumétricas de 1, 5 y 10 ml.

Parrilla eléctrica

Baño de Hielo

Espectrofotómetro Beckman

Celdas espectrofotométricas

Tanque de Nitrógeno

Placas de cromatografía de 20 x 20 cm de
Silicagel- Ca(OH)₂ 0.25 mm

REACTIVOS

Metanol R.A.

Eter de Petróleo (20-40°C) R.A.

Solución de NaCl al 10%

Cloruro de metileno R. A.

Eter Dietílico R. A.

Hexano R. A.

PROCEDIMIENTO.-

Se pesan 2 g de muestra previamente picada y se coloca en 100 ml de agua hirviendo durante 2 minutos. Se pesan inmediatamente después a un baño de hielo y cuando la solución se ha enfriado, se adicionan 100 ml de la mezcla metanol - éter dietílico (90% - 10%) respectivamente, seguidos de otros 100 ml de metanol - éter dietílico (70% - 30%). Los extractos se combinan en un embudo de separación. Las xantofilas se remueven por saponificación con álcalis, añadiendo 10 ml de potasa metanólica al 30% al embudo de separación que contiene los extractos etéreos. Después de 30 minutos de agitación ocasional, se añaden 40 ml de una mezcla de éter de petróleo-éter dietílico (1:1) más 100 ml de solución acuosa al 10% de NaCl. La capa amarilla resultante se lava con agua y se evapora cuidadosamente con corriente de nitrógeno; el resi--

duo se redisuelve en 1 ml de éter de petróleo y se pasa por cromatografía en placa de sílica gel e hidróxido de calcio utilizado como eluyente una mezcla de éter de petróleo - cloruro de metileno (85-15%) respectivamente. Efectuada la separación en la placa el β -caroteno se separa de la sílica gel por disolución en hexano y se centrifuga la sílica gel para lograr su asentamiento. Se lleva la solución hasta un volumen conocido y se lee en el espectrofotómetro. El valor obtenido se extrapola en la curva patrón.

La fórmula utilizada para determinar la cantidad de β -caroteno en la muestra total es la siguiente:

$$\frac{\text{D.O. Problema}}{\text{D.O. Estandar}} \times \text{Conc. estandar} \times \frac{\text{F.D.}}{\text{P.M.}} = \frac{\text{mg B-caroteno}}{100 \text{ g de muestra}}$$

en donde:

D.O. problema es la densidad óptica del problema

D.O. Estandar es la densidad óptica del estandar

F.D. es el factor de dilución.

P.M. es el peso de la muestra

También se puede calcular la pendiente de la recta obtenida en la curva patrón y aplicar la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{D.O. Problema}}{\text{Pendiente}} \times \frac{\text{F.D.}}{\text{P.M.}} = \frac{\text{mg B-caroteno.}}{100 \text{ g de muestra}}$$

Ambas fórmulas dan iguales resultados

DETERMINACION DE BETA-CAROTENO EN PRODUCTOS CON BAJO CONTENIDO DE GRASA. (31) (1)

MATERIAL

Espectrofotómetro Beckman

Celdas espectrofotométricas

Equipo Camag para Cromatografía en Capa Fina

Placas de cromatografía de 20 x 20 cm. de Sílica-Gel-Ca(OH)₂ activadas 30-60 min a 110°C

Embudos de Separación de 250 ml.

Matraces Erlenmeyer de 125 y 250 ml.

Matraces volumétricos de 50 y 100 ml.

Pipetas serológicas de 1, 5 y 10 ml.

Pipetas volumétricas de 1, 5 y 10 ml.

Tanque de Nitrógeno

Tubos de centrífuga

Centrífuga

Matraz Kitasato de 250 ml.

Embudos Buckner

Papel Whatman No. 43

Reactivos

Carbonato de Calcio R.A.

Tierra de Diatomáceas (Celita) R.A.

Alcohol metílico R.A.

Hexano puro R.A.

Acetona R. A.

Eter de petróleo (20-40°C) R.A.

Cloruro de metileno R. A.

Potasa metanólica saturada

PROCEDIMIENTO

Se pesan 10 gramos de muestra y se le añaden 0.04 g de CaCO_3 para precipitar las pectinas. Se le añade alcohol metílico 2:1 (volumen/peso) y se mezcla con 10% de celita. Se agitan la mezcla. La cuajada se filtra a través de papel Whatman - No. 43 utilizando a su vez un embudo Buckner. El filtrado metanol - agua se descarta y la masa se transfiere a un matraz erlenmeyer de 250 ml. en donde se extrae con acetona - hexano (1:1) repetidamente hasta que no se obtiene ya ningún color de la masa.

El extracto acetona - hexano se lava con agua para remover la acetona y el extracto de hexano se saponifica durante 15 minutos con 10 ml. de potasa metanólica saturada.

Se deja reposar la solución para permitir la separación de las 2 fases y se descarta la hipofase que se haya formado. La epifase de hexano se lava 2 veces con metanol al 90% para remover los carotenoides oxidados. El extracto de hexano se lava de nuevo pero ahora con agua para remover alcohol y álcali. Se afora la solución con hexano hasta un volumen determinado, se toma una alícuota y se evapora cuidadosamente utilizando corrientes de nitrógeno. El residuo se aplica sobre la placa cromatográfica colocando a un lado del mismo, un estándar de β -caroteno puro con el fin de facilitar su identificación en el problema. Utilizando como eluyente la mezcla éter de petróleo-cloruro de metileno (85-15 ml) respectivamente se obtiene una perfecta separación del β -caroteno. Se recoge toda la fracción de β -caroteno del problema y se

coloca en un tubo de centrifuga al que se le adiciona una cantidad determinada de solvente hexano a fin de extraer todo el colorante de la sílicagel. Se centrifuga repitiendo la operación 2 ó 3 veces hasta que la sílicagel no desprenda color. Se colectan los extractos obtenidos y se aforan finalmente con hexano hasta un volumen determinado. Se lee la solución en el espectrofotómetro a 452-454 nm. La cantidad de β -caroteno presente en la muestra, se calcula utilizando la fórmula antes mencionada.

CURVA PATRON

Se pasan 10 mg de β -caroteno puro lo más cuidadosa y rápidamente posible en un matraz volumétrico de 100 ml. y se disuelve en hexano. De esta solución, se toman las siguientes alícuotas 0.25, 0.50 , 1.0, 2.5, 5.0 y 7.5 ml. y se completa el volumen de cada una de ellas a 100 ml con hexano. Se efectúa la lectura de cada solución en el espectrofotómetro a 452-454 nm. y se construye una gráfica colocando en el eje de las abscisas la concentración (mg %) de β -caroteno y, en el eje de las ordenadas la absorbancia correspondiente a cada solución. Se calcula la pendiente de la recta obtenida y se utiliza dicho valor en la fórmula antes mencionada.

NOTA: Esta determinación debe de efectuarse en un recinto oscuro y lo más rápidamente posible ya que la luz y el oxígeno del aire provocan la oxidación del β -caroteno.

La hoja No. I es un material auxiliar muy útil en la determinación por cromatografía en capa fina.

CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA No. I

Clase de Compuesto : _____

Literatura : _____

Capa adsorbente : _____

Grosor de la capa : _____ Tamaño : _____

Preparación y Secado : _____

Tipo de cámara : _____ Técnica de Separación : _____

Estado de Saturación de la cámara : _____

Longitud de corrimiento : _____ Tiempo de corrimiento: _____

Composición del solvente y volumen total : _____

Concentración del solvente y la solución usadas en la aplicación :

Preparación de la muestra : _____

Margen entre el punto final y lateral de la placa _____

Cantidad aplicada : _____

Observaciones especiales : _____

Substancia	Rf	Rf	Rf	Detección y Sensibilidad
1.-				
2.-				
3.-				
4.-				
5.-				
6.-				
7.-				
8.-				
9.-				

En el Cuadro I aparecen los contenidos de β -caroteno y de vitamina C de las 8 verduras seleccionadas para la elaboración del jugo. Como puede verse el perejil, la espinaca, el berro, el betabel y el jitomate son los principales aportadores de vitamina C; mientras que la zanahoria, el perejil, el berro y la espinaca aportan las cantidades más importantes de β -caroteno.

El betabel, cuyo colorante principal es la betanina, carece de carotenos.

El apio y la lechuga contienen sólo una insignificante cantidad de carotenoides y, por lo tanto, se considera nulo su aporte de β -caroteno.

El Cuadro II muestra los resultados obtenidos en el análisis bromatológico practicado al jugo de verduras, ya envasado y esterilizado, cuyo valor nutritivo radica en su aporte vitamínico.

Los resultados de los análisis practicados al jugo de verduras en las diferentes etapas de su elaboración aparecen en el Cuadro III. Como puede observarse, el valor obtenido para el jugo crudo sirve de referencia para el cálculo de la retención una vez cocido a 90°C por 5 y 10 minutos y esterilizado a 120°C por 5 minutos. Los resultados obtenidos indican que el β -caroteno puede resistir más el efecto de la temperatura que la vitamina C.

La representación gráfica de los resultados antes

mencionados se muestra en la Figura 1. En dicha figura es posible apreciar que a mayor tiempo de exposición a la temperatura, mayor es la pérdida de vitamina C cosa que no ocurre con el B-caroteno. Al final de la esterilización se pierde el 70.6% de vitamina C y de β -caroteno únicamente un 3.70%.

Los resultados de los análisis vitamínicos practicados semanalmente al jugo enlatado, con el fin de determinar si el almacenamiento a temperatura ambiente tenía efecto adverso sobre el contenido de vitamina C y β -caroteno se muestra en el Cuadro IV; la representación gráfica de dichos resultados aparece en la Figura 2. Los resultados indican que, aún dentro de la lata sigue habiendo pérdidas de vitamina C mientras que el β -caroteno se mantiene casi sin pérdidas.

Por otra parte, a la papilla de hígado se le realizó el análisis bromatológico y los resultados obtenidos se muestran en el Cuadro V.

Los análisis para la determinación de vitamina A practicados a la papilla en sus diferentes etapas de elaboración esto es, cuando se hallaba cruda, cocida a 90°C por 10 minutos y, esterilizada a 120°C por 15 minutos, dieron los resultados que se muestran en el Cuadro VI. Estos resultados indican que por efecto de la temperatura se puede destruir hasta un 21% de este nutrimento.

En el Cuadro VII se muestran los contenidos de -

vitamina A en la papilla elaborada después de mantenerla en almacenamiento a temperatura ambiente (21°C) durante un mes, haciendo las determinaciones semanalmente. Los resultados indican que el almacenamiento a temperatura ambiente por un tiempo del 28 días, - casi no tiene efecto sobre la vitamina A ya que el valor de retención a los 28 días fué de 98.50%.

En el Cuadro VIII aparecen los diferentes valores obtenidos para la tiamina en la papilla cruda, en la papilla cocida a 90°C durante 10 minutos y en la papilla sometida a esterilización por 15 minutos a 120°C. a fin de determinar su pérdida por efecto de la temperatura. La retención de vitamina B₁ en la papilla de hígado durante su almacenamiento a temperatura ambiente se muestra en el Cuadro IX; como puede verse, los valores de retención obtenidos semanalmente no fueron nunca inferiores al 98%.

La riboflavina resultó seriamente dañada como puede apreciarse en el Cuadro X, ya que su retención en la papilla una vez que fue sometida a cocimiento y esterilización dió valores de 92.62% y 76.61% respectivamente.

En el Cuadro XI se muestran los resultados obtenidos para la riboflavina durante su almacenamiento a temperatura ambiente por un mes. Estos resultados obtenidos indican una pérdida de casi 20% al final del mes.

Los distintos valores obtenidos para la niacina - a través de las diferentes etapas de elaboración de la papilla -

esto es, al someterla a cocimiento y esterilización a tiempos y temperaturas ya mencionadas, se muestran en el Cuadro XII.

Los resultados de las determinaciones realizados semanalmente a la papilla a fin de calcular la retención que hay de niacina por efecto del almacenamiento se muestran en el Cuadro XIII.

En la Figura 3 se muestra conjuntamente el efecto de la temperatura de cocimiento y esterilización sobre el contenido de vitamina A, tiamina, riboflavina y niacina.

El efecto del tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente (21°C) sobre las vitaminas antes mencionadas se muestra gráficamente en la Figura 4.

C U A D R O I

CONTENIDO DE VITAMINA C Y DE β -CAROTENO EN LAS VERDURAS
UTILIZADAS PARA LA ELABORACION DEL JUGO

VERDURA	VIT C mg/100 g	β CAROTENO mg/100 g
JITOMATE	15.01	0.42
ZANAHORIA	3.11	10.87
APIO	5.07	-----
ESPINACA	59.90	6.63
LECHUGA	1.80	-----
BERRO	51.00	8.89
PEREJIL	150.00	10.67
BETABEL	20.00	-----

C U A D R O I I

ANALISIS BROMATOLOGICO DEL JUGO ELABORADO

(p o r 100 m l)

HUMEDAD	93.20 g
PROTEINA	0.65 g
GRASA	0.23 g
CENIZAS	0.13 g
CARBOHIDRATOS	5.76 g
VITAMINA C	17.00 mg
B - CAROTENO	3.64 mg

C U A D R O III

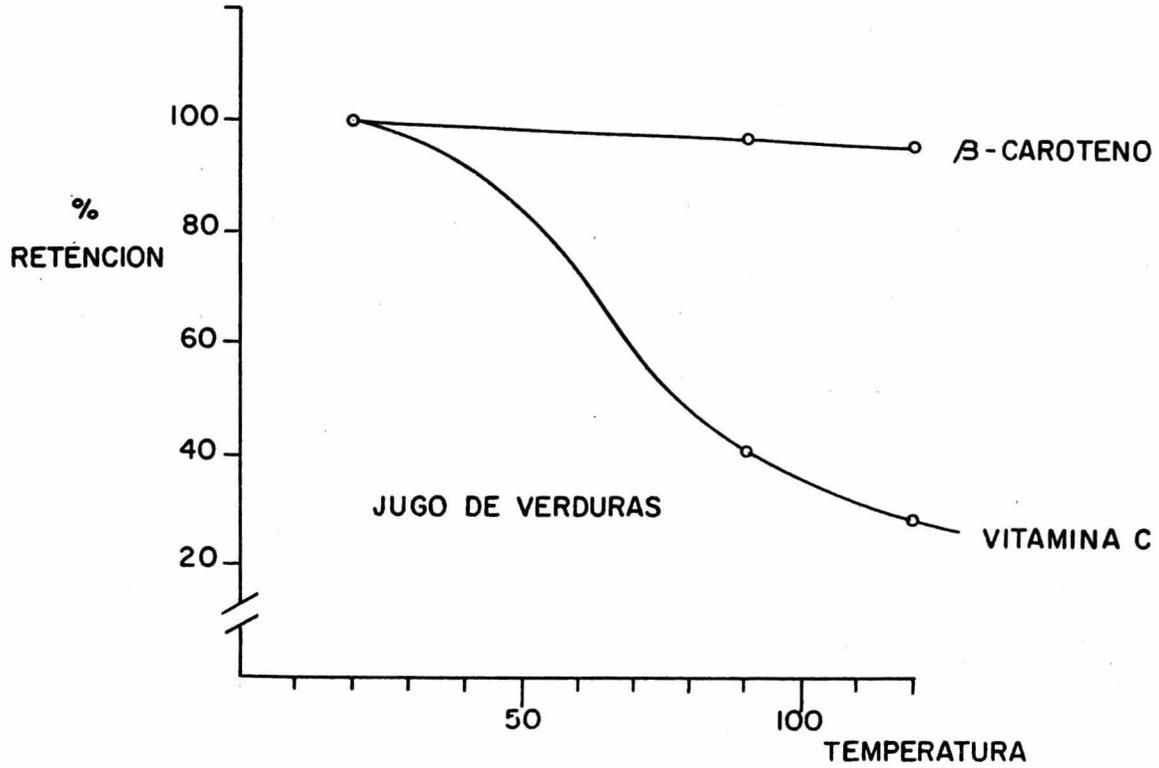
CONTENIDO DE VITAMINA C Y DE β -CAROTENO EN EL JUGO DE VERDURAS CRUDO

Y DESPUES DE DIFERENTES TRATAMIENTOS

(por 100 ml)

VIT C			β -CAROTENO	
	mg	RETENCION	mg	RETENCION
JUGO CRUDO	17	100%	3.649	100%
JUGO COCIDO 5 min - 90°C	14	82.35%	-----	-----
JUGO COCIDO 10 min - 90°C	7	41.1%	3.556	97.46%
JUGO ESTERILIZADO 5 min --120°C	5	29.4%	3.526	96.70%

FIGURA 1



C U A D R O I V

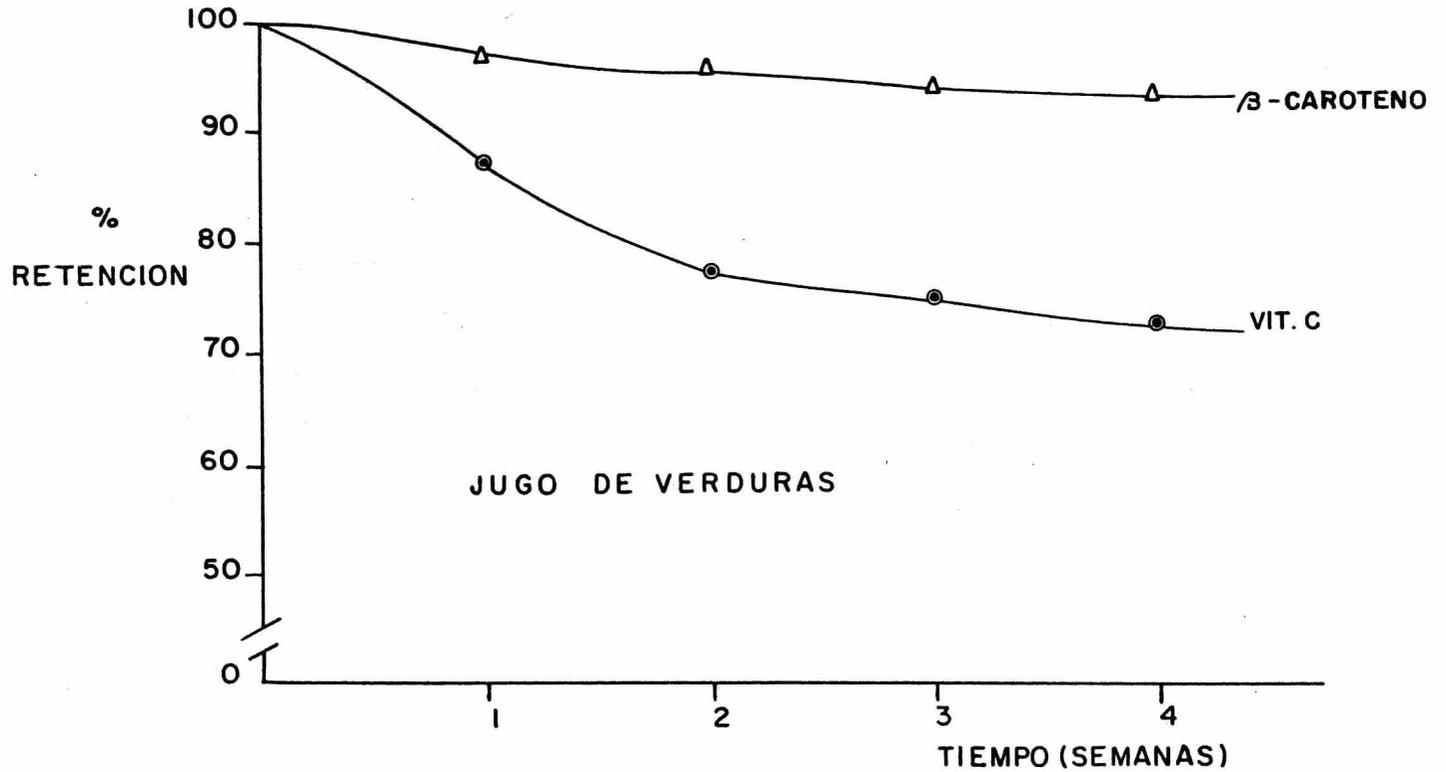
CONTENIDO DE VITAMINA C Y β -CAROTENO EN EL JUGO DE VERDURAS

(por 100 ml)

A DIFERENTES TIEMPOS DE ALMACENAMIENTO EN LA LATA

VIT C			β -CAROTENO	
DIAS	mg	RETENCION	mg	RETENCION
0	5	100 %	3.526	100 %
7	4.37	87.4%	3.5143	99.68%
14	3.87	77.4%	3.489	98.97%
21	3.75	75.8%	3,433	97.50%
28	3.62	72.4%	3.420	96.90%

FIGURA 2



DFNTA - DN - INN - 1975

C U A D R O V

ANALISIS BROMATOLOGICO DE LA PAPILLA A
BASE DE HIGADO DE RES. (POR 100 g).

HUMEDAD	89.5 g
PROTEINA	3.94 g
GRASA	1.58 g
CENIZAS	0.68 g
CARBOHIDRATOS	4.30 mg
TIAMINA	0.430mg
NIACINA	1.47 mg
RIBOFLAVINA	0.217mg
VITAMINA A	11.46 mg

C U A D R O VI

CONTENIDO DE VITAMINA A EN LAS DISTINTAS ETAPAS DE LA ELABORACION
DE UNA PAPILLA A BASE DE HIGADO DE RES .

	mg VITAMINA A/100 g	RETENCION
PAPILLA CRUDA	11.46	100 %
PAPILLA COCIDA 90°C - 10 min.	11.31	97.38%
PAPILLA ESTERILI- ZADA 120°C - 15 min.	9.06	79.06%

C U A D R O VII

CONTENIDO DE VITAMINA A EN UNA PAPILLA A BASE DE HIGADO DE RES
 DURANTE SU ALMACENAMIENTO A TEMPERATURA AMBIENTE (21°C) POR -
 UN MES.

ALMACENAMIENTO* DIAS	mg VITAMINA A/100g	RETENCION
0	11.31	100 %
7	11.28	99.75%
14	11.25	99.42%
21	11.20	98.96%
28	11.14	98.50%

*) Papilla cocida.

C U A D R O V I I I

CONTENIDO DE TIAMINA EN LAS DISTINTAS ETAPAS DE LA ELABORACION
DE UNA PAPILLA A BASE DE HIGADO

	mg TIAMINA/100g	RETENCION
PAPILLA CRUDA	0.430	100%
PAPILLA COCIDA 90°C - 10 min	0.425	98.79%
PAPILLA ESTERILI- ZADA 120°C-15 min.	0.415	96.44%

C U A D R O IX

CONTENIDO DE TIAMINA EN UNA PAPILLA A BASE DE HIGADO DE RES DURANTE
SU ALMACENAMIENTO A TEMPERATURA AMBIENTE (21°C) POR UN MES

ALMACENAMIENTO* DIAS	mg TIAMINA/100g	RETENCION
0	0.425	100 %
7	0.423	99.38%
14	0.422	99.14%
21	0.420	98.67%
28	0.419	93.44%

*) Papilla cocida.

C U A D R O X

CONTENIDO DE RIBOFLAVINA EN DISTINTAS ETAPAS DE LA ELABORACION
DE UNA PAPILLA A BASE DE HIGADO DE RES

	mg RIBOFLAVINA/100g	RETENCION
PAPILLA CRUDA	0.217	100%
PAPILLA COCIDA 90°C - 10 min	0.201	92.62%
PAPILLA ESTERILIZADA 120°C - 15 min	0.166	76.61%

C U A D R O X I

CONTENIDO DE RIBOFLAVINA EN UNA PAPILLA A BASE DE HIGADO DE RES
 DURANTE SU ALMACENAMIENTO A TEMPERATURA AMBIENTE (21°C) POR UN
 MES.

ALMACENAMIENTO* DIAS	mg RIBOFLAVINA/100g	RETENCION
0	0.201	100 %
7	0.201	100 %
14	0.192	95.46%
21	0.177	83.23%
28	0.162	80.74%

*) Papilla cocida.

C U A D R O XII

CONTENIDO DE NIACINA EN LAS DISTINTAS ETAPAS DE LA ELABORACION
DE UNA PAPILLA A BASE DE HIGADO DE RES.

	mg NIACINA/100 g	RETENCION
PAPILLA CRUDA	1.47	100%
PAPILLA COCIDA 90°C - 10 min	1.45	98.78%
PAPILLA ESTERILIZADA 120°C- 15 min.	1.40	95.78%

C U A D R O X I I I

CONTENIDO DE NIACINA EN UNA PAPILLA A BASE DE HIGADO DE RES DURANTE
SU ALMACENAMIENTO A TEMPERATURA AMBIENTE (21°C) POR UN MES

ALMACENAMIENTO* DIAS	mg NIACINA/100g	RETENCION
0	1.45	100%
7	1.31	90.49%
14	1.20	83.14%
21	1.20	83.14%
28	1.18	81.50%

*) Papilla cocida.

FIGURA 3

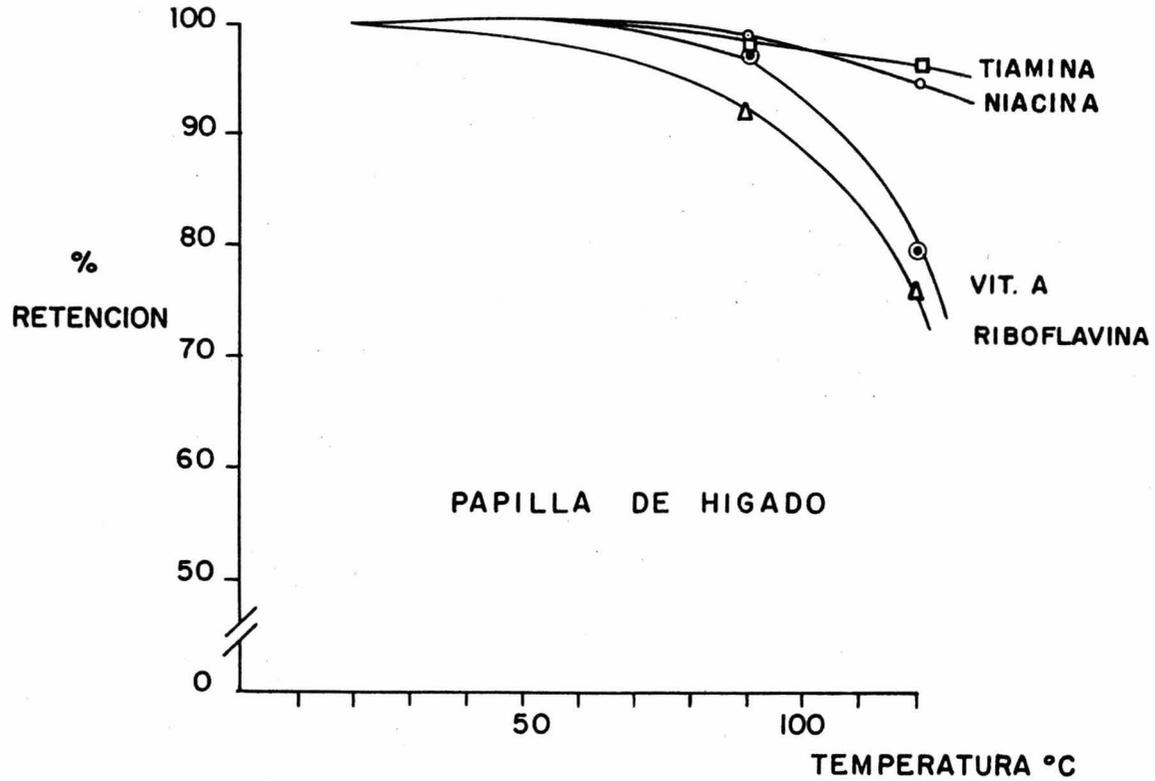
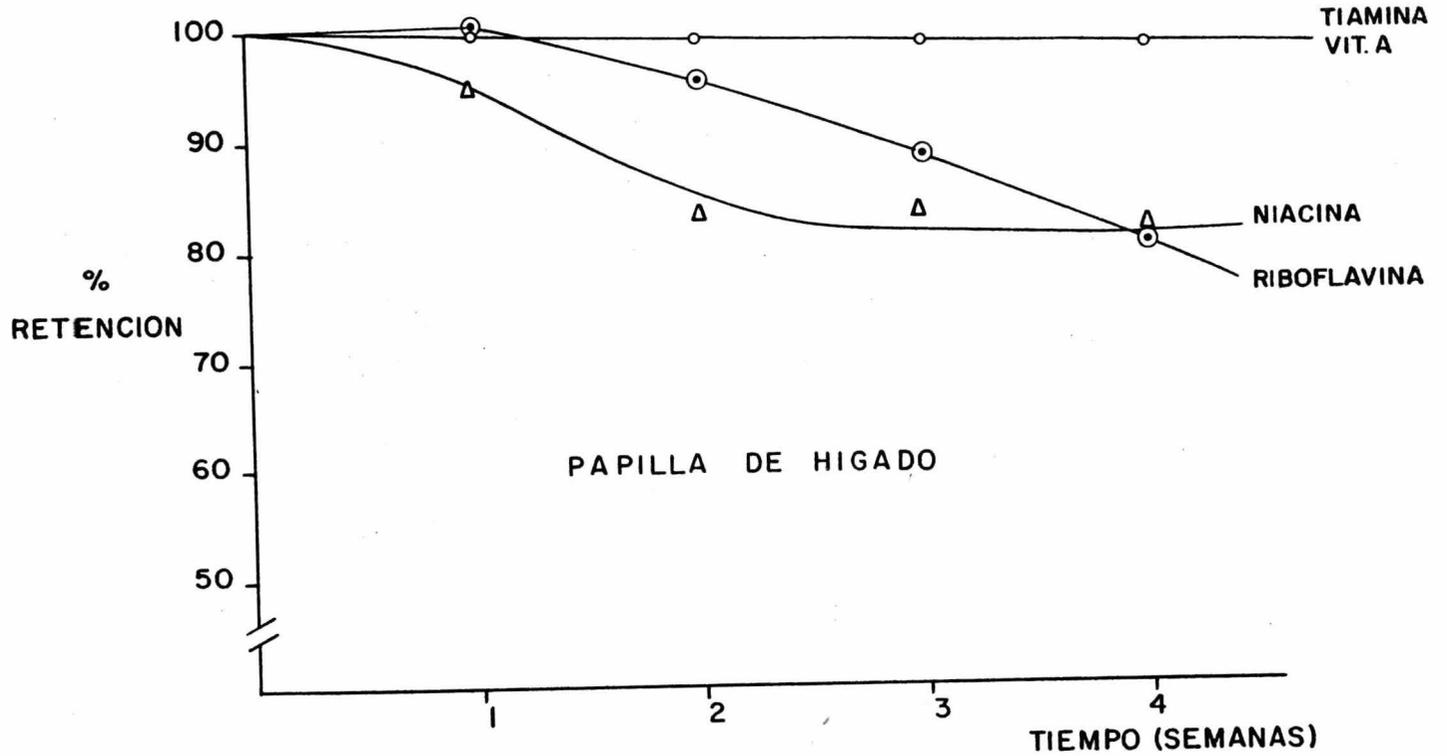


FIGURA 4



IV DISCUCION

El valor nutritivo del jugo fresco era notable - en términos de Vitamina C y de beta-caroteno, ya que de aquella vitamina contenía casi la mitad de las necesidades diarias en - 100 ml y de beta-caroteno, al dividir entre 6 para convetir el - valor en actividad de vitamina A, 100 ml contenían 600 μ g equiva lentes de actividad, que representan más de lo recomendado para un niño y 60% de lo recomendado para un adulto.

Mientras que el beta-caroteno resistió muy bien el cocimiento por 5 y 10 minutos a 90°C y la esterilización a - 120°C por 5 minutos, la vitamina C fué destruída por todos estos tratamientos; aunque el menos severo de ellos, el cocimiento a - 90°C por 5 minutos, sólo eliminó el 18% del contenido original - de vitamina C, la esterilización destruyó más del 70%. Dado que el método empleado para determinar la vitamina C mide ácido as- córbico como ácido dehidroascórbico las pérdidas detectadas son - reales y no simplemente oxidación del ácido ascórbico al de hidro ascórbico.

El estudio sobre el efecto del tiempo de almace- namiento del jugo esterilizado y enlatado mostró de nuevo que el beta-caroteno no se afecta significativamente, pero que la vita- mina C continúa destruyéndose dentro de la lata, de tal manera que a los 14 días se perdió casi el 25% de la vitamina originalmente presente.

Estos resultados permiten suponer que la vitami- na C, por su poder reductor, protege de la oxidación al beta-ca-

roteno.

La papilla, en lo que toca a vitaminas, es una - extraordinaria fuente de vitamina A, ya que 100 g aportaron casi 20 veces la recomendación diaria para un niño y 10 veces la de un adulto.

Por lo que respecta a tiamina, riboflavina y niacina, aunque las concentraciones no eran especialmente altas, si lo eran en relación al aporte energético de la papilla (unas 35 - Kcal/100 g) por lo que puede considerarse como una buena fuente - de estas vitaminas.

La esterilización a 120°C ocasionó la pérdida del 21% de la vitamina A y el 23% de la riboflavina, pero apenas tuvo efecto sobre la tiamina y la niacina. El escaso efecto del - tratamiento térmico sobre la tiamina pudo deberse al supuesto pH ácido de la papilla por la presencia de chayote en su fórmula.

El tiempo de almacenamiento no afectó el contenido de vitamina A y tiamina, pero ocasionó pérdidas de casi 20% a los 28 días en el contenido de riboflavina y niacina.

Aunque se estudiaron las vitaminas de mayor importancia en la práctica, en este trabajo sólo se examinaron 2 tipos de productos por lo que constituye únicamente una pequeña contribución al conocimiento de esta área.

Como conclusiones generales puede señalarse que:

- 1.- El beta-caroteno es bastante resistente al tratamiento térmico y al tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente en presencia de vitamina C, ya que ésta con su poder reductor lo protege.
- 2.- La vitamina C sufre pérdidas considerables por efecto de la temperatura y el tiempo de almacenamiento.
- 3.- La vitamina A puede sufrir ligeras pérdidas por el efecto de la temperatura y casi ninguna por el tiempo de almacenamiento.
- 4.- La niacina es bastante resistente al efecto térmico, pero no al tiempo de almacenamiento.
- 5.- La riboflavina sufre pérdidas hasta de 20% por efecto del tiempo de almacenamiento y de la temperatura.
- 6.- La tiamina, en la papilla estudiada, resistió ambos factores, la temperatura y el tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente (21°C), resultado que no coincide con la literatura (13).

Estos resultados ponen de manifiesto la necesidad de proteger o restaurar el valor vitamínico de estos productos, o en último caso enriquecerlos antes de su elaboración a un

nivel que, después de las pérdidas, sea equivalente al valor nutritivo original del producto. Estos conocimientos permitirán también una mejor orientación de las campañas de educación que la misma industria o los organismos públicos realicen para la mejor utilización de los productos industriales.

VI BIBLIOGRAFIA

- 1.- Association of Official Agricultural Chemists
Official Methods of Analysis of the Association of Official
Agricultural Chemists. Tenth Ed. Washington D.C. (1965)
- 2.- Bernal R.E. Elaboración de un embutido semicárnico adiciona-
do de concentrado de soya. Tesis Profesional. Facultad de Quí-
mica. U.A.M.N. México (1974),
- 3.- Borenstein B Bunmel R.H. Carotenoids.Utilization in Foods.-
Ocurrence.Proprieties.Advances in Food Research 15, 195-264,
(1966).
- 4.- Bourges H., Chávez A. y Arroyo P.
Recomendaciones de Nutrimientos para la Población Mexiana,
Publicación L-17 de la División de Nutrición.
Instituto Nacional de Nutrición. México(1970)
- 5.-Cameron E. J. Esly J.R.
Canned food in human nutrition.
National Cannerns Association, Wash. (1950)
- 6.- Clifcorn L. E.
The nutritive value of Canned Foods I
Introduction and Sampling Procedure
J. Nutrition 28, 101-105 (1944)
- 7.- Clifcorn L.E.
Variables influencing vitamin.content of processed foods.
Ind. Eng. Chem. 36, 168-176 (1944)
- 8.- Con E.E. & Stumpf P.K.
Bioquímica Fundamental. 2o Ed. Limusa Ed. México 1974.

9.- Chapman H.R., Ford J.E., Kon S.K. Thompson S.I., Rowland S.J.

Crosley E.L. Rothewell J.

J. Dairy Res. (Engl) 24, 191-197 (1957)

Citada en Referencia 21

10.- Desrosier N. W. Conservación de Alimentos

3a. Edición. Editorial Contiental, Westport Conn (1971)

11.- Dyke S.F. The Chemistry of the Vitamins. London Interscience

Publishers (1965).

12.- Ezzel B.D. Wilcox M.S.

J. Agric. Food Chem. (U.S.A.) 7, 507-509 (1959)

Citada en Referencia 21

13.- Farrer K.Th. Advances in Food Research (U.S.A.) 6, 257-311

(1955).

Citada en Referencia 21

14.- Fisher P. Bender A.

Valor Nutritivo de los Alimentos. Limusa Wiley Editorial,

(1972).

15.- Harris S.R., Von Loesecke S.B.H.

Nutritional Evaluation of Food Processing. The AVI Publishing

Co. Inc Westport Connecticut (1973).

16.- Hernández M. Chávez A. Bourges H.

Valor Nutritivo de los Alimentos Mexicanos. Tablas de Uso

Práctico.

Publicación L-12 de la División de Nutrición. 6a. Edición.

Instituto Nacional de Nutrición. México (1974).

- 17.- White A. Handler Ph. Smith E. y Steteen W.
Principios de Bioquímica 2a. Edición Mc. Graw Hill Book
Company N. Y. (1964).
- 18.- Hoffman F. La Roche & Co. Ltd.
Analytical Procedures for the Determination of Vitamins -
in Multivitamin Preparation. Basle Switzerland. (1969).
- 19.- Hoffman F, La Roche & Co. Ltd Carotenoids. Birkhauser Verlag
Otto Isler Ed. 15-27 (1971).
- 20.- Hoffman F. La Roche & Co. Ltd. Vitamin Assay in Food with
Chemical Physical Methods. Basle Switzerland. (1960)
- 21.- Hoffman F. La Roche & Co. Ltd. Vitamin Content of Modern -
Dieteries Losses Due to various procedures. Basle Switzerland
(1969).
- 22.- Informe comparativo de Producción de 1974 y 1975
Productos Pesqueros Mexicanos, S. A. de C. V.
Baja California # 255 México, D. F., Subdirección Técnica.
- 23.- Kirk. F. Othmer D. F.
Encyclopedia of Chemical Technology
2a. Edición Vol. 21, 484-534 (1970) Editorial Board.
- 24.- Kon S.H. Proc. Nutr. Soc. (U.S.A.) 2, 149-157 (1944)
Citada en referencia 21.
- 25.- Krehl W.A. y Cowgill G.R. Food Res. 16, 179 (1950)
Citada en referencia 15
- 26.- Lushburg C.H. Wuchman J.M. Schwugerh B. S.
J. Nutr. (U.S.A.) 67, 451-459) - (1959).
Citado en referencia 21.

- 27.- Mahler H.R., Cordes E.H. Biological Chemistry.
Harper & Row Publishers 2a. Edición New Kork (1971)
- 28.- Manual for Nutrition Surveys. Interdepartamental Comitee
on Nutrition for National Defense. Washington D.A. (1957)
- 29.- Manual de Prácticas de Laboratorio. Determinación de Al-
gunas Vitaminas. Universidad de Caracas Venezuela.
- 30.- Mapson L.W. Brit. Med. Bull 12, 73-77 (1956)
Citada en referencia 21
- 31.- Meredith F. I., Purcell A. C. Changes in the concentration
of carotenes of ripening homestead tomatoes. Am. Soc. for
Horticultural Science 89, 544-548 (1975)
- 32.- Moore T. Vitamin A Elsevier Publishing Co. 73-80 (1957)
- 33.- Necesidades de vitamina A, tiamina, riboflavina y niacina.
Informe de un grupo mixto FAO/OMS de expertos. Ser.Inf. -
Tec. # 362 OMS (1965)
- 34.- Pearson D. The Chemical Analysis of Foods Cap. II
Sixth Edition. J. & A Churchill London (1970)
- 35.- Pérez H. C. Chávez A. Madrigal H.
Recopilación sobre el consumo de nutrientes en diferentes
zonas de México II. Consumo de Vitaminas y Minerales.
Arch. Lat. Nut. 28, 293 - 304 (1973)
- 36.- Rendina G. Experimental Methods in Modern Biochemistry
Saunders Ed. Pag. 167 - 173 (1971)
- 37.- Roe, H.I. Y Kenter C. A.
The Determination of Ascorbic Acid. Modificado. J. Biol. Chem.
147 - 399 (1943).

- 38.- Rosenberg H.R. Chemistry and Physiology of the Vitamins
Interscience Publisher Inc. N.Y. (1942).
- 39.- Strobeck R. Heuning H.M. Vitamin Assay. Tested Methods
Verlag Chemie (1966)
- 40.- Schopfer W. H. Vitaminology. London Interscience
Publishers (1950).
- 41.- Wagner J.R. Nutritive Value of Canned Food. Effect on -
Comercial Canning Operation on the Vitamin Content. Ing.
Eng. Che. 39 985-990 (1950)