



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE SODIO Y CLORURO EN SALCHICHAS
MEDIANTE ELECTRODOS SELECTIVOS DE IONES**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**QUÍMICA DE ALIMENTOS
PRESENTA**

GABRIELA ALEJANDRA DE LA CRUZ SIERRA



MÉXICO, D.F.

2009



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Alberto Gómez Pedrozo Gudiño
VOCAL: Luz Sandra Sánchez del Ángel
SECRETARIO: Martha Patricia García Camacho
1er. SUPLENTE: Sandra Pérez Munguía
2° SUPLENTE: Gloria García Ramírez

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA, LABORATORIO ANEXO 3D, FACULTAD DE QUÍMICA, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO (UNAM).

ASESOR

DRA. MARTHA PATRICIA GARCÍA CAMACHO

SUSTENTANTE

GABRIELA ALEJANDRA DE LA CRUZ SIERRA

AGRADECIMIENTOS

Al proyecto de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) PAPIME PE202906 "Determinación selectiva de iones en alimentos aplicada a la enseñanza experimental y a la evaluación sensorial"

A la Dra. Martha Patricia García Camacho por su apoyo y asesoría durante la realización de este proyecto.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por ser mi segundo hogar.

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

DEDICATORIAS

A mis padres, este logro va dedicado a ustedes, porque han sido un gran ejemplo de vida, me han enseñado que siendo perseverante puedo lograr todo lo que me proponga. Los amo mucho. Gracias.

A Luis, por tu amor, paciencia y apoyo incondicional. Gracias por formar parte de mi vida, por todo lo que hemos compartido y por hacerme muy feliz, te amo mucho.

A mis compañeras del laboratorio 3D Anexo, Vania y Tania por brindarme su valiosa amistad y ser una gran compañía durante los momentos de trabajo.

ÍNDICE

	Página
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	4
Objetivo general.....	4
Objetivos particulares.....	4
Capítulo 1. ANTECEDENTES.....	5
1.1 Potenciometría.....	5
1.2 Electroodos Selectivos de Iones.....	7
1.2.1 Tipos de electrodos selectivos.....	8
1.2.1.1 Coeficiente de selectividad.....	12
1.2.1.2 Ajustador de fuerza iónica.....	13
1.2.2 Métodos de calibración.....	13
1.2.2.1 Estándar Externo.....	14
1.2.2.2 Adición Estándar.....	14
1.2.2.3 Estándar Interno.....	15
1.2.3 Variables que afectan las medidas por ISE.....	15
1.2.4 Aplicaciones analíticas y ventajas de los electrodos selectivos...	19
1.3 Determinaciones de ISE en alimentos.....	20
1.4 Otros métodos para determinar iones.....	23
1.4.1 Método de Mohr.....	23
1.4.2 Método de Volhard.....	23
1.4.3 Fotometría de flama.....	24
1.5 Cloruro de sodio.....	26

	Página
1.5.1 Funciones biológicas y presencia en los alimentos.....	26
1.5.2 Presencia de cloruro y sodio en productos cárnicos.....	27
1.5.3 Propiedades organolépticas.....	29
1.6 Embutidos.....	29
1.6.1 Clasificación de los embutidos.....	30
1.6.2 Elaboración de los embutidos.....	31
Capítulo 2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	34
2.1 Materiales.....	34
2.1.1 Reactivos.....	34
2.1.2 Equipos.....	34
2.1.3 Disoluciones Estándar.....	34
2.1.4 Muestras.....	35
2.2 Métodos.....	37
2.2.1 Extracción de los iones en las muestras.....	38
2.2.2 Estabilización y activación de los electrodos	38
2.2.3 Validación del sistema ISE	39
2.2.3.1 Linealidad y precisión por estándar externo.....	39
2.2.3.2 Linealidad y precisión por adiciones estándar.....	39
2.2.4 Validación del método ISE.....	41
2.2.4.1 Precisión por estándar externo.....	41
2.2.4.2 Linealidad y precisión por adiciones estándar.....	41
2.2.5 Validación del sistema por flamometría.....	42
2.2.5.1 Linealidad y precisión por estándar externo.....	42

	Página
2.2.5.2 Linealidad y precisión por adiciones estándar.....	43
2.2.6 Validación del método por flamometría.....	43
2.2.6.1 Precisión por estándar externo.....	43
2.2.6.2 Linealidad por Adiciones Estándar.....	44
2.2.7 Evaluación de la exactitud del método.....	44
2.2.7.1 Comparación de ISE y flamometría.....	45
2.2.8 Determinación de sodio y cloruro en las muestras por ISE con adiciones estándar.....	45
Capítulo 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	46
3.1 Validación del sistema ISE.....	46
3.1.1 Linealidad y precisión por estándar externo.....	46
3.1.2 Linealidad y precisión por adiciones estándar.....	50
3.2 Validación del método ISE.....	56
3.2.1 Precisión por estándar externo.....	56
3.2.2 Linealidad y precisión por adiciones estándar.....	57
3.3 Validación del sistema por flamometría.....	62
3.3.1 Linealidad y precisión por estándar externo.....	62
3.3.2 Linealidad y precisión por adiciones estándar.....	63
3.4 Validación del método por flamometría.....	65
3.4.1 Precisión por estándar externo.....	65
3.4.2 Linealidad y precisión por adiciones estándar.....	66
3.5 Evaluación de la exactitud del método.....	68
3.6 Comparación de ISE y flamometría.....	70

3.7 Determinación de sodio y cloruro en las salchichas por ISE con adiciones estándar.....	71
Capítulo 4. CONCLUSIONES.....	82
BIBLIOGRAFÍA.....	84
ANEXOS.....	88
ANEXO I. Conceptos de validación.....	88
ANEXO II. Especificaciones de los electrodos.....	90
ANEXO III. Datos de las curvas de calibración.....	90

INTRODUCCIÓN

El sodio es un elemento importante en la nutrición puesto que el papel que juega es el de mantener la neurotransmisión, así como la regulación del balance osmótico y presión sanguínea e indirectamente interviene en el metabolismo de carbohidratos y proteínas. Se considera que es necesario ingerir diariamente de 0.1 a 0.2g de sodio para cumplir con los requisitos mínimos de funcionalidad biológica, pudiéndose elevar esta ingestión hasta 3.3g sin causar alteraciones (Valle y Lucas, 2000). El cloruro se encuentra mayoritariamente en los líquidos extracelulares, una parte en los glóbulos rojos y en menor proporción en las células de otros tejidos. Su función es regular la presión osmótica y es el anión principal del jugo gástrico, el cual está constituido por el ácido clorhídrico (Lloyd, et al., 1982). Entonces, tanto el cloruro como el sodio juegan un papel muy importante en la regulación de la presión osmótica y el equilibrio ácido-base de los organismos, junto con el potasio. Sin embargo, hoy en día, uno de los principales problemas de salud en la población humana se debe al exceso en el consumo de sal común (NaCl), lo que causa enfermedades como hipertensión, retención de líquidos, problemas cardiovasculares, etc. En efecto, una gran variedad de alimentos, entre los que se encuentran los embutidos, contienen altas concentraciones de NaCl, el cual se les adiciona para mejorar sus características, no sólo de sabor, sino de textura y también de conservación, logrando así aumentar su vida de anaquel. De lo anterior se deduce que la sal común tiene importancia en el proceso de fabricación de los productos cárnicos, aunque también es importante remarcar que su contenido debe ser reportado en la etiqueta de los productos comerciales para que los consumidores controlen su ingesta, en especial los individuos que deben seguir una dieta controlada.

Otros alimentos que contienen un alto contenido de sal común son los alimentos procesados, como las carnes curadas con sal, el pescado ahumado o salado, los alimentos precocidos, las botanas (papas fritas, palomitas de maíz con sal, pretzels, galletas saladas, frutos secos salados), las salmueras, los aderezos, los quesos, algunos enlatados, y las aceitunas entre más (Badui, 2006). Estos alimentos son muy variados y consumidos, por lo tanto, se ha hecho

necesario determinar rutinariamente su contenido de sal por medio de diferentes métodos analíticos que discriminan la cantidad de sodio y cloruro presente.

La extracción de la sal de los alimentos, se realiza comúnmente por calcinación delicada a 500-550°C (los cloruros de álcalis son volátiles a mayores temperaturas), seguida por una disolución de sus cenizas o por ebullición del alimento en ácido nítrico diluido. De esta manera, en ausencia de ácidos, el ión cloruro se determina por el método de Mohr que incluye la titulación directa con nitrato de plata 0.1 M, y en presencia de ácidos, por el método de Volhard, mediante la adición de un exceso de nitrato de plata y titulación indirecta con tiocianato de potasio. Los métodos instrumentales más usados para determinar sodio en alimentos son: la espectrofotometría de absorción atómica, fotometría de flama o espectrofotometría de emisión de flama (Kirk, et al., 2004). Los métodos electroanalíticos (en donde se incluyen los potenciométricos), también son procesos instrumentales empleados para precisar apropiadamente la concentración de sodio o cloruro en disolución. Es importante destacar, que todas estas técnicas tienen en común su gran selectividad, así como también una adecuada sensibilidad.

Todo método analítico requiere de gran precisión, exactitud, sensibilidad, selectividad y versatilidad (Harris, 1999), cualidades que se encuentran en los métodos potenciométricos con electrodos selectivos de iones (ISE por sus siglas en inglés), los cuales aunque menos aplicados, se han utilizado de manera confiable en el análisis de alimentos como la determinación de cloruros y nitratos en productos cárnicos como salami, tocino, salchichas (Pérez-Olmos, et al., 1997) y en mantequilla y margarina (Ayranci y Balci, 1992). Los ISE también se han utilizado para determinar cloruro de sodio en quesos (Kindstedt, et al., 1983), demostrando rapidez, eficiencia, sin requerir de mucho gasto en reactivos. En particular, los ISE presentan muy buena sensibilidad y pueden implementarse de manera muy simple en el laboratorio.

En base a lo anterior, dado que la medición selectiva de iones asegura buenos resultados en cuanto a reproducibilidad, repetibilidad, exactitud y precisión, además de menor tiempo, cantidad de muestra y reactivos que los

métodos tradicionales de Mohr y Volhard, en el presente trabajo se optimizó y validó un método con electrodos selectivos de los iones sodio y cloruro en salchichas, para su aplicación en la cuantificación de estos iones en los principales productos del mercado mexicano con el fin de evaluar la calidad de estos alimentos altamente consumidos.

OBJETIVOS

Objetivo General

- Optimizar y validar métodos de medición selectiva de sodio y cloruro en salchichas para su aplicación en productos comerciales consumidos en el D.F.

Objetivos particulares

- Implementar un método de extracción de sodio y cloruro en salchichas cuantitativo, simple y reproducible.
- Validar el protocolo completo de extracción y análisis con electrodos selectivos mediante la evaluación de linealidad, reproducibilidad, precisión y exactitud.
- Cuantificar el contenido de los iones sodio y cloruro en salchichas, para comparar con lo reportado en la etiqueta, y evaluar la calidad de los productos más consumidos en la población del D.F.

Capítulo 1. ANTECEDENTES

1.1 Potenciometría

Un método potenciométrico de análisis se refiere a la medida del potencial que aparece entre dos electrodos con el fin de conocer la actividad o concentración de una especie química en disolución. La potenciometría directa consiste en medir directamente el potencial con el que está relacionada la actividad o concentración mediante la ecuación de Nernst (1):

$$E = E^0 + 2.3 (RT/nF) \log a_i \dots\dots\dots (1)$$

En donde E es el potencial desarrollado por el sistema, E^0 el potencial de referencia, R la constante de los gases ideales, T la temperatura absoluta (K), n el número de electrones que se transfieren, F la Constante de Faraday y a_i la actividad del ión de interés, la cual a su vez está relacionada con la concentración (c_i) por el coeficiente de actividad (f_i) según la ecuación (2):

$$a_i = f_i \times c_i \dots\dots\dots(2)$$

Si se tiene una temperatura constante, la ecuación de Nernst se puede escribir como la ecuación (3).

$$E = E^0 + S \log a_i \dots\dots\dots (3)$$

Donde S es la pendiente en la respuesta del electrodo.

A partir de la ecuación 3 se deduce que midiendo el potencial respecto a un electrodo de referencia, se puede conocer la actividad y por lo tanto la concentración del ión en cuestión.

La aplicación más conocida de la potenciometría directa es el uso de los electrodos selectivos de iones (ISE por sus siglas en inglés) (Godé, 1996; Skoog, et al., 2001; Skoog y West, 1988), por lo que su funcionamiento se describe a continuación.

En la Figura 1 se muestra un esquema de una celda con sus electrodos de referencia e indicador conectados a un potenciómetro o medidor

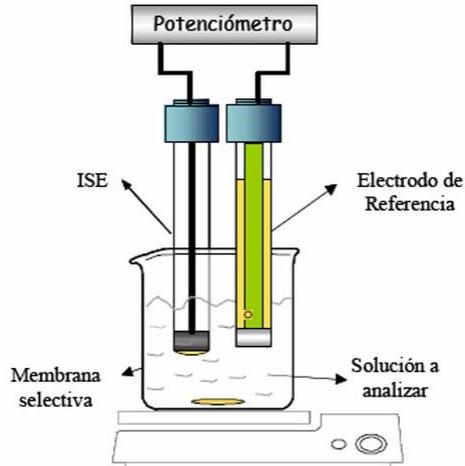


Figura 1. Esquema que representa una celda con su electrodo indicador (ISE), su electrodo de referencia y el medidor.

Los electrodos de membrana son los electrodos indicadores más usados y se basan en el establecimiento de una diferencia de potencial entre las dos caras de la membrana que separa a dos disoluciones de concentración diferente de la especie a determinar. Una de estas disoluciones es de concentración conocida, determinándose la de la otra, por diferencia de potencial. La diferencia de potencial establecida tiene como principal componente el cambio de energía libre asociada a la transferencia de masa a través de la membrana y son fundamentalmente distintos a los electrodos que implican transferencia electrónica (Godé, 1996; Skoog, et al., 2001; Skoog y West, 1988).

Los componentes que integran el sistema de medición también son mostrados en la figura 2.



Figura 2. Componentes que integran el sistema de medición.

El equipo medidor se define como una fuente de voltaje con una resistencia interna alta. Mide la diferencia de potencial entre el electrodo selectivo y el de referencia y almacena datos.

El electrodo de referencia es aquel que mide siempre el mismo potencial sin importar la naturaleza de la disolución en que se introduzca y por lo tanto da una referencia a la medida del electrodo indicador. Estos electrodos están compuestos por un conductor metálico que está en contacto con una sal poco soluble de su metal, y una disolución de composición constante y alta concentración que se conoce como electrolito de referencia. El electrolito de referencia entra en contacto con la disolución a analizar a través del diafragma, el cual es una pared porosa que permite una unión líquida. La unión líquida deja pasar un pequeño y constante flujo del electrolito de referencia a la muestra. En donde se encuentran el electrolito y la disolución de análisis, aparece un potencial de unión líquida que debe su origen a las diferentes movilidades de los aniones y los cationes. Para que la contribución del potencial de unión líquida se mantenga pequeño y constante como sea posible, se deben tomar en cuenta las siguientes medidas: a) Seleccionar electrolitos de referencia, con aniones y cationes de similares movilidades: KCl, KNO₃, etc.; b) Utilizar la concentración del electrolito de referencia de 5 a 10 veces superior a la esperada en las muestras y tampones; c) Mantener constante la velocidad de agitación durante la medida y d) Utilizar un diafragma adecuado al tipo de análisis (Godé, 1996; Skoog, et al., 2001; Skoog y West, 1988).

Los electrodos selectivos son electrodos indicadores y se describen con detalle en la siguiente sección.

1.2 Electrodo selectivo de iones

El descubrimiento en 1906 de que una fina membrana de vidrio desarrolla un potencial, llamado potencial de membrana, cuando sus lados opuestos están en contacto con disoluciones de distintos pH, condujo al desarrollo de una clase totalmente nueva de electrodos indicadores llamados electrodos selectivos de iones (ISE por sus siglas en inglés). El electrodo selectivo de iones es un electrodo

cuyo potencial de membrana está en función de la concentración de un determinado ión en la disolución; su membrana responde más o menos selectivamente a un ión específico, y está en contacto, por una parte, con la disolución del ión a determinar, y por otra, generalmente, con una disolución del mismo ión a una concentración fija, la cual está a su vez en contacto con un electrodo de referencia apropiado (Harvey, 2002).

El primer electrodo selectivo que se hizo fue el de pH, que es sensible a los iones de hidrógeno y que se usa para medir los niveles de hidrógeno e hidróxido en solución acuosa.

En la figura 3 se representan los esquemas de un electrodo de referencia y 2 tipos de electrodos selectivos de iones que serán descritos en la sección siguiente.

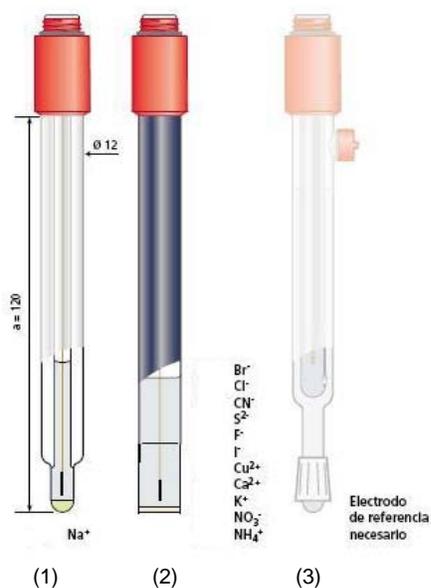


Figura 3. Electrodos Selectivos de Iones. (1) electrodo de vidrio, (2) electrodo de membrana sólida y (3) electrodo de referencia.

1.2.1 Tipos de electrodos selectivos

Los electrodos selectivos de iones se clasifican de acuerdo con el estado físico de la sustancia (compuesto electroactivo) que forma la membrana del electrodo. De esta manera se cuenta con:

- Electrodo selectivo de vidrio
- Electrodo selectivo de membrana sólida
- Electrodo selectivo de membrana líquida
- Electrodo sensible a gases

- Electrodo selectivo de vidrio

Los primeros electrodos de vidrio se fabricaron usando Corning 015, un vidrio con una composición de alrededor del 22% de Na₂O, 6% de CaO y 72% de SiO₂. La hidratación de la membrana de vidrio da lugar a la formación de lugares de carga negativa, G⁻, que forman parte de la estructura de silicio de la membrana de vidrio. Los iones de sodio, capaces de moverse a través de la capa hidratada, actúan como contraiones. Los iones de hidrógeno de la disolución difunden hacia la membrana y, como se unen con mayor fuerza al vidrio que los iones de sodio, desplazan a éstos produciendo la selectividad de la membrana para el H⁺. El transporte de carga a través de la membrana depende de los iones sodio (Harvey, 2002). Entonces, el potencial se desarrolla gracias a una reacción de intercambio iónico que tiene lugar en la superficie de la membrana.



Como el espesor típico de la membrana de vidrio de un electrodo selectivo de iones es de unos 50µm, estas membranas han de ser manipuladas con mucho cuidado para evitar las grietas o roturas. Antes de utilizar un electrodo de vidrio, hay que acondicionarlo, sumergiéndolo durante varias horas en una disolución que contenga el analito. Los electrodos de vidrio no deben dejarse secar para que no se destruya la capa hidratada de la membrana. Si un electrodo de vidrio se seca, habrá que reacondicionarlo antes de utilizarlo de nuevo. En la interfase, los cationes monovalentes situados sobre el vidrio entran en equilibrio de intercambio iónico con los iones de la muestra a determinar. Los iones a determinar tienden a difundirse a través de la capa hidratada hacia el vidrio seco, así mismo se produce un flujo de cationes desde el vidrio seco para reponer aquellos que se disolvieron

en la parte externa hidratada (Godé, 1996; Skoog, et al., 2001; Skoog y West, 1988). La composición de la membrana de vidrio cambia con el tiempo, alterando el rendimiento del electrodo (Harvey, 2002).

El electrodo selectivo de vidrio es el que se emplea para determinar pH y Na^+ . La figura 4, muestra un electrodo combinado de vidrio, con un electrodo de referencia de AgCl.

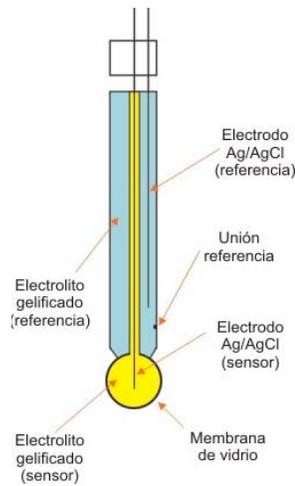


Figura 4. Electrodo combinado de vidrio

- Electrodo selectivo de membrana sólida

Cuando la membrana de un electrodo selectivo de membrana sólida se sumerge en la disolución, se desarrolla un potencial basado en el transporte de partículas cargadas (iones) sobre la interfase membrana/disolución hasta alcanzar el equilibrio dinámico. El material de la membrana debe ser un conductor iónico con un solo ión móvil. Como ejemplo se tiene el electrodo de cloruros, cuya membrana está compuesta por cloruro de plata, que en contacto con una disolución se disolverá ligeramente.

En la figura 5, se muestra un esquema de un electrodo combinado de membrana sólida.

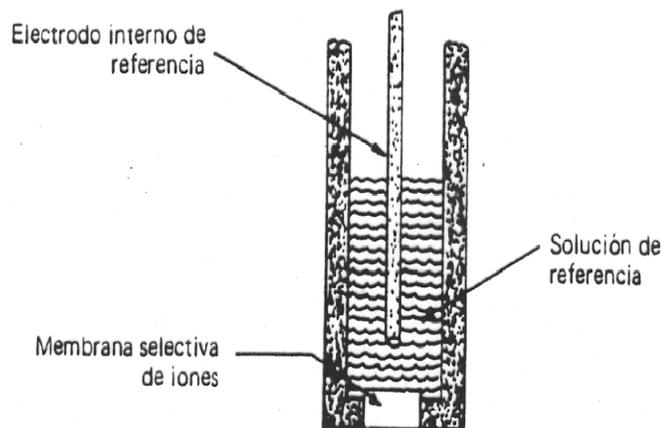


Figura 5. Electrodo combinado de membrana sólida

- Electrodo selectivo de membrana líquida

En esta clase de electrodos la membrana es un líquido que tiene un disolvente inmiscible con un agente complejante neutro o cargado sobre una matriz porosa como PVC. Al igual que las membranas sólidas, presenta conductancia iónica y preferencia por un ión particular. Por ejemplo los electrodos de calcio, potasio, dureza del agua ($\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$) (Godé, 1996; Skoog, et al., 2001; Skoog y West, 1988).

La figura 6, representa un esquema del electrodo combinado de membrana líquida.

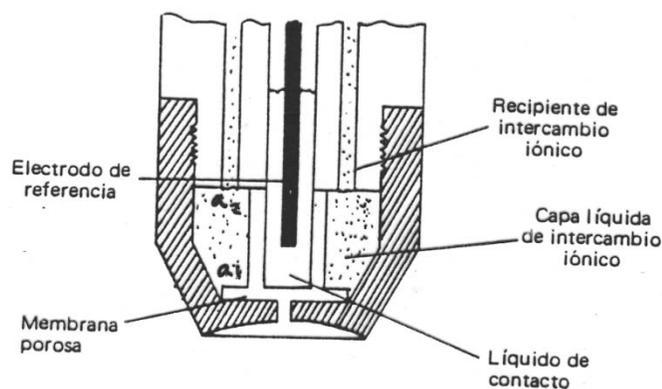


Figura 6. Electrodo combinado de membrana líquida para Ca^{2+}

- Electrodo sensible a gases

Son electrodos específicos para iones usados conjuntamente con membranas permeables a un gas. La membrana está hecha de un material hidrofóbico a través del cual pasa el gas. Se emplean para medir NH_4^+ , SO_2 , H_2SO_3 , SO_3 , NO_2 , CO_2 , H_2CO_3 (Godé, 1996; Skoog, et al., 2001; Skoog y West, 1988).

En la siguiente figura se muestra un esquema de un electrodo membrana sensible a gases.

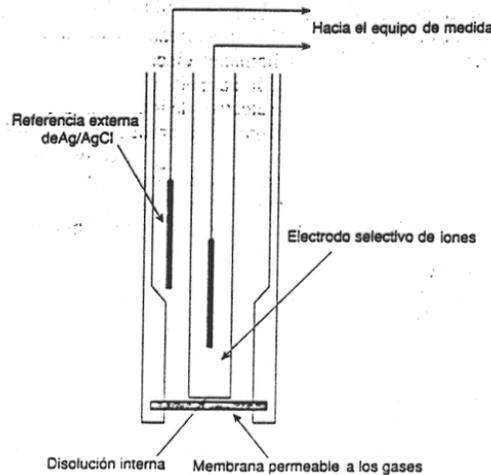


Figura 7. Electrodo de membrana sensible a los gases para CO_2

1.2.1.1 Coeficiente de selectividad

El coeficiente de selectividad expresa la respuesta relativa del electrodo a diferentes especies interferentes de la misma carga de acuerdo a la relación (4).

$$\text{Coeficiente de selectividad: } k_{A,X} = \frac{\text{respuesta a X}}{\text{respuesta a A}} \dots\dots\dots (4)$$

Cuando menor es el coeficiente de selectividad, menos interfiere X. En presencia de iones interferentes de la misma carga que el ión primario, la respuesta del electrodo selectivo obedece entonces, a una ecuación de Nernst modificada conocida como la ecuación de Nicolsky-Eisenman (5).

$$E = \text{constante} \pm \beta \frac{0.05916}{n} \log \left[A_A \sum_X (k_{A,X} A_X) \right] \dots\dots\dots 5)$$

Donde A_A es la actividad del ión primario (A), A_X es la actividad de la especie interferente X, $k_{A,X}$ es el coeficiente de selectividad y n la carga del ión A. β es una constante cuyo valor es cercano a 1 en la mayoría de los electrodos.

Así por ejemplo, el electrodo selectivo de potasio, que usa el quelante valiomicina como intercambiador líquido, tiene los siguientes coeficientes de selectividad $k_{K^+,Na^+} = 1 \times 10^{-5}$, $k_{K^+,Cs^+} = 0.44$ y $k_{K^+,Rb^+} = 2.8$. Estos coeficientes nos indican que el sodio apenas interfiere en la determinación de potasio, en cambio el cesio y el rubidio interfieren mucho. De hecho, el electrodo responde mejor al rubidio que al potasio (Harris, 1999).

1.2.1.2 Ajustador de Fuerza Iónica

El potencial de un electrodo responde a la actividad de los iones, no a su concentración. Por lo que para que la actividad del ión y su concentración se parezcan, tanto a las disoluciones estándar como a las muestras, se les adiciona una disolución ajustadora de fuerza iónica (ISA, Ion Strength Adjustor, por sus siglas en inglés). La fuerza iónica de una disolución viene determinada por el conjunto de iones presentes en ella. Las disoluciones para el ajuste de fuerza iónica están preparadas con electrolitos de distintas sales que permiten la fijación de la fuerza iónica necesaria para realizar los análisis. Entonces, el ajustador de fuerza iónica es una disolución de concentración elevada que no interfiere con la muestra y que iguala la fuerza iónica de estándares y muestras (Godé, 1996; Skoog, et al., 2001; Skoog y West, 1988).

1.2.2 Métodos de calibración

Las curvas de calibración representan el potencial del electrodo (mV) frente a concentraciones conocidas de disoluciones patrón en escala logarítmica; esto último debido a que los electrodos responden logarítmicamente a los cambios de concentración. Por lo general, para cuantificar los iones en las disoluciones, se

utiliza el método de estandarización externa, aunque para disoluciones muy diluidas se usa el método de adición patrón, en el que se añaden a la muestra problema concentraciones conocidas de la sustancia a determinar, representando potenciales frente a concentraciones de patrón añadidas. Cuando se cuantifican iones en matrices complejas, generalmente se utiliza el estándar interno, este elimina los errores en la cuantificación debido a las interferencias causadas por la matriz (Godé, 1996; Skoog, et al., 2001; Skoog y West, 1988).

1.2.2.1 Estándar externo

Este método consiste en elaborar diferentes disoluciones estándar del ión a analizar de concentraciones que van en orden creciente. Después, se realiza la medición del potencial (mV) con el electrodo en cada una de las disoluciones estándar. Finalmente, se elabora una gráfica del potencial (mV) contra el logaritmo de la concentración de la disolución. En ausencia de interferentes, la curva de calibración del potencial en relación con la concentración es una línea recta. Con los datos de la curva de calibración se realiza una regresión lineal, con la cual se puede conocer la ecuación de la recta ajustada. Una vez que se tienen las muestras que se van a analizar, se mide su potencial con el electrodo. Entonces, la lectura en mV se extrapola en la curva de calibración elaborada con las disoluciones estándar a través de la ecuación de la recta, dando como resultado la concentración de cada muestra (Harris, 1999).

1.2.2.2 Adición estándar

Cuando se usan electrodos selectivos de iones es importante que la composición de la disolución del estándar se aproxime lo mejor posible a la composición de la muestra que se analiza. En los casos en los que la matriz es compleja o no se conoce, se puede usar el método de adición estándar. En este método, se utiliza como estándar el mismo elemento que se quiere analizar. Esta técnica consiste en medir el potencial de la muestra problema, y luego en hacer una segunda medida, después de añadir un pequeño volumen de una disolución estándar, de forma que no varíe la fuerza iónica de la muestra. La variación del

potencial nos indica cómo responde el electrodo al analito y cuanto analito había en la disolución original. Se podría añadir justo una alícuota de patrón, pero es más exacto añadir sucesivamente varias alícuotas y usar un procedimiento gráfico para extrapolar a 0 la concentración de la muestra. La mejor forma de hacer la adición patrón es mediante adiciones que aumenten de 1.5 a 3 veces la concentración original del analito (Harris, 1999).

1.2.2.3 Estándar interno

En el método de estándar interno se emplea normalmente una curva de calibración empleando una serie de disoluciones que contienen igual cantidad del estándar interno e incrementos en la cantidad del analito. El estándar interno es una sustancia que se añade a todas las muestras y estándares en cantidad conocida y constante y a la vez en cantidad suficiente para poder ser determinado sin problemas. Su adición no debe causar ningún tipo de interferencia en el análisis, y debe proporcionar una señal analítica similar al analito en el análisis pero distinguible del mismo. Además el estándar interno no debe estar presente en la matriz de estudio.

Los métodos basados en la adición de un estándar interno generalmente se utilizan cuando el analista está interesado en la concentración de uno o algunos de los componentes y el método de análisis es susceptible a errores tanto sistemáticos como al azar. El método está basado en que cuando las señales del analito y del estándar interno responden proporcionalmente a las fluctuaciones del método y del instrumental empleado, entonces la razón de estas señales es independiente de tales fluctuaciones; de esta forma el método se compensa por errores provenientes de la manipulación de la muestra por analizar (Castillo, 2000).

1.2.3 Variables que afectan las medidas por ISE

Las variables que afectan la reproducibilidad o magnitud en las medidas realizadas con los electrodos selectivos de iones son la temperatura,

contaminación, el envejecimiento, el potencial del electrodo de referencia, la fuerza iónica, el pH de la muestra y las interferencias.

En el análisis con electrodos selectivos todos los patrones y muestras se deben analizar a la misma temperatura, ya que de la ecuación de Nernst se deduce que el potencial desarrollado por el sistema es directamente proporcional a la temperatura.

Las muestras pueden contener sustancias que forman depósitos insolubles en la superficie de la membrana del electrodo, reduciendo su sensibilidad. Por ejemplo, la contaminación del electrodo puede darse por las películas de aceite, los depósitos de grasa y las proteínas. Se debe limpiar el electrodo con HCl o HNO₃ durante 30 min., para quitar esa contaminación.

A medida que se va usando el electrodo, aumenta la resistencia de la membrana y va perdiendo sensibilidad, lo que ocasiona el envejecimiento de la membrana.

En cuanto al potencial del electrodo, la función del electrodo de referencia es proporcionar un potencial constante frente al que se puedan medir las variaciones debidas al electrodo indicador. Para que esto se dé, es muy importante escoger el electrolito de referencia adecuado, tomando en cuenta que la fuerza iónica del electrolito debe ser muy superior a la de la muestra. Debe ser una solución equitransferente, es decir que las velocidades del catión y del anión deben ser lo más parecidas posibles. No debe reaccionar con la muestra. No debe contaminarla y no debe contener al ión a medir.

La ecuación de Nernst se cumple para disoluciones diluidas, en las que el coeficiente de actividad tiende a 1. El coeficiente de actividad depende de un número de parámetros tales como la cantidad, tamaño, carga y número de hidratación de los iones presentes, la temperatura y el disolvente. La fuerza iónica I se define por la ecuación 6

$$I = \frac{1}{2} \sum c_i z_i^2 \dots \dots \dots (6)$$

Donde c_i es la concentración del ión y z_i su carga.

Debido a que el potencial de un electrodo selectivo responde a la actividad de los iones, no a su concentración, los patrones y las muestras deben tener igual fuerza iónica para confundir actividades y concentraciones.

El pH de la muestra debe estar en un intervalo determinado ya sea para evitar interferencias de los iones H^+ y OH^- o porque las membranas trabajan correctamente en una determinada zona de pH (Godé, 1996; Skoog, et al., 2001; Skoog y West, 1988).

Debido a la complejidad de las muestras pueden encontrarse interferencias. En general, si en la muestra hay iones que sean detectados por el electrodo selectivo, éste responderá al mismo tiempo a los iones que se quieren medir y a los que interfieren. Las interferencias del ión cloruro se presentan en la tabla 1 (Termo Electron Corporation, 2003). Si la proporción del interferente es mayor va a generar error en la lectura, pero si es menor que la que se presenta en la tabla, ni la exactitud de la medida, ni la superficie del electrodo se verán afectadas.

Tabla 1. Máxima concentración aceptable de iones interferentes en la medición selectiva de cloruro.

Ion interferente	Máxima concentración aceptable interferente: cloruro (M)
OH^-	80
Br^-	3×10^{-3}
I^-	5×10^{-7}
$S^{=}$	10^{-6}
CN^-	2×10^{-7}
NH_3	0.12
$S_2O_3^{=}$	0.01

M= Molaridad

Algunas de las interferencias pueden eliminarse. Así, la interferencia debida a OH^- se puede quitar acidificando a pH 4 con HNO_3 1M. Las mezclas de halógenos en disolución pueden ser medidas usando el ajustador de fuerza iónica CISA (por sus siglas en inglés Chloride Ionic Strength Adjustor) constituido por 1M HNO_3 y $NaBrO_3$ 0.1M para remover interferencias. El $S^{=}$ y CN^- se pueden eliminar

por adición de una disolución de níquel (+2) o usando CISA. Los dos últimos compuestos representan especies complejantes. Su máximo nivel puede excederse sin dañar el electrodo. Los valores mostrados son al 1% de error.

Las interferencias del ión sodio se presentan en la tabla 2 (Termo Electron Corporation, 2003).

Tabla 2. Iones interferentes del ion sodio a diferentes concentraciones

iones (ppm)	1ppm Na⁺	10ppm Na⁺	100ppm Na⁺
Li⁺	12	121	1206
K⁺	170	1700	17000
Rb⁺	11000	110000	-
NH₄⁺ como N	1800	18000	-
Ag⁺	0.004	0.04	0.4
Tl⁺	4500	45000	-

En el caso de que se encontraran las concentraciones presentadas en la tabla 2, para realizar la determinación de Na⁺ los iones interferentes se podrían eliminar de las disoluciones usando resinas de intercambio iónico, las cuales son polímeros orgánicos complejos con uniones entre las distintas unidades del polímero. Al hacer variar el grado de unión y los grupos funcionales (ácidos o básicos), pueden modificarse las propiedades de la resina respecto a la velocidad y capacidad de cambio y selectividad. Las resinas de intercambio catiónico contienen grupos polares firmemente unidos en la estructura de la resina, mientras que el catión es difusible o intercambiable. La mayor parte de las resinas de intercambio catiónico contienen aniones de los ácidos sulfónicos o carboxílicos. A baja temperatura, la afinidad de cambio crece con el aumento de la carga iónica (Na⁺ < Ca²⁺ < Al³⁺ < Th⁴⁺); para carga constante, la afinidad de cambio crece con el número atómico (Li⁺ < Na⁺ < K⁺ < Rb⁺ < Cs⁺). En el caso de la interferencia del ión rubidio, nos indica que su coeficiente de selectividad con el sodio es mayor que el de los otros iones, por lo que si en la disolución a medir se encuentra el ión rubidio, el electrodo de sodio va a responder mejor al rubidio que al sodio. Entonces es necesario eliminar al rubidio para tener una mejor determinación.

En cuanto las interferencias del método, es necesario tratar previamente la muestra para que el ión a medir se encuentre libre, de esta forma, la medición será más selectiva y se obtendrá una mejor respuesta del ión a medir y no de los interferentes. Los iones que interfieren en muchos de los procedimientos analíticos pueden separarse por intercambio iónico como se mencionó para el caso de la determinación del ión sodio. Por ejemplo el fosfato, que interfiere en el análisis del bario y del calcio, se separa con un intercambiador de aniones. Las interferencias del hierro (III) y del aluminio en la determinación del sulfato como sulfato bórico, se eliminan por separación del hierro y del aluminio con un intercambiador catiónico (Ayres, 1970).

1.2.4 Aplicaciones analíticas y ventajas de los electrodos selectivos

Algunas de las aplicaciones que tienen los electrodos selectivos son el control de la contaminación como por ejemplo, determinar pH en lluvia ácida, suelo y en agua superficial; amonio y nitrato en suelo y agua. Así como cianuro, cadmio, mercurio y cobre en aguas residuales. En la industria farmacéutica y de cosméticos se determina fluoruro y pH en pasta de dientes y el pH del shampoo. Para el tratamiento de aguas residuales se determina el pH, amonio, nitrato y otros iones usados durante el proceso. En la investigación y educación se determinan principalmente pH, iones como sodio, potasio, cloruros, calcio, fluoruro, etc. En el diagnóstico médico y control de higiene se hacen determinaciones de potasio en orina y control de la contaminación por varios iones. Para la agricultura y la pesca se llevan a cabo análisis de nitrato, amonio y potasio en suelo y fertilizantes, hasta optimizar su uso, y de oxígeno disuelto y pH en estanques y criaderos de peces. En el control en la calidad de alimentos se usan para determinar nitratos y nitritos en carne y vegetales; cloruros, sodio, nitratos y nitritos en alimento para bebés; fluoruro y calcio en leche y productos lácteos. Así como cadmio en pescado. Para monitorear de la calidad del agua se miden pH, calcio y otros iones en la superficie de ríos, lagos y estanques; pH, amonio y nitratos en criaderos y estanques de peces y amonio en aguas profundas (Godé, 1996; Skoog, et al., 2001; Skoog y West, 1988).

Como ventajas que pueden mencionarse para los electrodos selectivos se encuentran que las medidas son simples, como técnica, costo, equipo y personal; los análisis son rápidos; se utiliza una pequeña cantidad de muestra; tienen una alta sensibilidad (hasta ppb); la medida es independiente de color y turbidez y es de fácil repetibilidad.

1.3 Determinaciones de ISE en alimentos

En el área de alimentos la determinación selectiva de iones tiene una gran aplicación, por ejemplo, la medición de nitratos y nitritos en productos cárnicos, contenido de sales como sodio y cloruro en carne, pescado, quesos y jugos de fruta (Florence, 1986). También es posible determinar calcio, hierro, fluoruro y potasio en bebidas como leche, vino o cerveza (González, et al., 1990)

El Ministerio de Sanidad y Consumo de España, recomienda el método de Volhard para la determinación de cloruros en productos cárnicos después de haber hecho una extracción hidroalcohólica. Sin embargo, los electrodos selectivos proveen de procedimientos más rápidos, fáciles de operar con un equipo económico, exactitud y precisión similares al método de referencia (Pérez-Olmos, et al., 1997).

Sekerka y Lechner (1978) reportan un método que usa el electrodo selectivo del ión cloruro con el cual se eliminan las interferencias comunes de otros haluros y compuestos azufrados. Este método se aplicó en suero sanguíneo y orina, así como en extracto de carne, leche, tejido de pescado, jitomates, naranjas, jugo de uva y también en aguas residuales. Se prepararon 100mL de disoluciones estándar de entre 1 y 5000ppm de Cl^- en matraces de 150mL con agua, 1mL de HClO_4 al 50%, 1mL de solución saturada de $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ y 0.01mL de $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 0.1M. Se agitó durante la calibración y medición de la muestra y se mantuvo todo a temperatura constante, en la medición por el electrodo. El cloruro se extrajo de las muestras de acuerdo a la AOAC (1975) 12^a ed. Washington por calcinación.

Se realizó también la determinación de cloruros en productos cárnicos mediante electrodo selectivo de iones con la técnica de “inyección por lotes” (la cual se basa en la adquisición de una señal transitoria en vez de una señal estática). El método de “inyección por lotes” consiste en inyectar un pequeño volumen 10-100 μL del extracto a través de una punta cercana al electrodo selectivo inmerso en una disolución. El extracto se obtuvo luego de picar finamente las muestras cárnicas y extraer los cloruros solamente con agua. Al comparar con el método oficial ISO 1841-2 (método de Volhard) se encontró en los resultados que estadísticamente no hay diferencia significativa en los resultados de las determinaciones. Los autores recomiendan el método de electrodo selectivo de iones usando la técnica de inyección por lotes para determinar cloruro de sodio en productos cárnicos porque es rápido, exacto, y fácil de usar, además de que no requiere nitrato de plata, que es un reactivo muy costoso, como en el método oficial (Šucman y Bednář, 2003).

Pérez- Olmos y Echeverría (1989) describen la determinación potenciométrica de sodio y potasio en vinos utilizando electrodos selectivos. En este caso, debido a que la matriz es un líquido, la preparación de la muestra sólo requiere de agua. Los resultados obtenidos utilizando un solo vino para las determinaciones, fueron alentadores, ya que los coeficientes de variación fueron bajos, y se obtuvo un alto porcentaje de recobro. Al comparar los resultados con el método de flamometría que es el oficial de la AOAC se observa una tendencia a obtener concentraciones mayores de iones por el método de ISE. El uso de la técnica ISE para la determinación de iones en estos vinos resultó ser muy atractiva por la rapidez y escasa preparación de muestra que se requirió, los resultados obtenidos indicaron que la técnica fue precisa, reproducible y repetible.

Upreti y colaboradores (2004) mencionan que el interés que existe en la industria alimentaria para utilizar electrodos selectivos de iones en la determinación de varios analitos es considerable, aún cuando existen muy pocos reportes de su utilización en alimentos. Por esta razón, propone la utilización de

electrodos de vidrio para la determinación de pH en el proceso de elaboración de queso. Cabe mencionar que dentro de los problemas que se encuentran al realizar este tipo de mediciones, están los provocados por los compuestos lipofílicos y péptidos hidrofóbicos presentes en la leche, que provocan una pérdida de la selectividad de la medición de cationes monovalentes. Sin embargo, los investigadores encontraron que la solución a este problema fue utilizar electrodos de iones selectivos basados en tridodecilamina y o-nitrofenil octil éter. El uso de membranas poliméricas en ISE resulta ser muy exitoso en el análisis de alimentos, sin la necesidad de una preparación de muestra, que típicamente involucra una extracción o una dilución de la muestra que generalmente va de 20 a 50 veces. La preparación de muestra tiene como función eliminar interferentes presentes en la matriz del alimento.

Fulton y colaboradores, (1984) realizaron un estudio en el cual tomaron como base el método propuesto por Fletkau para determinar iones por flamometría, para adaptarlo a la técnica de ISE por que esta técnica pretende ser rápida y libre de una larga preparación de muestra. Las muestras cárnicas se pesaron y cortaron finamente, se mezclaron con agua, posteriormente se ajusto el pH y la fuerza iónica para proceder con la medición de la concentración de los iones por ISE. Se encontró que la presencia de sólidos suspendidos y de grasa en la disolución no fueron causa de interferencia. También se encontró que en comparación con el método flamométrico no hay una variación significativa de las concentraciones en muestras determinadas en muestras cárnicas.

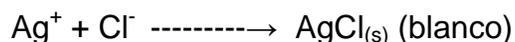
Zannier y colaboradores (2002), determinaron la concentración de sales solubles presentes en leche de vaca de la región central de Argentina. Para la determinación de dichas sales, (cloruros, sodio y potasio) se utilizó un método por electrodos selectivos de iones. Los resultados obtenidos mostraron una buena correlación con el método de flamometría. Los valores obtenidos para sodio y cloruros resultaron ser altos en comparación con datos previos. La metodología de ISE resultó conveniente debido a su rapidez, y exactitud.

Chapman y Goldsmith (1982) en un estudio describieron el método de adición de la muestra en seco, el cual requiere de la adición de una masa sólida de peso conocido a una disolución estándar que contiene el ión a medir. Al diluirse la muestra se produjo un cambio en el potencial del electrodo, el cual está relacionado con la composición de la muestra. Esta metodología se ha aplicado en muestras de alimentos con una concentración de hasta 2.8% de sal. La concentración de sodio, cloruros y potasio se determinó por electrodos de ión selectivo plásticos y de estado sólido. La comparación de este método con métodos volumétricos o de absorción atómica dio resultados satisfactorios.

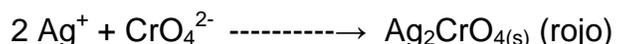
1.4 Otros métodos para determinar iones

1.4.1 Método de Mohr

Uno de los métodos más usados para la determinación de cloruros presentes en una disolución, es el llamado método de Mohr. Esta determinación de cloruros es un método volumétrico basado en una precipitación (volumetrías de precipitación), que se sirve de una sal de plata (AgNO_3) para determinar la concentración de cloruros presentes, usando cromato potásico como indicador del punto de equivalencia. La reacción de precipitación se presenta a continuación:



Cuando se ha precipitado todo el haluro, comienza a precipitar el ión cromato con la plata el cual presenta un color rojo, de acuerdo a la reacción:



Esta precipitación por etapas de los compuestos de la plata se basa en la distinta solubilidad de los mismos. La precipitación debe hacerse en medio neutro o débilmente alcalino (pH 7.5–10) ya que, en medio ácido disminuye la solubilidad del indicador, y en medio excesivamente alcalino, precipita el hidróxido de plata antes que el cromato de plata (Skoog y West, 1988).

1.4.2 Método de Volhard

El método de Volhard, que ya fue mencionado anteriormente, se basa en la determinación indirecta de los cloruros, en que añadiendo un exceso de nitrato de

plata con respecto a la cantidad de cloruros presente. El exceso de ión plata se valora por retroceso con disolución de tiocianato de potasio o amonio y sulfato férrico como indicador. A continuación se presentan las reacciones que describen este método de determinación de cloruros (Skoog y West, 1988).



Cuando la solución cambia a rojo, indica que se ha llegado al punto final de la titulación (Harris, 1999).

El método de Volhard es el método oficial ISO 1841-2 que se utiliza para la determinación de cloruro, ya que es más exacto y preciso que el método de Mohr (Kirk, et al., 2004).

1.4.3 Fotometría de flama

En el análisis de iones por fotometría de flama, la muestra es aspirada por medio de un nebulizador que la descarga en forma de aerosol (atomizada) a una flama. Los átomos del ión de interés son excitados a un nivel de energía mayor. Al regresar a su estado fundamental emiten energía en forma de luz de una longitud de onda de 589nm, que es específica para el análisis de este elemento. La luz pasa a través de un filtro o un monocromador, que selecciona la longitud de onda de la luz emitida por los átomos del ión de interés. La luz pasa a un detector de tipo fototubo integrado al sistema de lectura que puede ser digital o analógico. La intensidad de la luz emitida y la respuesta eléctrica del detector, son directamente proporcionales a la concentración del ión (Harris, 1999).

En la figura 8, se muestra un esquema de un fotómetro de flama.

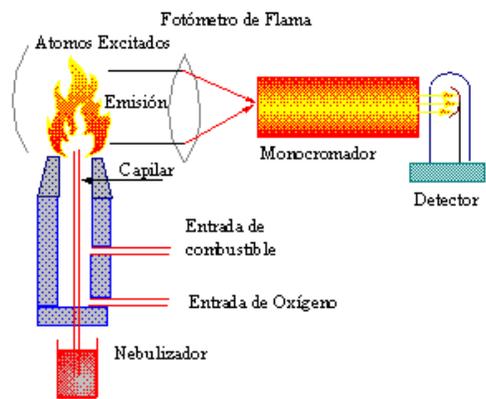


Figura 8. Esquema de un fotómetro de flama

En la tabla 3, se muestran los diferentes iones que se pueden determinar a través de la técnica de fotometría de flama, así como el color de la flama que se obtiene cuando el equipo mide cada ión y su intensidad.

Tabla 3. Iones que se pueden medir en el fotómetro de flama.

Elemento	Color de la flama	Intensidad
Ba ²⁺	Verde claro	Baja
Ca ²⁺	Rojo anaranjado	Media
Cu ²⁺	Azul verdoso	Media
Cr ³⁺	Amarillo	Media
Cs ⁺	Rojo claro	Media
K ⁺	Violeta	Alta
Li ⁺	Rojo fucsia	Alta
Na ⁺	Amarillo	Muy alta
Pb ²⁺	Azul grisáceo	Escasa
Sr ²⁺	Rojo	Media

En la fotometría de flama, las partículas que contiene la muestra pueden tapar el mechero. El calcio y el potasio pueden causar interferencias si se encuentran en mayor cantidad que el sodio; la proporción es 5:1 en el caso del

potasio y 10:1 en el caso del calcio. Para minimizar el problema de las interferencias, se recomiendan las siguientes acciones 1) Diluir las muestras, para analizarlas en un intervalo bajo de sodio; 2) Utilizar la técnica de las adiciones estándar o de estándar interno; 3) Adición de cantidades iguales de los cationes que interfieren a los estándares de calibración y 4) Utilizar agua destilada y desionizada. (Harris, 1999):

1.5 Cloruro de sodio

1.5.1 Funciones biológicas y presencia en los alimentos

Dentro de los minerales que se usan en la alimentación, el que más destaca es el sodio, empleado como cloruro de sodio en la sal de mesa. Se considera que es necesario ingerir diariamente de 0,1 a 0,2g de sodio para cumplir con los requisitos mínimos de funcionalidad biológica, pudiéndose elevar esta ingestión hasta 3,3g sin causar alteraciones. El papel que juega el sodio en el organismo es el de mantener la neurotransmisión, así como la regulación del balance osmótico y presión sanguínea e indirectamente interviene en el metabolismo de carbohidratos y proteínas. Sin embargo, recientemente se ha demostrado que el consumo elevado de sal es una de las principales causas de hipertensión así, alto nivel de sodio en el organismo trae como consecuencia un aumento en el volumen de líquidos extracelulares, originando un aumento de peso debido al incremento de retención de agua y por consiguiente un aumento en la presión arterial o hipertensión. La hipertensión aumenta el riesgo de ataques cardíacos, daño al riñón y muerte por paro cardíaco. Debido a estos problemas, se ha recomendado una reducción en el consumo de sal en la dieta diaria. Sin embargo, hay que considerar que es el ión sodio el que causa los problemas de salud y que éste se encuentra no sólo como sal de mesa, sino en otras formas, como por ejemplo, conformando a diferentes aditivos, como el glutamato monosódico o como los conservadores, benzoato de sodio, propionato de sodio, etc., o bien siendo añadido como parte de un proceso, como es el caso de la elaboración de vino en algunos países. En este caso, el vino se pasa por columnas intercambiadoras de iones, las cuales ceden iones sodio para solubilizar

compuestos (taninos) y que no se produzca un sabor indeseable en los vinos. En la elaboración de embutidos, la sal influye en la textura, sabor y control microbiológico, como también lo hace en la elaboración de quesos (Valle y Lucas, 2000).

El papel bacteriostático de la sal es detener el crecimiento de la mayoría de las bacterias cuando se utiliza en concentraciones suficientes. Se considera que a la concentración del 10%, inhibe el crecimiento de diversos microorganismos; en cambio a la concentración del 5%, sólo actúa sobre las bacterias anaerobias (Girard, 1991).

Ruusunen y Puolanne (2005) hicieron algunas propuestas para reducir el contenido de sodio en productos cárnicos: 1) Reducir el nivel de NaCl añadido; 2) Reemplazar todo o parte del NaCl con sales de cloruros como (KCl, CaCl₂ y MgCl₂); 3) Reemplazar parte del NaCl con sales que no sean de cloruros, como fosfatos o con nuevas modificaciones en el proceso; y 4) Combinar los puntos anteriores.

Por otra parte, por razones de conservación y de sabor, se requiere conocer la concentración de sal en los productos alimenticios. Por lo regular, se determinan los cloruros totales y se expresan en términos de cloruro de sodio. Generalmente, sólo se analizan alimentos a los que se agrega sal o que contienen cantidades apreciables de la misma. Los métodos de titulación volumétricos son los que se usan comúnmente en México para la determinación de Na⁺ y Cl⁻. La extracción de la sal de los productos cárnicos, se realiza por calcinación delicada 500-550°C (los cloruros de álcalis son volátiles a mayores temperaturas), seguida por una disolución de las cenizas o por ebullición del alimento en ácido nítrico diluido. En ausencia de ácidos, el ion cloruro se determina por el método de Mohr que incluye la titulación directa con nitrato de plata 0.1 M; o en presencia de ácidos por el método de Volhard mediante adición de un exceso de nitrato de plata y titulación indirecta con tiocianato de potasio (Kirk, et al., 2004).

1.5.2 Presencia de cloruro y sodio en productos cárnicos

La sal es un ingrediente básico en la formulación de productos cárnicos fermentados otorgándoles al producto final un sabor básico que resulta esencial

en la solubilización de las proteínas musculares. La adición de cloruro de sodio (NaCl) incrementa la fuerza iónica del sistema cárnico aumentando las repulsiones electrostáticas en la proteína, ocasionando una pérdida de la estructura miofibrilar y generando mayor espacio para que el agua sea retenida. Por ello, el agregado de sal colabora con el rendimiento de los productos además de influir sobre las características de textura de los embutidos fermentados. Es esencial emplear sal grado alimentario, ya que el grado de impurezas como los metales (cromo, cobre, hierro) aceleran el proceso de oxidación de los ácidos grasos y la aparición de aromas y sabores rancios. El agregado de sal en niveles de entre un 2% y 3% genera un efecto parcialmente bacteriostático reduciendo la actividad acuosa del producto fermentado. Si bien el NaCl es un aditivo fundamental en el proceso tecnológico para la elaboración de productos cárnicos fermentados, altas concentraciones de éste han comenzado a ser rechazadas por los consumidores debido a los problemas cardiovasculares que genera (Hui, 2006)

Entonces, la principal fuente de sodio en productos cárnicos es el cloruro de sodio que es añadido durante el proceso. El cloruro de sodio contiene 39.3% de sodio, aunque el sodio también proviene de otros aditivos añadidos, como: glutamato monosódico, fosfato de sodio, etc., la cantidad de sodio que proviene de estos compuestos es mucho más bajo comparado con la cantidad de sodio que proviene del cloruro de sodio (Ruusunen y Puolanne, 2005).

Es importante considerar que la adición de la sal a una carne cruda disminuye el pH de las proteínas aproximadamente en 0.2 unidades. Así que, en las condiciones prácticas de fabricación de los productos cárnicos (pH 5.5 a 6), la diferencia entre las proteínas y el pH del medio está aumentada, lo que se traduce por un aumento del poder de retención de agua.

Mediante el aumento de la fuerza iónica, la sal aumenta la solubilidad de las proteínas musculares favoreciendo así la manifestación de sus propiedades tecnológicas (poder emulsificante, ligante, etc.) La sal favorece la oxidación y el enranciamiento de las grasas.

La penetración de la sal está en relación con el establecimiento de un equilibrio entre las concentraciones de sal en el interior y el exterior de la pieza.

La elevación de la temperatura es uno de los factores externos que pueden favorecer la penetración de la sal. Mientras que como factor interno que interviene en la penetración de la sal es el pH, ya que en cuanto más elevado es el pH más difícilmente penetra la sal.

Como el empleo de la sal común no está reglamentado y el gusto salado es suficiente para limitar el consumo de productos que contienen demasiada sal, su dosificación no tiene el carácter de control que tienen otros numerosos aditivos. De modo clásico se realiza mediante la dosificación de los iones Cl^- , según los diferentes métodos, fundamentados en la insolubilidad del cloruro de plata. En los casos de alimentos dietéticos, se dosifica el ión Na^+ , ya que es el contenido de este elemento el que está controlado (y la sal no es la única fuente de iones Na^+) (Girard, 1991).

1.5.3 Propiedades organolépticas

La sensación de lo salado se debe a las interacciones de los cationes y los aniones con los receptores de la lengua. Los cationes causan el sabor salado y los aniones lo inhiben, además a concentraciones bajas las sales pueden producir un sabor dulce.

El cloruro de sodio se toma como referencia del sabor salado y a diferencia de otras sales, incrementa la salivación y la percepción del dulzor. También enmascara o disminuye las notas metálicas y amargas.

Las sales inorgánicas de sodio y litio como NaCl y LiCl , con un diámetro iónico inferior a 6.5\AA , producen únicamente sabores salinos, mientras que el potasio y otros iones producen notas salinas y amargas. A medida que aumenta el diámetro iónico de la sal, el sabor salado se reduce y se incrementa lo amargo, así el KCl (6.28\AA), el CsCl (6.96\AA) y el MgCl_2 (8.5\AA), resultan amargos en orden creciente (Badui, 2006).

1.6 Embutidos

Los embutidos son productos constituidos a base de carne picada condimentada con forma generalmente simétrica. La palabra embutido deriva de

salsus, palabra latina que significa salado o, literalmente, carne conservada por salazón (Price, 1994).

Las proteínas musculares miofibrilares en los productos cárnicos procesados determinan sus características de textura, resultado de la gelificación, unión de grasa y retención de agua, que son las propiedades funcionales más importantes en productos emulsionados y cocidos. La grasa y el agua son química y físicamente atrapadas dentro de la matriz de proteína durante el proceso. Las propiedades intrínsecas de las proteínas que tienen influencia en la funcionalidad son la proteína total, distribución de las proteínas entre las fracciones musculares y tipo de fibra muscular. Los factores extrínsecos que afectan esta funcionalidad incluyen pH, fuerza iónica, tipo de iones, temperatura y duración del cocimiento (Hui, 2006).

1.6.1 Clasificación de los embutidos

La tabla 4 muestra una clasificación de los embutidos, sus características y algunos ejemplos.

Tabla 4. Cuadro general de la clasificación de embutidos (Price, 1994).

Clasificación	Características	Ejemplos
Embutidos frescos	Carnes frescas (principalmente de cerdo), sin curar, picadas, sazonadas y generalmente embutidas en tripa; deben cocinarse para su consumo	Salchichas frescas de cerdo
Embutidos secos y semisecos	Carnes curadas, desecadas al aire, pueden ahumarse antes de la desecación; se consumen como fiambre.	Salami de Génova Pepperoni Lebanon Bologna

Embutidos cocidos	Carnes curadas o sin curar, emulsionadas, sazonadas, embutidas en tripa, cocidas y en ocasiones ahumadas; generalmente se consumen como fiambre.	Salchicha de hígado
Embutidos ahumados cocidos	Carnes curadas, emulsionadas, sazonadas, embutidas en tripa, ahumadas y completamente cocidas; no requieren preparación culinaria aunque algunos productos se sirven calientes.	Salchichas de Frankfurt Salchichas de Bolonia Salami de Córcega
Embutidos ahumados no cocidos	Carnes frescas curadas o sin curar, embutidas, ahumadas sin cocer; se sirven cocinadas.	Salchichas de cerdo ahumadas
Especialidades a base de carnes cocidas	Productos cárnicos especialmente preparados con carnes curadas o sin curar, cocidas pero raramente ahumadas; con frecuencia se fabrican sin envoltura en forma de filetes o rodajas preenvasadas; se consumen como fiambres	Pastel de carne

1.6.2 Elaboración de los embutidos

En la elaboración de los productos cárnicos emulsionados y cocinados, o salchichas, hay cuatro pasos que permitirán el desarrollo de la textura característica de este tipo de productos.

- 1) Extracción de las proteínas,
- 2) Hidratación y activación de las proteínas,
- 3) Formación de la emulsión o matriz proteica,

4) Gelificación por calor de la matriz proteica.

En el primer paso se escoge el tipo de carne para elaborar las salchichas; el contenido de proteína varía de acuerdo con el tipo de músculo, fibra y especie. La reducción de tamaño o rompimiento de tejido y células tiene como objetivo liberar a las proteínas musculares.

En el segundo paso, la hidratación y activación de estas proteínas se lleva a cabo mediante sal adicionada a la formulación junto con nitrito de sodio, fosfatos y una parte de hielo. La agitación mecánica termina de romper el tejido, mezcla y solubiliza a las proteínas activándolas mediante las cargas de los iones de la sal. El proceso de hidratación para activar a las proteínas altera la estructura de la proteína muscular para formar una red que atraparé la grasa. La agitación mecánica o mezclado en presencia de sal mejora la activación de las proteínas e inicia la formación de una red que aumenta su viscosidad del medio y se carga electrostáticamente, presentando zonas hidrofóbicas e hidrofílicas. La sal junto con la suficiente cantidad de agua incrementa la hidratación y solubilización de las proteínas musculares; la proteína solubilizada rodea al glóbulo de grasa y, por acción de la temperatura, forma junto con las proteínas miofibrilares hidratadas una red que evitaré la coalescencia de la grasa y ordenará la estructura de todos los componentes estructurales y proteínas no cárnicas.

El tercer paso es la formación de la emulsión. La grasa es añadida a la pasta en la mezcladora en combinación con otros ingredientes. La agitación mecánica dispersa los glóbulos de grasa que son atrapados en la suspensión o matriz de proteína cárnica. La temperatura es el factor más importante para obtener una emulsión estable antes y durante el cocimiento. La agitación mecánica atrapa a la grasa en la red formada hasta ese momento, después de hidratar y activar con iones a las proteínas. Las proteínas miofibrilares, ahora solubles, atrapan a los glóbulos de grasa y forman una película alrededor de ellos haciendo estable la emulsión. Las proteínas de la carne tiene la capacidad de formar una emulsión aceite en agua estable, donde las proteínas miofibrilares son absorbidas en la interfase grasa/agua. Después de la disociación de la

actomiosina en presencia de fosfatos, la actina permanece en la fase acuosa, mientras que la miosina va directamente a los glóbulos de grasa. Cuando las proteínas solubles en sales de los fragmentos de miofibrillas están interfacialmente absorbidos en la grasa, pierden su habilidad de formar un gel.

En el cuarto paso, la cocción convierte a la pasta enclaustrada físicamente por la funda de un estado de “sol” a un estado de “gel”. La temperatura aplicada provoca un desplegamiento de las proteínas que se replegarán de manera ordenada para formar la red estructural del gel, responsable de la retención de agua y grasa en este tipo de productos. El resultado de la acción de la temperatura sobre la pasta viscosa es la formación de un gel semisólido compuesto de una red de agua/proteína/sal, tejido conectivo e ingredientes no cárnicos. Esta red atrapa glóbulos de grasa grandes y pequeños. El gel de proteína muscular es resultado de una compleja mezcla de todos los componentes del músculo, grasa, sal, nitritos y otros ingredientes de la formulación.

Otros componentes además de las proteínas musculares, tales como proteínas no cárnicas, carbohidratos y lípidos, contribuyen a la textura y propiedades de retención de agua de las pastas cárnicas (Hui, 2006; Price, 1994).

Capítulo 2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Materiales

2.1.1 Reactivos

1) Disoluciones de llenado de los electrodos TERMO ORION (Beverly, USA): 900001 para Cl^- y 900010 (Na^+)

2) Preparación disoluciones de almacenamiento (A), ajustadores de fuerza iónica (ISA Ionic Strength Adjustor por sus siglas en inglés), y extracción (E).

Reactivos BAKER (Xalostoc, México): cloruro de sodio NaCl (A Na^+ y Cl^-), cloruro de amonio NH_4Cl (A Na^+), hidróxido de amonio NH_4OH (A, ISA, Na^+), ácido sulfúrico H_2SO_4 (E Na^+ y Cl^-).

Reactivo MALLINCKRODT (Kentucky, USA): nitrato de sodio NaNO_3 (ISA, Cl^-)

2.1.2 Equipos

Medidor de iones Orion 4-Star con electrodos combinados selectivos a Cl^- (membrana) (Orion 96-17) y a Na^+ (vidrio) (Orion 84-11).

Fotómetro de flama JENWAY PFP7 (Dunmow, Essex, England), Mufla Hevi Duty Electric Co. (Milwaukee, USA).

Desionizador y purificador MILLIPORE Simplicity (París, Francia),

Balanza analítica Ohaus Adventurer Pro (NJ, USA) con capacidad de 110g y una precisión de 0.0001g.

Micropipetas EPPENDORF (Ontario, Canadá) de 100-1000 μL y de 1-5mL.

Parrilla de calentamiento y agitación DAIGGER (Milwaukee, USA)

2.1.3 Disoluciones Estándar

Las disoluciones estándar para la determinación de sodio y cloruro se prepararon a partir de un estándar de cloruro de sodio al 99% proveniente de SIGMA-ALDRICH (St. Louis, USA), con el cual se prepararon disoluciones de diferentes concentraciones con agua purificada y desionizada.

2.1.4 Muestras

Las muestras que se utilizaron fueron salchichas que se adquirieron en supermercados de la Ciudad de México. Para cada producto comercial se consiguieron tres paquetes de diferente lote. Se analizaron productos de diferentes marcas: 10 marcas elaboradas con carne de pavo (en diferentes presentaciones), 4 marcas tipo Viena, 1 marca tipo Frankfurt, 1 marca reducida en grasa y sodio, 1 marca de salchichas tamaño jumbo, 1 de salchichas tamaño súper jumbo y 1 marca de salchichas para hot dog, haciendo un total de 19 muestras diferentes. La tabla 5 indica información más detallada acerca de cada una de las muestras analizadas y su contenido de sodio reportado en etiqueta.

De cada paquete, se eligió al azar una salchicha y de ésta se cortaron tres pedazos, 2 en los extremos y uno en medio. Posteriormente se homogeneizaron con un mortero con pistilo y se pesó 1.0g que fue colocado en un matraz Erlenmeyer de 50 mL en el que se realizó la extracción con el método descrito más adelante (este ensayo se realizó por triplicado).

Tabla 5. Información de las salchichas

Muestra	Presentación	Información etiqueta	
A	Pavo. 500g	0.5g Na ⁺ /50g salchicha	10mg Na ⁺ /g salchicha
B	Cocktail de pavo. 500g	950mg Na ⁺ /100g salchicha	9.5mg Na ⁺ /g salchicha
C	Jumbo. 500g	0.5g Na ⁺ /62g salchicha	8.1mg Na ⁺ /g salchicha
D	Viena. 500g	0.3g Na ⁺ /33g salchicha	9.1mg Na ⁺ /g salchicha
E	Pavo jumbo. 500g	0.6g Na ⁺ /63g salchicha	9.5mg Na ⁺ /g salchicha
F	Hot dog. 500g	0.6g Na ⁺ /63g salchicha	9.5mg Na ⁺ /g salchicha
G	Pavo. 500g	0.6g Na ⁺ /63g salchicha	9.5mg Na ⁺ /g salchicha
H	Botanera de pavo. 500g	1.2g Na ⁺ /100g salchicha	12mg Na ⁺ /g salchicha
I	Frankfurt. 500g	0.9g Na ⁺ /80g salchicha	11.3mg Na ⁺ /g salchicha
J	Viena. 550g	0.7g Na ⁺ /69g salchicha	10.1mg Na ⁺ /g salchicha
K	Cocktail de pavo. 500g	NR	NR
L	Pavo. 454g	1.1g Na ⁺ /100g salchicha	11.1mg Na ⁺ /g salchicha
M	Frankfurt de pavo. 500g	NR	NR
N	Viena. 500g	1160mg Na ⁺ /100g salchicha	10.3mg Na ⁺ /g salchicha
O	Pavo. 500g	970mg Na ⁺ /100g salchicha	9.7mg Na ⁺ /g salchicha
P	Súper jumbo. 800g	1260mg Na ⁺ /100g salchicha	12.6mg Na ⁺ /g salchicha
Q	Viena enlatada. 275g	1.1g Na ⁺ /100g salchicha	11mg Na ⁺ /g salchicha
R	Pavo enlatada. 160g	730mg Na ⁺ /100g salchicha	7.3mg Na ⁺ /g salchicha
S	Reducida en grasa y sodio. 550g	0.5g Na ⁺ /69g salchicha	7.2mg Na ⁺ /g salchicha

NR = No reporta

2.2 Métodos

La figura 9 muestra el diagrama general que representa la metodología empleada en este trabajo, la cual será descrita a continuación.

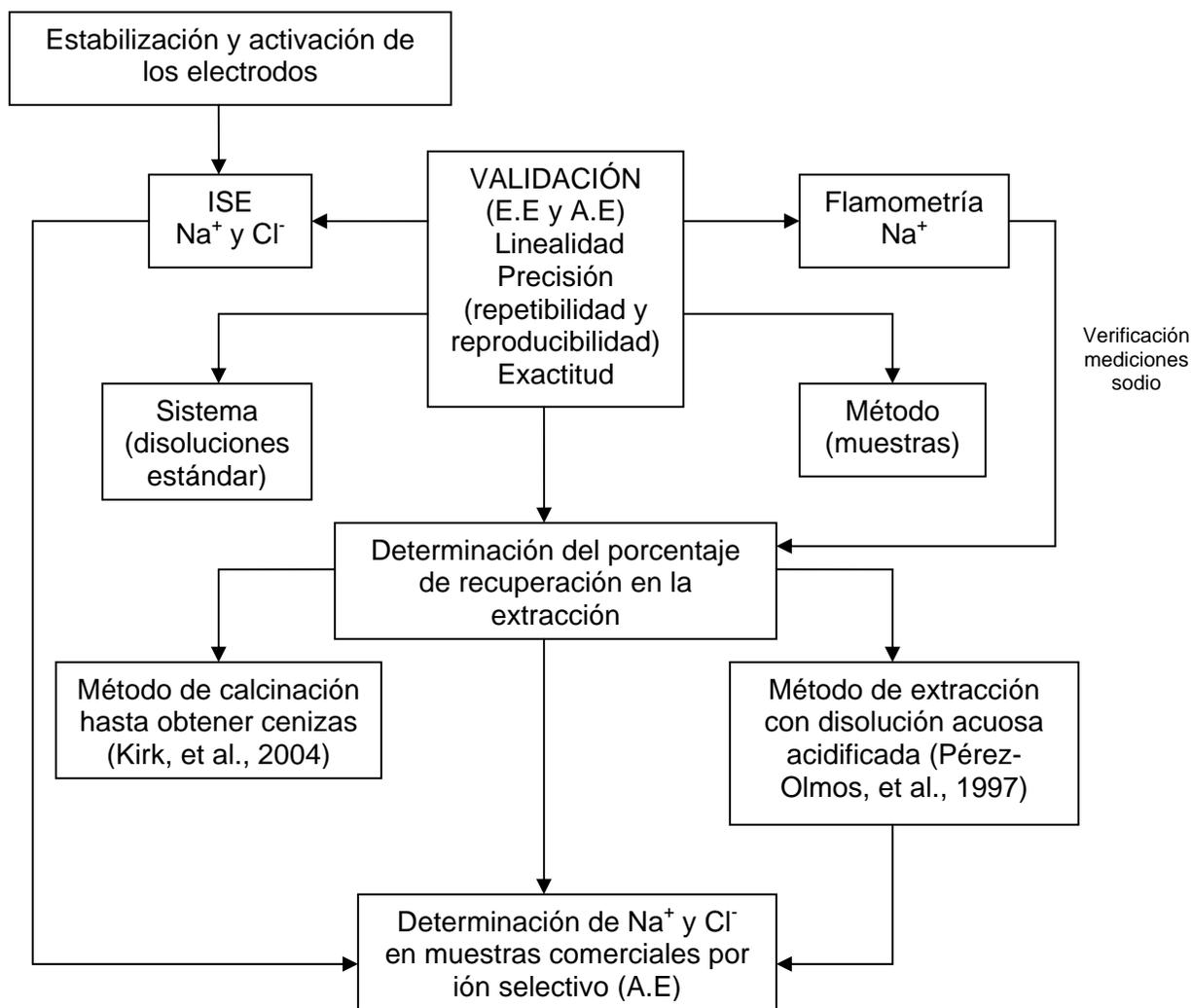


Figura. 9 Diagrama general de la metodología.

E.E = Estándar externo

A.E = Adiciones estándar

2.2.1 Extracción de los iones en las muestras

La extracción del sodio y el cloruro se realizó por un método basado en el trabajo de Pérez-Olmos y colaboradores, (1997) como se describe a continuación.

Se pesó 1.0g de la muestra previamente homogeneizada en un mortero con pistilo y se colocó en un matraz Erlenmeyer de 50mL al que se le agregó 6.5mL de H_2SO_4 $5 \times 10^{-2}\text{M}$ y se calentó a 80°C durante 3 min. Transcurrido ese tiempo, se dejó enfriar y el extracto se transfirió a un matraz volumétrico de 100mL y se aforó con agua desionizada, la disolución obtenida presenta una ligera turbidez con presencia de material graso. Por último, se filtró el extracto con un papel filtro Whatman # 41, eliminando de esta forma el excedente de grasa.

Para poder verificar el rendimiento de extracción con el método anterior, se realizó una extracción absoluta de los iones por calcinación de la muestra. Para esto se pesó 1.0g de la muestra previamente homogeneizada en un crisol y se secó en la estufa a 110°C durante 1hr. Después se calcinó en mechero por aproximadamente 30min o hasta que dejara de salir humo. Finalmente se calcinó la muestra a $500\text{-}550^\circ\text{C}$ durante 3hrs., o hasta la obtención de cenizas blancas o ligeramente grises. Una vez obtenidas las cenizas, se dejaron enfriar y se transfirieron a un matraz volumétrico de 100mL y se aforó con agua desionizada, después se filtró con papel filtro Whatman # 41. (Kirk, et al., 2004).

2.2.2. Estabilización y activación de los electrodos.

Los electrodos se adquirieron completamente ensamblados, se llenaron las cámaras con sus respectivas disoluciones y se estabilizaron al ponerlos en contacto con su disolución de almacenamiento durante 24hrs.

Para el electrodo de cloruro, la disolución de llenado se seleccionó para muestras más concentradas que 10^{-2}M o 355ppm Cl^- , estando compuesta de 17% KNO_3 , <0.1% AgCl , <0.1% $\text{C}_{32}\text{H}_{58}\text{O}_{11}$, 5% KCl , <1% NaCl , <77% H_2O . La disolución de almacenamiento estuvo compuesta por 0.01M de disolución estándar de cloruro.

Para el electrodo de sodio, también se usó la disolución de llenado a altas concentraciones (concentraciones superiores a 10mg L^{-1}) compuesta por NH_4Cl

2M. La disolución de almacenamiento estuvo compuesta con NaCl 5M, NH₄Cl 0.08M y NH₄OH 0.08M.

Para su activación, los electrodos se sumergieron en disoluciones estándar de concentraciones de 10, 100 y 1000mg L⁻¹ para cada ión, con su respectivo 10% de ISA de sodio compuesto por NH₄Cl 4M y NH₄OH 4M. Para cloruro, se adicionaron 0.5mL de ISA, para cualquier concentración, compuesto por NaNO₃ 5M, hasta obtener respuestas lineales y reproducibles. Así como pendientes de 54 a 60mV para el electrodo de sodio y de -54 a-60mV para el electrodo de cloruro.

2.2.3. Validación del sistema ISE

2.2.3.1 Linealidad y precisión por estándar externo

Se realizaron por triplicado curvas de calibración en un intervalo de 10-1000mg L⁻¹ para Na⁺ y Cl⁻ (concentraciones de 10, 30, 50, 70, 100, 250, 500, 750 y 1000 mg L⁻¹) en 3 diferentes días para medir la reproducibilidad en la linealidad usando el método de estándar externo, mientras que para medir la repetibilidad en un día se midió por triplicado la respuesta de cada ión. Se graficó el logaritmo de la concentración contra su respuesta y se calculó el coeficiente de correlación lineal (R). Para evaluar la precisión se calcularon los coeficientes de variación. La precisión en las medidas para cada uno de los iones se determinó por triplicado con una disolución de valor intermedio de la curva, a la cual se le midió su potencial para calcular la concentración por extrapolación en la misma, de esta forma se evaluó la repetibilidad en un mismo día y la reproducibilidad en tres diferentes días

2.2.3.2 Linealidad y precisión por adiciones estándar

Se realizaron por triplicado curvas de calibración para medir repetibilidad en un intervalo de 90-130mg L⁻¹ de Na⁺ y Cl⁻ (concentraciones de 90, 100, 110, 120, 130 mg L⁻¹) en 3 diferentes días usando el método de adiciones patrón para medir la reproducibilidad en la linealidad. Las curvas partieron de la medida de una disolución inicial de 90mg L⁻¹ de Na⁺, la cual simuló el contenido promedio de sodio que se encontraría en un extracto de 100mL de salchicha. Este valor se

dedujo de un monitoreo en el mercado en donde, según las etiquetas de 19 productos comerciales, en promedio contenían 9mg de sodio por 1g de salchicha.

Las adiciones estándar se hicieron con una disolución patrón concentrada de 1000mg L⁻¹ de Na⁺ y Cl⁻. En la figura 10, se ilustra la forma en la que se llevaron a cabo las adiciones y los incrementos en las concentraciones. La disolución inicial de 100mL se dividió en alícuotas de 25mL para efectuar las adiciones. A cada disolución se le agregó ISA 2.5mL para medir Na⁺ y 0.5mL para medir Cl⁻. No se considera en el esquema la dilución para el cálculo de la concentración.

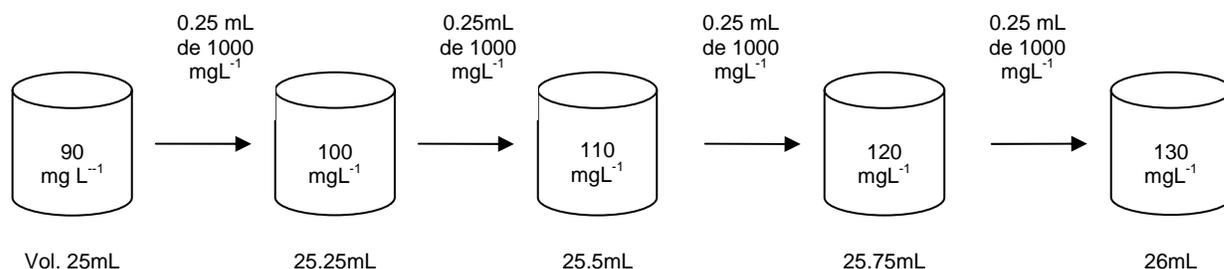


Figura 10. Adiciones patrón a una muestra de 90mg L⁻¹, usando una disolución patrón de 1000mg L⁻¹.

Para evaluar la linealidad se consideró el coeficiente de correlación lineal (R) de la curva de calibración

Para evaluar la precisión en la medición por adiciones estándar se dividió en 4 alícuotas de 25mL la disolución inicial de 100mL con 90mg L⁻¹. Posteriormente, se midió el potencial inicial y el final de cada una de las alícuotas, después de la adición de 0.5mL de una disolución patrón de 1000mg L⁻¹ de Na⁺ o Cl⁻ más sus disoluciones ajustadoras de fuerza iónica (2.5mL para sodio y 0.5mL para cloruro). De esta forma se obtuvieron 2 medidas de potencial que dieron una diferencia que permitió calcular la concentración de la muestra con la siguiente fórmula:

$$C_m = (p / [(1+p) \times 10^{(\Delta E/S)}] - 1) \times C_{std} \dots \dots \dots (1)$$

Donde:

C_m = Concentración de la muestra

C_{std} = Concentración de la disolución estándar

ΔE = Diferencia de potencial

S = Pendiente del electrodo

p = volumen añadido de la disolución estándar/volumen de la muestra

Las pendientes (S) se tomaron de las ecuaciones de la recta de las curvas de calibración obtenidas.

Las mediciones se efectuaron por triplicado durante un mismo día para conocer la repetibilidad y en 3 diferentes días para conocer la reproducibilidad en las concentraciones. La evaluación de la precisión se realizó mediante el coeficiente de variación, el cual se calculó a partir del promedio y la desviación estándar.

2.2.4 Validación del método ISE

2.2.4.1 Precisión por estándar externo

Se realizaron 3 mediciones de cada una de las alícuotas de 25mL de un extracto de salchicha, agregando ISA para cada ión en 3 diferentes días, para medir la reproducibilidad del método, mientras que para medir la repetibilidad, en un día se midió por triplicado la respuesta de cada ión. Las concentraciones se obtuvieron por extrapolación en la curva de la sección 2.2.3.1, y la precisión se evaluó mediante el coeficiente de variación.

2.2.4.2 Linealidad y precisión por adiciones estándar

Se realizaron por triplicado curvas de calibración en un intervalo de 90-130mg L⁻¹ de ambos iones (concentraciones de 90, 100, 110, 120, 130 mg L⁻¹) partiendo de un extracto de 25mL en tres diferentes días usando el método de adiciones estándar para evaluar la reproducibilidad en la linealidad. El extracto contenía aproximadamente 90mg L⁻¹ de sodio. Por lo que las adiciones se hicieron con una disolución patrón de 1000mg L⁻¹ de ambos iones, siguiendo la secuencia representada en la figura 10. Para la evaluación de la linealidad se consideró el coeficiente de correlación (R) de la curva de calibración

Para evaluar la precisión en las mediciones se tomaron 4 alícuotas de 25mL del extracto de salchicha de 100mL para cada ión, agregando su respectivo ajustador de fuerza iónica. Se midió el potencial inicial y el final de cada una de las muestras, después de la adición de 0.5mL de una solución patrón de 1000mg L^{-1} de Na^+ y Cl^- respectivamente. Se obtuvieron 2 medidas de potencial (puntos) que dan una diferencia de potencial y al igual que en el caso de la validación del sistema se utilizó la fórmula (1) que permite conocer la concentración de la muestra. Las mediciones se efectuaron por triplicado durante un mismo día para conocer la repetibilidad y en tres días diferentes para conocer la reproducibilidad. La evaluación de la precisión se realizó mediante el coeficiente de variación, el cual se calculó a partir del promedio y la desviación estándar.

2.2.5 Validación del sistema por flamometría

2.2.5.1 Linealidad y precisión por estándar externo

Para realizar las curvas de calibración por estándar externo se prepararon por triplicado disoluciones estándar de 0, 1, 3, 4, 5, y 6mg L^{-1} de Na^+ para ser leídas por el flamómetro. El equipo se ajustó a 0 de absorbancia con agua desionizada y una vez estable, se ajustó a 100% de absorbancia con la disolución de 6mg L^{-1} de Na^+ . Una vez calibrado el equipo a 0 y 100% de absorbancia, se leyeron las disoluciones de 1, 3, 4 y 5mg L^{-1} . Se ajustó de 0-100% de absorbancia cada vez que se midió una nueva disolución. Finalmente se graficó la absorbancia contra la concentración (mg L^{-1}) de Na^+ , para obtener la ecuación de la recta y el coeficiente de correlación. La precisión en las mediciones de concentración se evaluó mediante los coeficientes de variación en tres diferentes días, la concentración de la disolución prueba fue de 3mg L^{-1} .

2.2.5.2 Linealidad y precisión por adiciones estándar

Se preparó por triplicado una disolución de partida con 2mg L^{-1} de Na^+ y se dividió en 5 alícuotas de 25mL. Después, a cada alícuota se le adicionaron diferentes volúmenes 0mL, 0.25mL, 0.5mL, 0.75mL y 1mL de una disolución

patrón de 100mg L^{-1} de sodio, obteniéndose las concentraciones en las disoluciones que se muestran en el esquema de la figura 11.

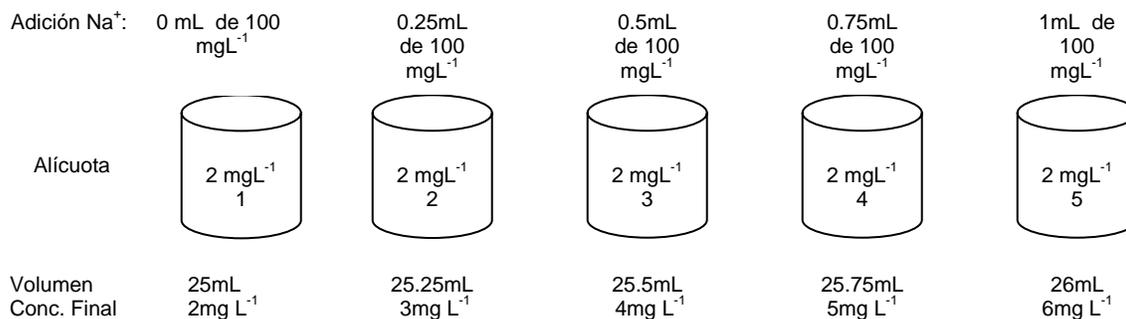


Figura 11. Adiciones patrón a partir de una disolución de 2mg L^{-1} de sodio, con una disolución patrón de 100mg L^{-1} de sodio.

El equipo se ajustó a 0 y 100% de absorbancia, de la misma forma que para estándar externo y una vez medida la absorbancia de las disoluciones, se graficó contra la concentración adicionada de la disolución patrón de 100mg L^{-1} de sodio. La linealidad se evaluó mediante el coeficiente de correlación de la curva y la precisión utilizando el coeficiente de variación. La precisión en las mediciones de concentración se evaluó mediante los coeficientes de variación, en tres días diferentes. La precisión en las mediciones de concentración se evaluó mediante los coeficientes de variación en tres diferentes días, la concentración de la disolución prueba fue de 3mg L^{-1} .

2.2.6 Validación del método por flamometría

2.2.6.1 Precisión por estándar externo

Un extracto de salchicha de 100mL, se diluyó 50 veces, tomando una alícuota de 2mL del extracto y llevándola a 100mL con agua purificada y desionizada, de la cual a su vez, se tomaron tres alícuotas de 25mL. Esto se hizo por triplicado en un mismo día para conocer la repetibilidad en las concentraciones medidas y en tres días diferentes para conocer la reproducibilidad de las mismas.

El equipo se ajustó a 0 de absorbancia con agua desionizada y ya estable, se ajustó a 100% de absorbancia con la solución de 6mg L^{-1} de Na^+ .

Una vez calibrado el equipo a 0 y 100% de absorbancia, se leyeron las absorbancias de las disoluciones de la muestra. Se ajustó de 0 a 100%, cada vez que se midió la absorbancia de cada diferente disolución. Finalmente, se sustituyó el valor de la absorbancia en la ecuación de la recta obtenida de la curva de calibración de la sección 2.2.5.1 y se calculó la concentración (mg L^{-1}) de Na^+ de la muestra. También se calculó el coeficiente de variación.

2.2.6.2 Linealidad por adiciones estándar

A partir de un extracto de la muestra de salchicha, se tomó una alícuota de 3mL, para diluir hasta una concentración cercana a 2mg L^{-1} de sodio en 150mL. Posteriormente, de ahí se tomaron 5 alícuotas de 25mL y a cada alícuota se le adicionaron diferentes volúmenes: 0mL, 0.25mL, 0.5mL, 0.75mL y 1mL de una disolución patrón de 100mg L^{-1} de sodio, dando incrementos en las concentraciones de 1mg L^{-1} conforme aumentó el volumen añadido. (Figura 11).

El equipo se ajustó a 0 y 100% de absorbancia, de la misma forma que para la validación del sistema por el método de flamometría y una vez medida la absorbancia de las disoluciones, se graficó contra la concentración adicionada de la solución patrón de 100mg L^{-1} de sodio. La evaluación de la linealidad se realizó mediante el coeficiente de correlación, y la precisión a partir del coeficiente de variación, el cual se calculó a partir del promedio y la desviación estándar. Esto se realizó en un mismo día para conocer la repetibilidad y en diferentes días para conocer la reproducibilidad. Se obtuvieron las concentraciones en los extractos con el valor absoluto en el eje x a $y=0$ de la curva.

2.2.7 Evaluación de la exactitud del método

Para hacer la evaluación de la exactitud del método, se realizó la comparación de las concentraciones obtenidas de una muestra aplicando dos diferentes métodos de extracción: el que reporta Pérez-Olmos et al. (1997), del cual solamente se modificó la cantidad de muestra, usando 1g de salchicha en vez de 10g y H_2SO_4 $5 \times 10^{-2}\text{M}$ como se describió en sección anterior (la modificación se realizó para hacer más simple y rápido el método) y el segundo consistió en una

extracción absoluta mediante la calcinación de la muestra hasta obtener cenizas (Kirk, et al., 2004).

Se realizaron 5 extracciones con cada método, en los dos casos, los filtrados se analizaron para sodio y cloruro por ISE con adiciones estándar.

El recobro o porcentaje de recuperación se calculó a partir de la relación de los mg obtenidos de la extracción con H_2SO_4 $5 \times 10^{-2}\text{M}$ y los mg de la extracción con cenizas multiplicado por 100.

2.2.7.1 Comparación de ISE y Flamometría

Para hacer la verificación en las medidas de las concentraciones de éste, se determinó por quintuplicado en el extracto de salchicha de pavo usando el método de ISE y el método flamométrico por adiciones estándar.

2.2.8 Determinación de sodio y cloruro en salchichas por ISE con adiciones estándar

Las diferentes muestras de salchicha con sus respectivos lotes fueron sometidas al método de extracción acidificada. Se tomaron por triplicado alícuotas de 25mL de cada extracto de 100mL, a los cuales se les adicionó 2.5mL de ISA para medir Na^+ o 0.5mL de ISA para medir Cl^- . Se midió el potencial inicial de cada uno de los extractos y después se les adicionó 0.25mL de una disolución patrón de 1000mg L^{-1} de Na^+ y Cl^- respectivamente, para incrementar en 10mg L^{-1} su concentración. Se volvió a medir el potencial de cada extracto después de haber hecho la adición.

Finalmente se calculó la concentración de la muestra para sodio y cloruro usando la fórmula (1) que se mencionó para la validación del sistema y del método de ISE. Los valores de las concentraciones de sodio se compararon con los reportados en las etiquetas de los productos.

Capítulo 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Validación de sistema ISE

3.1.1 Linealidad y precisión por estándar externo

La figura 12 muestra la curva de calibración promedio obtenida para medir la linealidad del sistema, así como los valores correspondientes de los parámetros de la ecuación de la recta promedio con sus coeficientes de variación entre paréntesis.

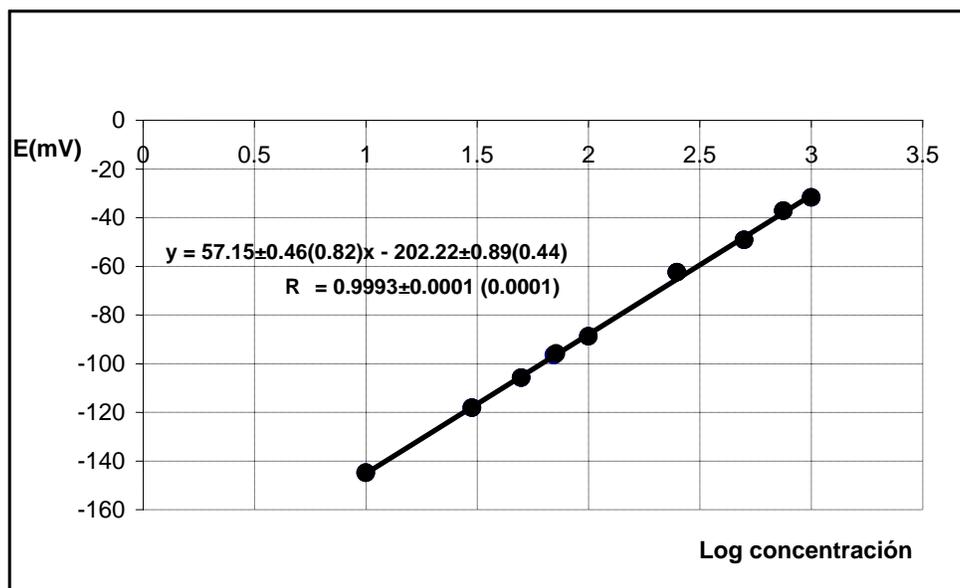


Figura 12. Curva de calibración promedio por estándar externo de sodio ($n=3$, mismo día) (concentración en mg L^{-1}).

El coeficiente de correlación fue de 0.9993, lo que indica una buena linealidad. El valor promedio de la pendiente fue de 57.145mV y su coeficiente de variación fue de 0.82, el cual se considera bajo. En el manual de uso del electrodo de sodio se indica que para que el electrodo funcione de manera adecuada la pendiente se debe encontrar entre 54-60mV. Por lo tanto, la respuesta fue óptima y con este valor fue posible trabajar con muestras con una concentración entre 10-1000 mg L^{-1} de Na^+ , usando el método de estándar externo.

La figura 13 muestra la curva de calibración promedio obtenida por estándar externo en 3 días diferentes junto con los valores de los parámetros de la ecuación de la recta promedio con sus coeficientes de variación entre paréntesis.

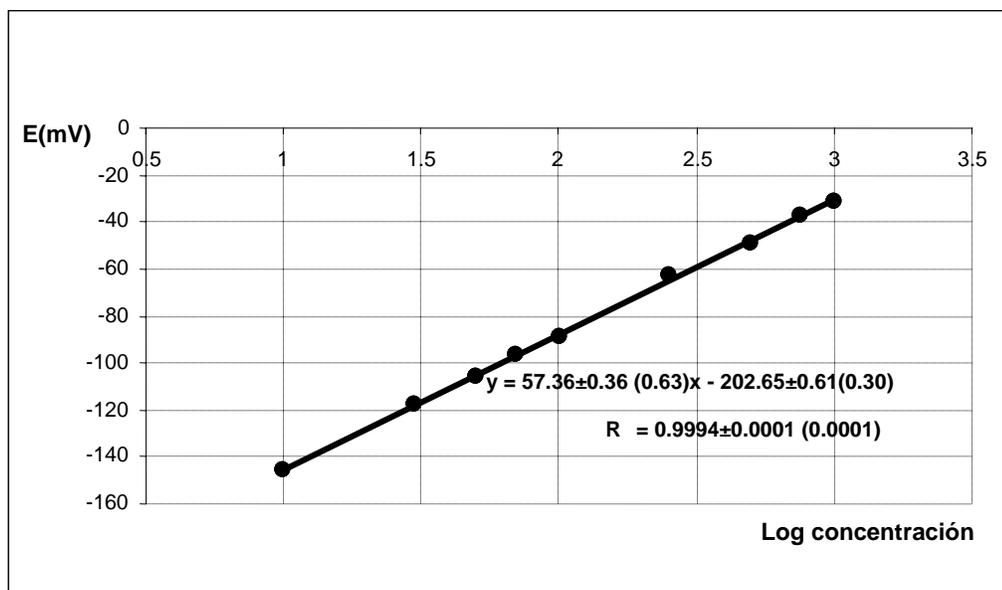


Figura 13. Curva de calibración promedio por estándar externo de sodio (n=3, días diferentes) (Concentración en mg L^{-1}).

En la misma se observa que los coeficientes de variación de los parámetros de la recta son muy bajos indicando buena reproducibilidad. El coeficiente de correlación también nos indicó que hay una buena linealidad, porque presenta un valor de 0.9994 con desviación estándar y coeficiente de variación de 0.0001. Este parámetro se mantuvo constante aún cuando se realizaron los ensayos en diferentes días.

En la tabla 6 se muestran los coeficientes de variación y las concentraciones obtenidas por triplicado el mismo día y en tres días diferentes con las disoluciones que simularon a los extractos de las muestras en cuanto a concentración.

Tabla 6. Precisión en la determinación del ión Na⁺

	REPETIBILIDAD (n=3) (mismo día) (mg L⁻¹)	REPRODUCIBILIDAD (n=3) (3 días diferentes) (mg L⁻¹)
	97.7	97.7
	97.7	98.2
	97.3	96.9
PROMEDIO	97.60	97.63
Desv. Est.	0.23	0.60
%CV	0.23	0.61

Concentración 100 mg L⁻¹

En la tabla 6, también se muestra que en la determinación de sodio en un mismo día o en tres días diferentes, se obtuvieron concentraciones promedio similares y coeficientes de variación bajos, lo que indica entonces que el método es repetible y reproducible.

En la figura 14, se muestra la curva de calibración promedio obtenida para cloruro usando el método de estándar externo (Linealidad).

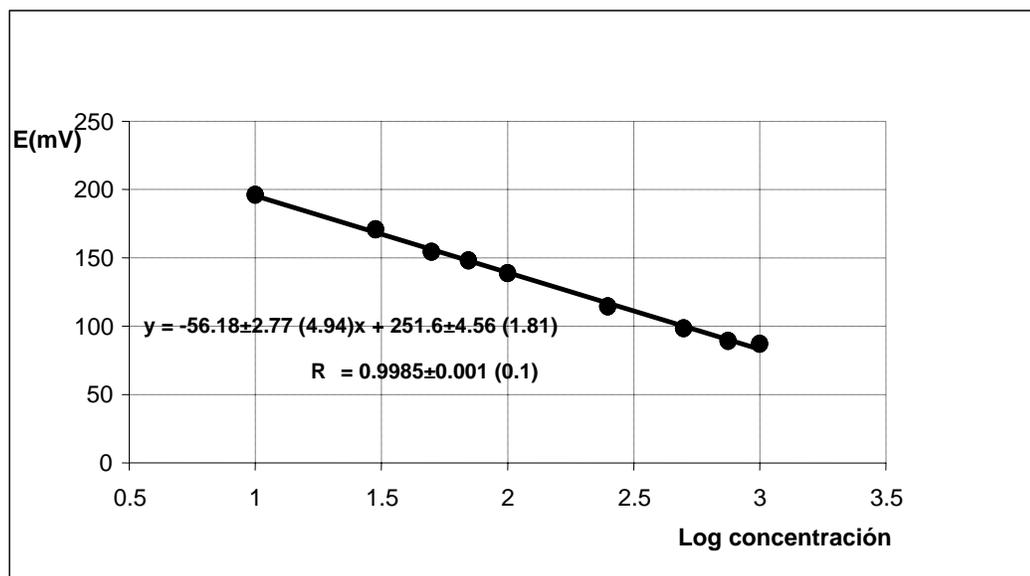


Figura 14. Curva de calibración promedio por estándar externo de cloruro. (n=3, mismo día) (Concentración en mg L⁻¹).

En la figura 14, también se muestran los valores obtenidos de los parámetros de la ecuación de la recta y sus coeficientes de variación entre paréntesis. El valor promedio de la pendiente -56.18 cayó dentro del intervalo que indica el manual y su coeficiente de variación fue bajo. La ordenada al origen también presentó un coeficiente de variación bajo. El coeficiente de correlación obtenido fue de 0.9985 con un coeficiente de variación de 0.1 que es bajo, lo que nos indicó una buena linealidad y repetibilidad de las curvas.

La figura 15 indica los resultados obtenidos de la linealidad al medir el ión cloruro por el método de estándar externo en días diferentes.

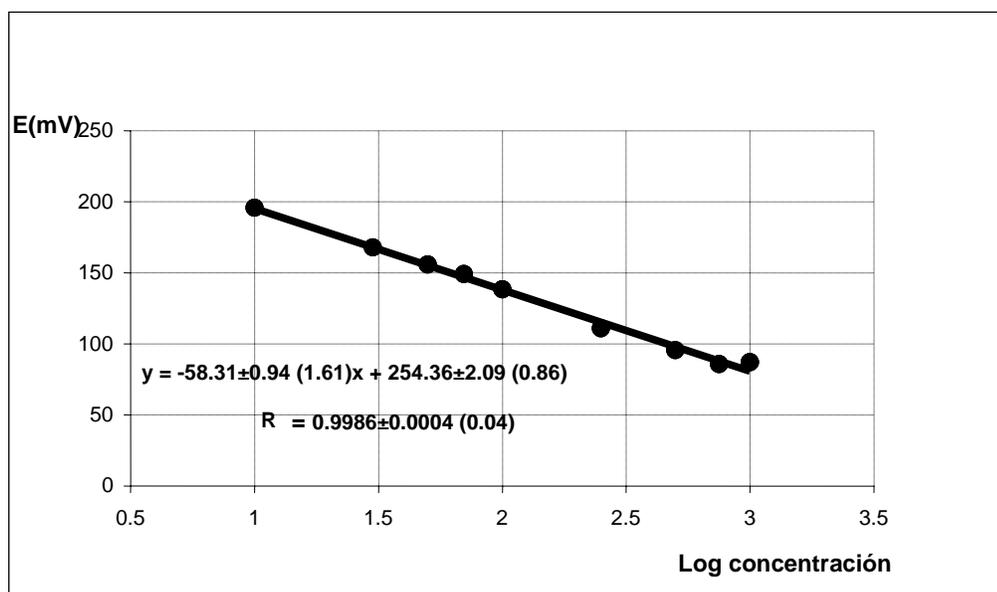


Figura 15. Curva de calibración promedio por estándar externo de cloruro. (n=3, días diferentes) (Concentración en mg L^{-1}).

En la figura 15, también se muestran los valores obtenidos de los parámetros de la ecuación de la recta y sus coeficientes de variación entre paréntesis. Se observa que el valor de la pendiente fue de -58.31mV , lo cual indica que al trabajar en un intervalo de concentración de $10\text{-}1000\text{mg L}^{-1}$ de Cl^- , usando el método de estándar externo, el electrodo respondió correctamente, ya que según el manual del electrodo de cloruros, para que éste funcione correctamente debe encontrarse entre -54 a -60mV . El coeficiente de correlación nos indicó que

hay una buena linealidad y fue idéntico al de la curva de la figura 14, indicando que no se ve afectado por la variación interdías. El coeficiente de variación también fue bajo como el de la ordenada al origen.

En la tabla 7 se muestran los coeficientes de variación y las concentraciones obtenidas por triplicado el mismo día y en tres días diferentes con las disoluciones que simularon a los extractos de las muestras en cuanto a concentración.

Tabla 7. Precisión en la determinación del ión Cl^-

	REPETIBILIDAD (n=3) (mismo día) (mg L⁻¹)	REPRODUCIBILIDAD (n=3) (3 días diferentes) (mg L⁻¹)
	101.7	97.8
	101.3	97.8
	101.3	97.0
PROMEDIO	101.48	97.56
Desv. Est.	0.24	0.44
%CV	0.24	0.46

Concentración 100 mg L⁻¹

En la tabla 7, se muestra además que en la determinación de cloruro en un mismo día o en tres días diferentes, se obtuvieron concentraciones promedio parecidas y coeficientes de variación bajos, lo que indica entonces que el método es repetible y reproducible.

3.1.2 Linealidad y precisión por adiciones estándar

A continuación se presenta la figura 16, que representa la curva de calibración promedio para sodio por el método de adiciones estándar realizada en un mismo día.

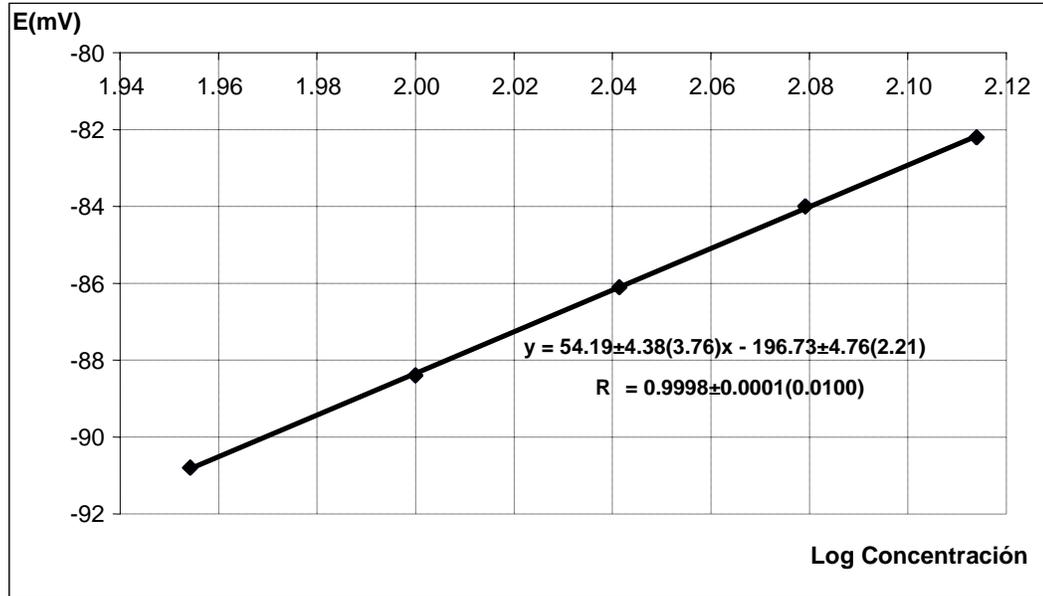


Figura 16. Curva de calibración promedio por adiciones estándar de sodio. (n=3 mismo día) (Concentración en mg L⁻¹).

La figura 16, muestra los valores obtenidos de los parámetros de la ecuación de la recta usando el método de adición patrón en un intervalo de concentración de 90-130mg L⁻¹ de sodio, así como sus coeficientes de variación entre paréntesis. La pendiente se encontró dentro del intervalo que indica el manual y en promedio se obtuvo 54.191mV. El coeficiente de variación fue de 3.76, que es un poco mayor al obtenido por estándar externo, esto se debió a errores en la preparación de las disoluciones de partida. El coeficiente de correlación obtenido fue de 0.9998, lo que nos dice que hay una buena linealidad y el coeficiente de variación obtenido fue bajo.

La figura 17, representa la curva de calibración promedio para sodio por el método de adiciones estándar realizada en 3 días diferentes.

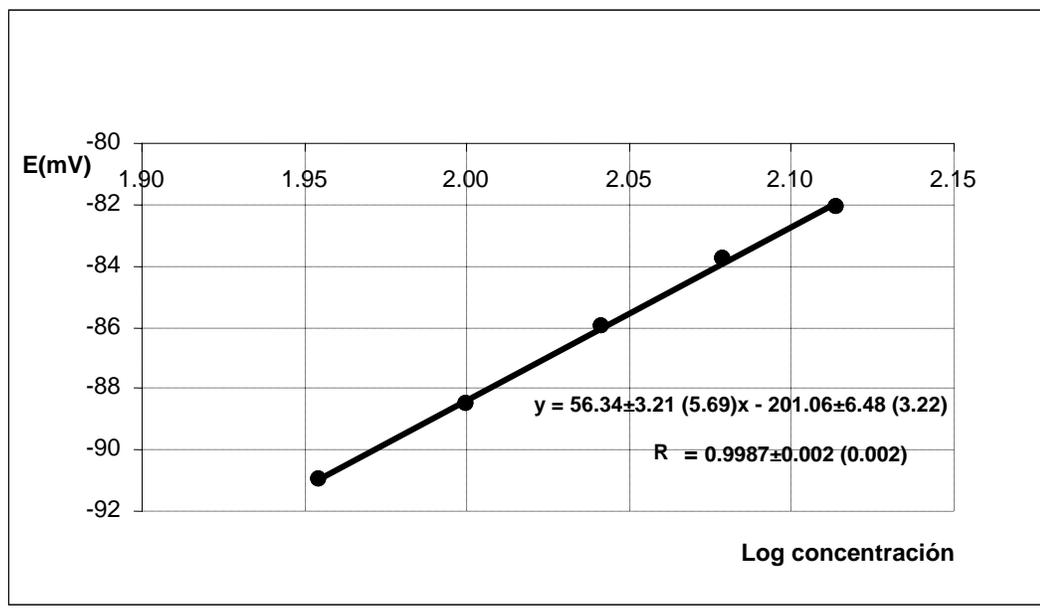


Figura 17. Curva de calibración promedio por adiciones estándar de sodio. (n=3 diferentes días) (Concentración en mg L⁻¹).

La figura 17, muestra los valores obtenidos de los parámetros de la ecuación de la recta, así como sus coeficientes de variación entre paréntesis. La pendiente se encontró dentro del intervalo que indica el manual y en promedio se obtuvo 56.34mV. El coeficiente de variación fue de 5.69, que es un poco mayor al obtenido por estándar externo, seguramente se debió a error en la preparación de las disoluciones de partida, las cuales se prepararon para cada una de las 3 curvas que conformaron la curva promedio. En la ordenada al origen el coeficiente de variación obtenido es también más alto comparado con el que se obtuvo en el método de estándar externo. El coeficiente de correlación obtenido fue de 0.9987, lo que nos dice que hay una buena linealidad y el coeficiente de variación obtenido fue de 0.002 que se considera bajo.

La figura 18, representa la curva de calibración promedio para cloruro por el método de adiciones estándar realizada en un mismo día.

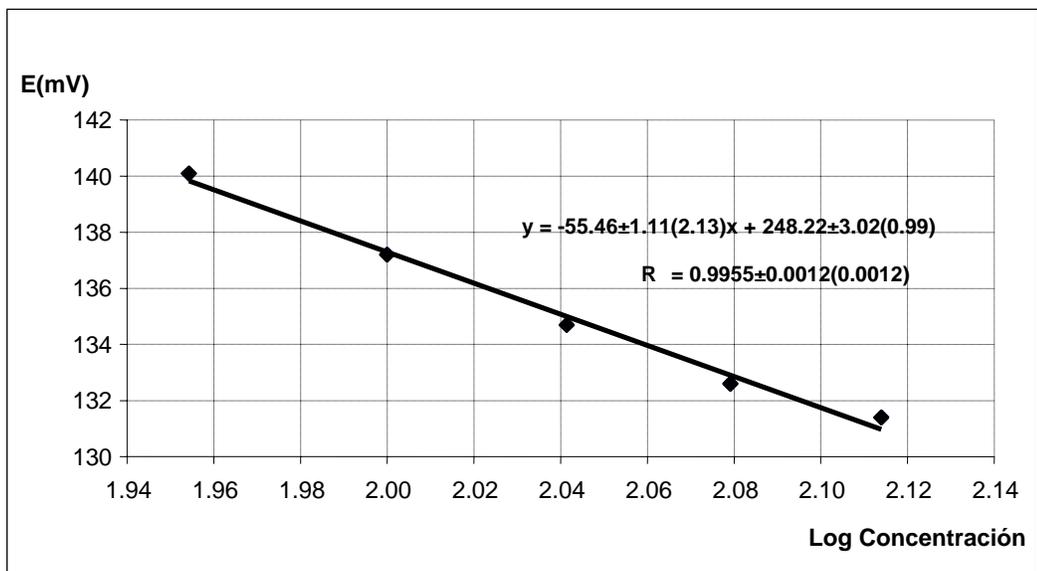


Figura 18. Curva de calibración promedio por adiciones estándar de cloruro. (n=3, mismo día) (Concentración en mg L⁻¹).

En la figura 18, se muestran también los valores de los parámetros de la ecuación de la recta promedio obtenida. La pendiente se encuentra entre el intervalo que indica el manual del electrodo, ya que fue de -55.46mV, con un coeficiente de variación bajo (2.13%), al igual que para la ordenada al origen. El coeficiente de correlación nos indica que hay una buena linealidad en la curva de calibración para Cl⁻ y un coeficiente de variación bajo.

La figura 19 representa la curva de calibración promedio del ión cloruro usando el método de adiciones estándar realizada en días diferentes.

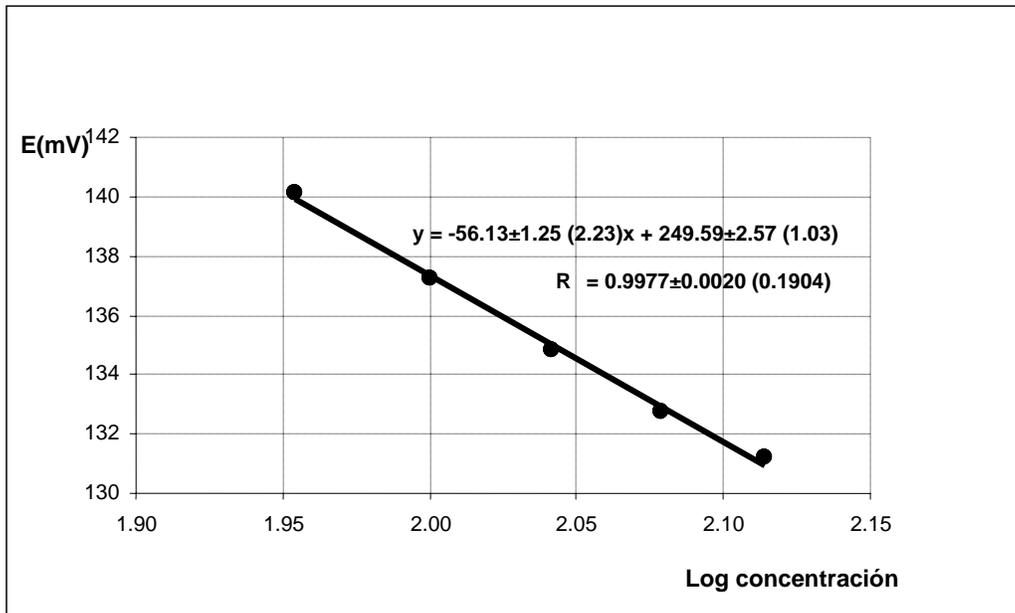


Figura 19. Curva de calibración promedio por adiciones estándar de cloruro. (n=3, días diferentes) (Concentración en mg L^{-1}).

En la figura 19, también se muestran los valores de los parámetros de la ecuación de la recta promedio obtenida. La pendiente se encuentra entre el intervalo que indica el manual del electrodo, ya que fue de -56.13mV , con un coeficiente de variación bajo, al igual que para la ordenada al origen. El coeficiente de correlación nos indicó una buena linealidad en la curva de calibración de Cl^- y el coeficiente de variación se considera bajo.

Se observa que en todos los casos, el coeficiente de variación es un poco mayor que en el método de estándar externo, esto se puede deber a que hay más error en la preparación de las disoluciones de partida con concentración parecida a la que se espera en la muestra.

En la tabla 8 se muestran los coeficientes de variación y las concentraciones obtenidas por cuadruplicado el mismo día y en tres días diferentes con las disoluciones que simulaban a los extractos de las muestras en cuanto a concentración.

Tabla 8. Precisión en la determinación del ión Na⁺

	REPETIBILIDAD (n=4) (mismo día) (mg L⁻¹)	REPRODUCIBILIDAD (n=3) (3 días diferentes) (mg L⁻¹)
	97.02	96.52
	97.02	97.50
	92.77	93.07
	99.28	-----
PROMEDIO	96.52	95.69
Desv. Est.	2.35	2.33
%CV	2.43	2.43

Concentración 90 mg L⁻¹.

En la tabla 8, también se muestra que en la determinación de sodio en un mismo día o en tres días diferentes, se obtuvieron concentraciones promedio parecidas y coeficientes de variación iguales que además se consideran bajos, lo que indica entonces que el método es repetible y reproducible.

La tabla 9 muestra los resultados obtenidos durante 3 días diferentes para determinar cloruro. Durante cada día se efectuaron 4 réplicas.

Tabla 9. Precisión en la determinación del ión Cl⁻

	REPETIBILIDAD (n=4) (mismo día) (mg L⁻¹)	REPRODUCIBILIDAD (n=3) (3 días diferentes) (mg L⁻¹)
	86.14	86.62
	88.06	94.10
	86.14	84.86
	86.14	-----
PROMEDIO	86.62	88.53
Desv. Est.	0.96	4.91
%CV	1.11	5.54

Concentración 90mg L⁻¹.

En la determinación de cloruro, la tabla 9 nos muestra que las concentraciones determinadas para la repetibilidad y la reproducibilidad son similares también. Sin embargo, se puede observar que el coeficiente de variación

es mayor en el caso de la determinación en tres días diferentes que en el mismo día, aunque se considera aceptable.

En los tres días, la variabilidad puede deberse a los errores que se pudieron haber tenido debido a que las disoluciones iniciales en cada caso se hicieron a partir de una disolución estándar de 1000 mg L^{-1} de Cl^- , para obtener una de 90 mg L^{-1} de Cl^- , y toda dilución conlleva un error. Sin embargo, las concentraciones obtenidas fueron muy parecidas a la que se preparó para la disolución inicial.

3.2 Validación del método ISE

3.2.1 Precisión por estándar externo

La tabla 10 indica la repetibilidad en la determinación de sodio y cloruro por el método de estándar externo. Se determinaron los iones en extractos de salchicha por extrapolación en la curva de calibración.

Tabla 10. Repetibilidad en la determinación de los iones Na^+ y Cl^- en salchicha de pavo.

	Na^+ (mg/g salchicha)	Cl^- (mg/g salchicha)
	10.5	14.3
	10.5	14.1
	10.5	14.9
PROMEDIO	10.5	14.4
Desv. Est.	0.0	0.4
%CV	0.0	2.8

Se observa que para sodio, la concentración promedio fue de 10.5 mg/g salchicha con un coeficiente de variación de cero, mientras que para cloruro, fue de 14.4 mg/g salchicha con un coeficiente de variación de 2.8 que es bajo, aunque mayor que el que se obtuvo en la determinación de sodio, esto se pudo deber a errores cometidos .

A continuación, la tabla 11 indica los resultados obtenidos en la determinación de sodio y cloruro en un extracto de salchicha de pavo, realizada en diferentes días.

Tabla 11. Reproducibilidad en la determinación de los iones Na⁺ y Cl⁻ en salchicha de pavo por estándar externo.

DÍA	Na⁺ (mg/g salchicha)	Cl⁻ (mg/g salchicha)
1	10.1	13.1
2	10.3	14.3
3	10.1	13.9
PROMEDIO	10.2	13.8
Desv. Est.	0.1	0.6
%CV	1.2	4.6

La concentración de sodio encontrada en promedio fue de 10.2mg/g salchicha y estuvo conforme a la etiqueta del producto que reporta 10mg/g salchicha. El coeficiente de variación para Na⁺ fue de 1.2, que se considera bajo. La concentración promedio encontrada para cloruro fue de 13.8mg/g salchicha, este valor es mayor del que se reporta en la etiqueta para Na⁺. Por esta razón, se supone que el Na⁺ y Cl⁻ encontrados en el producto provienen de NaCl en su mayor parte, ya que la equivalencia en moles corresponde a una relación cercana a 1:1. El coeficiente de variación fue de 4.6, para cloruro, más alto comparado con el de la determinación de sodio, aunque aceptable.

3.2.2 Linealidad y precisión por adiciones estándar

La curva de calibración promedio que se obtuvo con extractos reales por el método de adiciones estándar para sodio se presenta en la figura 20.

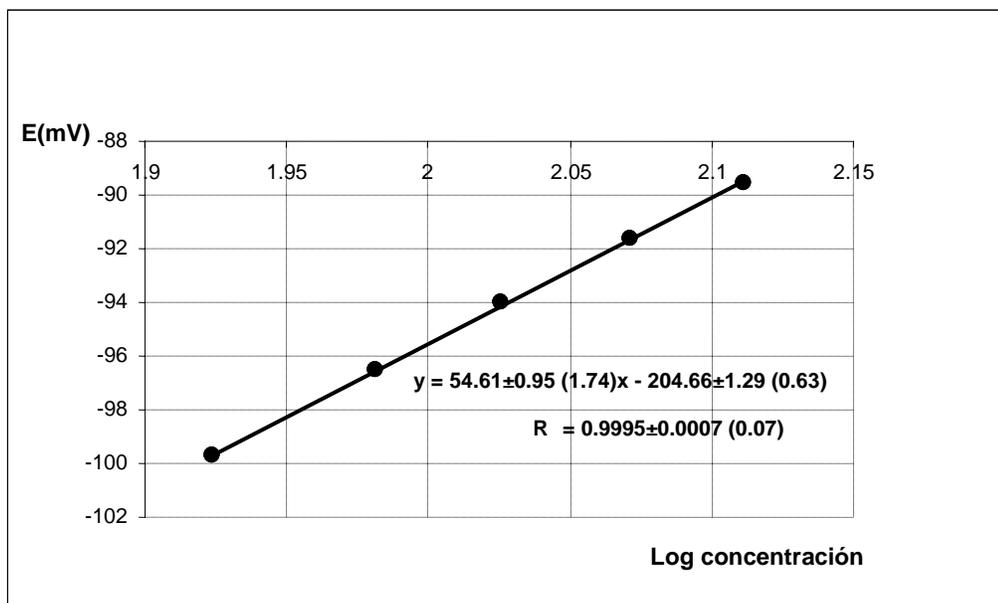


Figura 20. Curva de calibración promedio por adiciones estándar para la determinación de sodio en extractos de salchicha de pavo (n=3, días diferentes) (Concentración en mg L^{-1}).

La figura 20, también muestra los valores de los parámetros de la ecuación de la recta con sus intervalos de confianza y sus coeficientes de variación entre paréntesis. Se observa que el valor de la pendiente que se obtuvo está dentro del intervalo que marca el manual para que el electrodo trabaje correctamente, y con un coeficiente de variación de 1.74 que se considera bajo.

El valor de la ordenada al origen de la ecuación de la recta también presentó un coeficiente de variación bajo. El coeficiente de correlación obtenido que fue de 0.9995 nos indica que hay una excelente linealidad y coeficiente de variación, aún cuando se trabajó con un extracto real que podría contener interferencias.

En la figura 21 se presenta la curva de calibración promedio por el método de adiciones estándar con extractos reales para cloruro.

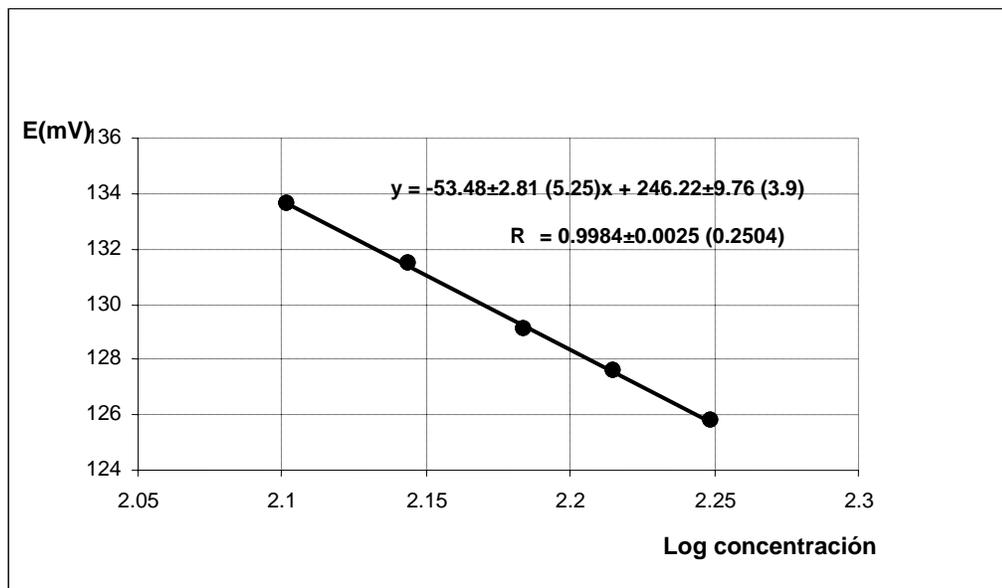


Figura 21. Curva de calibración promedio por adiciones estándar para la determinación de cloruro en un extracto de salchicha de pavo. (n=3, días diferentes) (Concentración en mg L^{-1}).

La figura 21, indica también los valores de los parámetros de la ecuación de la recta que se obtuvieron en la determinación de cloruro en la salchicha de pavo. En este caso, el valor de la pendiente resultó estar ligeramente por debajo del intervalo establecido en el manual, aunque con un coeficiente de variación aceptable, al igual que el de la ordenada al origen. El coeficiente de correlación nos indicó que hay una buena linealidad con un coeficiente de variación bajo.

La tabla 12 muestra los resultados obtenidos en la determinación de sodio en un extracto realizado en un mismo día y en tres días diferentes.

Tabla 12. Precisión en la determinación del ión Na⁺ por adiciones estándar.

	REPETIBILIDAD (n=4) (mismo día) (mg/g salchicha)	REPRODUCIBILIDAD (n=3) (3 días diferentes) (mg/g salchicha)
	9.3	8.8
	8.9	9.5
	8.5	9.3
	8.5	-----
PROMEDIO	8.8	9.2
Desv. Est.	0.4	0.4
%CV	4.0	4.2

Concentración 9mg/g salchicha

En la tabla se observa que las concentraciones determinadas tuvieron una precisión del 4% por adiciones estándar.

La tabla 13, muestra los resultados obtenidos en la determinación de cloruro en un extracto de salchicha de pavo.

Tabla 13. Precisión en la determinación del ión Cl⁻

	REPETIBILIDAD (n=4) (mismo día) (mg/g salchicha)	REPRODUCIBILIDAD (n=3) (3 días diferentes) (mg/g salchicha)
	8.6	8.8
	8.9	9.3
	8.8	9.6
	8.8	-----
PROMEDIO	8.8	9.2
Desv. Est.	0.1	0.4
%CV	1.4	4.0

Concentración 9mg/g salchicha

En la tabla 13 también se muestra que las concentraciones promedio obtenidas el mismo día y en diferentes días fueron muy parecidas, pero en el caso de la reproducibilidad el coeficiente de variación fue mayor que para el caso de la

repetibilidad, aunque con muy poca diferencia. Esta diferencia puede deberse principalmente a errores en el aforo de los extractos en días diferentes.

De los resultados hasta aquí obtenidos se demostró que el método de adiciones estándar es mejor al eliminar los fuertes efectos de matriz que presenta la muestra, y por lo tanto proporciona una determinación más fiable. Con las concentraciones obtenidas en la tabla 13 para el mismo producto, se deduce que no todo el Na^+ proviene del cloruro de sodio, porque se observan cantidades similares de sodio y cloruro; es decir, la relación molar no es 1:1. Esto puede deberse a que existen otras sales sódicas que se adicionaron a las salchichas como son eritorbato de sodio, fosfato de sodio, glutamato de sodio, lactato de sodio, diacetato de sodio, nitrito y nitrato de sodio. Una discusión más amplia de este hecho se realizará más adelante al comparar las concentraciones obtenidas para todos los productos en estudio.

En la tabla 14, se observa que la reproducibilidad en la determinación de sodio y cloruro por adiciones estándar en un extracto de una misma salchicha de pavo fueron idénticas.

Tabla 14. Reproducibilidad en la determinación de los iones Na^+ y Cl^- en salchicha de pavo por el método de adiciones estándar.

DÍA	Na^+ (mg/g salchicha)	Cl^- (mg/g salchicha)
1	8.6	10.2
2	8.7	10
3	8.7	10
PROMEDIO	8.7	10.1
Desv. Est.	0.1	0.1
%CV	1.1	1.1

La concentración que se obtuvo de sodio fue de 8.7 mg/g salchicha tuvo un coeficiente de variación muy bueno y menor si se compara con el método de estándar externo. Para el caso de la determinación de cloruro, se obtuvo una concentración de 10.1 mg/g salchicha con coeficiente de variación de 1.1,

comparándolo con el resultado obtenido por el método de estándar externo, este también es menor.

3.3 Validación del sistema por flamometría

3.3.1 Linealidad y precisión por estándar externo

La figura 22 presenta la curva de calibración promedio obtenida para sodio por flamometría usando el método de estándar externo en mediciones hechas en 3 días diferentes.

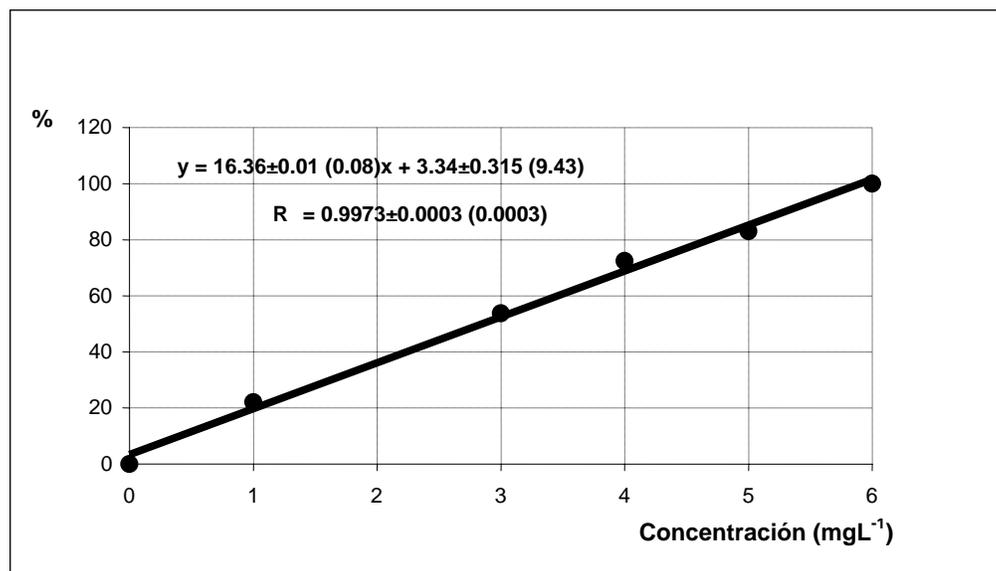


Figura 22. Curva de calibración promedio para sodio por flamometría con estándar externo (n=3, días diferentes).

En la gráfica de la figura 22, se muestran los parámetros de la curva de calibración de Na⁺ por el método de Flamometría, con su intervalo de confianza y su coeficiente de variación entre paréntesis. El coeficiente de correlación lineal fue muy bueno, así como los coeficientes de variación para la pendiente y el coeficiente de correlación. Sin embargo es de notar que el coeficiente de variación de la ordenada al origen fue algo elevado. Esta variación que se tiene en la ordenada se puede deber principalmente a la preparación de las disoluciones, como el aforo, y porque las muestras se diluyeron a muy baja concentración, pudiéndose cometer errores al medir los volúmenes.

La tabla 15 muestra los resultados obtenidos en la determinación de sodio usando el método de flamometría por estándar externo en 3 días diferentes.

Tabla 15. Precisión en la determinación del ión Na⁺

REPRODUCIBILIDAD (n=3) (3 días diferentes) (mg L⁻¹)	
	3.4
	3.3
	3.1
PROMEDIO	3.3
Desv. Est.	0.15
%CV	4.5

Concentración 3mg L⁻¹

La tabla 15, también muestra que en la determinación de sodio en tres días diferentes, se obtuvo una concentración promedio similar a la concentración de prueba, con un coeficiente de variación de 4.5, que es bajo, e indica entonces que el método es reproducible.

3.3.2 Linealidad y precisión por adiciones estándar

Para conocer la linealidad por flamometría usando adiciones estándar a continuación se presenta la curva de calibración promedio (Fig. 23) obtenida para determinar sodio en días diferentes.

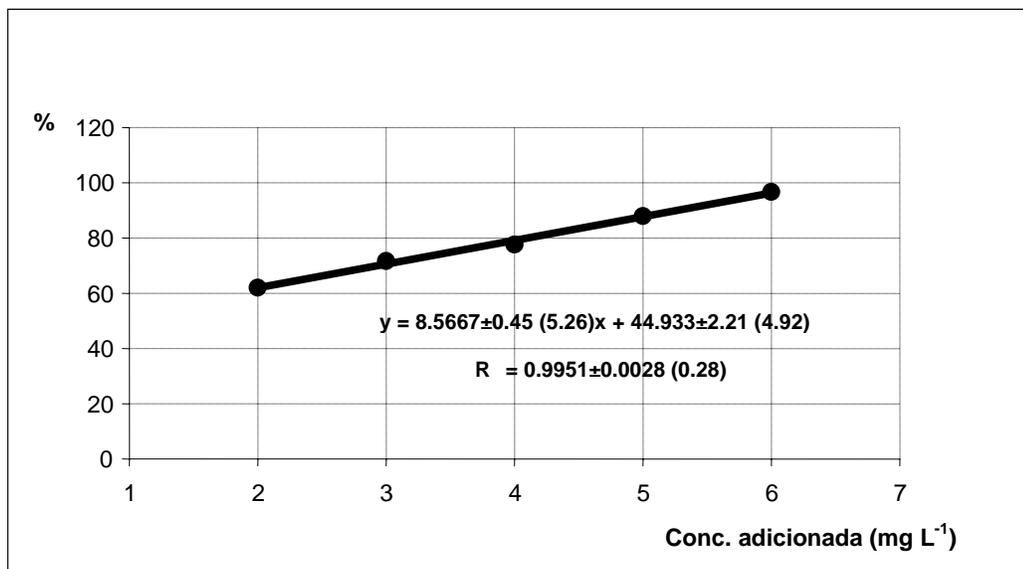


Figura 23. Curva de calibración promedio para sodio por flamometría con adiciones estándar (n=3, días diferentes).

En la figura 23, se muestran los valores promedio de los parámetros de la ecuación de la recta de las curvas de calibración en un intervalo de 2-6mg L⁻¹ de Na⁺ usando el método de adiciones estándar. Se observa que la linealidad fue buena, como indica el valor de r, al igual que los coeficientes de variación para la pendiente y la ordenada al origen. Se observa que por adiciones estándar la ordenada al origen presenta menos variabilidad que por el método de estándar externo. Por esta razón, se utilizó el método de adición estándar para la determinación de sodio en las muestras destinadas a la evaluación de la exactitud con el porcentaje de recuperación. Las medidas de sodio realizadas con ISE fueron corroboradas por las realizadas por flamometría en ese estudio.

La tabla 16 muestra los resultados que se obtuvieron en 3 días diferentes para determinar sodio usando el método de flamometría por adiciones estándar.

Tabla 16. Precisión en la determinación del ión Na⁺

REPRODUCIBILIDAD (n=3) (3 días diferentes) (mg L⁻¹)	
	3.4
	3.1
	3.2
PROMEDIO	3.2
Desv. Est.	0.15
%CV	4.6

Concentración 3mg L⁻¹

En la determinación de sodio, la tabla 16 muestra también que la concentración determinada es similar a la concentración que se probó, con un coeficiente de variación de 4.6 que es similar al que se obtuvo por el método de estándar externo. Esto nos indica que el método de flamometría por adiciones estándar también es reproducible.

3.4 Validación del método por flamometría

3.4.1 Precisión por estándar externo

La tabla 17 muestra la precisión en la determinación de sodio usando el método de flamometría por estándar externo.

Tabla 17. Precisión en la determinación del ión Na⁺

	REPETIBILIDAD (n=3) (mismo día) (mg/g salchicha)	REPRODUCIBILIDAD (n=3) (3 días diferentes) (mg/g salchicha)
	13.0	13.4
	13.5	13.6
	13.5	14.2
PROMEDIO	13.4	13.7
Desv. Est.	0.3	0.4
%CV	2.2	3.0

En la tabla 17, también se muestra que las concentraciones promedio en el estudio de repetibilidad y de reproducibilidad son parecidas, así como sus coeficientes de variación que se consideran bajos.

Si se comparan los resultados obtenidos para la determinación de sodio por ISE (tabla 11) y Flamometría (tabla 17) para un mismo producto mediante el método de estándar externo, se observan resultados diferentes. Para el primer caso, se obtuvo en promedio $10.2 \pm 0.1 \text{ mg Na}^+/\text{g}$ salchicha, mientras que en el caso de Flamometría se obtuvo $13.7 \pm 0.4 \text{ mg Na}^+/\text{g}$ salchicha. Estas diferencias pueden deberse tal vez a que en el extracto de la salchicha se encuentran interferentes a la determinación que afectan más a un método que al otro. Al parecer, estos interferentes afectan más en el método flamométrico, ya que la concentración que proporciona es mayor que en ISE. Lo anterior corrobora una vez más que es más fiable utilizar el método de adiciones estándar como se verá en la siguiente sección.

3.4.2 Linealidad y precisión por adiciones estándar

En la figura 24 se representa la curva de calibración promedio obtenida en la determinación de sodio en la salchicha de pavo usando el método de adiciones estándar por flamometría en días diferentes.

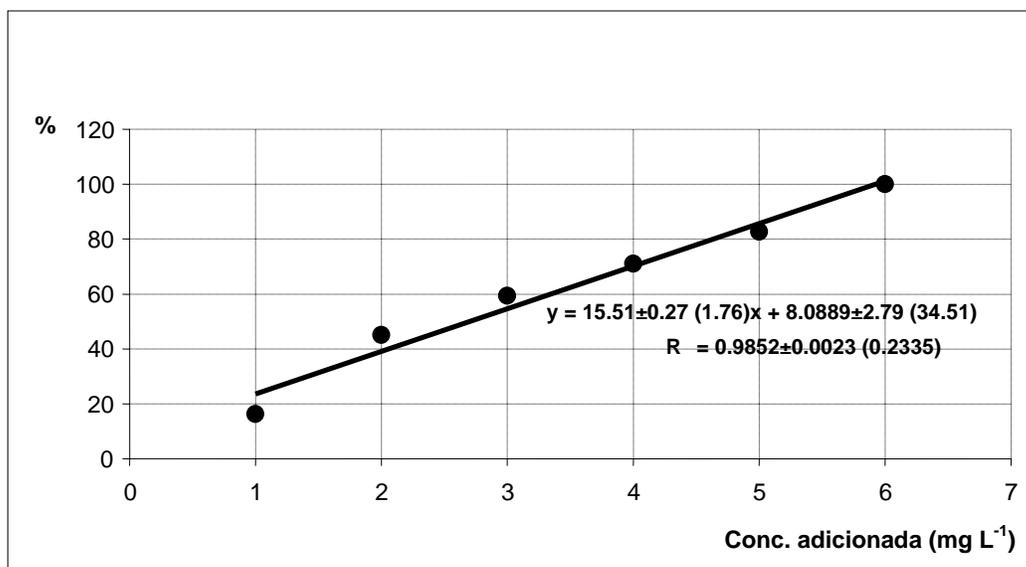


Figura 24. Curva de calibración promedio por flamometría con adiciones estándar para sodio en extractos de salchicha de pavo (n=3, días diferentes).

La figura 24 muestra los valores de los parámetros de la ecuación promedio de la recta y sus coeficientes de variación entre paréntesis. Se observa que el valor promedio de la pendiente muestra un coeficiente de variación de 1.76 que se considera bajo. La variación relativamente elevada de la ordenada al origen que se obtuvo en la determinación de sodio usando este método pudo deberse a errores en la preparación de las disoluciones. Es de notarse mayor variabilidad en flamometría que en ISE, así como un coeficiente de correlación lineal menor.

La tabla 18 muestra los resultados de la repetibilidad y la reproducibilidad en la determinación de sodio por flamometría y adiciones estándar.

Tabla 18. Precisión en la determinación del ión Na⁺

	REPETIBILIDAD (n=3) (mismo día) (mg/g salchicha)	REPRODUCIBILIDAD (n=3) (3 días diferentes) (mg/g salchicha)
	9.9	9.7
	9.8	8.0
	9.5	8.9
PROMEDIO	9.7	8.8
Desv. Est.	0.2	0.8
%CV	2.15	9.1

La tabla 18 muestra también que la concentración promedio en la determinación de sodio fue mayor en el estudio de la repetibilidad, aunque el coeficiente de variación fue menor. En el caso de la reproducibilidad, el coeficiente de variación fue mayor que en ISE aunque aceptable (ver tabla 12), dado que se trata de una muestra compleja.

Estos resultados nos indican que el método de ISE comparándolo con el de Flamometría da coeficientes de variación bajos, lo que conlleva a resultados más confiables.

En el caso de Flamometría se observa que las concentraciones obtenidas para un mismo producto usando el método de adiciones estándar fueron muy similares a las que se obtuvieron con el método de ISE. El resultado obtenido usando Flamometría fue de 8.8 ± 0.8 mg Na⁺/g salchicha, mientras que para el método de ISE se obtuvo una concentración de 8.7 ± 0.1 mg Na⁺/g salchicha. Por lo tanto, en el estudio de la evaluación de la exactitud que a continuación se describirá se utilizó el método de adiciones estándar con ambas técnicas para contrarrestar el efecto de matriz.

3.5 Evaluación de la exactitud del método

La tabla 19 presenta las concentraciones determinadas por ISE y los dos diferentes métodos usados para extraer sodio en la salchicha de pavo. También se presentan los recobros calculados en cada una de las 5 muestras analizadas, así como su valor promedio. Las concentraciones determinadas en extractos provenientes de la calcinación se consideraron como el 100% de sodio presente en la muestra.

Tabla 19. Determinación de sodio en salchicha de pavo con ISE y dos métodos de extracción.

	Extracción con cenizas	Extracción con H₂SO₄ 5x10⁻²M	% Recobro
MUESTRA	mg/gsalchicha	mg/gsalchicha	mg extracción con H₂SO₄ 5x10⁻²M/mg extracción con cenizas
1	10.1	8.7	86.13
2	10.1	8.6	85.14
3	9.5	8.7	91.57
4	9.5	9.1	95.78
5	10.1	8.9	88.11
PROMEDIO	9.86	8.8	89.30
Desv. Est.	0.3	0.2	4.4
%CV	3.3	2.3	4.8

Estos resultados nos indican que con una disolución de ácido sulfúrico el sodio se extrae en un promedio de 89.3% comparándolo con la extracción que se hace del mismo con cenizas, que es un método absoluto. Los coeficientes de variación que se obtuvieron usando los dos tipos de extracción fueron aceptables, siendo un poco mayor en la extracción por calcinación, posiblemente debido a errores al disolver las cenizas o en la preparación de las disoluciones. Estos resultados demuestran que el método de extracción con ácido presenta un recobro cuantitativo y reproducible, por lo que es recomendable para la determinación de los iones en las salchichas. Este método es mucho más rápido, simple y seguro que el de la calcinación.

En la tabla 20 se muestran los resultados obtenidos en la evaluación de la exactitud del método para el ión cloruro.

Tabla 20. Determinación de cloruro en salchicha de pavo con ISE y dos métodos de extracción

	Extracción con cenizas	Extracción con H₂SO₄ 5x10⁻²M	% Recobro
MUESTRA	mg/g salchicha	mg/g salchicha	mg extracción con H₂SO₄ 5x10⁻²M/mg extracción con cenizas
1	10.9	9.2	84.40
2	10.2	8.9	87.25
3	10.1	9.1	90.10
4	9.9	9.2	92.93
5	9.9	9.1	91.92
PROMEDIO	10.2	9.1	89.22
Desv. Est.	0.4	0.1	3.5
%CV	4	1.3	3.9

El porcentaje de recobro promedio obtenido nos indica que el método de extracción con ácido sulfúrico 5X10⁻²M, extrae el cloruro en un 89.22% comparado con la extracción con cenizas, que como ya se mencionó lo extrae al 100% al ser un método absoluto. El coeficiente de variación también es aceptable.

En conclusión el método reportado por Pérez-Olmos, et al 1997 es un método de extracción preciso y cuantitativo, para su aplicación en las salchichas. La utilización de un tamaño pequeño de muestra que se adaptó en el presente trabajo permitió también utilizar menor cantidad de reactivo, disolvente y tiempo de trabajo.

3.6 Comparación de ISE y flamometría

En la tabla 21 se comparan los resultados obtenidos en la determinación de sodio por los métodos de ISE y Flamometría en una muestra de salchicha de pavo utilizando en ambos adiciones estándar y como método de extracción el Pérez-Olmos modificado.

Tabla 21. Determinación de sodio en salchicha de pavo por 2 técnicas de análisis.

	ISE	FLAMOMETRÍA
MUESTRA	mg/g salchicha	mg/g salchicha
1	8.7	8.9
2	8.6	8.9
3	8.7	9.8
4	9.1	8.0
5	8.9	8.9
PROMEDIO	8.8	8.9
Desv. Est.	0.2	0.6
%CV	2.3	6.9

Las concentraciones presentadas indican, que el método de Flamometría y el método ISE con la extracción con ácido sulfúrico $5 \times 10^{-2} \text{M}$ arrojan valores muy similares. Por lo tanto, se corroboran las determinaciones ISE con otro método analítico. Sin embargo, la diferencia a destacar es que el método de Flamometría proporciona coeficientes de variación más altos, lo que deriva en resultados menos confiables que con el método ISE, el cual además se realiza de manera más simple y rápida. De todas maneras, el hecho de que de la misma muestra se obtengan concentraciones iguales por medio de dos métodos de determinación,

verifican que las mediciones ISE que se efectuaron a los productos comerciales seleccionados son confiables y exactas si se aplican los factores de corrección (o recuperación) antes determinados para Na⁺ y Cl⁻, los cuales son de 89% para ambos casos.

3.7 Determinación de sodio y cloruro en salchichas por ISE con adiciones estándar

En la tabla 22 se presentan las concentraciones promedio de 19 diferentes marcas de salchichas con sus respectivos coeficientes de variación. De cada producto, se analizaron tres lotes diferentes. Los valores que aparecen en negritas corresponden a la concentración promedio obtenida de los tres lotes con su respectivo coeficiente de variación. La columna “etiqueta” indica las concentraciones reportadas para sodio por los fabricantes. En el caso de Cl⁻, el fabricante no reporta concentración. Los valores incluidos en la tabla están corregidos por el factor de recuperación.

Tabla 22. Contenido de sodio y cloruro en diferentes marcas de salchichas

	Na ⁺ (mg/g salchicha)		Cl ⁻ (mg/g salchicha)
Muestra	ISE (%CV)	Etiqueta	ISE (%CV)
A	9.9 (2.5)	10	10.4 (5.9)
	9.8 (1.9)		10.1 (0.5)
	10.1 (0.9)		10.6 (2.2)
	9.9 (1.3)		10.4 (2.0)
B	10.7 (0.8)	9.5	11.4 (4.5)
	10.6 (2.8)		12.1 (0.4)
	9.8 (2.8)		12.3 (4.1)
	10.4 (3.9)		11.9 (3.2)

Muestra	ISE (%CV)	Etiqueta	ISE (%CV)
C	7.6 (0.7) 8.2 (2.2) 8.3 (2.9) 8.0 (3.8)	8.06	10.6 (0.5) 11.6 (2.4) 11.5 (2.1) 11.2 (4.0)
D	9.1 (1.7) 8.7 (0.6) 9.5 (0.6) 9.1 (3.6)	9.09	10.1 (1.4) 9.0 (4.1) 9.7 (5.2) 9.6 (4.7)
E	9.0 (2.1) 9.1 (1.2) 8.5 (1.6) 8.9 (3.0)	9.52	10.6 (0.5) 11.0 (3.6) 10.5 (0.1) 10.7 (2.0)
F	7.4 (1.8) 7.5 (3.9) 7.8 (2.7) 7.6 (2.2)	9.52	10.2 (1.0) 10.9 (8.3) 9.5 (3.3) 10.2 (5.6)
G	10.6 (1.0) 11.7 (2.9) 11.8 (1.6) 11.4 (4.8)	9.5	10.4 (0.5) 11.0 (1.9) 11.4 (2.0) 11.0 (3.8)
H	8.7 (0.6) 9.1 (1.7) 9.0 (1.7) 8.9 (1.9)	12	10.4 (3.0) 9.4 (0.1) 9.7 (2.9) 9.8 (4.3)
I	8.8 (1.0) 8.5 (1.1) 8.4 (1.6) 8.6 (2.0)	11.25	8.5 (1.3) 9.3 (8.4) 8.8 (0.6) 8.9 (3.7)

Muestra	ISE (%CV)	Etiqueta	ISE (%CV)
J	7.9 (2.7) 8.4 (1.1) 8.3 (2.2) 8.2 (2.6)	10.14	9.5 (2.4) 9.1 (3.8) 9.7 (0.1) 9.4 (2.6)
K	9.9 (0.5) 8.2 (1.3) 10.2 (1.5) 9.4 (9.3)	NR	11.1 (5.7) 10.8 (0.5) 11.9 (1.5) 11.3 (4.1)
L	11.0 (1.3) 10.1 (2.9) 10.3 (1.7) 10.5 (3.7)	11.11	11.4 (3.2) 12.0 (4.6) 11.8 (3.6) 11.7 (2.1)
M	8.2 (1.7) 8.4 (0.6) 8.1 (4.6) 8.2 (1.5)	NR	10.2 (1.6) 10.1 (2.6) 9.7 (0.9) 10.0 (2.2)
N	10.0 (3.6) 8.1 (6.9) 9.2 (4.1) 9.1 (8.6)	10.3	10.9 (5.5) 11.7 (5.1) 11.3 (0.8) 11.3 (2.9)
O	8.0 (1.2) 7.2(1.9) 6.8 (0.7) 7.3(6.8)	9.7	9.3 (6.5) 9.9 (2.5) 9.2 (0.6) 9.5 (3.3)
P	9.5 (3.7) 8.4 (1.6) 8.3 (2.5) 8.7 (6.2)	12.6	13.1 (1.7) 10.7 (1.3) 11.3 (4.2) 11.7 (8.7)

Muestra	ISE (%CV)	Etiqueta	ISE (%CV)
Q	6.4 (3.8)	11	8.2 (7.9)
	6.8 (5.9)		8.5 (6.7)
	6.7 (4.7)		9.8 (3.5)
	6.6 (2.6)		8.8 (7.9)
R	6.4 (3.6)	7.3	8.1 (2.3)
	5.8 (0.9)		9.0 (4.7)
	5.8 (4.6)		8.9 (2.2)
	6.0 (4.7)		8.7 (4.6)
S	6.3 (0.8)	7.2	7.5 (5.7)
	6.5 (0.8)		7.9 (1.7)
	7.3 (0.7)		8.4 (6.9)
	6.7 (7.2)		7.9 (4.6)

NR= No Reporta

Las muestras identificadas como A, B, E, G, H, K, L, M, O y R son salchichas elaboradas con carne de pavo dentro de las cuales, la B, H y K son tipo cocktail, la E (jumbo), la M (Frankfurt) y la R (enlatada). Dentro de estas muestras, la mayoría contienen igual o menor cantidad de sodio del que reporta la etiqueta, excepto la muestra G en donde la diferencia en el contenido promedio de sodio determinado experimentalmente con respecto al que se reporta en la etiqueta fue de casi 2mg /g salchicha mayor. La muestra B presentó una concentración de sodio ligeramente mayor a la reportada.

Las muestras D, J, N y Q son tipo Viena, en estas muestras el contenido de sodio determinado por ISE es menor o igual al que se reporta en la etiqueta de cada producto, cabe destacar que en el caso de la muestra Q que es de presentación en lata, el contenido de sodio obtenido es aproximadamente menor en 4 unidades, esto quizá se debe a que esta muestra viene con una disolución salina dentro de la lata y para hacer el análisis se determinó sólo el contenido de

sodio en la salchicha y no en la solución. En este caso, el consumidor desecha esa solución antes de ingerir el producto.

En la muestra C (jumbo) el contenido de sodio determinado en esta salchicha es prácticamente el mismo que reporta la etiqueta en el producto.

En las muestras F (hot dog) e I (Frankfurt) el contenido de sodio determinado experimentalmente es casi 2 unidades menor que el que se reporta en la etiqueta. Mientras que para la muestra P (súper jumbo) el contenido determinado de sodio es casi 4 unidades menor que el que el fabricante reporta en la etiqueta del producto.

Como era de esperarse en la muestra S (tipo Viena reducida en grasa y sodio) experimentalmente se determinó una cantidad de sodio menor que en el resto de las muestras que se denominan Viena; el contenido de sodio que reporta la etiqueta del producto y el que se obtuvo de manera experimental son muy cercanas. Sin embargo, el coeficiente de variación obtenido de los tres diferentes lotes fue de 7.2%, mayor al de casi todas las demás (excepto K y N) lo cual indica que el fabricante puede no estar teniendo un control muy estricto en la adición de sodio a su producto.

En el caso del contenido de cloruro, en ninguna de las muestras se reporta su contenido en las etiquetas, por lo que no se tiene una referencia para comparar. Aunque de manera experimental se tiene que en la mayoría de las muestras el contenido del ión cloruro es mayor que el contenido del ión sodio, esto puede explicarse debido a que en 1 mol de NaCl hay 23g de Na⁺ y 35.5g de Cl⁻. Se puede suponer entonces que la mayoría del cloruro determinado proviene del NaCl, aunque sigue existiendo más sodio por la adición de aditivos, lo que se demuestra en la figura 25 con la comparación del contenido promedio de sodio y cloruro expresado en mmoles/g salchicha, ya que el contenido molar de sodio en las diferentes muestras de salchichas es siempre mayor que el contenido de cloruro.

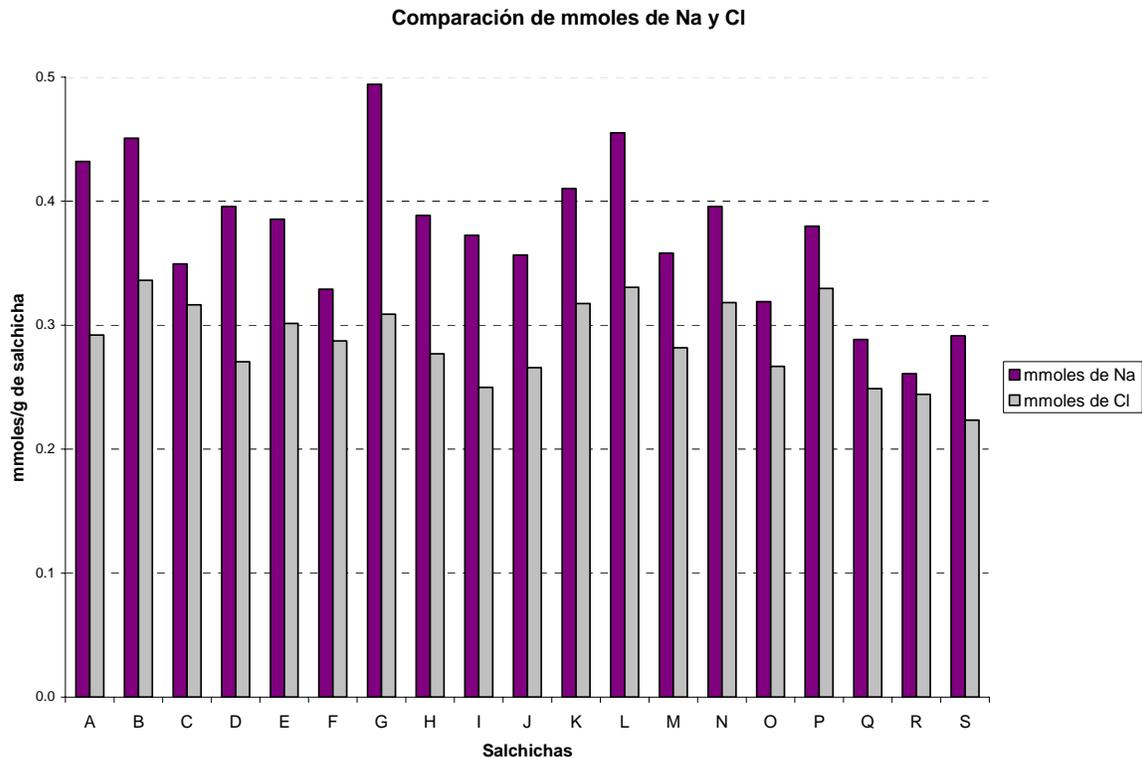


Figura 25. Comparación del contenido de sodio y cloruro promedio de los 3 lotes expresado en mmoles/g salchicha (mmol/g).

Entonces, el cloruro determinado proviene únicamente del cloruro de sodio y el sodio, además de provenir del NaCl, está presente debido a que en las salchichas existen otras sales sódicas que se adicionaron como parte del proceso de elaboración, entre las que se encuentran: eritorbato de sodio, fosfato de sodio, glutamato de sodio, lactato de sodio, diacetato de sodio, nitrito y nitrato de sodio, algunas de ellas conservadores.

En la misma figura 25 se puede notar que la muestra R es la que más se acerca a la relación molar cloruro/sodio 1:1. Esto podría explicarse porque a este producto se les debió agregar una menor cantidad de aditivos, ya que se trata de un producto enlatado, lo que favorece la conservación. También se observa que la muestra S (baja en grasa y reducida en sodio) es muy parecida en sodio a la muestra Q (tipo Viena enlatada) que no se reporta como baja en sodio, esto puede explicarse debido a que el enlatado por si mismo es una forma de conservación, y por lo tanto no se necesita adicionar más conservadores al producto. En la

literatura se menciona que la relación entre salmuera y salchicha debe ser 1:1, y que la salmuera que se adiciona a la lata debe ser de baja concentración o solamente agua. Por lo tanto, para que las salchichas incorporen en lo posible poca agua antes del tratamiento por calor, los envases se deben cerrar y esterilizar inmediatamente después de adicionar la salmuera (Wirth, 1998).

Al relacionar el consumo de sodio proveniente de las salchichas con las cantidades de ingesta admisible de sodio, se puede tomar como ejemplo la muestra A, en la que se determinó un contenido promedio de 9.9 mg/g salchicha y que una de estas salchichas pesa aproximadamente 50g. Entonces, considerando que en una salchicha de 495 mg, se tiene aproximadamente 0.5g de sodio total entonces, si se considera que en la literatura se reporta que se debe ingerir de 0.1g a 0.2g de sodio para cumplir con las funciones biológicas del organismo relacionadas con este ión, o hasta 3.3g sin que se presente alguna alteración (Valle y Lucas, 2000), entonces si un adulto sano ingiere solamente 2 y 6 salchichas en un día, consumiría la dosis recomendada. Lo anterior se calcula sin tomar en cuenta que todo lo demás que se ingiera en la dieta es muy probable que contenga sodio y por lo tanto se sobrepase rápidamente la ingesta de sodio recomendada. La OMS recomienda que lo ideal es ingerir <2g y como máximo se pueden ingerir hasta 5g de sodio, obviamente si se trata de un adulto sano, ya que para los niños, los ancianos, las mujeres embarazadas y especialmente quienes padecen enfermedades como hipertensión, retención de líquidos o problemas cardiovasculares, deben de consumir estrictamente lo mínimo.

En la figura 26 se representa una comparación del contenido de sodio determinado por ISE y el que se reporta en la etiqueta del producto. De esta manera se pueden observar mejor que en la tabla 20 cuales son los productos que cumplen adecuadamente con su control de calidad.

Comparación del contenido de Na⁺ en salchichas con la información de la etiqueta

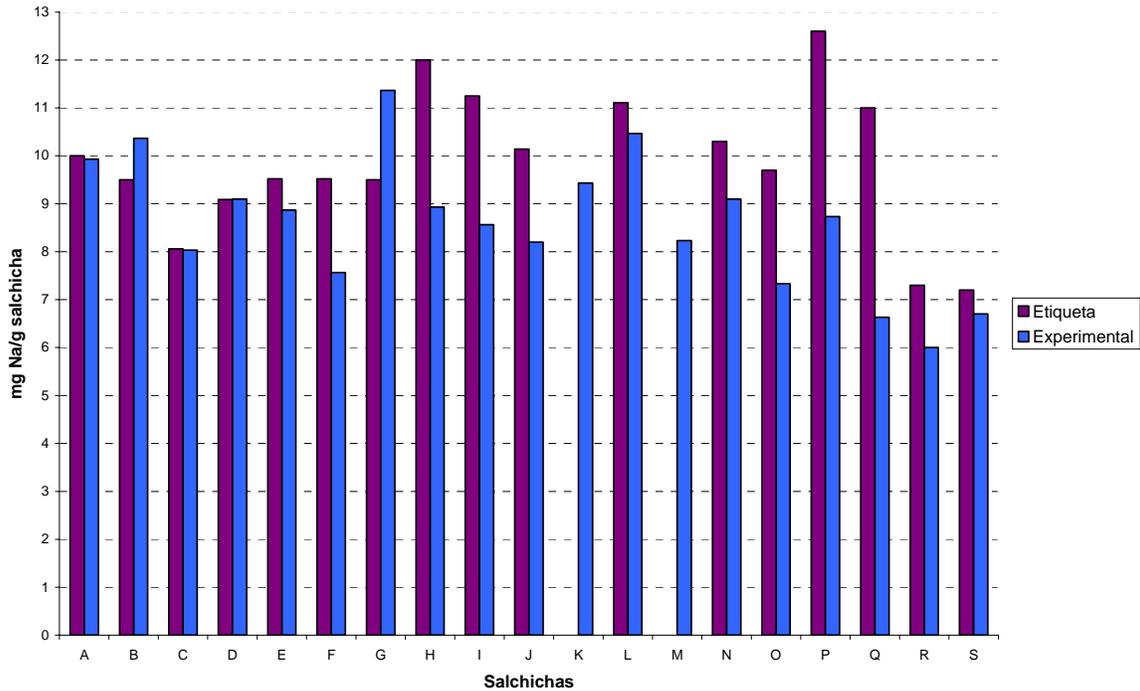


Figura 26. Comparación del contenido promedio de sodio en las muestras de salchichas con el de su información nutrimental (mg/g).

En dicha figura, se puede observar que sólo las muestras identificadas como A, C y D coinciden con lo reportado en la etiqueta. También se observa que en las muestras B y G el contenido de sodio obtenido de manera experimental es mayor que el que reporta el fabricante en la etiqueta del producto. En el resto de las muestras, el contenido reportado por el fabricante en la etiqueta es mayor que el determinado de manera experimental, aunque de manera más notable en las identificadas como H, I, J, O, P, Q. Para el caso de las muestras K y M no se reportó tabla nutrimental en su etiqueta, aunque como se puede observar los contenidos de sodio para cada caso, están dentro de los intervalos de las otras muestras en las que si se reporta el contenido de sodio.

Para el caso del contenido de cloruro, no se presenta este histograma debido a que en la etiqueta no se reporta, pues como ya se mencionó es el ión

sodio el que debe de ser controlado por el consumidor en su ingesta, ya que puede causar daños en la salud.

En la figura 27 se representa una comparación del contenido de sodio obtenido por ISE con adiciones estándar para los 3 lotes de cada una de las diferentes marcas de salchichas. De esta manera se puede apreciar mejor la variabilidad que presentan los fabricantes en cuanto a la elaboración del producto.

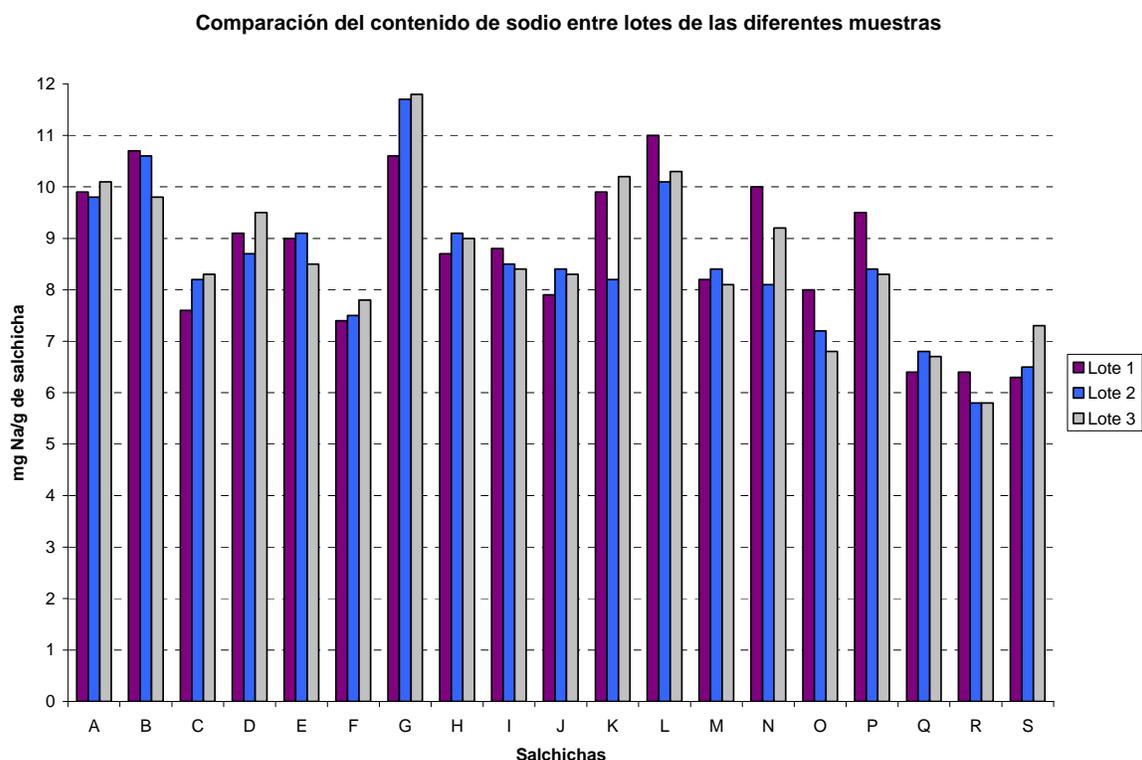


Figura 27. Comparación entre el contenido de sodio obtenido experimentalmente de 3 lotes para cada marca de salchichas (mg/g).

En la figura 27, se observa que la variabilidad en el contenido de sodio entre los lotes de los diferentes productos no es muy grande, excepto para los casos de la muestras identificadas por las letras K, N, O, P y S, las cuales tienen coeficientes de variación mayores de 6.2% lo cual indica que el fabricante, en la preparación de las salchichas puede tener variaciones al momento de la adición de las diferentes sales.

La figura 28 representa una comparación entre el contenido de cloruro obtenido de manera experimental en cada uno de los tres lotes que se analizaron para cada producto.

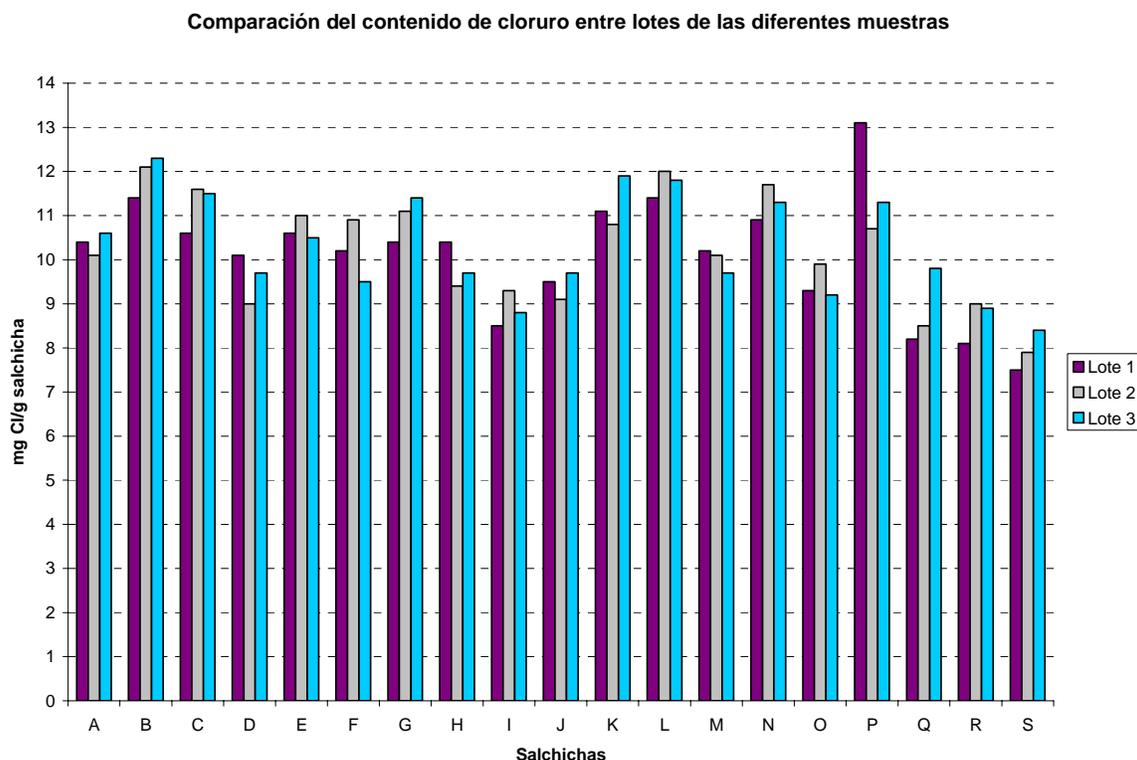


Figura 28. Comparación entre el contenido de cloruro obtenido experimentalmente de 3 lotes para cada marca de salchichas (mg/g).

En la figura 28, se puede observar que el contenido de cloruro entre los lotes de las diferentes muestras de salchichas es muy similar, excepto para las muestras P y Q las cuales tienen coeficientes de variación mayores a 7.9%

Los nombres de los productos analizados no se mencionan en el presente trabajo aunque se puede mencionar que las salchichas que se seleccionaron tienen mucha popularidad en el mercado mexicano y son altamente consumidas. De manera general se puede decir que en la mayoría de ellas no se sobrepasa el contenido de sodio reportado en las etiquetas presentando concentraciones más bajas de sodio en el alimento que el reportado. Lo anterior demuestra que se asegura en la elaboración que no se agreguen cantidades mayores a lo indicado en la información nutrimental, aunque se observó que fueron pocos los productos

(sólo 2, C salchicha tamaño jumbo y D salchicha Viena) que si cumplieron estrictamente con un buen control de calidad. Contrariamente, 2 productos no cumplieron (B salchicha cocktail de pavo y G salchicha de pavo) y es precisamente con este tipo de productos con los que debe tener cuidado el consumidor cuya dieta esta controlada.

Por otra parte, esta evaluación en los alimentos puede efectuarse gracias a la metodología ISE combinada con un método de extracción rápido y sencillo. La fiabilidad de los resultados se demostró en la validación de los métodos, con los que se ahorro mucho tiempo de análisis ya que la medición selectiva se realizó para los dos iones en un mismo extracto, el cual se subdividió en alícuotas destinadas a la determinación de sodio y cloruro por separado.

Capítulo 4. CONCLUSIONES

- El método ISE mostró tener una respuesta lineal en un amplio intervalo de concentración, además de ser reproducible. Dentro de las ventajas que se pueden mencionar, es la pequeña cantidad de muestra, la cual requiere de una mínima preparación, menor tiempo en la determinación, ya que el equipo es de fácil operación y las medidas no se ven afectadas por la turbidez o color que puedan presentar las muestras. Si se compara con el método flamométrico, ISE da coeficientes de variación más bajos, lo que significa que es un método más confiable.
- Dentro de las ventajas que se pueden mencionar del método ISE con respecto a los métodos oficiales como el método de Volhard y el método de Mohr, los cuales se enfocan en la determinación de cloruro, es que para el análisis ISE, la extracción de los iones no tiene que hacerse por calcinación. Los iones en disolución se pueden medir de manera rápida en un mismo extracto tanto sodio como cloruro (si se cuenta con los dos electrodos), además sin usar reactivos caros como los de plata. Con respecto a los métodos por absorción y emisión atómica, ISE presenta la ventaja de no requerir instrumental sofisticado.
- El método de extracción que se implementó resultó simple comparado con el método de extracción absoluto (calcinación), que dio rendimientos de 89% para sodio y cloruro; para los dos casos el rendimiento se considera cuantitativo. Este método de extracción se tomó de Pérez-Olmos, et al 1997, en donde se redujo la cantidad de muestra de 10g a 1g, lo cual lo hace mucho más simple y con menos uso de reactivos. Además de que se puede utilizar para cualquier tipo de embutido, no sólo salchichas.
- La metodología de determinación optimizada y validada permitió realizar la evaluación del contenido de NaCl en las salchichas más consumidas en el

mercado mexicano encontrándose que en su mayoría no se sobrepasa el contenido reportado en las etiquetas y que es por lo general más bajo el sodio presente en el alimento con respecto al reportado. Solamente en dos casos el contenido de sodio resultó ser superior al reportado. El contenido de sodio total en las salchichas analizadas está dentro de un intervalo de 6-11.4mg/g salchicha y de cloruro en el intervalo entre 7.9-11.9mg/g salchicha.

- Se propone la aplicación de la metodología ISE en el análisis de salchichas y en general de embutidos para el control de calidad de sodio y cloruro, dado las ventajas que presenta.

BIBLIOGRAFÍA

- Averill, Warren F. (1983) **“Ion selective electrode system measures sodium content of foods”**. Journal of Food Technology. 44: 46-52,56.
- Ayranci, E., Balci, Ö. (1992) **“Determination of chloride and nitrate in butter, margarine, cheese and meat products using ion selective electrodes”**. Nahrung/Food . 37(4) 395-398.
- Ayres, Gilbert. (1970) **“Análisis Químico Cuantitativo”**. Editorial HARLA. México. 188-191
- Badui, S. (2006) **“Química de los alimentos”**. 4ª edición. Editorial Pearson Educación. México. 452-453.
- Castillo, R.J. (2000) **“Laboratorio de Análisis Instrumental”** México.
- Chapman, B.R., Goldsmith, I.R. (1982). **“Determination of chloride, sodium and potassium in salted foodstuffs using ion selective electrodes and the dry sample addition method”**. Journal of Analyst. 107, 1014-1018.
- Florence, E. (1986) **“Determination of sodium in salted foods using an ion-selective electrode”**. Journal of Analyst. 111(5), 571-573.
- Fulton, B.A., Meloan, C.E., Wichman, M.D., Fry, R.D. (1984) **“Ion selective electrode method to determine sodium directly in processed meat products”**. Journal of Analytical Chemistry. 56(14), 2919-2920.
- García, M.A., Soberón, E., Cortés, M., Rodríguez, R., Herrera, J.L., Alcántara, A. (2002) **“Guía de validación de Métodos Analíticos”**. Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos. México. 21-29.
- Girard, J.P. (1991) **“Tecnología de la carne y de los productos cárnicos”**. Edit. Acribia. Zaragoza, España. 126-127.
- Godé, L. (1996) **“Los electrodos selectivos en el análisis de aguas”**. GPE, Barcelona, España.

- González, M. A., Aller, A. J., Pardo, R., Barrado, E. Deban, L. (1990) **“Fluoride and chloride determination in cheese with ion- selective electrodes”**. Facultad de Ciencias. Universidad de Valladolid. España.
- Harris, D. (1999) **“Análisis Químico Cuantitativo”**. Editorial Reverté, Segunda edición. Barcelona, España. 330-331, 367, 368
- Harvey, D. (2002) **“Química Analítica Moderna”**. Editorial McGraw Hill. Madrid, España. 332 – 334.
- Hui, Y.H. (2006) **“Ciencia y tecnología de carnes”**. Edit. Limusa. México. 465-468, 523-524.
- Kindstedt, P.S., Mattick, L.R., Kosikowski, F.V. (1983) **“Measure of sodium chloride in cheese by a simple sodium ion electrode”**. Journal of Dairy Science. 66, 988-993.
- Kirk, R.S., Sawyer R., Egan H. (2004) **“Composición y Análisis de Alimentos de Pearson”**. Novena Edición. Editorial CECSA. México. 16-17, 38-40, 82-84.
- Lloyd, L.E., McDonald B.E y Crampton E.W. (1982) **“Fundamentos de Nutrición”**. Edit. Acribia. Zaragoza, España.
- Pérez-Olmos, R., Echeverría, J. (1989) **“Comparative Study of ion-selective electrodes versus flame emission photometry techniques for the determination of sodium and potassium in Spanish wines”**. Journal of Food Chemistry. 32, 201-207.
- Pérez-Olmos, R., Herrero, R., Lima, J.L.F.C. y Montenegro, M.C.B.S.M. (1997) **“Sequential potentiometric determination of chloride and nitrate in meat products”**. Food Chemistry. 59(2), 305 – 311.
- Price, J.F (1994) **“Ciencia de la carne y los productos cárnicos”** Editorial Acribia. Zaragoza, España. 493-495.
- Resurreccion, A.V.A (2003) **“Sensory aspects of consumer choices for meat and meat products”**. Meat Science. 66, 11 - 20.
- Ruusunen, M., Puolanne, E. (2005) **“Reducing Sodium intake from meat products”**. Meat Science. 70, 531 – 541.

- Sekerka, I., Lechner, J. (1978) **“Ion Selective Electrode for determination of chloride ion in biological materials, food products, soils, and waste water”**. Journal of the Association of Official Analytical Chemists. 61(6), 1493-1495
- Skoog, D.A., Holler, F.J. y Nieman, T.A. (2001) **“Principios de Análisis Instrumental”**. Editorial McGraw Hill. Madrid, España.
- Skoog, D.A., West, D.M. (1988) **“Química Analítica”**. Ed. McGraw Hill. Madrid, España.
- Šucman, E., Bednář, J. (2003) **“Determination of chlorides in meat products with ion selective electrode using the batch injection technique”**. Electroanalysis. 15(10), 866 – 871.
- Termo Electron Corporation (2003) **Orion 94-17 ion plus. Chloride Electrode Instruction Manual.**
- Termo Electron Corporation (2003) **Orion ROSS 86-11 Sodium Combination Electrode. Sodium Electrode Instruction Manual.**
- Upreti, P., Metzger, L., Bühlmann, P. (2004) **“Glass and polymeric membrane electrodes for the measurement of pH in milk and cheese”** Talanta 63, 139-148.
- Valle, V.P., Lucas, F.B. (2000) **“Toxicología de Alimentos”**. Instituto Nacional de Salud Pública. Centro Nacional de Salud Ambiental. México. 166-167.
- Wirth, F. (1998). **“Tecnología de los embutidos escaldados”**. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 169, 223-230
- Wood, R. (1999). **“How to validate analytical methods”**. Trends in Analytical Chemistry. 18(10), 624-632.
- Zannier, M.S., Minetti, M., Sbodio, O.A., Revelli, G.R. (2002) **“Sodium, potassium and chloride contents in individual cow milk determined by the ion selective electrode method”**. Facultad de Ingeniería Química. Univ. Nacional del Litoral, Argentina. 13(3), 61-67.

- Zoonen, P., Hoogerbrugge, R., Gort, S.M., Van de Wiel, H. J., Van't Klooster, H.A. (1999) "**Some practical examples of method validation in the analytical laboratory**". Trends in Analytical Chemistry. 18(10), 584-593.

ANEXOS

ANEXO I. Conceptos de validación

Hoy en día se requiere que los laboratorios trabajen con métodos validados para el análisis de diversos materiales. Se requiere validar un método cuando: a) Se busca una acreditación o certificación bajo algún sistema de calidad nacional o internacional; b) Se desarrolla un nuevo método analítico; c) Se hace algún cambio significativo a un método establecido; d) Se cambia el equipo.

Cuando en un laboratorio se desarrolla o modifica un método, es necesario validarlos antes de poder emplearlos de manera rutinaria. Para obtener una validación completa de un método se deben seguir varios pasos, primero se deben establecer los parámetros que otorgan validez en el laboratorio a lo cual se le llama una validación interna o validación “in house”. Este tipo de validación debe implementarse para realizar un control interno en el laboratorio. Posteriormente se deben realizar pruebas inter-laboratorio para validar completamente el método ante algún organismo internacional. (Codex Alimentario, Unión Europea, AOAC internacional, etc.)

Dentro de la validación, los parámetros a evaluar pueden variar de acuerdo a los requerimientos de cada organismo regulador. Sin embargo, la mayoría de dichos organismos coinciden en los parámetros más importantes, de los cuales se puede mencionar: la linealidad, la precisión (reproducibilidad y repetibilidad), la exactitud, el recobro, la especificidad y la incertidumbre en la medición los cuales se describen a continuación (Zoonen, et al., 1999).

- LINEALIDAD

Durante el desarrollo de un método es necesario evaluar el intervalo de concentraciones donde la respuesta del proceso de medición es lineal, considerando las concentraciones requeridas. El factor de correlación r debe ser mayor a 0.98 (García, et al., 2002).

- PRECISIÓN

Las mediciones realizadas con el método desarrollado deben tener una baja dispersión. Para medir la repetibilidad, se mide la dispersión en mediciones realizadas por el mismo operador y las mismas condiciones de trabajo, mientras que para medir la reproducibilidad se pueden variar el operador, el lugar de trabajo o el número de días. De acuerdo a los diferentes organismos de regulación, la precisión aceptable varía de acuerdo al tipo de muestra o tipo de instrumentación analítica. Para muestras de alimentos es aceptable hasta un 15% de variación (Wood, 1999).

- EXACTITUD

La exactitud mide la diferencia entre el valor real y el valor obtenido por el método propuesto. Para evaluar la exactitud se pueden emplear valores de referencia, en caso de no contar con materiales de referencia se puede utilizar el recobro como un parámetro de exactitud.

- RECOBRO

El recobro es necesario cuando el método propuesto involucra una extracción de los analitos, posteriormente se deben comparar los resultados obtenidos con el método propuesto contra los obtenidos utilizando un método validado ya publicado.

- ESPECIFICIDAD

La especificidad es la capacidad de un método para medir solamente lo que se pretende. Se debe confirmar que las señales se deben únicamente a la presencia del analito estudiado y poder diferenciar claramente las interferencias.

- INCERTIDUMBRE

Durante el desarrollo de un método se establecen varios pasos en los cuales se llevan a cabo diferentes mediciones, cada una de esas mediciones tiene asociada una incertidumbre o error, la suma de cada uno de los errores da como

resultado la incertidumbre final. Se pueden identificar las siguientes fuentes de incertidumbre: muestreo, almacenamiento, instrumentos de medición, pureza de reactivos, efectos de matriz, cálculos numéricos, aproximaciones, blancos y el analista (Wood, 1999).

ANEXO II. Especificaciones de los electrodos

Especificaciones	Electrodo de sodio	Electrodo de cloruro
Intervalo de concentración	Saturado a 10^{-6} M (0.02 ppm)	1M a 5×10^{-5} M 35.500 a 1.8ppm
Intervalo de pH	6-12	2-12
Intervalo de temperatura	0-80°C uso continuo 80-100°C uso intermitente	10-100°C
Resistencia del electrodo	Menos de 300 megaohms	Menos de 1megaohm
Reproducibilidad	$\pm 2\%$	$\pm 2\%$
Punto isopotencial	Aproximadamente 114ppm Na (0.005M)	-----
Tamaño mínimo de muestra	3mL	3mL
Tamaño del electrodo	12.5cm	110mm
Diámetro	1.2cm	13mm
Cap. Diámetro	1.6cm	16mm

ANEXO III. Datos de las curvas de calibración

Curva de calibración promedio por estándar externo de sodio (Figura 12)

Concentración (mg L ⁻¹)	Log Concentración	E(mV)
10	1	-144.9
30	1.48	-118.1
50	1.70	-105.8
70	1.85	-96.4
100	2	-88.7
250	2.40	-62.5
500	2.70	-49.2
700	2.88	-37.2
1000	3	-31.8

Curva de calibración promedio por estándar externo de sodio (Figura 13)

Concentración (mg L ⁻¹)	Log Concentración	E(mV)
10	1	-145
30	1.48	-118.3
50	1.70	-105.9
70	1.85	-96.6
100	2	-88.8
250	2.40	-62.4
500	2.70	-49
700	2.88	-37
1000	3	-31.6

Curva de calibración promedio por estándar externo de cloruro (Figura 14)

Concentración (mg L ⁻¹)	Log Concentración	E(mV)
10	1	196.1
30	1.48	170.7
50	1.70	154.4
70	1.85	148
100	2	138.9
250	2.40	114.5
500	2.70	98.4
700	2.88	89.2
1000	3	87.1

Curva de calibración promedio por estándar externo de cloruro (Figura 15)

Concentración (mg L ⁻¹)	Log Concentración	E(mV)
10	1	195.7
30	1.48	167.9
50	1.70	155.7
70	1.85	149.1
100	2	138.5
250	2.40	110.9
500	2.70	95.6
700	2.88	85.7
1000	3	87.1

Curva de calibración promedio por adiciones estándar de sodio (Figura 16)

Concentración (mg L ⁻¹)	Log Concentración	E(mV)
90	1.95	-90.8
100	2	-88.4
110	2.04	-86.1
120	2.08	-84
130	2.11	-82.2

Curva de calibración promedio por adiciones estándar de sodio (Figura 17)

Concentración (mg L ⁻¹)	Log Concentración	E(mV)
90	1.95	-91
100	2	-88.5
110	2.04	-86
120	2.08	-83.8
130	2.11	-82.1

Curva de calibración promedio por adiciones estándar de cloruro (Figura 18)

Concentración (mg L ⁻¹)	Log Concentración	E(mV)
90	1.95	140.1
100	2	137.2
110	2.04	134.7
120	2.08	132.6
130	2.11	131.4

Curva de calibración promedio por adiciones estándar de cloruro (Figura 19)

Concentración (mg L ⁻¹)	Log Concentración	E(mV)
90	1.95	140.1
100	2	137.2
110	2.04	134.8
120	2.08	132.7
130	2.11	131.2

Curva de calibración promedio por adiciones estándar para la determinación de sodio en extractos de salchicha de pavo (Figura 20)

Concentración (mg L ⁻¹)	Log Concentración	E(mV)
84	1.92	-99.7
95.9	1.98	-96.5
106.1	2.03	-94
117.8	2.07	-91.6
129.1	2.11	-89.5

Curva de calibración promedio por adiciones estándar para la determinación de cloruro en un extracto de salchicha de pavo (Figura 21)

Concentración (mg L ⁻¹)	Log Concentración	E(mV)
126.3	2.10	133.6
139.3	2.14	131.5
152.7	2.18	129.1
164	2.21	127.6
177.3	2.24	125.8

Curva de calibración promedio para sodio por flamometría con estándar externo (Figura 22)

Concentración adicionada (mg L ⁻¹)	%
0	0
1	22
3	53.7
4	72.3
5	83
6	100

Curva de calibración promedio para sodio por flamometría con adiciones estándar (Figura 23)

Concentración adicionada (mg L ⁻¹)	%
2	62
3	71.7
4	77.7
5	88
6	96.7

Curva de calibración promedio por flamometría con adiciones estándar para sodio en extractos de salchicha de pavo (Figura 24)

Concentración adicionada (mg L ⁻¹)	%
1	16.3
2	45
3	59.3
4	71
5	82.7
6	100