



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**DESARROLLO Y APLICACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA LA
DETERMINACIÓN DE SODIO Y CLORURO EN QUESO PANELA POR MEDIO DE
ELECTRODOS SELECTIVOS DE IONES (ISE).**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA DE ALIMENTOS**

PRESENTA

VANIA JULIETA MUÑOZ PÉREZ



MÉXICO, D.F.

2010



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: EUGENIO OCTAVIO REYES SALAS
VOCAL: JOSÉ DE JESÚS GARCÍA VALDES
SECRETARIO: MARTHA PATRICIA GARCÍA CAMACHO
1ER. SUPLENTE: GLORIA GARCÍA RAMÍREZ
2DO. SUPLENTE: CAROLINA FLORES AVILA

LUGAR DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: LABORATORIO DE QUÍMICA ANALÍTICA, ANEXO 3D. FACULTAD DE QUÍMICA, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, CIUDAD UNIVERSITARIA.

ASESOR DEL TEMA

DOCTORA MARTHA PATRICIA GARCÍA CAMACHO

SUSTENTANTE

VANIA JULIETA MUÑOZ PÉREZ

♣ AGRADecIMIENTOS

Al Proyecto PAPIME PE202906 “Determinación selectiva de iones en alimentos aplicada a la enseñanza experimental y a la evaluación sensorial” de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) de la UNAM por el apoyo y la beca otorgados.

A la Doctora Martha Patricia García Camacho por el estímulo para seguir creciendo intelectualmente y por su generosidad al brindarme la oportunidad de recurrir a su capacidad y experiencia científica en un marco de confianza, comprensión y asesoría, fundamentales para la concreción de este trabajo.

♣ AGRADECIMIENTOS

Esta tesis se la dedico a mi mamá y a mi papá, a quienes agradezco de todo corazón por su esfuerzo, amor, cariño y comprensión. No me equivoco si digo que son los mejores del mundo. Siempre los llevo en mi corazón y los amo con todo mi ser. También a Merlina y Miranda por su amor incondicional y por ser mi alegría con sus ocurrencias diarias.

A mi hermana por haber sido mi sensei, mi inspiración, mi compañera y confidente a lo largo de estos años maravillosos. Nunca olvidaré todos los momentos que vivimos juntas.

A Dios por llenar mi vida de dicha y bendiciones, agradezco haber encontrado el amor y tener una existencia plena.

A mis amigas “QA’s” porque gracias a ustedes sé lo que es la amistad verdadera, valor importante en mi vida, gracias por estar conmigo siempre. Sé que cuento con ustedes y las adoro!!

A mis amigas las “hijas de Jeanne” por verme y ayudarme a crecer y madurar, por aconsejarme, compartir risas y llantos en todo este tiempo, tienen un lugar muy especial en mi vida.

A mis tíos, primos y sobrinas por confiar en mí. Nunca olviden que siempre estaré con ustedes en cada paso que dé en la vida. A mi abuelita y a los que ya no están, pero que siempre tendrán un espacio en mi corazón, donde se mantendrán vivos en mis recuerdos.

A todos los profesores que me dieron clase; por sus enseñanzas, dedicación y tiempo.

A la Universidad Nacional Autónoma de México- Facultad de Química por brindarme la valiosa oportunidad de ser orgullosamente azul y oro.

¡¡GRACIAS!!... y esto es sólo el principio.



I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	4
II.1 Sodio y cloro	4
II.1.1 Propiedades fisicoquímicas y formación de iones	4
II.1.2 Papel biológico de sodio y cloruro	5
II.1.3 Efectos adversos de sodio y cloruro en la salud	5
II.1.4 Absorción y excreción de sodio y cloruro	6
II.1.5 El cloruro de sodio en los alimentos	6
II.2 El Queso	8
II.2.1 Historia del queso	10
II.2.2 Clasificación de los quesos	11
II.2.3 Queso panela y su elaboración artesanal	12
II.3 Métodos Oficiales para la determinación de cloruro y sodio en alimentos.	14
II.3.1 Determinación de sodio	14
II.3.1.1 Fotometría de flama	14
II.3.2 Determinación de cloruro	16
II.3.2.1 Método de Mohr	16
II.3.2.2 Método de Volhard	17
II.4 Técnicas instrumentales para la determinación de sodio y cloruro	18
II.4.1 Polarografía	18

II.4.2 Electroforesis	19
II.4.3 Cromatografía de líquidos de alta precisión	19
II.4.4 Absorción atómica	20
II.4.5 Espectrometría de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente	21
II.5 Potenciometría	21
II.5.1 Electrodo de referencia	23
II.5.1.1 Electrodo de calomel.	24
II.5.1.2 Electrodo de plata/cloruro de plata (Ag/AgCl).	24
II.5.2 Electrodo de trabajo	25
II.6 Electrodo selectivos de iones (ISE)	26
II.6.1 Historia de los ISE	26
II.6.2 Características generales de los electrodos selectivos de iones.	27
II.6.3 Tipos de electrodos selectivos de iones	30
II.6.3.1 Electrodo de vidrio.	30
II.6.3.2 Electrodo de membrana sólida	31
II.6.3.3 Electrodo de membrana líquida	32
II.6.3.4 Electrodo sensibles a gases	33
II.6.3.5 Electrodo enzimáticos	33
II.6.4 Variables que afectan la determinación	34
II.7 Métodos de calibración	36
II.7.1 Estandarización externa	36
II.7.2 Adiciones patrón	37

II.7.3 Determinación simplificada	38
II.7.4 Patrón interno	39
II.8 Aplicaciones de ISE en alimentos	39
III. OBJETIVOS	44
III.1 Objetivo general	
III.2 Objetivos particulares	
IV. DESARROLLO EXPERIMENTAL	45
IV.1 Materiales	45
IV.1.1 Aparatos	45
IV.1.2 Reactivos	46
IV.1.3 Muestras	46
IV.2 Métodos	48
IV.2.1 Estabilización y activación de los electrodos de sodio y cloruro.	49
IV.2.2 Estándares	49
IV.2.3 Linealidad y precisión del sistema ISE para sodio y cloruro	50
IV.2.3.1 Método de estándar externo	50
IV.2.3.2 Método de adición patrón	52
IV.2.4 Linealidad y precisión del sistema flamométrico para sodio	53
IV.2.4.1 Método de estándar externo	53
IV.2.4.2 Método de adición patrón	55
IV.2.5 Optimización del método de extracción de los iones del queso	56
IV.2.6 Precisión del método ISE para sodio y cloruro por estándar externo	58

IV.2.7 Linealidad y precisión del método ISE para sodio y cloruro por adición patrón	58
IV.2.8 Precisión del método flamométrico para sodio por estándar externo.	59
IV.2.9 Linealidad y precisión del método flamométrico para sodio por adición patrón	60
IV.2.10 Exactitud del método ISE	61
IV.2.11 Protocolo final de extracción y análisis en queso panela	63
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	66
V.1 Linealidad y precisión del sistema ISE para sodio.	66
V.1.1 Método de estándar externo	66
V.1.2 Método de adición patrón	69
V.2 Linealidad y precisión del sistema ISE para cloruro.	72
V.2.1 Método de estándar externo	72
V.2.2 Método de adición patrón	75
V.3 Linealidad y precisión del sistema flamométrico para sodio	79
V.3.1 Método de estándar externo	79
V.3.2 Método de adición patrón	82
V.4 Optimización del método de extracción de los iones del queso	85
V.5 Precisión del método ISE para sodio por estándar externo	97
V.6 Precisión del método ISE para cloruro por estándar externo	98
V.7 Linealidad y precisión del método ISE para sodio por adición patrón	99

V.8 Linealidad y precisión del método ISE para cloruro por adición patrón	101
V.9 Precisión del método flamométrico para sodio por estándar externo	103
V.10 Linealidad y precisión del método flamométrico para sodio por adición patrón	104
V.11 Exactitud del método ISE	106
V.12 Determinación de sodio y cloruro en queso panela	113
VI. CONCLUSIONES	123
VII. ANEXOS	125
VIII. BIBLIOGRAFÍA	130
IX. PERSPECTIVAS Y RECOMENDACIONES	134



Tabla 2.1 Iones interferentes para los electrodos de sodio y cloruro	30
Tabla 4.1 Muestras de queso analizadas. Contenido de sodio reportado en la etiqueta, contenido de sodio por gramo de queso y concentración de sodio esperada en un extracto de 100 mL	47
Tabla 4.2 Factores evaluados en los ensayos realizados para optimizar el método de extracción de sodio y cloruro en el queso panela	57
Tabla 5.1 Evaluación de la precisión del electrodo de sodio por estándar externo con ISE con una disolución de 60 mgL ⁻¹	68
Tabla 5.2 Evaluación de la precisión del electrodo de sodio por adición patrón con ISE con una disolución de 60 mgL ⁻¹	71
Tabla 5.3 Evaluación de la precisión del electrodo de cloruro por estándar externo con ISE con una disolución de 60 mgL ⁻¹	74
Tabla 5.4 Evaluación de la precisión del electrodo de cloruro por adición patrón con ISE con una disolución de 60 mgL ⁻¹	77
Tabla 5.5 Evaluación de la precisión del método flamométrico para la determinación de sodio por estándar externo con una disolución de 2 mgL ⁻¹	81
Tabla 5.6 Evaluación de la precisión del método flamométrico para la determinación de sodio por adición patrón con una disolución de 2mgL ⁻¹	84
Tabla 5.7 Evaluación de la precisión del método ISE para sodio por estándar externo. Determinación de sodio en los extractos de queso	97

Tabla 5.8 Evaluación de la precisión del método ISE para cloruro por estándar externo. Determinación de la concentración de cloruro en los extractos de queso	98
Tabla 5.9 Evaluación de la precisión del método ISE para sodio por adición patrón. Determinación de la concentración de sodio en los extractos de queso	100
Tabla 5.10 Evaluación de la precisión del método ISE para cloruro por adición patrón. Determinación de la concentración de cloruro en los extractos de queso	102
Tabla 5.11 Evaluación de la precisión del método flamométrico para sodio por estándar externo. Determinación de sodio en los extractos de queso	103
Tabla 5.12 Evaluación de la precisión del método flamométrico para sodio por adición patrón. Determinación de la concentración de sodio en los extractos de queso	105
Tabla 5.13 Sodio determinado con ISE en extractos obtenidos por el método de calcinación hasta cenizas.	107
Tabla 5.14 Sodio determinado con ISE en extractos obtenidos con el método de extracción con disolución acuosa. Comparación con el método de calcinación hasta cenizas	108
Tabla 5.15 Cloruro determinado con ISE en extractos obtenidos por el método de calcinación hasta cenizas	109
Tabla 5.16 Cloruro determinado con ISE en extractos obtenidos con el	110

método de extracción con disolución acuosa. Comparación con el método de calcinación hasta cenizas.

Tabla 5.17 Concentración determinada con el método flamométrico por adición patrón para extractos de queso panela obtenidos por el método de calcinación hasta cenizas. 112

Tabla 5.18 Contenido de iones determinado por ISE en muestras comerciales de queso panela. 114

Tabla 7.1 Disoluciones necesarias para el electrodo de sodio 128

Tabla 7.2 Disoluciones necesarias para el electrodo de cloruro 129



Figura II.1. Algunas variedades de quesos existentes en el mundo	9
Figura II.2. Pintura de egipcio elaborando queso (Museo de El Cairo)	10
Figura II.3. Diagrama de elaboración artesanal del queso panela	13
Figura II.4 Esquemmatización del funcionamiento de un fotómetro de flama	15
Figura II.5 Esquema del electrodo de referencia de calomel saturado	24
Figura II.6 Esquema del electrodo de referencia de plata /cloruro de plata, Ag/AgCl	25
Figura II.7 Esquema de una celda con un electrodo selectivo de iones	27
Figura II.8 Esquema del electrodo de membrana de vidrio (sodio)	31
Figura II.9 Esquema del electrodo de membrana sólida (cloruro)	32
Figura II.10 Esquema del electrodo de membrana líquida (calcio)	33
Figura II.11 Curva de calibración típica de un ISE de un catión monovalente	34
Figura II.12. Esquemmatización del método de adición patrón	37
Figura IV.1 Diagrama general de los ensayos realizados para establecer la metodología ISE	48
Figura IV.2 Diagrama que representa las concentraciones sin adición (A) y con adición sucesiva de 1mL de un patrón de 1000 mgL ⁻¹ (B,C,D)	52
Figura IV.3 Protocolo final para la determinación de sodio y cloruro en	63

queso panela por ISE

Figura V.1 Evaluación de la linealidad y repetibilidad del sistema con el electrodo de sodio por estándar externo. Curva de calibración promedio (10-100 mgL⁻¹). 66

Figura V.2 Evaluación de la linealidad y reproducibilidad del sistema con el electrodo de sodio por estándar externo. Curva de calibración promedio (10-100 mgL⁻¹) 67

Figura V.3 Evaluación de la linealidad y repetibilidad del sistema con el electrodo de sodio por adición patrón. Curva de calibración promedio (60-90 mgL⁻¹) 69

Figura V.4 Evaluación de la linealidad y reproducibilidad del sistema con el electrodo de sodio por adición patrón. Curva de calibración promedio (60-90 mgL⁻¹) 70

Figura V.5 Evaluación de la linealidad y repetibilidad del sistema con el electrodo de cloruro por estándar externo. Curva de calibración promedio (10-1000 mgL⁻¹) 72

Figura V.6 Evaluación de la linealidad y reproducibilidad del sistema del electrodo de cloruro por estándar externo. Curva de calibración promedio (10-1000 mgL⁻¹) 73

Figura V.7 Evaluación de la linealidad y repetibilidad del sistema con el electrodo de cloruro por adición patrón. Curva de calibración promedio (60-90 mgL⁻¹) 75

Figura V.8 Evaluación de la linealidad y reproducibilidad del sistema del 76

electrodo de cloruro por adición patrón. Curva de calibración promedio (60-90 mgL⁻¹)

Figura V.9 Evaluación de la linealidad y repetibilidad del método de flamometría por estándar externo para sodio. Curva de calibración promedio (0-6 mgL⁻¹). 79

Figura V.10 Evaluación de la linealidad y reproducibilidad del método de flamometría por estándar externo para sodio. Curva de calibración promedio (0-6 mgL⁻¹). 80

Figura V.11 Evaluación de la linealidad y repetibilidad del método de flamometría por adición patrón para sodio. Curva de calibración promedio (2-6 mgL⁻¹). 82

Figura V.12 Evaluación de la linealidad y reproducibilidad del método de flamometría por adición patrón para sodio. Curva de calibración promedio (2-6 mgL⁻¹). 83

Figura V.13 Extracción de sodio y cloruro de 1g de queso con 100 mL de agua desionizada como extractante. 1) Sin calentamiento 2) Con calentamiento 80°C. 85

Figura V.14 Extracción de sodio de 1g de queso con ácido sulfúrico como extractante a diferente temperatura y tiempos de agitación. 87

Figura V.15 Extracción de cloruro de 1g de queso con ácido sulfúrico como extractante a diferente temperatura y tiempos de agitación. 88

Figura V.16 Extracción de sodio de 1g de queso con ácido sulfúrico y ácido nítrico a diferentes concentraciones 89

Figura V.17 Extracción de cloruro de 1g de queso con ácido sulfúrico y ácido nítrico a diferentes concentraciones	90
Figura V.18 Extracción de sodio y cloruro de 1g de queso con ácido nítrico 0.1M y evaluación del efecto en la aplicación de ultrasonido	91
Figura V.19 Extracción de sodio y cloruro de 1g de queso con ácido sulfúrico 0.1M y evaluación del efecto en la aplicación de ultrasonido	92
Figura V.20 Extracción de sodio y cloruro de 1g de queso con diferentes volúmenes de agua desionizada como extractante	94
Figura V.21 Extracción de sodio y cloruro de 1g de queso con agua desionizada aplicando ultrasonido a diferentes tiempos	95
Figura V.22 Linealidad promedio del método de determinación de sodio por adición patrón	99
Figura V.23 Linealidad promedio del método de determinación de cloruro por adición patrón	101
Figura V.24 Linealidad promedio del método de determinación de sodio por adición patrón con flamometría	104
Figura V.25 Comparación de sodio en la etiqueta respecto al sodio determinado por ISE (mgg^{-1}) en los quesos	115
Figura V.26 Comparación de la concentración de sodio contra la concentración de cloruro determinada por ISE (mgg^{-1}) en los quesos	118
Figura V.27 Contenido de sodio y cloruro en queso panela determinado por ISE (molL^{-1})	121



I. INTRODUCCIÓN

La preservación del equilibrio de los electrolitos en el organismo es esencial para el mantenimiento de la vida. Los electrolitos son nutrimentos inorgánicos conocidos como minerales que el organismo requiere en pequeñas cantidades para su óptimo funcionamiento. Los iones sodio y cloruro se encuentran entre este grupo de nutrimentos inorgánicos. Estos iones tienen importantes funciones biológicas en el organismo y además poseen funciones tecnológicas en la elaboración de alimentos procesados.

El sodio y el cloruro son elementos muy importantes en la dieta, muchos alimentos cuentan con sodio y cloruro en su composición química. Además, en la mayor parte de los alimentos procesados, la adición de cloruro de sodio durante su elaboración define las características finales del producto como la apariencia, color, sabor y conservación.¹ Sin embargo, en los últimos años el uso del cloruro de sodio en los alimentos se ha incrementado de forma ilimitada dando lugar a un consumo más allá del necesario para el funcionamiento normal del organismo. Lo anterior ha tenido como resultado el aumento en el número de personas con hipertensión arterial, afecciones coronarias, problemas renales, edemas (retención de líquidos e inflamaciones) e infartos cardíacos.²

En efecto, el ion sodio está asociado con estos problemas de salud ya que incrementa la retención de agua en el organismo y como consecuencia, se da un aumento en la presión arterial de las personas. Por esta razón, se recomienda que los fabricantes de alimentos procesados declaren en su etiqueta el contenido de



sodio en los alimentos para que los consumidores puedan tener un control de la ingesta en su dieta. Por lo tanto, en el control de calidad es necesario analizar el contenido de sodio en los alimentos procesados para verificar que la concentración en el alimento corresponda con lo establecido en la etiqueta del producto.

Los métodos oficiales (Mohr y Volhard) permiten medir el sodio indirectamente en los alimentos gracias a una titulación del cloruro presente en la muestra por precipitación con nitrato de plata más un indicador para el punto final.³ Estos métodos son específicos para el cloruro aunque indirectamente miden el sodio que ha sido añadido al producto como el cloruro de sodio. No obstante, ellos no miden el sodio que proviene de otra fuente, por ejemplo los fosfatos de sodio agregados durante el proceso de manufactura o los nitratos de sodio utilizados como conservadores. Otras desventajas de estos métodos son la preparación de la muestra, pues las muestras sólidas se tienen que calcinar, el empleo del reactivo de plata que es caro y se requiere de bastante tiempo para efectuar las determinaciones.^{3, 4} Entonces, la determinación directa de la concentración de sodio en los alimentos se hace evidentemente necesaria. Para esto existen las técnicas espectrométricas, como la emisión atómica, la emisión de llama, y la absorción atómica que se utilizan para medir directamente el sodio en muestras alimenticias. Sin embargo, requieren una complicada preparación de la muestra y el equipo utilizado es caro.²



Por el contrario, el electrodo de ion de selectivo (ISE ion selective electrode por sus siglas en inglés) proporciona una alternativa ya que es más rápido, simple y repetible, también de gran sensibilidad, pero sobre todo más económico para medir sodio y cloruro en extractos de muestras alimenticias como el queso fresco. El dispositivo para realizar la medición selectiva de iones puede ser montado fácilmente en el laboratorio.

En México los quesos se elaboran comúnmente a partir de leche de vaca y a diferencia de otros países no se maduran, se suelen consumir casi recién hechos y su sabor es suave. El queso panela es el de mayor consumo en nuestro país, ya que se estima que el 52.3% de la población lo consume.¹⁷ Esto se debe a que es un alimento nutritivo, delicioso y económico.

Por estas razones, en el presente trabajo se seleccionó la técnica ISE para desarrollar y validar métodos de determinación de sodio y cloruro en el queso panela, después de realizar una preparación de muestra igualmente sencilla y rápida con agua, por lo tanto, los objetivos de este trabajo fueron los siguientes:



II. ANTECEDENTES

II.1 Sodio y cloro

II.1.1 Propiedades fisicoquímicas y formación de iones

El sodio es un metal blando, plateado, aunque no se presenta en estado metálico en la naturaleza porque es demasiado reactivo. El cloro es un gas amarillo-verdoso, venenoso, de olor picante; en su forma líquida es de color amarillo-dorado.⁵

Aunque normalmente los átomos aislados son eléctricamente neutros y por consiguiente tienen un número igual de cargas positivas y negativas, durante la formación de ciertos compuestos, los átomos se pueden convertir en iones. Los átomos metálicos tienden a perder electrones, mientras que los no metálicos tienden a ganarlos. Cuando el metal sodio reacciona con el no metal cloro, se transfiere un electrón del sodio al cloro para producir iones. Cuando un átomo de cloro gana un electrón, se convierte en un ion cargado negativamente, llamado anión cloruro (simbolizado Cl^-). Un átomo de sodio que pierde un electrón se convierte en un ion cargado positivamente llamado catión sodio (simbolizado Na^+).⁵

El cloruro de sodio consiste en números iguales de iones de sodio y cloruro, con una fuerte atracción entre las cargas positivas y negativas que mantiene juntos a los átomos en una disposición regular en el espacio, dando como resultado la estructura tridimensional cristalina.



II.1.2 Papel biológico de sodio y cloruro

El sodio y el cloruro tienen un papel fundamental en el organismo ya que en el caso del sodio regula el equilibrio de los líquidos, contribuye al proceso digestivo manteniendo la presión osmótica y en el caso del cloruro juega un papel importante en la digestión al formar parte de los ácidos intestinales (HCl).

Al actuar en el interior de las células, el sodio participa en la conducción de los impulsos nerviosos (mediante canales iónicos), regula el reparto de agua en el organismo y la absorción de nutrientes por las células. Ambos iones se encuentran principalmente en el líquido extracelular.⁶

II.1.3 Efectos adversos de sodio y cloruro en la salud

Desde el punto de vista de la salud, el exceso de cloruro en la dieta no representa un problema muy serio ya que puede excretarse fácilmente. Por el contrario, el exceso de sodio puede provocar retención de líquidos, sobrecarga de trabajo para los riñones, presión sanguínea alta (hipertensión), afecciones coronarias y los infartos cardíacos, como principales enfermedades.⁷ En efecto, el sodio abunda en la mayoría de los alimentos y además, éste se agrega a gran número de alimentos procesados, es por eso que ingerimos cantidades mayores de lo que necesitamos, perjudicando seriamente la salud. Desafortunadamente, se le añade demasiado sodio a los alimentos, en forma de sal común (cloruro de sodio), como saborizante (glutamato monosódico) o como conservador (nitrato de sodio o benzoato de sodio). Por lo tanto, la carencia de sodio en el organismo es rara, aunque si se produce, se manifiesta con deshidratación, mareo y baja



presión arterial. A largo plazo puede presentarse pulso debilitado, falta de apetito, calambres musculares y cansancio.⁷

II.1.4 Absorción y excreción de sodio y cloruro

El sodio y el cloruro se absorben en humanos de manera fácil desde el intestino delgado y de allí son llevados a los riñones, en donde se infiltran y regresan a la sangre para mantener los niveles apropiados. La cantidad absorbida es proporcional a la consumida.⁶

Alrededor del 90 -95% de la pérdida normal del sodio y cloruro ocurre a través de la orina y el resto en las heces y el sudor. Se considera normal que la cantidad de sodio excretada sea igual a la cantidad ingerida. La secreción de ambos iones se mantiene por un mecanismo que involucra los riñones, el sistema nervioso simpático, la circulación de catecolaminas y la presión sanguínea.⁶

El riñón es el regulador más importante del balance de sodio y cloruro. Cuando se produce un aumento en el volumen del líquido extracelular, como ocurre después de una carga de cloruro de sodio, la excreción de sal aumenta en un intento de regresar el volumen a lo normal. Por el contrario, en una disminución del volumen, como en la restricción de cloruro de sodio, el riñón retiene iones para restablecer el volumen circulatorio efectivo.⁶

II.1.5 El cloruro de sodio en los alimentos

El 10% de la ingesta de sodio proviene de alimentos como frutas, verduras, leche y pescado, que lo poseen en forma natural, el 75% de sodio proviene de alimentos procesados y el 15% restante es ingerido a través de la sal de mesa.⁷



En Estados Unidos los productos lácteos proporcionan el 11% del sodio requerido en la dieta.⁸

Es de remarcarse que muchos de los sazonadores que empleamos poseen sodio, además de la sal de mesa (cloruro de sodio). También, la industria alimentaria emplea glutamato monosódico, nitrito de sodio, sacarina de sodio, benzoato de sodio, fosfato disódico y propionato sódico, que junto con el cloruro de calcio son los principales aditivos utilizados como ingredientes en la elaboración de alimentos procesados.⁹

El sodio y el cloruro se encuentran en la mayoría de los productos que consumimos, sobre todo en los de origen animal: huevo, leche, carne y vísceras. Los embutidos, verduras enlatadas, cereales, galletas, queso, frituras, botanas, pan de caja y comida rápida poseen grandes cantidades de estos minerales, aunque no se note en su sabor. Incluso, están disueltos en el agua potable y, aunque la cantidad puede variar, se estima que una décima parte de los minerales que ingerimos procede del vital líquido.¹⁰

Los alimentos que poseen sodio en menor cantidad son, en general, frutas y verduras frescas, mismas que a su vez contienen mayor cantidad de potasio, el cual reduce en parte el excedente de sodio.¹⁰

A pesar de que la ingesta de un exceso de sodio en la población es muy probable al no controlar su contenido en la dieta, no existe legislación correspondiente al consumo o contenido de cloruro de sodio en los alimentos,



debido a que es un aditivo tipo GRAS por sus siglas en inglés (Generally Recognized As Safety) ,¹¹ esto quiere decir que no tiene toxicidad.

Tampoco se cuenta con información respecto al consumo de sodio promedio en las poblaciones humanas, probablemente porque es un ingrediente ampliamente utilizado en la industria y presente en casi todos los alimentos. Se ha establecido que se requiere de 0.1 a 0.2g de sodio para cumplir con los requisitos mínimos de funcionalidad biológica, pudiendo elevar esta ingestión hasta 3.3g sin causar alteraciones.¹

II.2 El Queso

El queso es uno de los principales derivados de la leche, rico en proteínas y calcio.²⁰ Es un alimento sólido, generalmente elaborado a partir de la leche cuajada de vaca, cabra, oveja u otros mamíferos rumiantes. La leche es inducida a cuajarse usando una combinación de cuajo (enzimas) o por acidificación de la leche por acción bacteriana.²⁰

Según el código alimentario, se define queso como el producto fresco o madurado, sólido o semisólido, obtenido a partir de la coagulación de la leche (a través de la acción del cuajo u otros coagulantes, con o sin hidrólisis previa de la lactosa) y posterior separación del suero.¹⁶

La palabra queso deriva del latín “caseus”, su origen es incierto, pero algunos expertos señalan que es procedente de la raíz indoeuropea “carere suerum” que significa carece de suero.¹⁶



Es uno de los principales productos agrícolas del mundo. Según la Organización para la Alimentación y la Agricultura (FAO) de las Naciones Unidas, en 2004 se produjeron en el mundo más de 18 millones de toneladas. El mayor productor de queso es Estados Unidos, que asume un 30% de la producción mundial, seguido de Alemania y Francia.¹⁷ En la figura II.1 se presenta una fotografía en la cual aparecen algunas variedades de quesos existentes en el mundo.



Figura II.1. Algunas variedades de quesos existentes en el mundo.



II.2.1 Historia del queso

La fabricación de queso es una actividad muy antigua. Se cree que este producto tiene su origen en la costumbre mediterránea de llevar la leche en recipientes hechos de pieles de animales, estómagos o vejigas. Existe una leyenda que dice que fue descubierto por un mercader árabe que, mientras realizaba un largo viaje por el desierto, puso leche en un recipiente fabricado con el estómago de un cordero. Cuando fue a consumirla vio que estaba coagulada y fermentada (debido al cuajo del estómago del cordero y a la alta temperatura del desierto). Otros autores señalan que el queso ya se conocía en la prehistoria, aunque esto no se ha podido comprobar.¹⁸

El origen del queso no es muy preciso pero puede estimarse entre los años 8000 a.C. y 3000 a.C. Datos arqueológicos demuestran que su elaboración en el antiguo Egipto data del año 2300 a.C. como se muestra en la figura II.2 que representa la pintura de un egipcio elaborando queso.¹⁸



Figura II.2. Pintura de egipcio elaborando queso (Museo de El Cairo)



La elaboración del queso se mantuvo como actividad artesanal hasta la aplicación de las bases científicas, que comenzó a principios del siglo XX, permitiendo la fabricación a gran escala. Fue en Suiza donde se abrió la primera fábrica para la producción industrial del queso.¹⁸

II.2.2 Clasificación de los quesos

Resulta muy difícil realizar una clasificación estricta, debido a la amplia gama de quesos existentes.²⁰ En el código alimentario, los quesos se clasifican en función del proceso de elaboración y el contenido de grasa láctea (%) sobre el extracto seco (producto obtenido después de la desecación y extracción total del agua contenida). Entonces, según el proceso de elaboración:²⁰

- Fresco y blanco pasteurizado: el queso fresco es aquel que está listo para consumir tras el proceso de elaboración y el blanco pasteurizado es el queso fresco cuyo coágulo se somete a pasteurización y luego se comercializa.
- Afinado, madurado o fermentado: es aquel que luego de ser elaborado requiere mantenerse durante determinado tiempo (dependiendo del tipo de queso) a una temperatura y demás condiciones para que puedan generarse ciertos cambios físicos y/o químicos característicos y necesarios.

Según sea el contenido de grasa (%), sobre el extracto seco (sin agua).

- Desnatado: contiene como máximo 10% de grasa.
- Semidesnatado: con un contenido de grasa mínimo del 10% y un máximo del 25%.



- Semigraso: con un contenido mínimo del 25% y un máximo de 45% de grasa.
- Graso: contenido mínimo de grasa del 45% hasta un máximo del 60%.
- Extragraso: con un contenido mínimo del 60% de grasa.

II.2.3 Queso panela y su elaboración artesanal

El queso panela llamado también "queso de la canasta", es un queso fresco; es un alimento semisólido, suave y blanco de leche de vaca pasteurizada, no madurado y que se produce de cuajadas semi desueradas.²⁰

En la figura II.3 se presenta un diagrama de elaboración de queso panela donde se describen las condiciones necesarias como la temperatura adecuada para el proceso de elaboración, los aditivos necesarios y el tiempo aproximado para la formación del cuajo.¹⁹

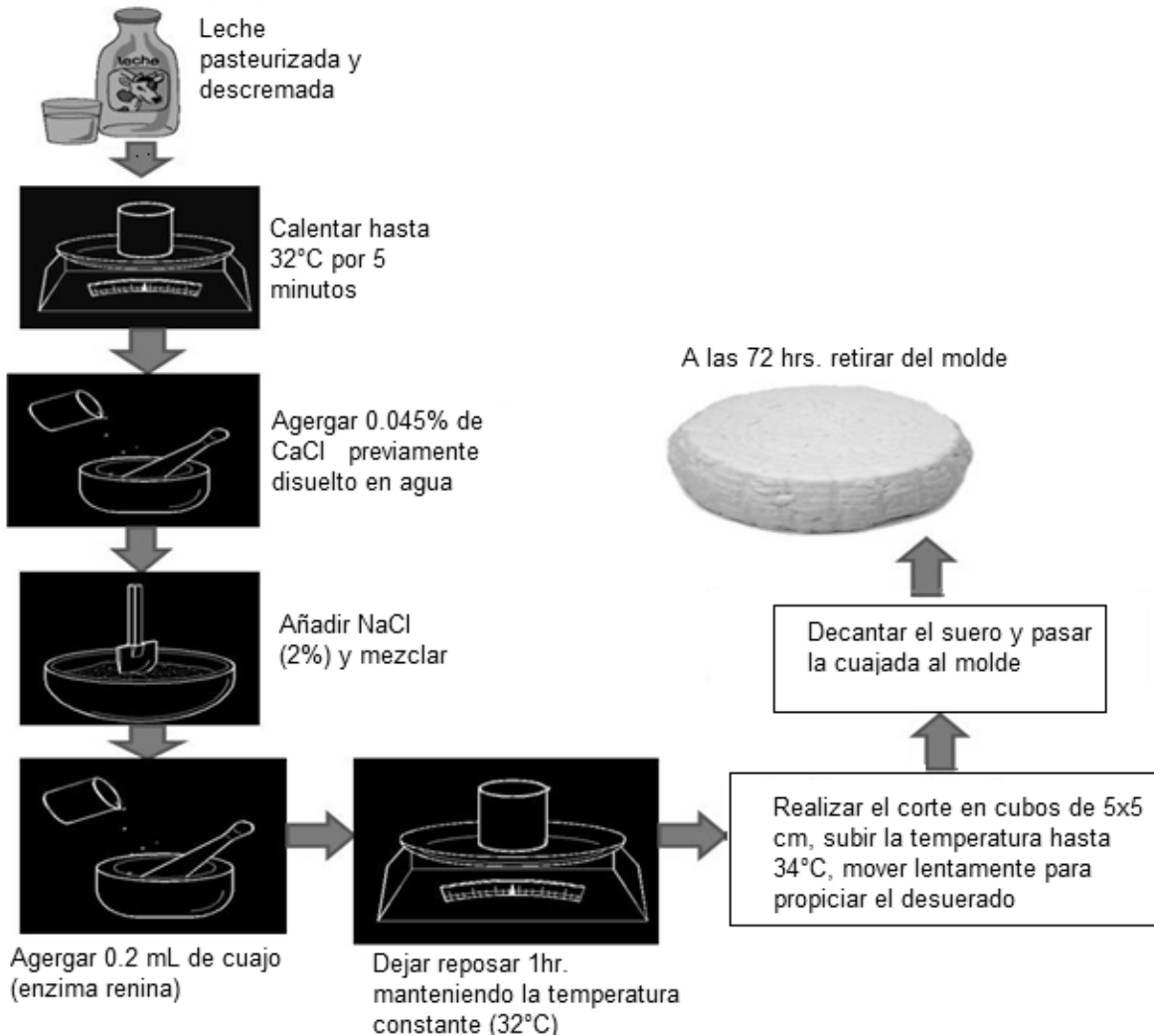


Figura II.3. Diagrama de elaboración artesanal del queso panela.

El queso comparte casi las mismas propiedades nutricionales con la leche, excepto que contiene más grasas y proteínas concentradas. Además de ser fuente proteica de alto valor biológico; se destaca por ser una fuente importante de calcio y fósforo, necesarios para la remineralización ósea.²⁰



Con respecto al tipo de grasas que nos aportan, es importante señalar que se trata de grasas saturadas de origen animal. En cuanto a las vitaminas, el queso es un alimento rico en vitaminas A, D y del grupo B.²⁰

II.3 Métodos Oficiales para la determinación de cloruro y sodio en alimentos.

Los métodos de análisis por lo general más usados son los titrimétricos. Primero debe extraerse la sal del alimento, ya sea mediante una calcinación cuidadosa a 500-550 °C (los cloruros alcalinos son relativamente solubles a temperaturas superiores), seguida de una disolución de las cenizas, o por ebullición del producto alimenticio en ácido nítrico diluido. En ausencia de ácidos el ion cloruro puede determinarse por el procedimiento de Mohr y en presencia de éstos por el procedimiento de Volhard. En la norma mexicana NMX-F-360-S-1981. Alimentos para humanos. Determinación de cloruros como cloruro de sodio (Método de Volhard) se menciona este procedimiento para alimentos para consumo humano.⁴

Hasta la fecha se han desarrollado diferentes métodos analíticos para determinar cloruro y sodio en los alimentos. Los métodos oficiales, incluyendo los de Mohr y Volhard se describen detalladamente a continuación.¹²

II.3.1 Determinación de sodio

II.3.1.1 Fotometría de flama

En el análisis de sodio por fotometría de flama, la muestra se aspira por medio de un nebulizador que descarga la muestra en forma de aerosol (atomizada) a una flama. Los átomos de sodio son excitados en dicha flama y



pasan 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, específica para el análisis de este elemento.¹³

En el fotómetro de flama, 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 sodio, luego 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 en el detector, son directamente proporcionales a la concentración del sodio. El sodio presenta una emisión característica amarilla cuando se quema en el seno de una flama. En la figura II.4 se encuentra el esquema de un fotómetro de flama, en el cual aparece cada parte que lo compone y se muestra su funcionamiento.¹³

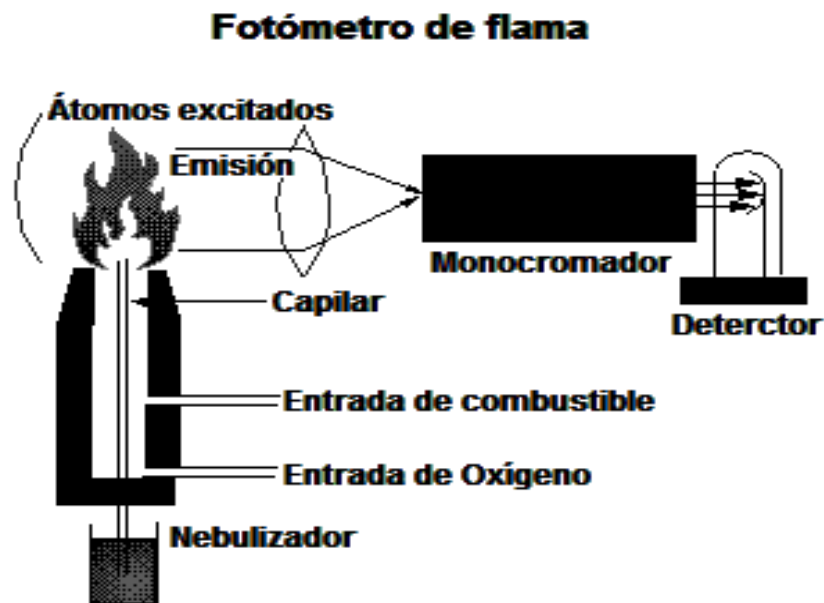


Figura II.4 Esquematización del funcionamiento de un fotómetro de flama.



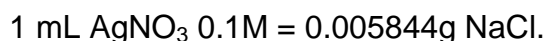
Es importante considerar que las partículas que contiene la muestra pueden tapar el mechero, por lo que se recomienda filtrarla antes de su análisis.

La fotometría es una técnica muy sensible con un límite de detección teórico del orden de 0.2 mgL^{-1} para sodio, también es muy selectiva, ya que existen filtros para analizar distintas sustancias según su composición.¹³

II.3.2 Determinación de cloruro

II.3.2.1 Método de Mohr

Se utiliza en determinaciones argentométricas de los iones cloruro (Cl^-), bromuro (Br^-) y cianuro (CN^-). En este método se titula la muestra de cloruros con una disolución estándar de nitrato de plata (AgNO_3) y con cromato de potasio (K_2CrO_4) como indicador. A medida que el cloruro de plata precipita en forma lechosa, se van consumiendo los iones cloruro en disolución, pero en el momento en que se consume la mayor parte de los cloruros o en el punto final, se forma el cromato de plata (Ag_2CrO_4), que tiñe de un color rojizo la disolución. La titulación por el método de Mohr se limita a disoluciones con valores de pH comprendidos entre 6 y 10. En disoluciones más alcalinas precipita el óxido de plata y en disoluciones ácidas, disminuye mucho la concentración de cromato, dado que el ion cromato ácido (HCrO_4^-) está poco ionizado.¹² En este método se utiliza la siguiente equivalencia:





Esta equivalencia permite realizar el cálculo de la cantidad de cloruro de sodio presente en la muestra ya que relaciona los mililitros del reactivo de nitrato de plata utilizado para la titulación con los gramos de cloruro de sodio en la muestra.

Las reacciones químicas que se llevan a cabo son las siguientes: ¹²

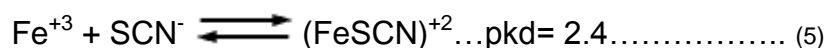
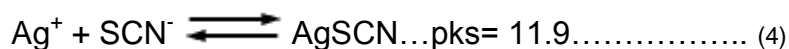
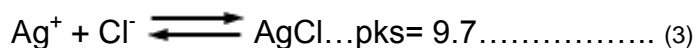


II.3.2.2 Método de Volhard

Se basa en la determinación indirecta de cloruros añadiendo un exceso de nitrato de plata (AgNO_3), el exceso de plata (Ag^+) se valora por retroceso con una disolución de tiocianato (SCN^-) y sulfato férrico como indicador que proporciona una coloración rojiza al punto final de la valoración.

La muestra sólida debe ser previamente calcinada según recomienda la norma mexicana NMX-F-360-S-1981 y después se disuelve en ácido nítrico (HNO_3) para realizar la titulación. El resultado obtenido se expresa como el por ciento de cloruros a manera de cloruro de sodio.⁴

Las reacciones químicas que ocurren en la determinación de cloruro son:





II.4 Técnicas instrumentales para la determinación de sodio y cloruro

Hoy en día, análisis químico significa análisis instrumental. Existen otras técnicas analíticas para determinar sodio y cloruro en muestras alimenticias que se encuentren en disolución. A pesar de que simplifican la cuantificación del sodio y cloruro ya que poseen excelentes límites de detección y son rápidas, cabe destacar que no todos los laboratorios pueden tener acceso a éstas técnicas, pues el equipo utilizado es caro. A continuación se describen brevemente algunas técnicas instrumentales para la determinación de sodio y cloruro.

II.4.1 Polarografía

El uso más frecuente de esta técnica es en el estudio de metales y de especies de coordinación. Precisamente debido a que las especies metálicas forman complejos de coordinación con el disolvente en que se encuentran, éstas muestran en polarografía un determinado y único potencial de media onda ($E_{1/2}$) que corresponde a la mitad de la corriente límite. Este valor de potencial es único para cada especie por lo que resulta una herramienta de interés para identificar la especie analizada. Casi cualquier metal puede ser estudiado por esta técnica.

El equipo básico consiste en un electrodo de gota de mercurio, una celda de reacción, una fuente de poder, un multímetro y un sistema de martilleo, además de un graficador.¹⁴ Es considerada un técnica cuantitativa debido a que la intensidad de corriente que produce una especie electroactiva es proporcional a su concentración en el medio.¹⁴



II.4.2 Electroforesis

La electroforesis es una técnica para la separación de moléculas según la movilidad de estas en un campo eléctrico. La separación puede realizarse sobre la superficie hidratada de un soporte sólido (electroforesis en papel o en acetato de celulosa), a través de una matriz porosa (electroforesis en gel), o bien en disolución (electroforesis libre). Dependiendo de la técnica que se use, la separación obedece en distinta medida a la carga eléctrica de las moléculas y a su masa.

La gran mayoría de macromoléculas están cargadas eléctricamente y, al igual que los electrolitos, se pueden clasificar en fuertes y débiles dependiendo de la constante de ionización. Cuando una mezcla de moléculas ionizadas y con carga neta son colocadas en un campo eléctrico, estas experimentan una fuerza de atracción hacia el polo que posee carga opuesta, dejando transcurrir cierto tiempo las moléculas cargadas positivamente se desplazarán hacia el cátodo (el polo negativo) y aquellas cargadas negativamente se desplazarán hacia el ánodo (el polo positivo).¹³

II.4.3 Cromatografía de líquidos de alta precisión

Conocida como HPLC (High Performance Liquid Chromatography por sus siglas en inglés), es un método físico de separación basado en la distribución de los componentes de una mezcla entre dos fases inmiscibles, una fija o estacionaria y otra móvil. En la cromatografía líquida, la fase móvil es un líquido que fluye a través de una columna que contiene a la fase fija.²³



La cromatografía de aniones con supresión iónica consiste en la separación de una mezcla de aniones por intercambio iónico y su detección por conductividad eléctrica. Se deben utilizar supresores iónicos de membrana para que todos los cationes H^+ sean sustituidos y así eliminar su conductividad eléctrica que enmascara al analito. La cromatografía catiónica con supresión iónica se lleva a cabo de forma similar que la aniónica, a diferencia que el supresor de membrana se sustituye por una columna de intercambio aniónico, cargada con OH^- para neutralizar el efecto de los H^+ .¹³

II.4.4 Absorción atómica

En esta técnica las muestras se vaporizan a 2000-6000 K, y la concentración de átomos se determina midiendo la absorción o la emisión a longitudes de onda características. La muestra se aspira hasta una llama, que tiene una temperatura de 2000-3000 K. el líquido se evapora, y las partículas sólidas resultantes se atomizan en la llama. La radiación de frecuencias específicas son absorbidas por los átomos de Fe procedentes de una lámpara de cátodo hueco, por último, los átomos de Fe son excitados y se vaporizan, emitiendo luz con la misma frecuencia que el analito. Un detector mide la cantidad de luz que atraviesa la llama para registrar un valor de absorbancia y así poder calcular la concentración.¹³



II.4.5 Espectrometría de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente

Se conoce como ICP (Inductively Coupled Plasma por sus siglas en inglés). Esta técnica introduce el uso del plasma inductivamente acoplado y el plasma acoplado directamente. El plasma es generado por el gas argón que es el comburente y el gas nitrógeno que es un acarreador, adicionalmente es asistido por un gas de corte que es aire. El ICP permite analizar por efectos de ionización en elevadas temperaturas de plasma (8000 K) inducido en campo magnético casi la totalidad del sistema periódico exceptuando sodio, potasio y gases nobles.¹⁵

El fundamento del método es parecido a la técnica de absorción atómica, se basa en la vaporización, disociación, ionización y excitación de los diferentes elementos químicos de una muestra en el interior de un plasma. La ventaja analítica del ICP se basa en su capacidad de analizar una gran cantidad de analitos en un período corto con muy buenos límites de detección para la mayoría de los elementos. También que los elementos pueden ser analizados en forma axial para bajos límites de concentración, o radial para elevadas concentraciones.¹⁵

II.5 Potenciometría

Las técnicas electroanalíticas son procesos instrumentales empleados para distintos análisis. Asimismo, utilizan todas las propiedades electroquímicas con las que cuenta una determinada disolución para precisar debidamente la concentración que ésta posee de un analito. Esta técnica es muy sensible,



precisa, exacta y versátil. La potenciometría es una técnica electroanalítica encargada de determinar la concentración de una especie en una disolución, midiendo directamente el potencial con el que está directamente relacionada, mediante una conocida función logarítmica conocida como ecuación de Nernst (ecuación 6).¹³

$$E = E^0 + \frac{2.3RT}{nF} \log \frac{a_{ox}}{a_{red}} \dots \dots \dots (6)$$

Donde:

E= Potencial medido (mV)

n= valencia del ion

E⁰= Potencial de referencia (mV)

F= constante de Faraday

R= constante de los gases

a_{ox}= actividad del oxidante

T= temperatura absoluta (K)

a_{red}= actividad del reductor

La potenciometría a intensidad de corriente impuesta es ampliamente utilizada; en esta técnica se fuerza a que tenga lugar una reacción en la dirección que no es espontánea mediante una corriente eléctrica impuesta. Se debe conocer el potencial de la reacción (E), por lo que se aplica un voltaje mayor y así se obliga a que la reacción transcurra en el sentido deseado.¹³

Con la potenciometría es posible analizar fácilmente la mayoría de las muestras líquidas y gaseosas. Los límites de detección son de aproximadamente 10⁻⁵ a 10⁻⁶ M para algunos electrodos convencionales. Las muestras sólidas se pueden analizar si son preparadas en forma de disolución; a las muestras que no se disuelven fácilmente (tales como alimentos, vegetales y productos farmacéuticos), se les deben extraer los iones para analizarlos.²³



El tiempo requerido para el análisis varía según el electrodo usado, el analito y la concentración del mismo. Un electrodo de respuesta rápida (como el electrodo de pH), se puede calibrar y usar para realizar la determinación de una muestra en 1 minuto o menos. Para electrodos de ion selectivos convencionales, los tiempos típicos de análisis de muestras (medidas iónicas) sin incluir el tiempo de calibración, varían de 15 a 60 segundos.¹³

Las limitaciones generales son las siguientes:

1. Hay muchos iones para los cuales no existe un electrodo selectivo.
2. La mayoría de los electrodos requiere calibración frecuente para usar en análisis cuantitativo preciso.
3. Se requiere a menudo una muestra regulada para evitar la interferencia OH^- / H^+ .
4. Se deben tener en cuenta los efectos de la matriz (esto es, diferencias en la fuerza iónica, electrolitos presentes en la muestra y su influencia sobre el potencial de unión y la presencia de especies que pueden arruinar la superficie activa del electrodo).

En la técnica se emplean dos elementos fundamentales; se utiliza un electrodo de referencia que mantiene el mismo potencial y por lo tanto, proporciona una relación con la medida del electrodo indicador.¹³

II.5.1 Electrodo de referencia

Se utilizan los que se describen a continuación.



II.5.1.1 Electrodo de calomel.

Este electrodo está formado por mercurio mezclado con una capa de cloruro insoluble (calomel) en equilibrio con una disolución de cloruro de potasio (KCl) que puede ser 0.1 M, 1 M o saturada. El contacto eléctrico con el mercurio se realiza por medio de un hilo de platino.¹³ Un esquema de este electrodo se presenta en la Figura II.5.

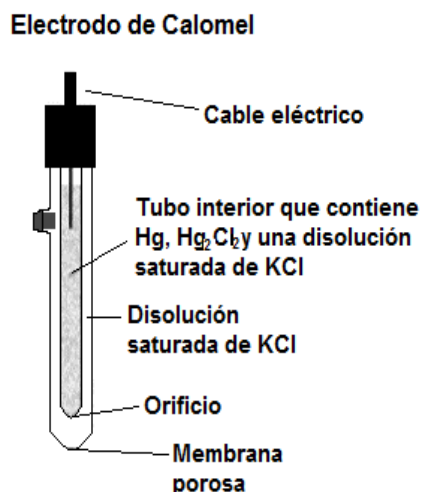
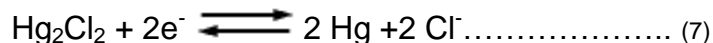


Figura II.5 Esquema del electrodo de referencia de calomel saturado.

El equilibrio del par redox se presenta a continuación (7):



II.5.1.2 Electrodo de plata/cloruro de plata (Ag/AgCl).

Está formado por un hilo de plata (Ag) sobre el cual se deposita cloruro de plata (AgCl), generalmente por vía electroquímica, en una disolución de cloruro de sodio (NaCl) o cloruro de potasio (KCl).¹³



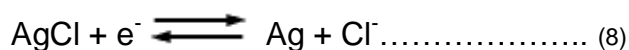
En la figura II.6 se muestra un esquema del electrodo de referencia de plata/ cloruro de plata.

Electrodo de plata



Figura II.6 Esquema del electrodo de referencia de plata /cloruro de plata, Ag/AgCl.

El equilibrio correspondiente se presenta en la ecuación 8 a continuación:



II.5.2 Electrodo de trabajo

Por otro lado, la potenciometría también necesita de la presencia de un electrodo de trabajo, que se caracteriza por contar con una gran sensibilidad hacia la especie electroactiva.

Para la determinación de iones el electrodo de trabajo consiste en una membrana que responde a un ión determinado, y que 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 actividad fija. Los electrodos de trabajo se pueden clasificar de acuerdo con el estado físico de la sustancia en: ¹³

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

Debido a que son considerados electrodos selectivos se describen detalladamente en la sección III.6.3.

II.6 Electrodos selectivos de iones (ISE)

II.6.1 Historia de los ISE

El crédito para el electrodo de vidrio con sensor de pH se da a Cremer que fue el primero que lo describió en 1906. En 1949, George Perley publicó un artículo sobre la relación de la composición del vidrio con la función del pH. El crecimiento comercial de ISE empezó cuando un ingeniero llamado John Riseman pensó en desarrollar un analizador de gas en sangre. Él se asoció con el Dr. James Ross, un electroquímico y juntos formaron “Orion Research”. A mitad de los años sesenta, la investigación de Orion era relacionada con los electrodos de calcio para el uso en los analizadores de gas en sangre. Desde entonces se han desarrollado numerosas sondas para el análisis de muestras que contienen muchos iones diferentes.²³



II.6.2 Características generales de los electrodos selectivos de iones.

La aplicación más conocida de la potenciometría directa es la utilización de lo que se conoce con el nombre de Electrodos Selectivos de Iones (ISE por sus siglas en inglés). Un electrodo selectivo de iones mide el potencial relativo de un ion específico en la disolución (el electrodo del pH es un ISE para el ion de Hidrógeno). Estos electrodos generan un potencial eléctrico por migración selectiva de un ion determinado a través de una membrana. Este potencial es medido contra un electrodo de referencia estable de potencial constante. La diferencia de potencial entre los dos electrodos dependerá de la actividad del ion específico en la disolución. Esta actividad se relaciona con la concentración de ese ion específico por medio de una curva de calibración.¹³

A continuación en la figura II.7 se muestra un esquema general de una celda con un electrodo selectivo de iones y el electrodo de referencia.

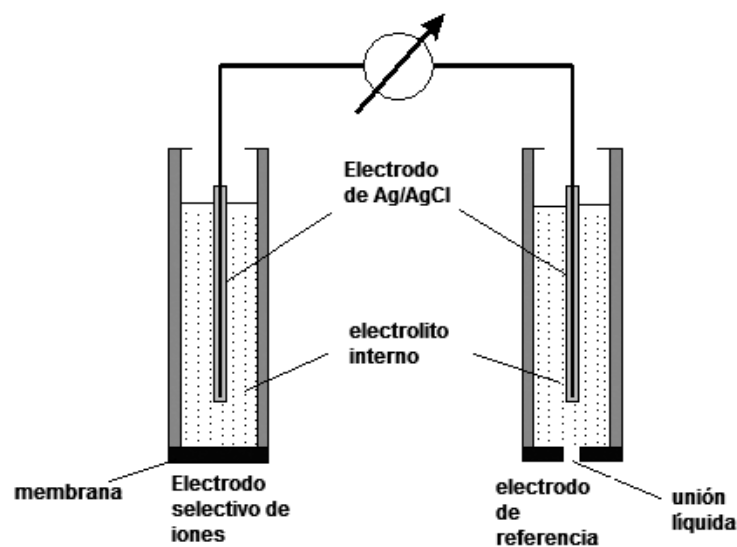


Figura II.7 Esquema de una celda con un electrodo selectivo de iones (ISE).



Existen electrodos selectivos sensibles a diferentes iones, aunque todos tienen en común que se basan en el establecimiento de una diferencia de potencial entre las dos caras de la membrana que separa 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. También que la diferencia de potencial establecida tiene como principal componente el cambio de energía libre asociada a la actividad del ion a analizar y que las determinaciones no son afectadas por el color o turbidez de la muestra.¹⁴

La selectividad es una de las características más importantes de un electrodo, ya que esto permite que el instrumento únicamente detecte el analito de interés, dejando fuera otros iones presentes en disolución.²¹

La mayoría de los iones presentes en la muestra, para los que la membrana no es permeable, es decir, que no es selectiva, no tienen efecto sobre la diferencia del potencial. Sin embargo, no existe una membrana selectiva para un solo tipo de iones. Por esta razón, el potencial de dicha membrana se rige por la actividad del ion principal y de otros iones conocidos como interferencias.¹³



La influencia de la presencia de iones que pueden interferir en la diferencia de potencial de la disolución de la muestra se toma en cuenta en la ecuación de Nikolski- Eisenman (9):

$$E = \text{cte.} + S \cdot (\log (a_x) + (z_x / z_y) \cdot \log (K_{xy} \cdot a_y)) \dots \dots \dots (9)$$

Donde:

S= pendiente obtenida de la curva de calibración del electrodo	z_x = carga del analito
a_x = actividad del analito	z_y = carga del ion interferente
a_y = actividad de iones interferentes	K_{xy} = coeficiente de selectividad

Debido a esto, la selectividad es un parámetro de suma importancia en un electrodo selectivo de iones, ya que sin considerar su influencia, no es posible obtener determinaciones confiables en la medición de la muestra. El coeficiente de selectividad (K_{xy}) que se introduce en la ecuación 9, la mayoría de las veces se expresa como el logaritmo de K_{xy} , los valores negativos indican que la membrana es preferentemente selectiva al ion de interés, los valores positivos indican que los iones interferentes sí afectan la determinación. Los coeficientes de selectividad experimentales dependen de la actividad, del tratamiento de la muestra y del método de determinación. Otro parámetro importante en la determinación por ISE es la pendiente de la parte lineal de la medida de la curva de calibración del electrodo. El valor teórico a 298K de acuerdo con la ecuación de Nernst es $59.16/n$.¹³



En la tabla 2.1 se presentan los iones interferentes en las determinaciones por ISE para los electrodos de sodio y cloruro.

Tabla 2.1 Iones interferentes para los electrodos de sodio y cloruro.

Iones interferentes para el electrodo de sodio ²⁴	Iones interferentes para el electrodo de cloruro ²⁵
Li ⁺	OH ⁻
K ⁺	Br ⁻
Rb ⁺	I ⁻
N como NH ₄	S ⁼
Ag ⁺	CN ⁻
Tl ⁺	NH ₃
	S ₂ O ₃ ⁼

Si en la muestra hay presentes iones que afecten al electrodo selectivo, este responderá tanto al ion de interés como a los iones interferentes, pero analizando la tabla 3.1 se puede notar que los iones interferentes para ambos electrodos son poco probables de encontrar en la muestra, por lo que no se verían afectadas las determinaciones realizadas en el extracto de queso panela.

II.6.3 Tipos de electrodos selectivos de iones

II.6.3.1 Electrodo de vidrio.

Se emplean para determinar pH y sodio. El electrodo de sodio fue el primer tipo de electrodo selectivo de membrana de vidrio que se desarrolló.¹³

Al sumergirse en una disolución absorbe agua, de modo que se forma una capa de hidratación sobre la superficie; la última construida a base de silicatos con modificadores iónicos. La parte interna de la membrana de vidrio, en contacto con la disolución interna de llenado, también se recubre de una capa de hidratación.



En la interfase, los cationes monovalentes situados sobre el vidrio, normalmente sodio y litio, 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 éste vidrio para reponer aquellos que se disolvieron en la parte externa hidratada.²³

La figura II.8 muestra el esquema característico de los electrodos de membrana de vidrio, como el electrodo de sodio, el cual en su forma combinada tiene un electrodo de referencia interno sumergido en un tampón con sales de sodio con una membrana de vidrio. Al introducir el electrodo en la disolución a analizar se origina la diferencia de potencial respecto al electrodo de referencia interno.²³

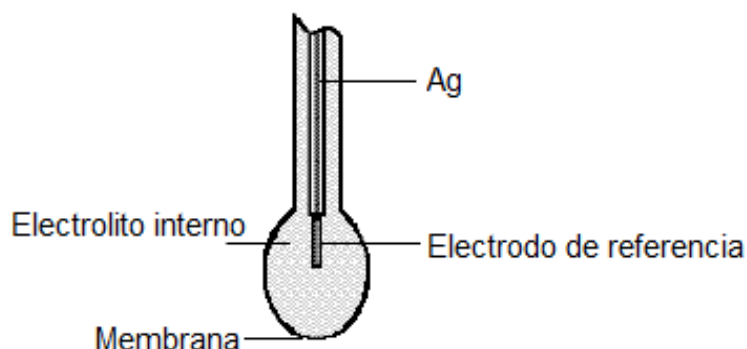


Figura II.8 Esquema del electrodo de membrana de vidrio (sodio).

II.6.3.2 Electrodo de membrana sólida

Aparecieron después de los de vidrio. El electrodo de cloruro es un electrodo de membrana sólida, con una membrana compuesta por cloruro de plata, que en



contacto con una disolución se disolverá ligeramente. Cuando la membrana 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.

En la figura II.9 aparece el esquema del electrodo de cloruro, cuya membrana está compuesta por cloruro de plata.²³

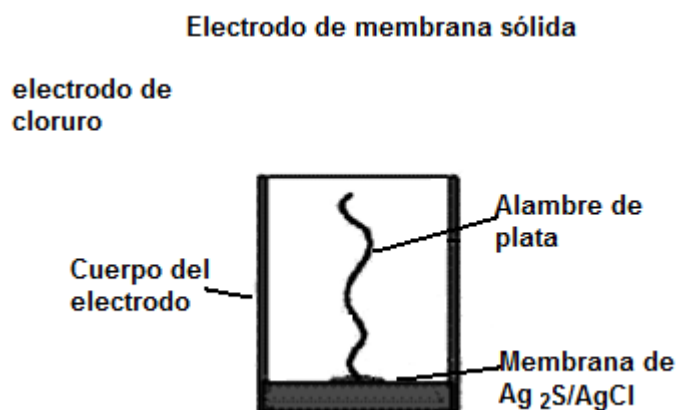


Figura II.9 Esquema del electrodo de membrana sólida (cloruro).

II.6.3.3 Electrodo de membrana líquida

En este tipo de electrodos la membrana es un líquido que tiene un disolvente inmisible 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. En este grupo se encuentran los electrodos de calcio y potasio.²³



La figura II.10 presenta un electrodo de calcio de membrana líquida con sus componentes principales.

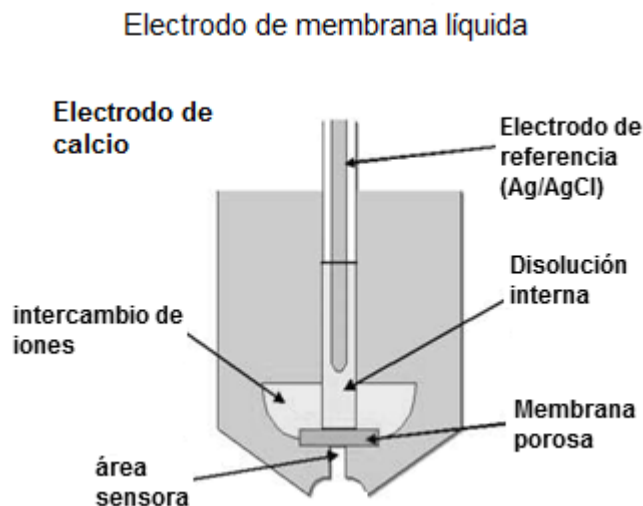


Figura II.10 Esquema del electrodo de membrana líquida (calcio)

II.6.3.4 Electrodo sensible a gases

Son electrodos específicos para iones usados conjuntamente con una membrana permeable a un gas, hecha de un material hidrofóbico a través de la cual pasa el gas. Se emplean por ejemplo para medir amonio (NH_4^+), dióxido de azufre (SO_2), ácido sulfuroso (H_2SO_3), anhídrido sulfúrico (SO_3), dióxido de nitrógeno (NO_2), dióxido de carbono (CO_2), ácido carbónico (H_2CO_3).²³

II.6.3.5 Electrodo enzimáticos

También conocidos como bioselectivos, están adaptados a muestras relacionadas con bioquímica o química de los alimentos. No tienen membrana, por lo cual no se obturan con sustancias en suspensión, y la superficie de contacto con la muestra se renueva cada vez. Actualmente existen en el mercado algunos



electrodos que miden glucosa, lactosa y sacarosa, mediante enzimas específicas como por ejemplo la glucosa oxidasa. Son válidos para un intervalo de concentraciones en los que la cantidad de glucosa es directamente proporcional a los productos finales de la química de la reacción.²³

II.6.4 Variables que afectan la determinación

El intervalo de respuesta lineal de un electrodo, ya sea a altas o muy bajas actividades del ion analizado, presenta desviaciones; la curva de calibración del electrodo exhibe el intervalo de la contestación lineal entre $10^{-1}M$ y $10^{-5} M$. Cada electrodo tiene un tiempo de respuesta típico de 20 a 30 segundos, pero variará de acuerdo con la concentración de la disolución.²¹ Se recomienda usar disoluciones estándar al establecer una curva de la calibración.^{21, 23}

A continuación en la figura II.11 se presenta un esquema de la curva de calibración típica de ISE para un catión monovalente, en donde se esquematiza la zona de trabajo lineal.

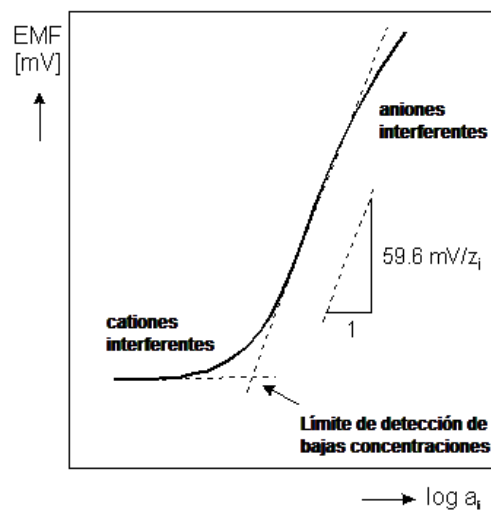


Figura II.11 Curva de calibración típica de un ISE de un catión monovalente.



Es importante también mencionar los efectos de la fuerza iónica, ya que en los ISE la ecuación de Nernst se cumple para disoluciones diluidas, en las que el factor 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.¹³

La fuerza iónica I se define como:

$$I = \frac{1}{2} \sum c_i z_i^2 \dots \dots \dots (10)$$

En la ecuación 10 se expresa como c_i a la concentración del ion y z_i su carga. Las disoluciones con igual fuerza iónica, idéntica composición de los iones mayoritarios, misma temperatura y disolvente tienen igual coeficiente de fuerza iónica. Para realizar las medidas, interesa obtener coeficientes de fuerza iónica similares en patrones y muestras para evitar confundir actividad con concentración, lo que se consigue añadiendo una sal concentrada no interferente, que es el tampón de ajuste de la fuerza iónica, al que se denomina ISA (por sus siglas en inglés Ionic Strength Adjustor).²²

La agitación al llevar a cabo las determinaciones por medición selectiva de iones es importante, esto permite exponer mejor los iones presentes en la disolución con la membrana del ISE. Es mejor seleccionar una velocidad constante y debe evitarse una agitación turbulenta. Del mismo modo, el ajuste del pH en muchos casos es necesario para obtener determinaciones más exactas y repetibles.²²



De la ecuación de Nernst se deduce que el potencial desarrollado por el sistema es directamente proporcional a la temperatura. Una de las reglas del análisis con electrodos selectivos es que todas las muestras deben analizarse a la misma temperatura. Y por último, es necesario enjuagar el ISE entre las medidas para asegurar las lecturas exactas, de esta forma evitamos depósitos de grasa o proteínas en la superficie, esto debe realizarse con agua desionizada o ácido nítrico (HNO_3).²²

II.7 Métodos de calibración

II.7.1 Estandarización externa

El método de estandarización externa es el método más utilizado en el análisis cuantitativo; consiste en elaborar diferentes disoluciones del ion que se va a analizar de concentraciones crecientes, posteriormente se realiza la lectura en milivolts (mV) de cada una de las disoluciones, se elabora un gráfico de la lectura obtenida en milivolts contra la concentración de la muestra. A partir de este gráfico se obtiene mediante una regresión lineal la ecuación de la recta.

Después se realiza el análisis de las muestras, se obtiene una lectura en milivolts, que se extrapola a la curva realizada con los estándares por medio de la ecuación de la recta obteniendo como resultado la concentración de las muestras analizadas, siempre y cuando se encuentre dentro del intervalo de concentración de los estándares.¹³



II.7.2 Adiciones patrón

En el método de adiciones patrón o estándar se utiliza como patrón el mismo elemento que se quiere analizar. En una serie de matraces volumétricos se agrega un mismo volumen de muestra a analizar, como se representa en la figura II.12, se añaden cantidades diferentes de patrón y se llevan al aforo todas las disoluciones al mismo volumen para que la muestra tenga así la misma concentración. Se representa el potencial obtenido frente a cada concentración de patrón añadido, obteniéndose una línea recta.¹³ El potencial obtenido cuando la concentración de patrón añadida es cero se extrapola, la abscisa en el origen será el valor de la concentración de la muestra.

Este método tiene como ventaja que las sustancias que se encuentran en la muestra van a acompañar a todos los patrones.



Figura II.12. Esquematización del método de adición patrón.



Una ventaja que tienen los ISE es que las adiciones se pueden realizar gradualmente en el mismo vaso de precipitados, midiendo el potencial cada vez y considerando el efecto de la dilución por la adición de la disolución estándar que por lo general es pequeña.¹³

II.7.3 Determinación simplificada

Existe una forma de determinar la concentración de iones en una muestra por ISE, la cual se propone en el manual de los electrodos; es por medio de una fórmula. El procedimiento es similar a adiciones patrón, pero en este caso sólo se utilizan dos puntos correspondientes a dos adiciones efectuadas a la muestra, a fin de establecer una diferencia de potencial. La calibración del electrodo debe realizarse, pues el valor de la pendiente obtenida por medio de la curva de calibración también es considerado. Una vez obtenida la concentración por medio de la ecuación 11, que proviene de la expresión de Nernst, se debe considerar el efecto de dilución. Esta ecuación proporciona valores muy confiables debido a que los electrodos muestran una respuesta lineal muy precisa.²⁴

$$C_{\text{muestra}} = \frac{p}{(1+p) 10^{\Delta E/s} - 1} * C_{\text{std}} \dots \dots \dots (11)$$

Donde:

C_{muestra} = concentración de la muestra s = pendiente del electrodo

C_{std} = concentración estándar $p = \frac{\text{Vol. std}}{\text{Vol. Muestra}}$

ΔE = cambio en mV Vol. Muestra



II.7.4 Patrón interno

Un patrón interno es una sustancia que se añade a todas las muestras, blancos y patrones de calibrado en una cantidad fija. También puede ser un componente mayoritario de las muestras que se agrega a los patrones en una concentración lo suficientemente elevada como para que se pueda considerar que es la misma en todos los casos. En este caso, el calibrado es una representación gráfica ajustada del cociente entre la señal del analito y la señal del patrón interno. En las muestras, este cociente se utiliza para determinar la concentración del analito a partir de una curva de calibrado.¹⁵

El patrón interno deberá dar una señal similar a la del analito en la mayoría de los casos. La ventaja de este método es que cualquier interferencia posible va a afectar de igual forma al patrón que a la muestra que se analiza, por lo que van a poder eliminarse sus efectos. En este método es importante el uso de los espectrofotómetros de doble haz, lo que lo hace caro, además de que es difícil encontrar la sustancia que servirá como patrón interno y lograr incorporarla en las muestras y patrones de forma reproducible.¹⁵

II.8 Aplicaciones de ISE en alimentos

A continuación se describen algunas aplicaciones de los ISE en diferentes tipos de alimentos

En un estudio realizado por Kindstedt y cols. (2) se analizaron quesos tipo mozzarella, camembert, suizo, gouda, muenster, cheddar y ricotta simultáneamente por el método de ISE y por el método de Volhard (método oficial de la AOAC).



Se demostró que la determinación de sodio y cloruro por el método de ISE resultó ser muy sencilla, repetible, reproducible y más simple que el método de Volhard, mostrando resultados similares. La ventaja más importante del método ISE es que se realizó la cuantificación de sodio y cloruro en el mismo extracto de queso.

La determinación de sodio en quesos de diferentes regiones de España (la Mancha, la Rioja, Cantabria, Idiazabal, Valladolid, Burgos, Avila, Badajoz, Espinoza, Palencia, etc.) por medio de un método potenciométrico, y por medio de espectrometría de absorción atómica arrojó concentraciones muy similares. La extracción de sodio se realizó pesando 1g de muestra del queso, luego adicionando 50mL de una disolución de ácido nítrico 0.1M, calentando el extracto a 80°C. Finalmente, se filtró y se neutralizó el extracto con una disolución 4M de trietanolamina y se llevó al aforo al volumen deseado. Las determinaciones de ISE se realizaron por adición patrón arrojando un coeficiente de variación de 1.3%, mientras que por absorción atómica, un coeficiente de variación de 7.2%, lo cual sirvió para concluir que ISE es más preciso, sencillo y requiere una cantidad mínima de muestra. Por estas razones, se recomienda ampliamente la determinación de sodio en quesos por ISE en la industria alimenticia.²⁶

En otro protocolo reportado en la literatura para el análisis de cloruro en productos cárnicos²⁷, se realizó la extracción también con agua acidificada, pero esta vez con 6.5 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0.05M, para 1g de carne. El extracto se calentó a 80°C con agitación constante, posteriormente se filtró sin



neutralizar, pues el volumen de ácido y la concentración fueron bajos, además se llevó al aforo a 100 mL, lo cual diluyó aún más la muestra proporcionando un pH adecuado para trabajar con ISE sin necesidad de utilizar un buffer. Los resultados obtenidos fueron bastante cercanos a lo esperado; en el caso de cloruro se encontró una concentración similar a la determinada por el método de Volhard. ISE arrojó un coeficiente de variación de 2.3%, mientras que por el método de Volhard fue de 3.2%, lo cual permitió concluir que el método ISE es adecuado para determinar cloruro en muestras de productos cárnicos.

Se documentó un estudio entre laboratorios en el cual se analizó solamente queso tipo Gouda,²⁸ para el cual se sabía que el contenido de cloruro era de 1-2%. El estudio se realizó en 7 laboratorios diferentes utilizando 3 métodos de determinación diferentes: 1) oxidación con permanganato de potasio (KMnO_4) y ácido nítrico (HNO_3) seguido de una titulación con el método de Volhard; 2) el mismo procedimiento mencionado pero precipitando el halogenuro como cloruro de plata (AgCl) antes de la titulación y 3) realizando la determinación potenciométrica de un extracto de queso obtenido utilizando agua como disolvente y calentando a 80°C . Los datos obtenidos se analizaron con métodos estadísticos desarrollados por la AOAC, la repetibilidad resultó adecuada en los 3 métodos intra laboratorio e inter laboratorios; resultó muy similar entre el método de Volhard con precipitación (2) y el método potenciométrico (3), pero la determinación directa por el método de Volhard (1) resultó más variable.



Mediante este sencillo pero exhaustivo estudio se logró corroborar la precisión y exactitud del método ISE, pues las muestras analizadas en diferentes laboratorios resultaron repetibles y reproducibles.

La determinación de sodio y potasio también se ha documentado en vinos por medio de ISE,²⁹ esto se realizó con 63 muestras de distintos tipos de bebidas españolas (rosado, tinto y blanco). Los resultados obtenidos por ISE se compararon respecto a los obtenidos por absorción atómica, que es el método que comúnmente se utiliza para determinar estos iones en vinos. Se logró una buena correlación con los 2 métodos de análisis, además de que se estudió también la sensibilidad, efectos de la fuerza iónica, pH y cantidad de alcohol. Se demostró que ISE es un método sensible, reproducible, exacto y preciso para determinar estos iones en vinos.

El fluoruro en bebidas carbonatadas y no carbonatadas se determinó mediante un electrodo de ion selectivo de membrana sólida. Se construyeron las curvas de calibración, con un electrodo sensible a fluoruro y el electrodo de calomel como referencia; se escogieron bebidas carbonatadas con distintos valores de pH y con diferente composición y complejidad en la presencia de componentes orgánicos e inorgánicos a fin de demostrar la capacidad y selectividad del electrodo para determinar iones fluoruro libres en las bebidas.³⁰

Por último, se documentó un estudio sencillo y confiable utilizando la potenciometría para el análisis rápido de cloruro en muestras de leche entera y agua de coco. Este método arrojó buena precisión (1.2% para la leche entera y



2.3% para agua de coco), rapidez en las mediciones por FIA (90 determinaciones / h) y se trabajó por debajo de la región en la cual responden linealmente los electrodos a la ecuación de Nernst. La validación de los resultados se realizó mediante comparación con electroforesis capilar. Para todos los análisis no se observó diferencia significativa en un 95% de confianza.³¹



III. OBJETIVOS

III.1 Objetivo general

Desarrollar y validar una metodología analítica basada en la medición selectiva de iones para determinar el contenido de sodio y cloruro en queso panela de diferentes marcas comercializadas en la Ciudad de México y comparar las concentraciones obtenidas con las indicadas en la etiqueta de los productos.

III.2 Objetivos particulares

1. Establecer las condiciones de extracción y análisis de sodio y cloruro en queso panela por medio de una extracción con disolvente acuoso y la técnica de medición selectiva de iones.
2. Realizar la validación de la metodología analítica mediante la evaluación de la linealidad, precisión y exactitud con la técnica ISE.
3. Cuantificar el sodio y cloruro presente en quesos panela nacionales comúnmente consumidos en México.
4. Comparar las concentraciones de sodio obtenidas por ISE con la información indicada en la etiqueta de los quesos y con los resultados obtenidos por flamometría.
5. Obtener la relación molar existente entre el sodio y el cloruro presente en los quesos estudiados para evaluar la adición del cloruro de sodio.



IV. DESARROLLO EXPERIMENTAL

IV.1 Materiales

IV.1.1 Equipos y aparatos

Los equipos y aparatos utilizados para efectuar la medición selectiva de iones fueron los siguientes:

- Medidor de iones Orion 4-Star THERMO ELECTRON (Massachusetts, USA) con electrodos combinados selectivos de cloruro (Orion 96-17) y sodio (Orion 84-11) comandados con el “software” Star Navigator²¹ 2005 de Thermo Electron Corporation, Version 1.0.
- Baño ultrasónico BRANSON 1510 (Milwaukee, USA).
- Micropipetas EPPENDORF (Ontario, Canadá), con capacidad de 100-1000 μL y 1-5 mL.
- Parrilla de calentamiento y agitación DAIGGER (Milwaukee, USA).
- Desionizador y purificador de agua Simplicity MILLIPORE (París, Francia)
- Balanza analítica Adventurer PRO OHAUS, con una precisión de 0.01g. (Zurich, Alemania).
- Fotómetro de flama JENWAY PFP7 (Dunmow, Essex, USA) para el análisis del ion sodio.
- Mufla HEVY DUTY Electronic Co. (Milwaukee, Wis.)
- Matraces Erlenmeyer 50 y 125 mL, matraces aforados de 25, 50 y 100 mL, vasos de precipitados de 100 y 250 mL, probeta de 100 mL, barra de



agitación magnética, embudo de filtración rápida, filtro Whatman #41, espátula, mechero de Bunsen, crisoles, piseta de plástico, pinzas.

IV.1.2 Reactivos

Se utilizaron los siguientes reactivos:

- Cloruro de amonio (NH_4Cl), hidróxido de sodio (NaOH), cloruro de sodio (NaCl), nitrato de sodio (NaNO_3) todos marca SIGMA- ALDRICH y de grado R.A. (St. Louis, USA) para la preparación de ajustadores de fuerza iónica (ISA por sus siglas en inglés), disoluciones de llenado y de almacenamiento de electrodos. También se utilizaron estándares de cloruro de sodio (NaCl) con 99% de pureza; secado durante 2 horas a 140°C , ácido sulfúrico (H_2SO_4) 18M y ácido nítrico (HNO_3) 16M marca J.T. BAKER, agua desionizada.

IV.1.3 Muestras

Se analizaron 15 quesos panela de distintas marcas nacionales, se adquirieron en distintos supermercados del Distrito Federal, considerando que cumplieran con la NOM-051-SCFI-1994, en la cual se establece que se debe declarar la información nutrimental en el etiquetado de los productos. Para comparación, también se incluyó un queso de tipo “artesanal”, el cual se adquirió en un “tianguis” del Distrito Federal, sin etiqueta, ni marca por lo cual se desconocía el contenido aproximado de los iones en estudio.



De los dieciséis quesos analizados; doce fueron de tipo panela normal y tres fueron reducidos en grasa “light”. Para cada producto se adquirieron tres lotes distintos.

Detalles de las muestras comerciales se presentan en la tabla 4.1 a continuación.

Tabla 4.1 Muestras de queso analizadas. Contenido de sodio reportado en la etiqueta, contenido de sodio por gramo de queso y concentración de sodio esperada en un extracto de 100 mL.

Queso	Peso del producto (g)	Sodio / porción en etiqueta (mg/g)	mg de sodio / g de queso	Concentración de sodio en 100 mL de extracto (mgL ⁻¹)
A	400	629/100	6.29	62.9
B*	400	472/100	4.72	47.2
C	375	760/100	7.6	76
D	400	273/50	5.46	54.6
E	400	600/100	6	60
F	250	360/40	9	90
G	200	180/30	6	60
H*	200	180/30	6	60
I	400	550/100	5.5	55
J	400	629/100	6.29	62.9
K	200	640/100	6.4	64
L	400	640/100	6.4	64
M*	200	150/100	1.5	15
N	A granel	600/100	6	60
O	A granel	140/20	7	70
P**	A granel	NR	NR	NR

*Queso panela “light”

**Queso panela artesanal

En todos los casos se tomó 1g de queso y se extrajo con 100 mL de agua desionizada.



IV.2 Métodos

A continuación en la figura IV.1 se muestra un diagrama general de la secuencia de ensayos realizados para desarrollar la metodología ISE para la determinación de sodio y cloruro en queso panela.

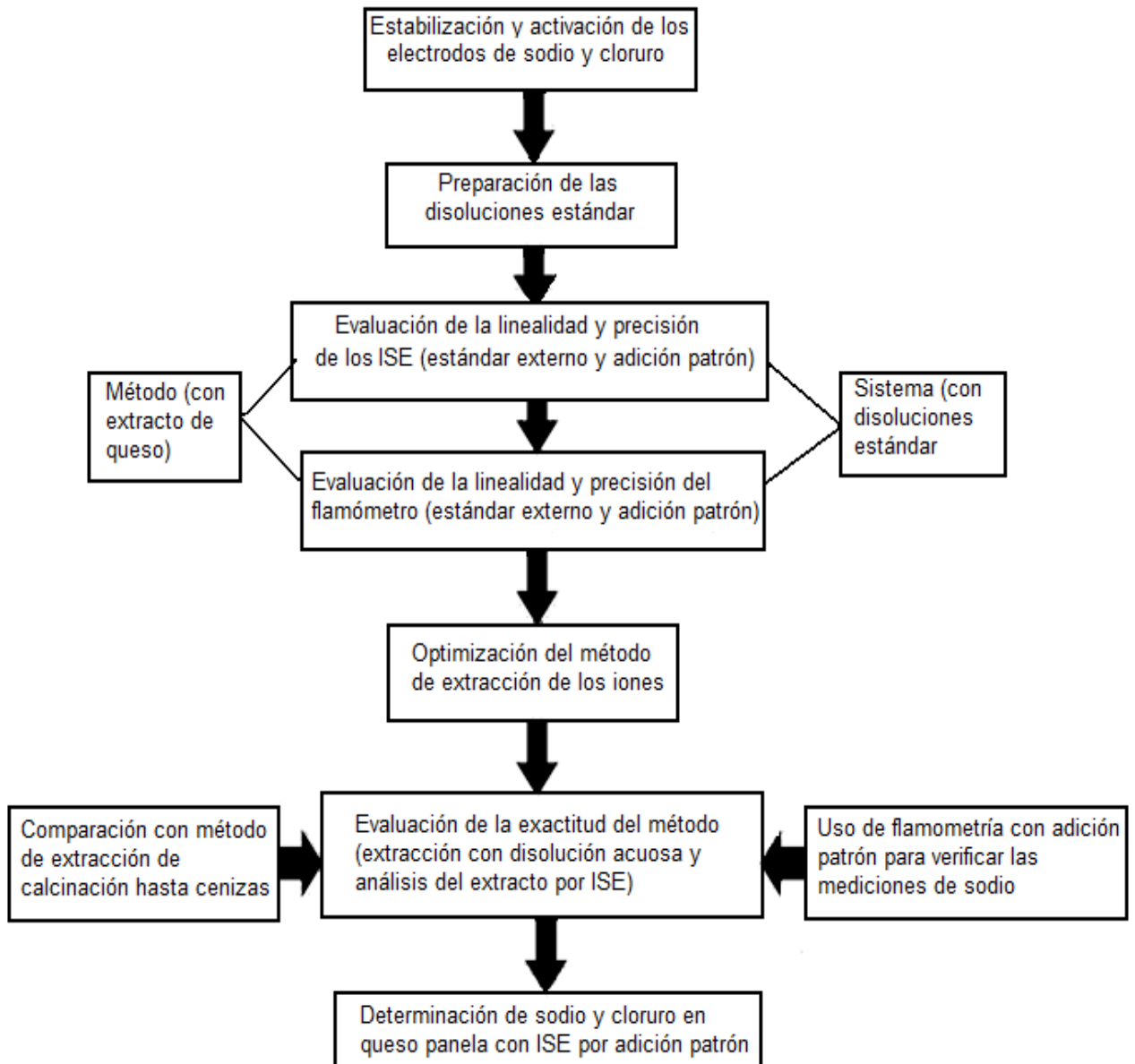


Figura IV.1 Diagrama general de los ensayos realizados para establecer la metodología ISE.



IV.2.1 Estabilización y activación de los electrodos de sodio y cloruro.

Los electrodos fueron estabilizados y activados sumergiéndolos por 72 horas en disolución de almacenamiento. Posteriormente se evaluó la respuesta en la pendiente antes de ser utilizados. Para esto se prepararon 25 mL de 2 disoluciones estándar a los niveles extremos de la concentración a evaluar (10 y 100 mgL⁻¹ para sodio); partiendo de una disolución de 1000 mgL⁻¹, a ambas disoluciones se les agregó 2.5 mL de ajustador de fuerza iónica (ISA) para sodio antes de llevar al aforo. Para cloruro se prepararon 2 disoluciones estándar de 10 y 1000 mgL⁻¹, se les agregó a ambas disoluciones 0.5 mL del ajustador de fuerza iónica (ISA) antes de llevar al aforo.

Después de efectuar las lecturas de las medidas en mV que proporcionaron los electrodos con estas disoluciones, la respuesta de la pendiente del electrodo se consideró apropiada hasta que se encontró entre 54-60 mV; valor reportado por el manual de los electrodos.

IV.2.2 Estándares

Para la calibración por ISE con estándar externo con ambos electrodos selectivos se prepararon 25 mL de 5 disoluciones de diferentes concentraciones (10, 30, 50, 70 y 100 mgL⁻¹), a partir de una disolución de 1000 mgL⁻¹. Para la calibración por adición patrón se utilizó una disolución concentrada de 1000 mgL⁻¹ la cual se adicionó a una alícuota de 25 mL de las “muestras sintéticas” (de aprox. 60 mgL⁻¹) y también a los extractos, en pequeños volúmenes (0.25 mL). Las



“muestras sintéticas” fueron disoluciones estándar preparadas a la concentración esperada en el extracto real.

Para la determinación por medio del método simplificado (adición patrón con sólo 2 mediciones) se utilizó una “muestra sintética” de 60 mgL^{-1} o un extracto de queso a los cuales se les adicionó la disolución concentrada de 1000 mgL^{-1} en un volumen de 0.5 mL a fin de obtener una concentración final de 80 mgL^{-1} . La concentración se obtuvo por medio de la fórmula 11 anteriormente descrita (sección III.7.3). A todas las disoluciones estándar preparadas y a los extractos se les agregó 2.5 mL de ISA en 25 mL para sodio y 0.5 mL de ISA en 25 mL para cloruro antes de llevar al aforo.

Para la calibración de sodio por flamometría con el método de estándar externo se prepararon 25 mL de 4 disoluciones estándar de diferente concentración (2, 4, 5, 6 mgL^{-1}) partiendo del estándar de 1000 mgL^{-1} . Para la calibración por el método de adición patrón por flamometría se utilizó una disolución estándar de 100 mgL^{-1} para realizar la adición de 0.25 mL a una alícuota de 25 mL de una “muestra sintética” de 2 mgL^{-1} o a un extracto real.

IV.2.3 Linealidad y precisión del sistema ISE para sodio y cloruro.

IV.2.3.1 Método de estándar externo

Para evaluar la linealidad del sistema ISE de ambos iones se obtuvieron 3 curvas de calibración realizadas el mismo día para evaluar la repetibilidad en el intervalo de concentraciones que se esperaba se encontraran los extractos de las muestras de quesos. Después de medir el potencial de cada una de las



disoluciones estándar, se graficó el potencial obtenido en mV (E) vs. Logaritmo de la concentración (mgL^{-1}) del estándar. A partir de esta gráfica se obtuvo la ecuación de la recta y el coeficiente de correlación lineal (R^2). Se obtuvo también el coeficiente de variación (CV) de la pendiente y la ordenada al origen para evaluar la repetibilidad en las curvas.

También se realizaron 3 curvas de calibración en 3 días distintos para evaluar la reproducibilidad en la linealidad. A partir de las medidas del potencial de cada una de las disoluciones estándar, se graficó el potencial en mV obtenido (E) vs. Logaritmo de la concentración del estándar. Se obtuvo la ecuación de la recta y el coeficiente de correlación lineal (R^2). Se obtuvo también el coeficiente de variación (CV) de la pendiente y la ordenada al origen.

Para evaluar la precisión en las mediciones por estándar externo se prepararon 200 mL de una disolución de 60 mgL^{-1} , se le adicionó ISA antes de llevar al aforo y después se dividió en 5 alícuotas de 25 mL, a cada alícuota se le midió el potencial y se extrapoló en la curva de calibración a fin de obtener la concentración; esto se realizó el mismo día para evaluar la repetibilidad, se obtuvo el promedio de la concentración medida, desviación estándar (DE) y coeficiente de variación (CV). Para evaluar la reproducibilidad en las medidas de ambos electrodos se prepararon 200 mL de una disolución de 60 mgL^{-1} de la misma forma que se describe anteriormente, también se dividió en 5 alícuotas, pero esta vez la medida del potencial de cada fracción se realizó en 5 días diferentes. Se



obtuvo el promedio de la concentración medida, desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación (CV).

IV.2.3.2 Método de adición patrón

Se prepararon 100 mL de una disolución estándar que simulara la concentración de un extracto (60 mgL^{-1}), a la cual se le adicionó 1 mL de un estándar de 1000 mgL^{-1} y se registró el potencial.

Este procedimiento se realizó tres veces, para obtener las concentraciones que se muestran en la figura IV.2, sin considerar el efecto de dilución.

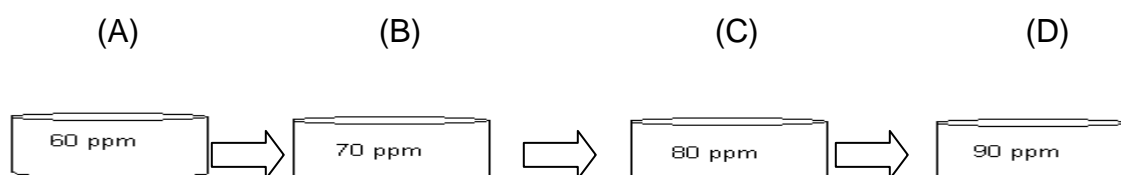


Figura IV.2 Diagrama que representa las concentraciones sin adición (A) y con adición sucesiva de 1 mL de un patrón de 1000 mgL^{-1} (B, C, D).

Después de cada adición se midió la respuesta del electrodo en la disolución y se obtuvieron las curvas de calibración por triplicado. Se ajustó la ecuación de la recta y se obtuvo también el coeficiente de correlación lineal (R^2), se evaluó el coeficiente de variación (CV) de la pendiente y la ordenada al origen para conocer la repetibilidad en las curvas. Para evaluar la reproducibilidad en la linealidad se realizó el mismo procedimiento descrito, sólo que esta vez el análisis se hizo durante 3 días distintos.

La precisión en las mediciones de concentración por adición patrón se evaluó con una disolución estándar de 200 mL de concentración cercana a 60



mgL^{-1} a la que se le agregó ISA y se dividió en fracciones de 25 mL. A estas disoluciones se les midió el potencial y posteriormente a cada fracción por separado se le adicionó 0.5 mL de un estándar de 1000 mgL^{-1} para que aumentara la concentración de 60 a 80 mgL^{-1} . Se registró el cambio de potencial obtenido al adicionar el estándar y se determinó la concentración por medio de la fórmula 11. Este procedimiento se realizó 5 veces en el mismo día para evaluar la repetibilidad y en diferentes días para evaluar la reproducibilidad. Se obtuvo el promedio de la concentración medida, desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación (CV).

IV.2.4 Linealidad y precisión del sistema flamométrico para sodio

IV.2.4.1 Método de estándar externo

La flamometría se utilizó como técnica de verificación de las determinaciones ISE para el caso del sodio. Para evaluar la linealidad del sistema se realizó una curva de calibración con las disoluciones estándar con una concentración máxima de 6 mgL^{-1} , para seguir la recomendación del manual que indica no utilizar disoluciones más concentradas. Entonces, antes de iniciar las lecturas de las disoluciones estándar, se ajustó a 0 la lectura del aparato con un blanco constituido por agua desionizada y posteriormente se ajustó la señal al máximo de concentración (100%) con una disolución de 6 mgL^{-1} , hasta obtener para ambos casos lecturas estables. Se obtuvieron 3 curvas de calibración por estándar externo con disoluciones estándar en el intervalo de concentraciones de 0 a 6 mgL^{-1} de sodio. Se midió la absorbancia de cada una de las disoluciones



estándar, se graficó la absorbancia (A) vs. Concentración del estándar (mgL^{-1}) y se ajustó la ecuación de la recta por medio de una regresión lineal y se obtuvo también el coeficiente de correlación lineal (R^2). Se evaluó el coeficiente de variación (CV) de la pendiente y la ordenada al origen para evaluar la repetibilidad en los parámetros de las curvas.

También se realizaron 3 curvas de calibración utilizando el método de estándar externo, durante 3 días distintos para evaluar la reproducibilidad en la linealidad. Se ajustó la ecuación de la recta por medio de una regresión lineal y se obtuvo también el coeficiente de correlación lineal (R^2). Se evaluó el coeficiente de variación (CV) de la pendiente y la ordenada al origen para conocer la reproducibilidad de las curvas de calibración.

Para evaluar la precisión en las mediciones de concentración por estándar externo se preparó una disolución de 2 mgL^{-1} , se dividió en 5 alícuotas de 25 mL, cada alícuota se sometió a la determinación por flamometría, el resultado de la absorbancia obtenida se extrapoló a la curva de calibración a fin de obtener la concentración, esto se realizó el mismo día para evaluar la repetibilidad, se obtuvo el promedio de la concentración medida, desviación estándar (DE) y coeficiente de variación (CV). Para evaluar la reproducibilidad en las mediciones de concentración del flamómetro se preparó una disolución de 2 mgL^{-1} de la misma forma que se describe anteriormente, también se dividió en 5 alícuotas, pero esta vez la medida de la absorbancia se realizó en 5 días diferentes. Se obtuvo el



promedio de la concentración medida, desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación (CV).

IV.2.4.2 Método de adición patrón

Se calibró el aparato como se menciona en la sección anterior (flamometría estándar externo) y se realizaron 3 curvas de calibración el mismo día para evaluar la repetibilidad y durante distintos días para evaluar la reproducibilidad en la linealidad del sistema. En este caso, se utilizó una disolución de partida o “muestra sintética” con una concentración de 2 mgL^{-1} a la cual se le realizaron adiciones de diferentes volúmenes (0, 0.25, 0.5, 0.75 y 1 mL) de una disolución estándar de 100 mgL^{-1} de sodio hasta llegar a 6 mgL^{-1} (máximo valor para conservar una respuesta lineal del flamómetro recomendado en el manual del equipo). Se ajustó la ecuación de la recta por medio de una regresión lineal y se obtuvo también el coeficiente de correlación lineal (R^2). Se evaluó el coeficiente de variación (CV) de la pendiente y la ordenada al origen.

La precisión en las mediciones flamométricas de concentración por adición patrón se evaluó mediante la preparación de 200 mL de una disolución de 2 mgL^{-1} , se dividió en 5 alícuotas de 25 mL, cada alícuota se sometió a la determinación por flamometría, tomando como adición cero a la “muestra sintética” sola, posteriormente se realizaron las adiciones del estándar de 100 mgL^{-1} en el volumen mencionado, se graficó el resultado de la absorbancia obtenida de cada alícuota; la concentración del analito fue la abscisa en el origen de la gráfica obtenida, esto se realizó el mismo día para evaluar la repetibilidad, se obtuvo el



promedio de la concentración medida, desviación estándar (DE) y coeficiente de variación (CV). Para evaluar la reproducibilidad de las mediciones de concentración con el flamómetro, se prepararon 200 mL de una disolución de 2 mgL⁻¹ de la misma forma que se describe anteriormente, también se dividió en 5 alícuotas, pero esta vez la medida de la concentración se realizó por 5 días diferentes en las curvas de adiciones patrón. Se obtuvo el promedio de la concentración medida, desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación (CV).

Es importante mencionar que cada disolución adicionada fue preparada individualmente, pues en el flamómetro la muestra es absorbida, a diferencia del método de ISE donde en el mismo vaso de la disolución de partida se realizaron cada una de las adiciones, ya que el volumen permaneció constante.

IV.2.5 Optimización del método de extracción de los iones del queso

La optimización del método de extracción de sodio y cloruro en el queso panela se basó en algunos métodos reportados en la literatura.^{2, 24, 25} Cabe destacar que la mayoría de estos métodos se aplican para la extracción de cloruro, el cual se reporta como cloruro de sodio. La extracción de sodio está poco documentada.^{2, 24}

La clave de identificación y de contenido de sodio reportado del queso panela (queso G) a partir del cual se hicieron ensayos para optimizar el método de extracción fue de 180mg/30g (6mg de sodio/g). La concentración de sodio esperada en el extracto de acuerdo a esta información nutricional utilizando 1g de muestra y 100 mL de agua fue de 60 mgL⁻¹.



En la tabla 4.2 se describen y agrupan los distintos ensayos que se realizaron para optimizar el método de extracción de los iones con el queso G. Se variaron diversos factores para encontrar las condiciones para la obtención de los mejores factores de recuperación en la extracción.

Tabla 4.2 Factores evaluados en los ensayos realizados para optimizar el método de extracción de sodio y cloruro en el queso panela.

# de ensayo	Moler	Agente extractante	Temperatura de extracción (°C)	Tiempo de agitación/ Ultrasonido (min.)
1	En licuadora	100 mL de agua desionizada	sin calentamiento	10
2	En licuadora	100 mL de agua desionizada	60	10
3	En mortero	10 mL H ₂ SO ₄ 0.05M	60	3, 5, 10
4	En mortero	10 mL H ₂ SO ₄ 0.05M	80	3, 5, 10
5	En mortero	10 mL H ₂ SO ₄ 0.05M	90	3, 5, 10
6	En mortero	10 mL de H ₂ SO ₄ 0.05, 0.1, 0.5, 1M	80	10
7	En mortero	10 mL de HNO ₃ 0.1, 0.5, 1M	80	10
8	En mortero	50 mL de HNO ₃ 0.1M	80	con/sin ultrasonido 10
9	En mortero	50 mL de H ₂ SO ₄ 0.1M	80	con/sin ultrasonido 10
10	En mortero	30 mL de agua desionizada	80	Ultrasonido 10
11	En mortero	50 mL de agua desionizada	80	Ultrasonido 10
12	En mortero	80 mL de agua desionizada	80	Ultrasonido 10
13	En mortero	98 mL de agua desionizada	80	Ultrasonido 10
14	En mortero	98 mL de agua desionizada	80	Ultrasonido 5, 10, 15

* En todos los casos se utilizó 1g de queso panela pesado a dos cifras decimales.

**Todos los extractos fueron filtrados a través de un filtro Whatman 41 y posteriormente llevados al aforo a 100 mL con agua desionizada.



IV.2.6 Precisión del método de ISE por estándar externo para sodio y cloruro.

Para evaluar la precisión por el método de estándar externo se realizó la extracción con el método optimizado de un mismo lote del queso “G”, se dividió en 5 alícuotas de 25 mL a las cuales se les agregó ISA antes de llevar al aforo con el extracto y posteriormente, el contenido de sodio y cloruro en las alícuotas fue medido por ISE con el método de estándar externo para evaluar la repetibilidad. Se realizó el tratamiento estadístico de los resultados obtenidos mediante el cual se obtuvo el promedio de las concentraciones de los extractos, desviación estándar y CV. El mismo procedimiento anteriormente descrito se realizó con 5 extractos obtenidos en 5 días diferentes para evaluar la reproducibilidad.

IV.2.7 Linealidad y precisión del método ISE por adición patrón para sodio y cloruro.

Se realizaron extracciones por triplicado con el método de extracción optimizado, se dividieron en alícuotas de 25 mL a las que se les agregó ISA correspondiente antes de llevar al aforo con el extracto. El potencial en los extractos fue medido por el método ISE con adición patrón tomando como adición cero al extracto solo. Se realizó la curva de calibración por triplicado adicionando 0.5 mL del estándar de 1000 mgL^{-1} en cuatro ocasiones para verificar la reproducibilidad en la linealidad. Se obtuvo el coeficiente de correlación lineal (R^2) y el coeficiente de variación (CV) de la pendiente y la ordenada al origen.

Para evaluar la precisión por el método de adición patrón se realizó la extracción con el método optimizado de un mismo lote del queso “G”, se dividió en



5 alícuotas de 25 mL a las que se les agregó ISA antes de llevar al aforo con el extracto y posteriormente, el contenido de sodio y cloruro en las alícuotas fue medido por ISE por el método de adición patrón, tomando como adición cero al extracto solo. Se obtuvo el promedio de las concentraciones de las alícuotas por medio de la fórmula 11 (sección III.7.3), desviación estándar y CV para evaluar la repetibilidad. El mismo procedimiento anteriormente descrito se realizó a 5 extractos obtenidos en 5 días diferentes para evaluar la reproducibilidad.

IV.2.8 Precisión del método flamométrico para sodio por estándar externo.

Para evaluar la precisión del flamómetro por estándar externo se realizó la extracción con el método optimizado de un mismo lote del queso “G”, se diluyó hasta aproximadamente 2 mgL^{-1} y se dividió en 5 alícuotas de 25 mL. Se adicionó el estándar de 100 mgL^{-1} usando los siguientes volúmenes 0, 0.25, 0.5, 0.75 y 1 mL y se sometió a la determinación por flamometría. Cada extracto adicionado fue preparado individualmente, es decir para una determinación se utilizaron 5 alícuotas del mismo extracto, pues en el flamómetro la muestra es absorbida; los valores de la absorbancia obtenida se extrapolaron en la curva de calibración a fin de obtener la concentración, esto se realizó el mismo día para evaluar la repetibilidad y en diferentes días para evaluar la reproducibilidad; se obtuvo el promedio de la concentración medida, desviación estándar (DE) y coeficiente de variación (CV).



IV.2.9 Linealidad y precisión del método flamométrico para sodio por adición patrón

Se evaluó la linealidad del método flamométrico para sodio por adición patrón, dado que de esta manera se cuantificaron las muestras. Para esto se realizó la extracción 3 veces el mismo día para evaluar la repetibilidad y en 3 días diferentes para evaluar la reproducibilidad, en todos los casos se hizo con el método optimizado y cada extracto se diluyó hasta aproximadamente 2 mgL^{-1} . La adición del estándar de 100 mgL^{-1} se realizó usando los volúmenes mencionados en la sección IV.2.4.2. Después se sometió a la determinación por flamometría. Se obtuvo la curva de linealidad promedio a partir de las 3 mediciones realizadas el mismo día y los 3 días distintos para obtener el coeficiente de correlación (R^2) y el coeficiente de variación (CV) de la pendiente y la ordenada al origen.

La precisión en las mediciones de concentración por el método flamométrico por adición patrón se realizó con un extracto diluido hasta aproximadamente 2 mgL^{-1} y dividido en 5 fracciones. La adición del estándar de 100 mgL^{-1} se realizó usando los volúmenes mencionados anteriormente y se sometió a la determinación por flamometría; los valores de la absorbancia obtenida se extrapolaron en la curva de calibración a fin de obtener la concentración, esto se realizó el mismo día para evaluar la repetibilidad; se obtuvo el promedio de la concentración medida, desviación estándar (DE) y coeficiente de variación (CV).



Para evaluar la reproducibilidad del flamómetro se obtuvieron 5 extractos los cuales fueron diluidos hasta 2 mgL^{-1} , pero esta vez la determinación flamométrica se realizó en 5 días diferentes. Se obtuvo el promedio de la concentración medida, desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación (CV) para evaluar la reproducibilidad.

IV.2.10 Exactitud del método ISE.

Para evaluar la exactitud del método ISE, los iones contenidos en las muestras provenientes de un mismo lote de queso se extrajeron, de forma simultánea, por el método de extracción con disolución acuosa y por el método de calcinación hasta la obtención de cenizas. Para efectuar este último método, se pesó con exactitud 1g de queso, se secó en una estufa a 110°C durante 1 hora. Posteriormente se calcinó la materia orgánica con ayuda de un mechero de Bunsen y por último se trasladó a una mufla donde se calcinó por 3 horas a 500°C hasta obtener cenizas blancas, se disolvieron en agua desionizada con calentamiento a 80°C y ultrasonido durante 10 minutos. Se filtró y se llevó al aforo a 100 mL con agua desionizada.

Se realizó simultáneamente la calcinación y la extracción por el método optimizado con agua, en 6 alícuotas del queso. Las determinaciones se realizaron por ISE con estandarización externa y adiciones patrón con los extractos obtenidos por calcinación hasta cenizas y los obtenidos por extracción con disolución acuosa. De igual forma se realizó la determinación de sodio por flamometría únicamente por adición patrón, debido a la complejidad de la muestra



y gracias a que los mejores resultados en la validación con disoluciones estándar se obtuvieron con adición patrón.

Todos los extractos se diluyeron hasta aproximadamente 2 mgL^{-1} . Por último, se calculó el promedio, desviación estándar y coeficiente de variación de las determinaciones obtenidas de los extractos obtenidos por calcinación y por el método optimizado. El recobro se calculó considerando que la concentración total (100%) para ambos iones fue aquella determinada por el método de calcinación hasta cenizas, ya que este es un método absoluto.



IV.2.11 Protocolo final de extracción y análisis en queso panela

A continuación se presenta la figura IV.3 en la cual se describe mediante un diagrama del protocolo general que se siguió para la determinación de sodio y cloruro en queso panela en las muestras reales.

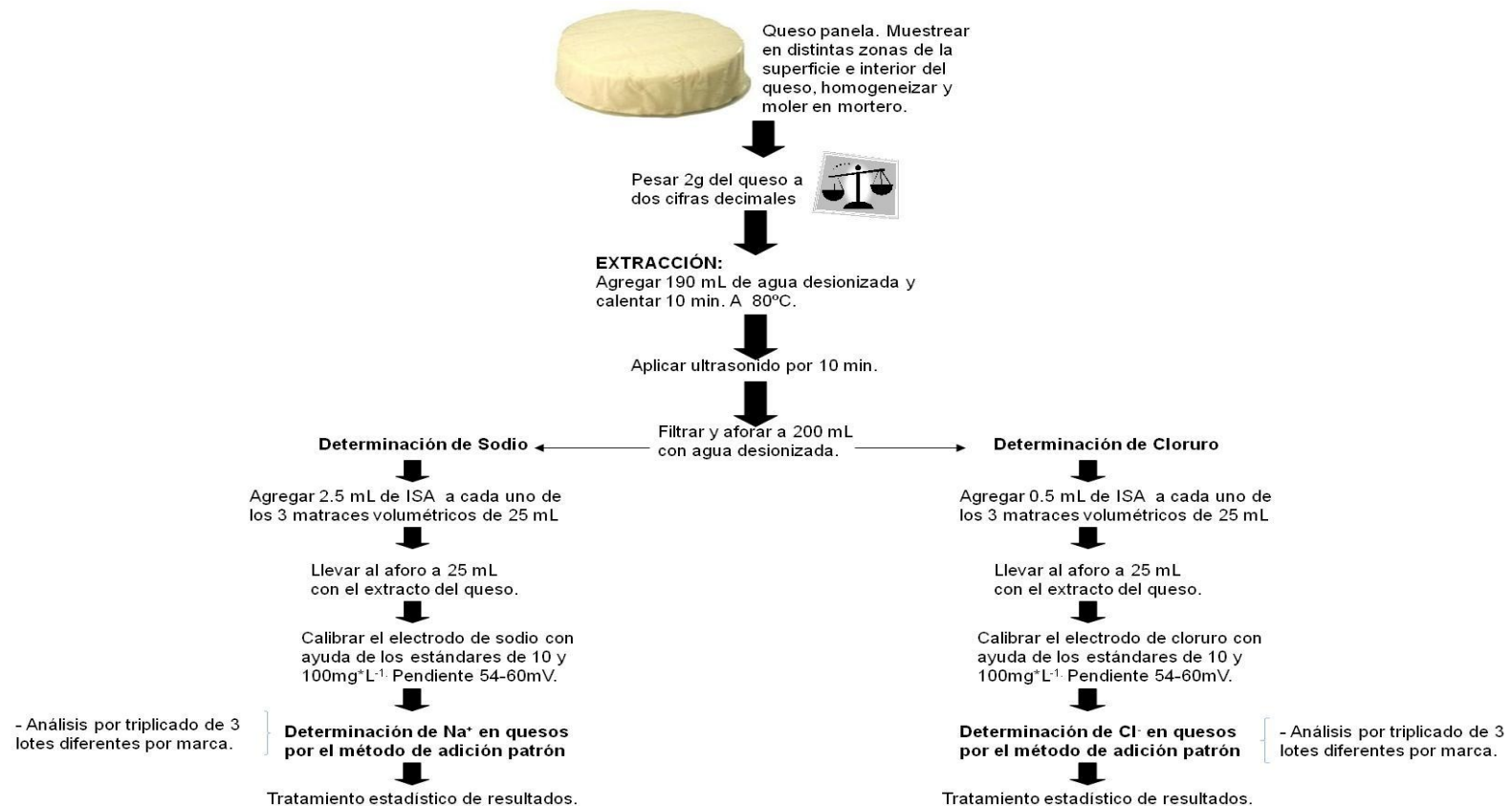


Figura IV.3 Protocolo final para la determinación de sodio y cloruro en queso panela por ISE

En este diagrama se representa todo el protocolo diseñado para la determinación de sodio y cloruro en quesos panela. Se describe desde el método de extracción y las condiciones determinadas para realizarla, la calibración diaria de los electrodos con disoluciones estándar, a fin de obtener un valor adecuado de la pendiente y por último la determinación de ambos iones por el método de adición patrón.

Como se observa en el diagrama IV.3 del protocolo final, para efectuar la determinación de los iones en el queso, se aplicó el método de extracción con disolvente acuoso optimizado. Entonces, con ayuda de una espátula se tomaron muestras de diferentes zonas del queso panela y se pasaron a un mortero para molerlas en seco, procurando homogenizar hasta formar una pasta. Una vez formada la pasta se pesaron con exactitud 2 gramos de la muestra (a dos cifras decimales) y se agregaron 190 mL de agua desionizada y un agitador magnético. Se calentó hasta 80°C en una parrilla con agitación constante cuidando de no sobrepasar esa temperatura. Al momento de llegar a 80°C se retiró del calentamiento y se dejó enfriar ligeramente; luego se introdujo el matraz o vaso de precipitados a un equipo de ultrasonido durante 10 minutos. Se filtró el extracto y se llevó al aforo en un matraz de 200 mL.

Para realizar el análisis de sodio se agregaron 2.5 mL de la disolución de ISA en 3 matraces, se llevaron al aforo a 25 mL con el extracto a fin de realizar lecturas por triplicado. Para el análisis de cloruro se agregó 0.5 mL de la disolución de ISA en 3 matraces que se llevaron al aforo a 25 mL con el extracto a fin de

realizar lecturas por triplicado. Después, se midió la lectura en mV de la muestra sin adiciones y posteriormente agregando 0.25 mL de una disolución estándar de 1000 mgL⁻¹. Esto se realizó hasta tener 4 adiciones, es decir hasta haber añadido 1 mL del estándar de 1000 mgL⁻¹ con el fin de obtener la curva y ajustar una recta para obtener el valor de la pendiente, ya que se utilizó en la ecuación 11 (sección III.6.3). Se determinó la concentración de cada muestra con ayuda de esta fórmula en los diferentes lotes de los productos.



V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

V.1 Linealidad y precisión del sistema ISE para sodio.

V.1.1 Método de estándar externo

En la figura V.1 se presenta la curva de calibración promedio proveniente de las mediciones efectuadas el mismo día por estándar externo con el electrodo de sodio.

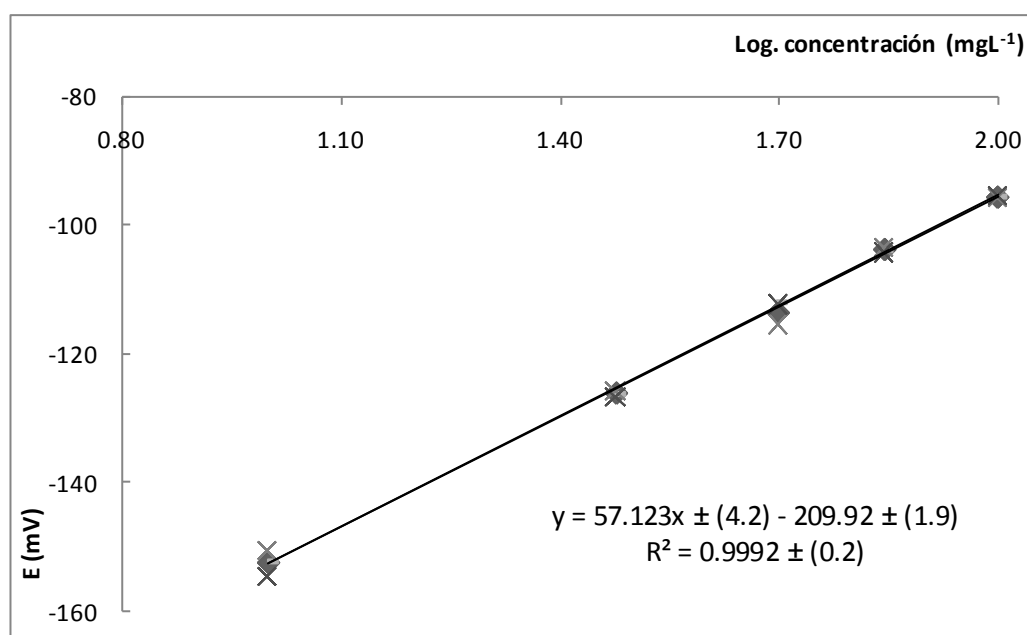


Figura V.1 Evaluación de la linealidad y repetibilidad del sistema con el electrodo de sodio por estándar externo. Curva de calibración promedio (10-100 mgL⁻¹).

Se observó que la pendiente promedio de las 3 determinaciones el mismo día fue de 57.12, valor que se encuentra dentro del intervalo del valor óptimo de 54 a 60 mV. El coeficiente de variación (4.2) de la pendiente fue aceptable al igual que el de la ordenada al origen (1.9), el coeficiente de correlación fue cercano a 1. El método de estándar externo resultó repetible y lineal.



A continuación, en la figura V.2 se presenta la curva de calibración promedio realizada en diferentes días por estándar externo con el electrodo de sodio.

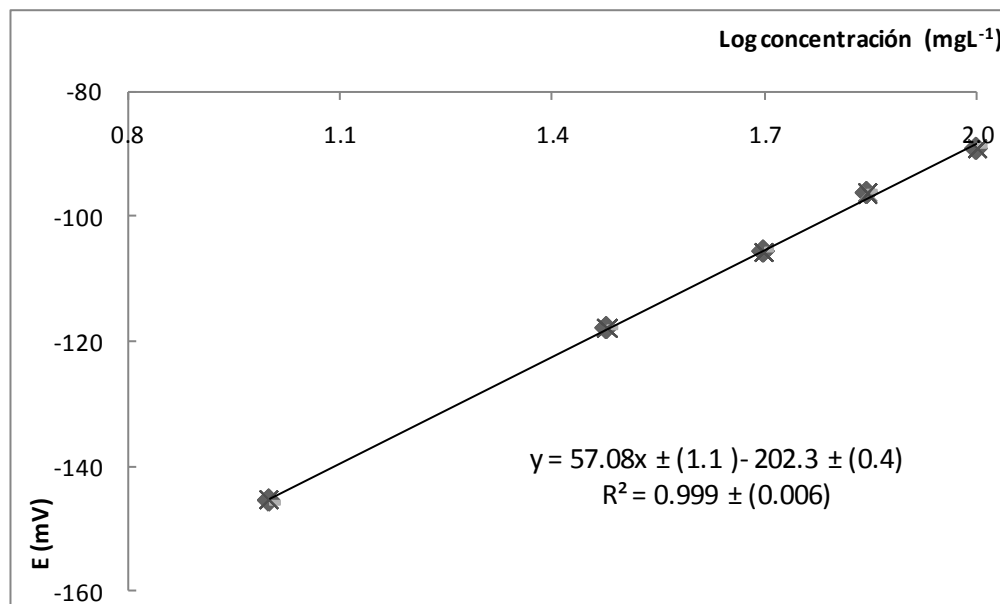


Figura V.2 Evaluación de la linealidad y reproducibilidad del sistema con el electrodo de sodio por estándar externo. Curva de calibración promedio ($10\text{-}100 \text{ mgL}^{-1}$).

Se observó que la pendiente promedio de las 3 calibraciones fue de 57.08, fue un valor adecuado y dentro del intervalo establecido para la determinación por ISE. El coeficiente de variación (1.1) de la pendiente fue bastante aceptable al igual que el de la ordenada al origen (0.4). Se observó también que la calibración por estándar externo proporcionó coeficientes de correlación muy cercanos a 1, demostrándose así, una excelente linealidad en la respuesta del electrodo de sodio. El valor tan bajo del coeficiente de variación indicó una muy buena reproducibilidad. De esta manera, se demostró que el método de estándar externo para la medición de sodio por ISE es un sistema lineal.



En la tabla 5.1 se presenta la concentración de sodio obtenida para una “muestra sintética” por estandarización externa; esto se realizó 5 veces el mismo día para evaluar la repetibilidad y en 5 días diferentes para evaluar la reproducibilidad en la determinación de sodio; también se presenta la concentración promedio, desviación estándar y CV. Se presentó una excelente repetibilidad y reproducibilidad para el sistema de sodio, pues el coeficiente de variación en ambas evaluaciones fue muy pequeño.

Tabla 5.1 Evaluación de la precisión del electrodo de sodio por estándar externo con ISE con una disolución de 60 mgL^{-1} de sodio

Ensayo	Estándar Externo	
	Repetibilidad (mgL^{-1})	Reproducibilidad (mgL^{-1})
1	59.52	59.22
2	59.26	59.37
3	59.72	59.97
4	58.42	59.33
5	59.67	59.58
Promedio	59.31	59.49
DE	0.533	0.296
CV	0.898	0.498

El sistema ISE para la determinación de sodio por estándar externo demostró ser lineal, repetible y reproducible ya que en todos los casos el coeficiente de variación de los parámetros evaluados fue muy pequeño, demostrando así la excelente precisión del sistema.



V.1.2 Método de adición patrón

En la figura V.3 se presenta la curva de calibración promedio de las mediciones realizadas en un mismo día por adición patrón junto con su ecuación de la recta y entre paréntesis el coeficiente de variación de la pendiente, ordenada y coeficiente de correlación (R^2).

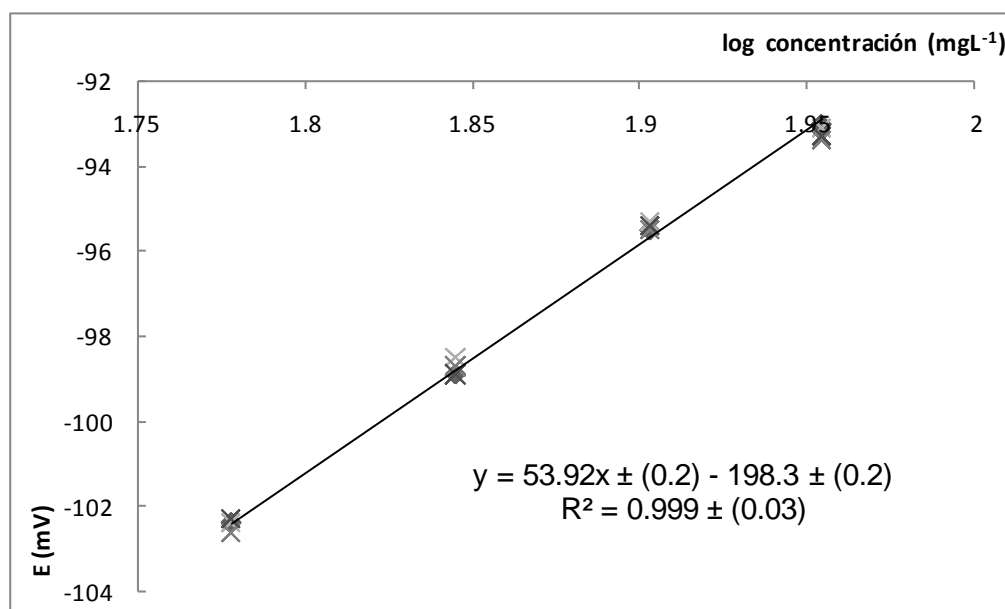


Figura V.3 Evaluación de la linealidad y repetibilidad del sistema con el electrodo de sodio por adición patrón.

Curva de calibración promedio (60-90 mgL⁻¹).

Se obtuvo una excelente linealidad, aunque el valor de la pendiente obtenida resultó menor al óptimo, esto probablemente se debió a un error sistemático.



En la figura V.4 se presenta la curva de calibración promedio de sodio de la evaluación realizada 3 días diferentes por adición patrón junto con su ecuación de la recta y entre paréntesis el coeficiente de variación de la pendiente, ordenada y coeficiente de correlación (R^2).

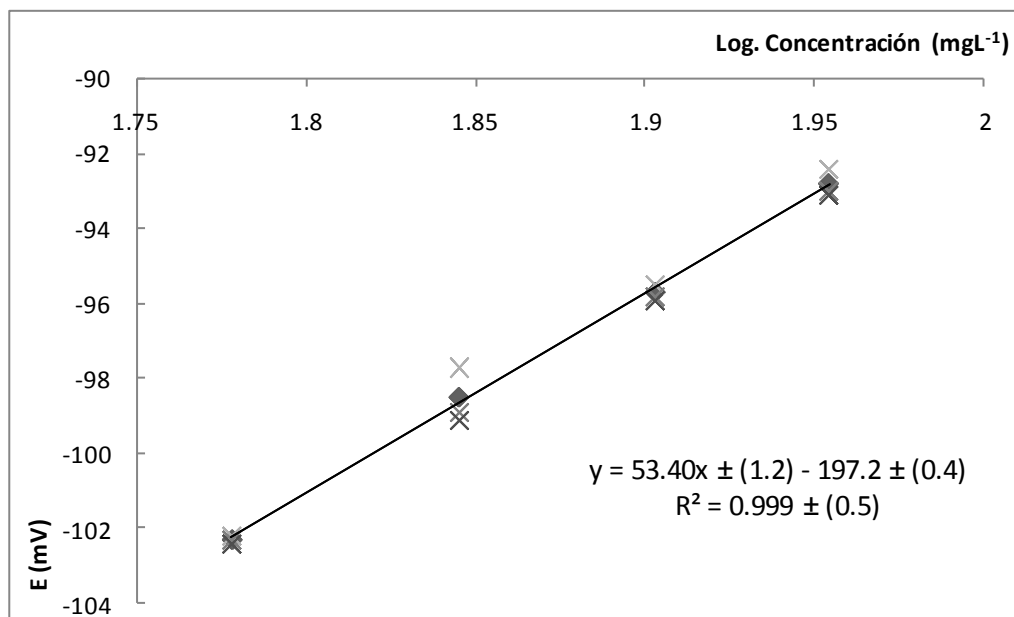


Figura V.4 Evaluación de la linealidad y reproducibilidad del sistema con el electrodo de sodio por adición patrón. Curva de calibración promedio (60-90 mgL⁻¹).

El promedio de la pendiente fue de 53.4, este resultado está ligeramente por debajo de lo esperado (54 a 60mV), lo cual no impidió que las determinaciones fueran realizadas con buena reproducibilidad. La linealidad fue excelente debido a que el coeficiente de correlación en cada gráfica fue cercano a 1 y el coeficiente de variación y la desviación estándar fueron muy pequeños.



La precisión en las mediciones por adición patrón se observa en la tabla 5.2, donde se presentan las concentraciones obtenidas en el análisis realizado en un solo día y en distintos días. Se incluyó la concentración promedio de la “muestra sintética”, desviación estándar y el coeficiente de variación. Se aprecia que la concentración obtenida el mismo día y durante los 5 días del análisis fue muy cercana a 60 mgL^{-1} . El electrodo de sodio presentó una excelente respuesta y precisión con coeficientes de variación menores que 2%.

Tabla 5.2 Evaluación de la precisión del electrodo de sodio por adición patrón con ISE con una disolución de 60 mgL^{-1} de sodio

Ensayo	Adición patrón	
	Repetibilidad (mgL^{-1})	Reproducibilidad (mgL^{-1})
1	62.32	56.26
2	60.3	59.46
3	59.39	56.22
4	60.30	56.34
5	59.39	55.45
Promedio	60.34	55.90
DE	1.20	0.63
CV	1.95	1.95

En la evaluación de la reproducibilidad, la concentración fue ligeramente menor que lo que se esperaba, esto es normal debido a que el estudio se realizó en diferentes días lo cual pudo haber ocasionado que existieran algunos cambios en las condiciones de análisis; como la temperatura o la velocidad de agitación, aunque se procuró evitarlos.



V.2 Linealidad y precisión del sistema ISE para cloruro.

V.2.1 Método de estándar externo

En la figura V.5 se presenta la curva de calibración promedio realizada el mismo día por estándar externo con el electrodo de cloruro junto con el valor de la pendiente, ordenada al origen y coeficiente de correlación (R^2) promedio. Se observa que el valor de la pendiente se encuentra dentro del intervalo óptimo de 54 a 60 mV.

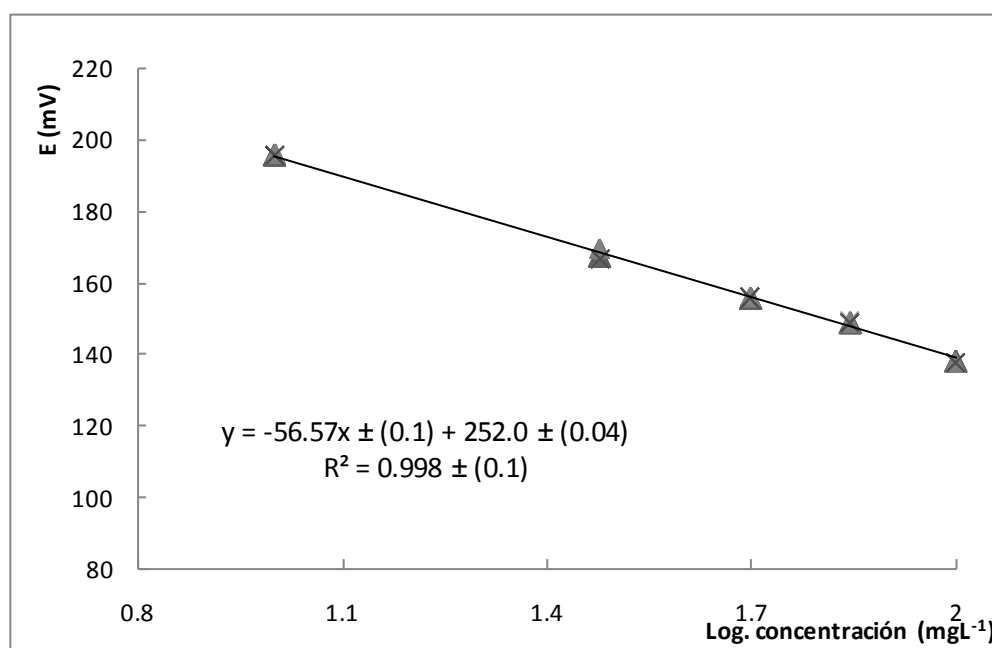


Figura V.5 Evaluación de la linealidad y repetibilidad del sistema con el electrodo de cloruro por estándar externo. Curva de calibración promedio (10-1000 mgL⁻¹).



En la figura V.6 se presenta la curva de calibración promedio realizada en diferentes días por estándar externo con el electrodo de cloruro junto con el valor de la pendiente, ordenada al origen y coeficiente de correlación (R) promedio. En esta figura se observa que el valor de la pendiente promedio fue de -56.44, lo cual fue adecuado para la determinación selectiva de iones de cloruro.

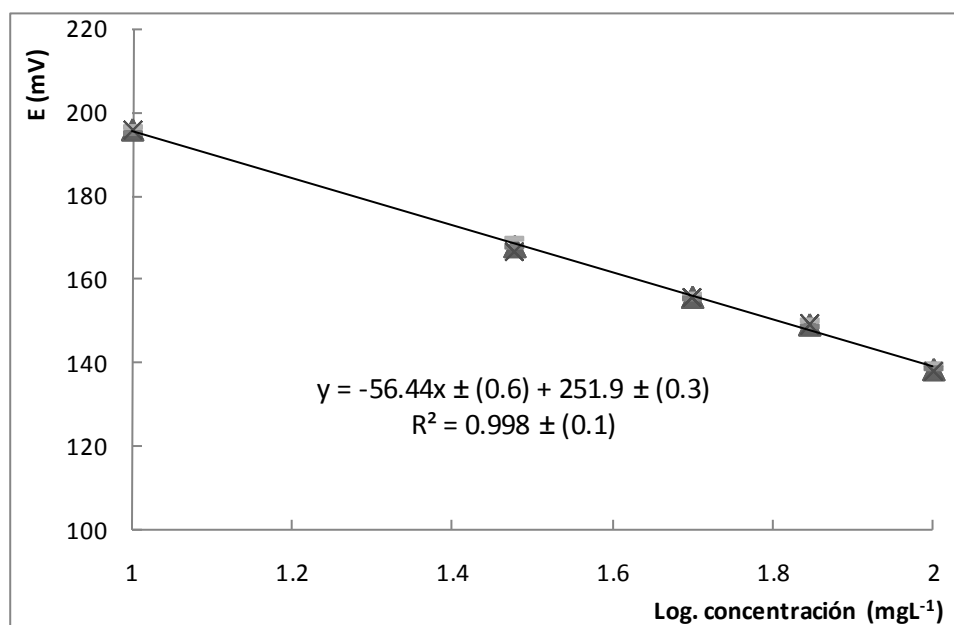


Figura V.6 Evaluación de la linealidad y reproducibilidad del sistema del electrodo de cloruro por estándar externo. Curva de calibración promedio (10-1000 mgL⁻¹).

Analizando los datos obtenidos, se apreció que el electrodo tuvo una buena respuesta y que además fue lineal, pues el coeficiente de correlación de la recta fue muy cercano a 1. Además el método de estándar externo fue repetible, ya que la evaluación se realizó por varias veces el mismo día y reproducible, ya que la evaluación se realizó por distintos días.



En la tabla 5.3 se presenta la concentración de cloruro obtenida para una “muestra sintética” de 60 mgL^{-1} por estandarización externa; esto se realizó 5 veces el mismo día para evaluar la repetibilidad y 5 días diferentes para evaluar la reproducibilidad en la determinación de cloruro. También se presenta la concentración promedio, desviación estándar y CV.

Tabla 5.3 Evaluación de la precisión del electrodo de cloruro por estándar externo con ISE con una disolución de 60 mgL^{-1} de cloruro

Ensayo	Estándar externo	
	Repetibilidad (mgL^{-1})	Estándar Externo (mgL^{-1})
1	61.15	59.51
2	60.66	60.53
3	60.92	59.51
4	61.49	58.29
5	60.75	60.73
Promedio	60.99	59.71
DE	0.33	0.97
CV	0.54	1.63

La repetibilidad y la reproducibilidad fueron muy buenas para el sistema ISE de cloruro; los valores tan bajos del coeficiente de variación indicaron una adecuada respuesta del electrodo y por lo tanto muy buena precisión y exactitud, pues los resultados son cercanos al valor esperado.



V.2.2 Método de adición patrón

En la figura V.7 se presenta la curva de calibración promedio realizada el mismo día por adición patrón con el electrodo de cloruro a fin de evaluar la linealidad y repetibilidad de la recta. Se presenta el valor de la pendiente, ordenada al origen, coeficiente de correlación lineal (R^2) promedio y el coeficiente de variación entre paréntesis. Se observa que el coeficiente de variación de cada parámetro evaluado es pequeño, demostrándose así poca variabilidad en las determinaciones y una excelente repetibilidad, el valor de la pendiente es menor al esperado, a pesar de eso las determinaciones se realizaron con precisión.

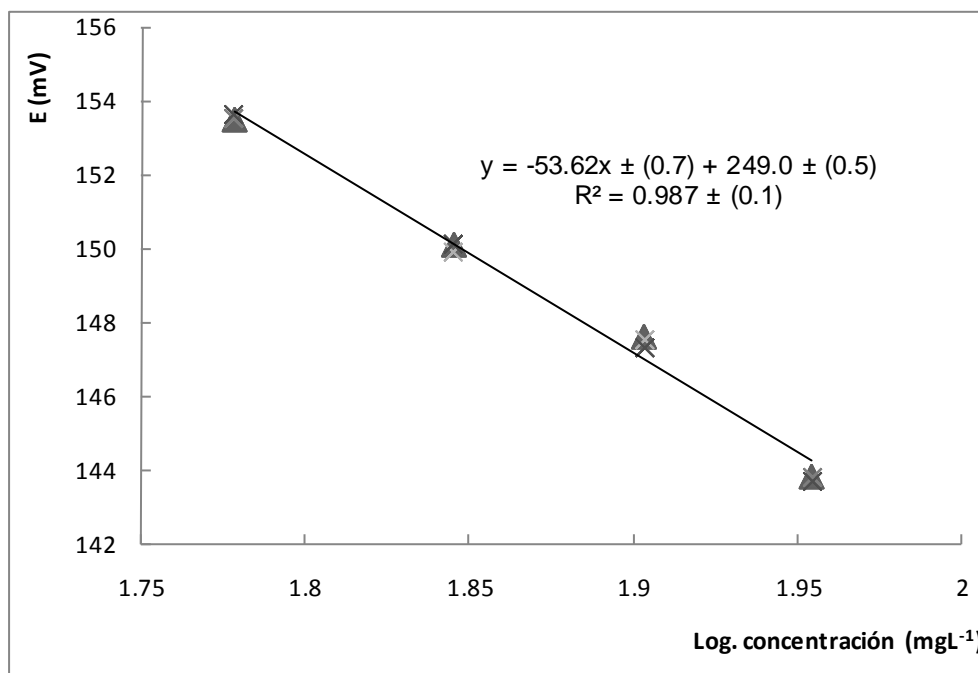


Figura V.7 Evaluación de la linealidad y repetibilidad del sistema con el electrodo de cloruro por adición patrón. Curva de calibración promedio (60-90 mgL⁻¹).



En la figura V.8 se presenta la curva de calibración promedio obtenidas en diferentes días por adición patrón con el electrodo de cloruro, se incluye la pendiente, ordenada y coeficiente de correlación lineal (R^2). También, entre paréntesis se presentan los coeficientes de variación de los parámetros mencionados.

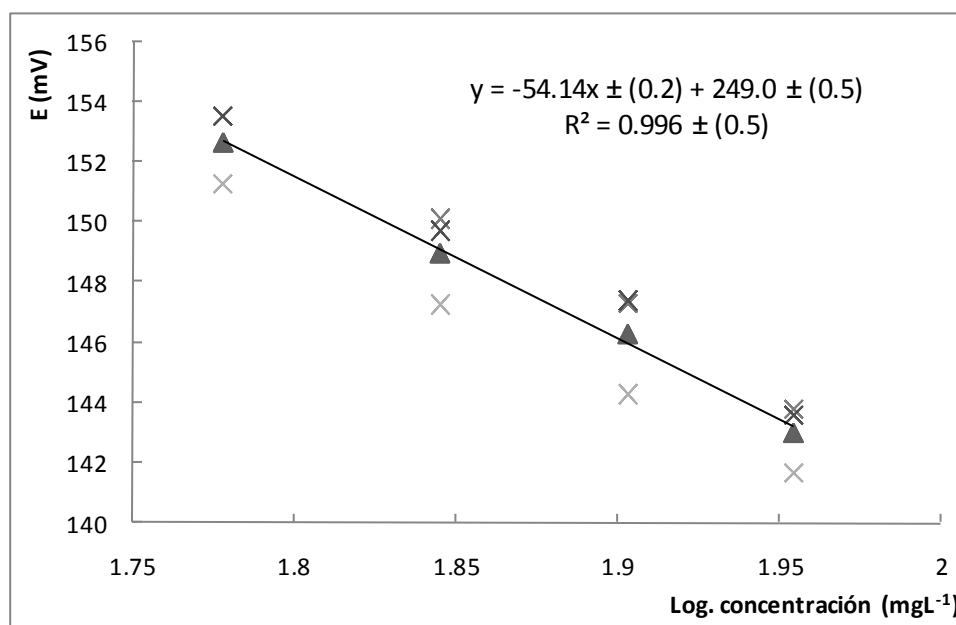


Figura V.8 Evaluación de la linealidad y reproducibilidad del sistema del electrodo de cloruro por adición patrón. Curva de calibración promedio (60-90 mgL⁻¹).

La pendiente promedio fue de -54.14, valor que se consideró adecuado. Con respecto a la linealidad, el coeficiente de correlación fue muy cercano a 1 por lo que se consideró como una excelente respuesta lineal del electrodo. El coeficiente de variación fue bajo para (R^2), pero en comparación con el método de estándar externo fue un poco mayor. Este estudio comprobó que el electrodo posee buena linealidad, repetibilidad y reproducibilidad en el análisis del ion cloruro.



La precisión en las mediciones de concentración obtenidas con el electrodo de cloruro por adición patrón se puede observar en la tabla 5.4 para el análisis de una disolución realizado en un solo día y durante distintos días. Se incluyó el valor de la concentración promedio de la disolución, la desviación estándar y el coeficiente de variación.

Debido a que el ion cloruro no es reportado en la etiqueta de los quesos, se optó por utilizar una disolución de partida de 60 mgL^{-1} , como en el caso del sodio, ignorando el exceso que proviene de los aditivos con sales de cloruro que se agregan durante la elaboración de los quesos.

Tabla 5.4 Evaluación de la precisión del electrodo de cloruro por adición patrón con ISE con una disolución de 60 mgL^{-1} de cloruro.

Ensayo	Adición patrón	
	Repetibilidad (mgL^{-1})	Reproducibilidad (mg^*L^{-1})
1	59.51	60.73
2	60.53	72.17
3	59.51	65.13
4	60.72	71.83
5	60.91	71.83
Promedio	60.23	68.33
DE	0.67	5.17
CV	1.12	7.57

La concentración obtenida en la evaluación de la repetibilidad fue similar y el coeficiente de variación fue pequeño (1.1), lo cual es bueno para la determinación de cloruro; esto indicó que la repetibilidad fue adecuada. Se observó que el valor de la concentración que se obtuvo en la evaluación de la reproducibilidad tuvo mayor variabilidad (7.5) que la realizada el mismo día. Esto



pudo haber sido debido a errores al momento de preparar las disoluciones en los diferentes días, al momento de pesar, de llevar al aforo, ya que es importante mencionar que el estándar que se agregó siempre fue el mismo.

Globalmente, considerando ambos iones, se observó que la validación del sistema por el método de estándar externo demostró ser más repetible, reproducible y lineal que por adición patrón. Sin embargo, se seleccionó el método de adición patrón para minimizar errores en las determinaciones de sodio y cloruro en el queso panela, debido a que el extracto de queso es una matriz compleja. En algunos casos los valores de la pendiente fueron inferiores a lo esperado, esto pudo haber sido debido a que los electrodos eran nuevos y muchas veces son más sensibles, así que cualquier pequeña desviación o desarrollo experimental realizado diferente pudo influir en los resultados (peso del estándar de cloruro de sodio, al momento de llevar al aforo, velocidad de agitación, temperatura de las disoluciones estándar).



V.3 Linealidad y precisión del sistema flamométrico para sodio

V.3.1 Método de estándar externo

En la figura V.9 se presenta la curva promedio de las mediciones realizadas el mismo día por flamometría por estándar externo para sodio y en la figura V.10 de las curvas obtenidas en diferentes días. El valor de la pendiente, ordenada al origen y coeficiente de correlación lineal (R^2) promedio, con sus coeficientes de variación entre paréntesis se presentan en las figuras.

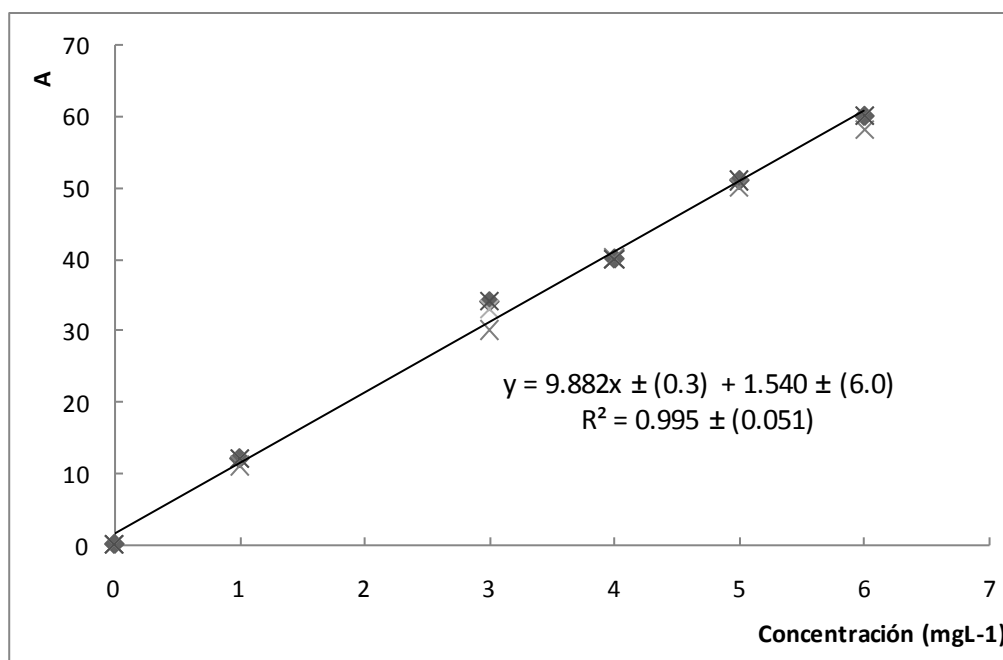


Figura V.9 Evaluación de la linealidad y repetibilidad del método de flamometría por estándar externo para sodio. Curva de calibración promedio (0-6 mgL⁻¹).

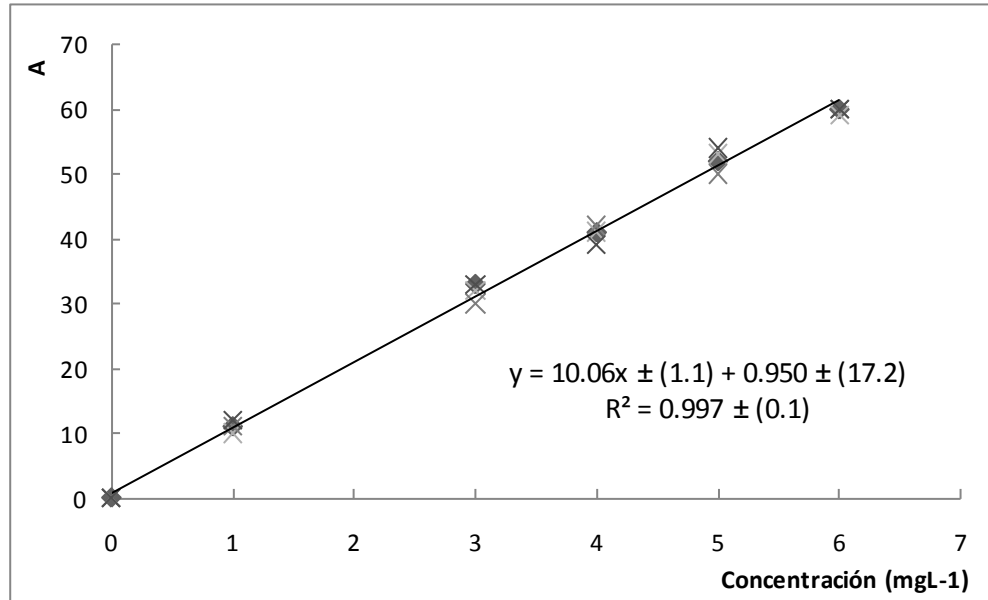


Figura V.10 Evaluación de la linealidad y reproducibilidad del método de flamometría por estándar externo para sodio. Curva de calibración promedio (0-6 mgL⁻¹).

En este método flamométrico se corroboró su buena linealidad, repetibilidad y reproducibilidad para la determinación de sodio, aunque los resultados presentaron mayor variación para la ordenada al origen que los obtenidos por el método de ISE. Probablemente debido a errores al preparar las disoluciones cada día de análisis. Por lo tanto, esto indicó que era necesario realizar la calibración cada día en que las muestras fueron medidas.



En la tabla 5.5 se presenta la concentración de sodio obtenida por estandarización externa para una “muestra sintética” preparada a una concentración de 2 mgL^{-1} ; esto se realizó 5 veces el mismo día para evaluar la repetibilidad y en 5 días diferentes para evaluar la reproducibilidad. También se presenta la concentración promedio, desviación estándar y CV.

Tabla 5.5 Evaluación de la precisión del método flamométrico para la determinación de sodio por estándar externo con una disolución de 2 mgL^{-1} de sodio

Ensayo	Estándar externo	
	Repetibilidad (mgL^{-1})	Reproducibilidad (mgL^{-1})
1	2.47	2.98
2	2.89	2.76
3	2.49	2.65
4	2.55	3.01
5	2.81	2.42
Promedio	2.64	2.76
DE	0.19	0.24
CV	7.35	8.83

La precisión del método flamométrico por estándar externo fue buena, sin embargo presentó coeficientes de variación superiores a los obtenidos por ISE y resultados muy dispersos, probablemente debido a que en este método se tuvieron que diluir las disoluciones ya que se manejan concentraciones muy bajas, lo cual pone en desventaja a este método pues al compararlo con ISE resultó menos repetible, reproducible y exacto.



V.3.2 Método de adición patrón

En la figura V.11 se presenta la curva promedio por flamometría con adición patrón para sodio, de las 3 curvas realizadas un mismo día. También el valor de la pendiente, ordenada al origen y coeficiente de correlación promedio con sus coeficientes de variación entre paréntesis.

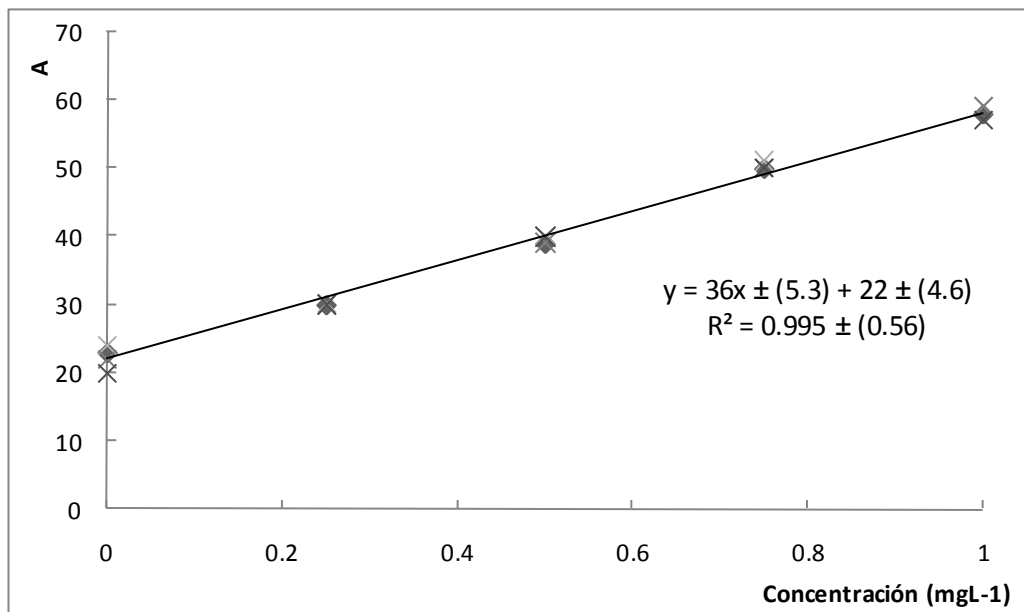


Figura V.11 Evaluación de la linealidad y repetibilidad del método de flamometría por adición patrón para sodio. Curva de calibración promedio (2-6 mgL⁻¹).

La linealidad fue buena, el coeficiente de correlación lineal (R^2) fue aceptable, en cuanto al coeficiente de variación de la pendiente (5.3) y de la ordenada al origen (4.6) aunque fueron ligeramente elevados, los valores resultaron aceptables.



En la figura V.12 se presenta la curva promedio por flamometría con adición patrón para sodio, de 3 diferentes días. También el valor de la pendiente, ordenada al origen y coeficiente de correlación promedio con sus coeficientes de variación entre paréntesis.

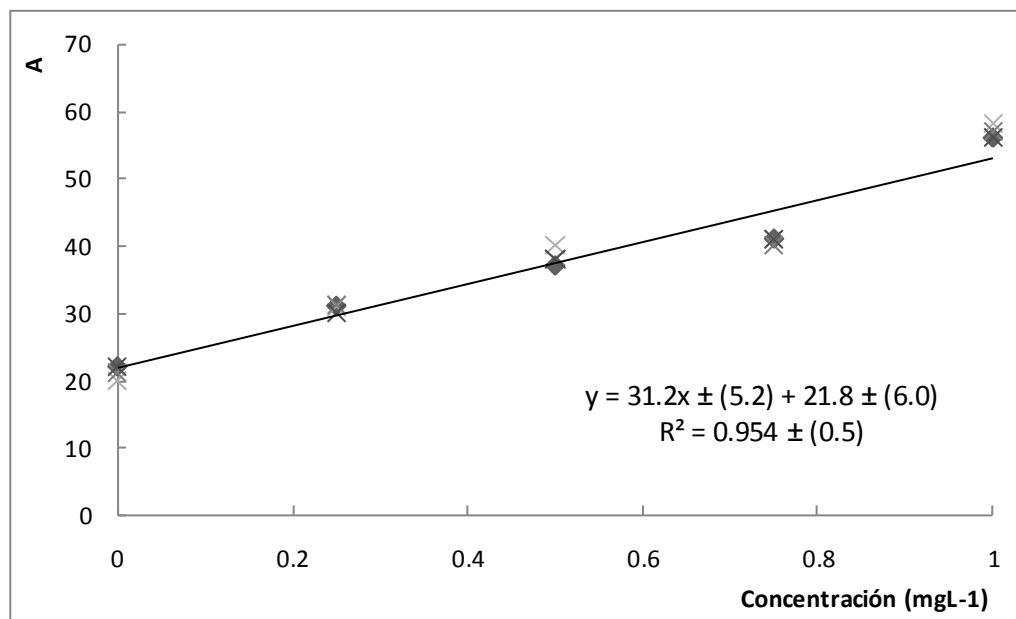


Figura V.12 Evaluación de la linealidad y reproducibilidad del método de flamometría por adición patrón para sodio. Curva de calibración promedio (2-6 mgL⁻¹).

La respuesta del flamómetro con el método de adición patrón, fue menos lineal que el método de ISE, ya que el coeficiente de correlación fue menor. Aún así, debido a la complejidad de la muestra que se utilizó, este método pudo servir como referencia, considerando intervalos de confianza mayores que los del método ISE. El método de adición patrón minimiza los efectos de matriz en muestras muy complejas y puede usarse en la determinación de sodio cuando la muestra del queso presente muchas interferencias y por lo tanto, mucha variación en las mediciones por estándar externo.



En seguida, en la tabla 5.6 se presenta la concentración de sodio obtenida por adición patrón para una “muestra sintética” preparada a una concentración de 2 mgL^{-1} ; esto se realizó 5 veces el mismo día para evaluar la repetibilidad y 5 días diferentes para evaluar la reproducibilidad. También se presenta la concentración promedio, desviación estándar y CV.

Tabla 5.6 Evaluación de la precisión del método flamométrico para la determinación de sodio por adición patrón con una disolución de 2 mgL^{-1} de sodio

Ensayo	Adición patrón	
	Repetibilidad (mgL^{-1})	Reproducibilidad (mgL^{-1})
1	3.11	3.36
2	2.99	3.67
3	2.76	2.98
4	2.54	2.91
5	2.79	3.14
Promedio	2.83	3.21
DE	0.22	0.30
CV	7.76	9.62

La precisión del método flamométrico por adición patrón fue buena, sin embargo, nuevamente se demostró que los resultados más lineales, repetibles, reproducibles y exactos fueron los obtenidos por el método ISE, ya que en todos los casos el coeficiente de variación fue menor y los resultados fueron muy cercanos al valor esperado demostrando así la excelente precisión y exactitud de ISE en comparación con flamometría.



V.4 Optimización del método de extracción de los iones del queso

Antes de poder realizar la validación del método ISE de determinación selectiva de sodio y cloruro se procedió a optimizar un protocolo de extracción realizando los ensayos enlistados en la tabla 4.2 (página 56).

A continuación, la figura V.13 se presenta las concentraciones de los iones obtenidas con las condiciones del primer y segundo ensayo:

Condiciones: Moler en licuadora

Tiempo de agitación 10 minutos.

Volumen= 100 mL de agua desionizada.

Variables: 1. sin calentar, 2. calentando 60°C

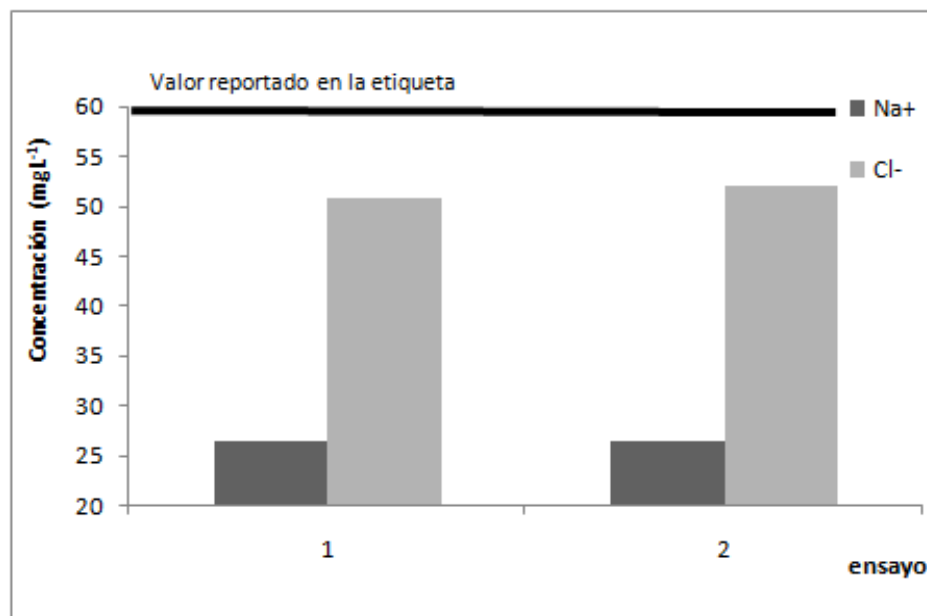


Figura V.13 Extracción de sodio y cloruro de 1g de queso con 100 mL de agua desionizada como extractante.

1) Sin calentamiento 2) calentamiento 80°C.



Se puede apreciar que no hay diferencia en cuanto a la aplicación de calor al momento de realizar la extracción para ambos iones. Para sodio, es importante destacar que se esperaba una concentración de 60 mgL^{-1} (valor reportado en la etiqueta) en el extracto. En el caso de cloruro, su concentración no se reporta en la etiqueta, pero se admite que es mayor debido a que a los quesos se le agrega CaCl_2 y además la relación en gramos de cloruro con respecto al sodio presentes en el cloruro de sodio es aproximadamente de 2 veces mayor. Entonces, se puede apreciar que la concentración de sodio en el extracto fue menor a la esperada; siendo esta de 27 mgL^{-1} en los 2 ensayos, lo mismo sucedió para el ion cloruro cuya concentración se encontró alrededor de 52 mgL^{-1} en el extracto, la cual aunque fue mayor con respecto al sodio, aún no se obtuvo un recobro adecuado.



Las figuras V.14 y V.15 muestran los resultados obtenidos para sodio y cloruro respectivamente tras evaluar 3 distintas temperaturas de extracción y 3 tiempos de agitación utilizando ácido sulfúrico (H_2SO_4) como extractante. Estos ensayos se encuentran descritos en la tabla 4.2 como ensayo 3, 4 y 5.

Condiciones: Moler en mortero

Volumen=10 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0.05M

Tiempo agitación= 3, 5, 10 minutos.

Variables: Temperatura (60, 80 y 90°C)

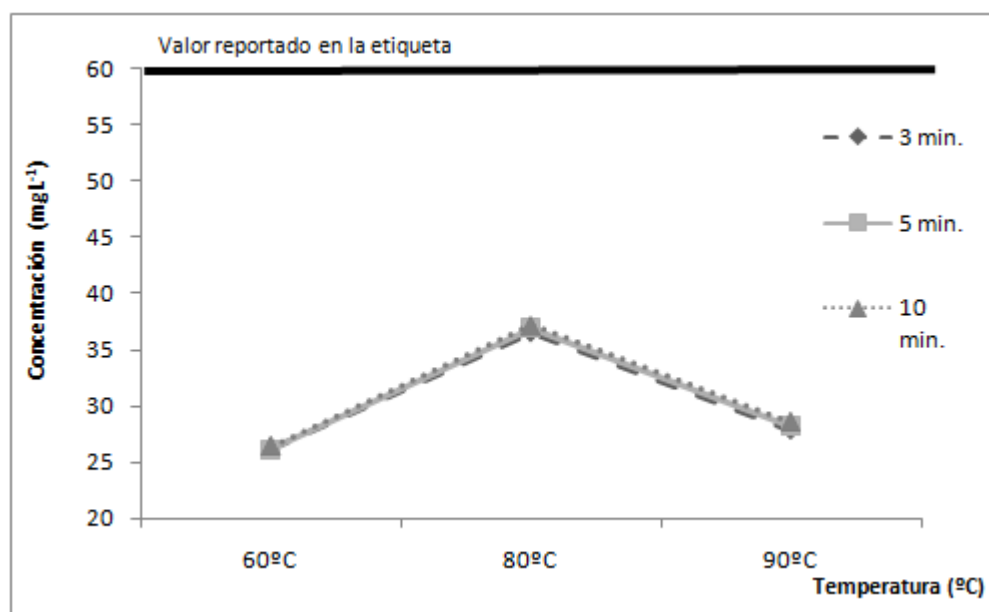


Figura V.14 Extracción de sodio de 1g de queso con ácido sulfúrico como extractante a diferente temperatura y tiempos de agitación.



En la figura V.14 se aprecia el efecto de la temperatura sobre la extracción de sodio en donde a 80°C se presenta una concentración más alta en el extracto, comparada con 60 y 90°C, que provocaron una extracción menor del ion, aunque no existe relación en la tendencia de disminuir al aumentar la temperatura. Por lo tanto, la temperatura fue un factor importante que se debió cuidar de no disminuir de 80°C al momento de la extracción.

También se evaluó el tiempo de agitación (3, 5 y 10 minutos), el cual no afectó a la extracción del ion sodio.

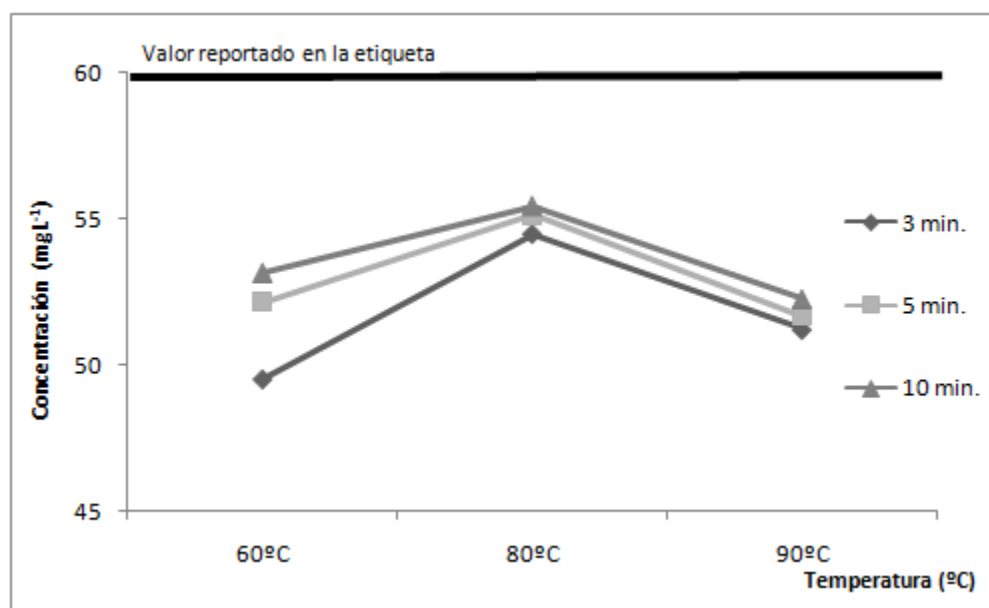


Figura V.15 Extracción de cloruro de 1g de queso con ácido sulfúrico como extractante a diferente temperatura y tiempos de agitación.

En la figura V.15 que corresponde a las concentraciones de cloruro obtenidas, se demuestra el mismo comportamiento en el intervalo de temperatura de 60°C a 90°C, con el máximo recobro a 80°C. Es importante destacar que en este ion si influyó el tiempo de agitación durante la extracción, pues se apreció una



mayor concentración en el extracto conforme el tiempo de agitación fue aumentando. El tiempo de 10 minutos fue seleccionado entonces para los siguientes ensayos.

A continuación se presentan las figuras V.16 y V.17 en las cuales se muestran los resultados de los ensayos 6 y 7, enlistados en la tabla 4.2 (página 56), realizados variando el tipo de ácido en disolución acuosa y su concentración.

Condiciones: Moler en mortero

Temperatura= 80°C

Tiempo agitación= 10 minutos.

Variables: Concentración del ácido en disolución acuosa (0.05, 0.1, 0.5, 1M)

Tipo de ácido: ácido sulfúrico (H_2SO_4) o ácido nítrico (HNO_3) en un volumen de 10mL en ambos casos.

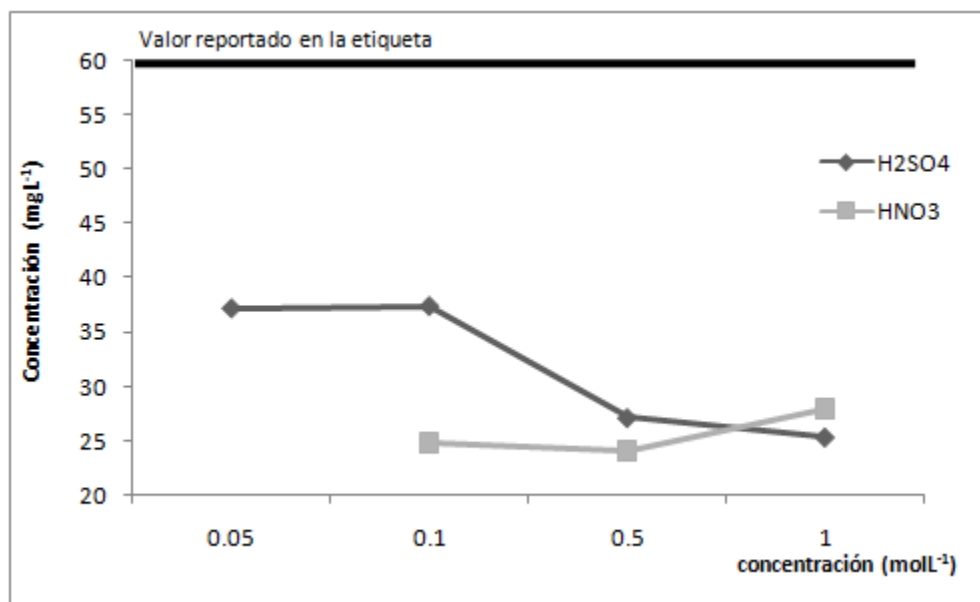


Figura V.16 Extracción de sodio de 1g de queso con ácido sulfúrico y ácido nítrico a diferentes concentraciones.



En la figura V.16 se puede apreciar que para la extracción de sodio resultó mejor una concentración menor de ácido sulfúrico, ya que así se extrajo mejor este ion. Al utilizar ácido nítrico ocurrió lo contrario; mientras mayor fue la concentración mejoró la extracción del ion pero no llegó a tener el mismo recobro que con el ácido sulfúrico en concentraciones de 0.05 y 0.1M.

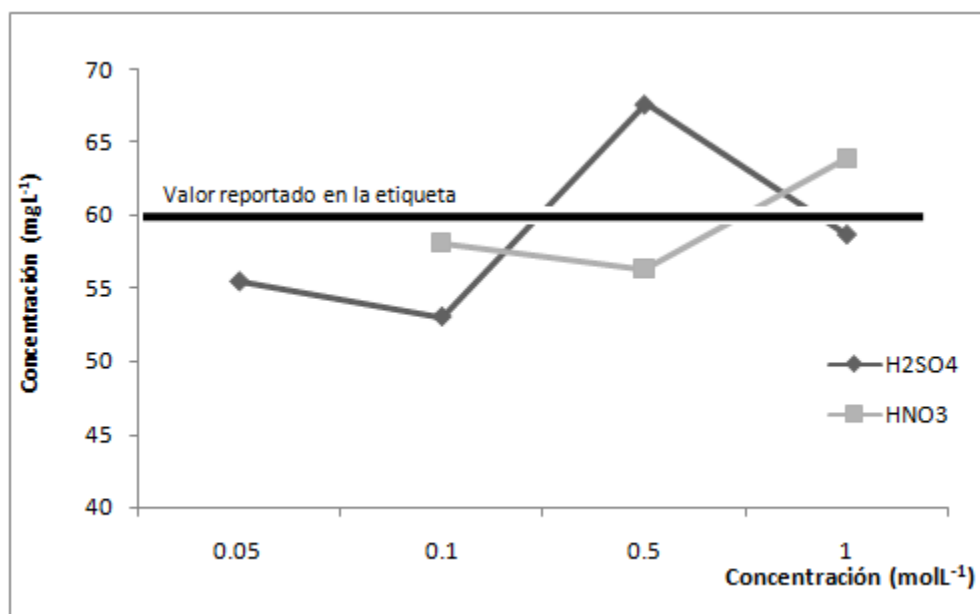


Figura V.17 Extracción de cloruro de 1g de queso con ácido sulfúrico y ácido nítrico a diferentes concentraciones.

Para el cloruro los resultados fueron muy diferentes entre sí, ya que no se mostró una tendencia respecto al tipo de ácido utilizado ni respecto a la concentración; lo destacable fue que el mejor resultado se consiguió utilizando ácido sulfúrico en una concentración de 0.5M.



En las figuras V.18 y V.19 se presentan los resultados de los ensayos 8 y 9 que se realizaron para verificar si tenía algún efecto favorable la aplicación de ultrasonido durante la extracción de los iones utilizando disoluciones acuosas 0.1M de ácido sulfúrico y nítrico como agentes extractantes.

Condiciones: Moler en mortero

Temp.= 80°C

Volumen= 50 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) y ácido nítrico (HNO_3) 0.1M.

Variables: con y sin aplicación de ultrasonido (10 min.).

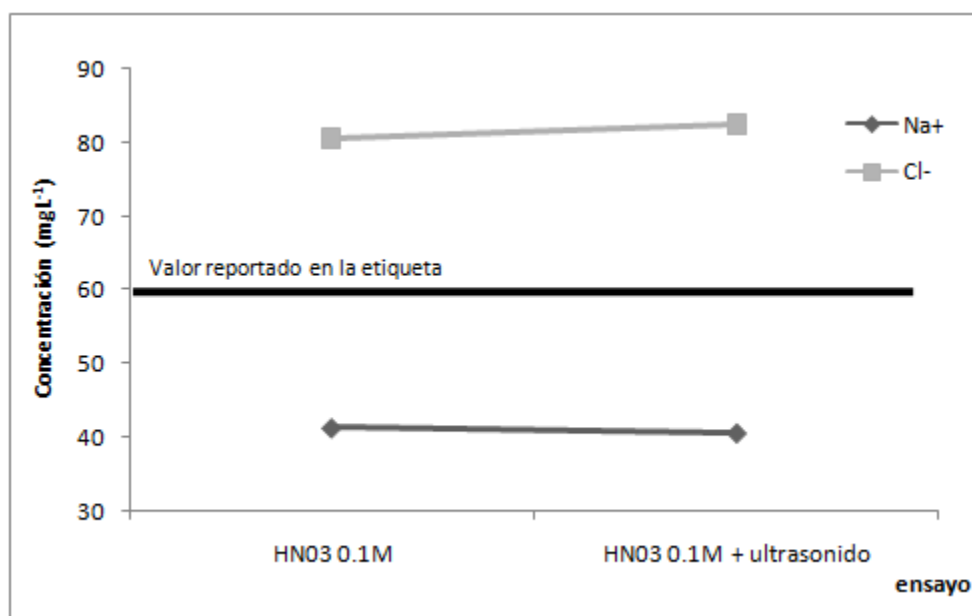


Figura V.18 Extracción de sodio y cloruro de 1g de queso con ácido nítrico 0.1M y evaluación del efecto en la aplicación de ultrasonido.

En la figura V.18 se puede apreciar que en la extracción de sodio con ácido nítrico se obtuvo un aumento en el recobro utilizando un mayor volumen de disolución acuosa acidificada (50 mL, 0.1M), que al comparar con el recobro



obtenido en la figura V.16 en donde sólo se utilizó 10 mL de disolución acuosa de ácido nítrico 0.1M. Así, la máxima concentración obtenida con 10 mL fue cercana a 30 mgL^{-1} mientras que utilizando 50 mL la concentración fue de 40 mgL^{-1} . En cuanto a la aplicación de ultrasonido no se apreció un efecto en la variación de la concentración de sodio en el extracto.

Para cloruro, se apreció un aumento más notable en la concentración obtenida (80 mgL^{-1} con 50 mL) comparando con la figura V.4.5, en donde la mayor concentración al agregar 10 mL de ácido nítrico 0.1 M en solución acuosa fue de aproximadamente 60 mgL^{-1} . Además en este caso sí se apreció un aumento en el recobro de 80 mgL^{-1} sin ultrasonido a 83 mgL^{-1} con ultrasonido.

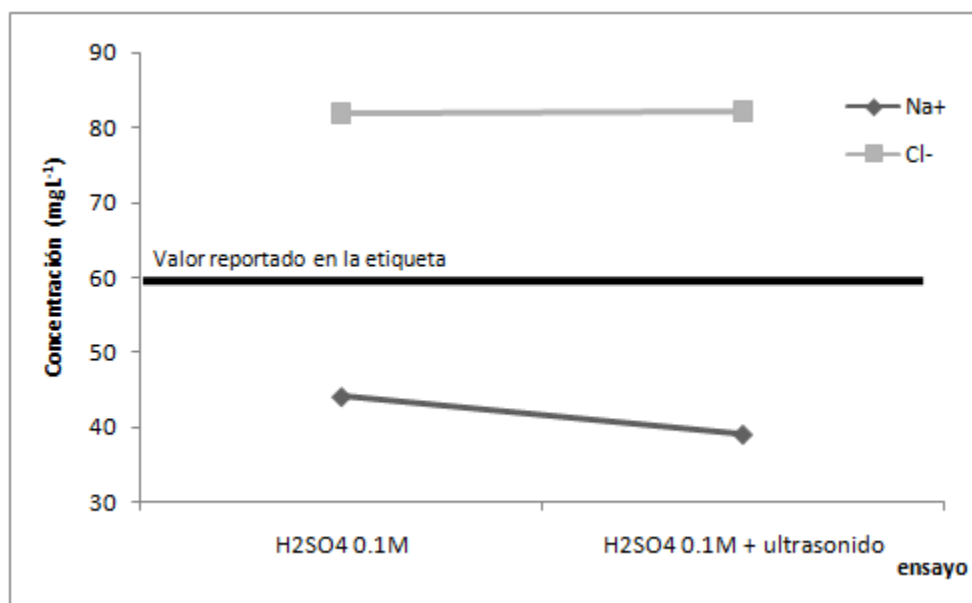


Figura V.19 Extracción de sodio y cloruro de 1g de queso con ácido sulfúrico 0.1M y evaluación del efecto en la aplicación de ultrasonido.



Ahora bien, al utilizar 50 mL de una disolución acuosa del ácido sulfúrico 0.1M se favoreció el recobro de sodio. En efecto, si comparamos la figura V.16 con la V.19 para el ion sodio se observa que a mayor volumen del extractante aumentó el recobro de 37 mgL^{-1} a 45 mgL^{-1} (con 50 mL). Sin embargo, en este caso, después de que se aplicó ultrasonido, la concentración de sodio disminuyó a 30 mgL^{-1} .

Para el cloruro al comparar la figura V.19 con la figura V.17 nuevamente se observó que aumentó la concentración de 60 mgL^{-1} hasta 80 mgL^{-1} .

Los ensayos ilustrados en las figuras V.18 y V.19 que se realizaron con 50mL de los dos diferentes ácidos corroboraron la información respecto a que el volumen del agente extractante utilizado fue de suma importancia ya que a mayor volumen, mayor la cantidad de iones que se solubilizaron para mejorar el rendimiento de la extracción. Sin embargo, se consideró inconveniente que la acidez del medio debe ser neutralizada para poder trabajar por ISE. Por lo tanto, se decidió aplicar solamente agua desionizada como extractante de los iones en el queso.



En la figura V.20 se presentan los resultados de los ensayos 10 al 13 de la tabla 4.2, realizados variando el volumen de agua desionizada, sin la adición de ácido.

Condiciones: Moler en mortero

Temperatura= 80°C

Tiempo ultrasonido= 10 min.

Variables: Volumen agua desionizada (30, 50, 80, 98 mL).

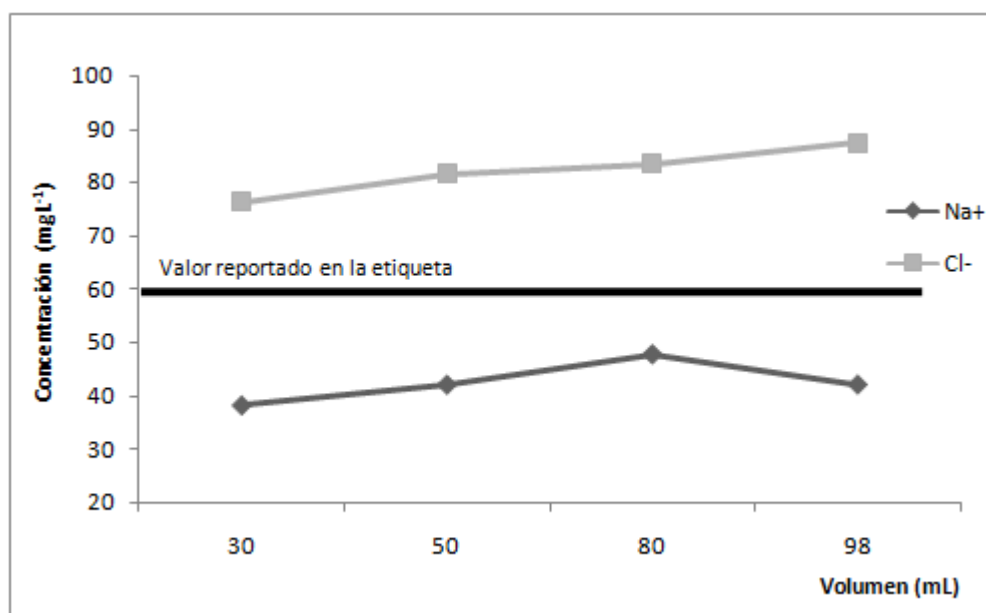


Figura V.20 Extracción de sodio y cloruro de 1g de queso con diferentes volúmenes de agua desionizada como extractante.

El aumento de la concentración de ambos iones conforme aumenta el volumen del agente extractante se puede observar en las 2 curvas presentadas; esto se debió a que hay mayor oportunidad de disolverse en un mayor volumen de extractante. Se extrajo hasta 50 mgL⁻¹ de sodio con 80 mL y 90 mgL⁻¹ de cloruro



con 98mL de agua desionizada. Se seleccionó el volumen de 98 mL para el ensayo posterior.

Por último se presenta la figura V.21 perteneciente a los ensayos en los que se evaluó el efecto del tiempo de ultrasonido para la extracción de los iones con un volumen fijo de extractante acuoso y sin acidificar (ensayo 14).

Condiciones: Moler en mortero

Temperatura= 80°C

Volumen extractante= 98 mL agua desionizada.

Variables: tiempo ultrasonido (5, 10, 15 minutos).

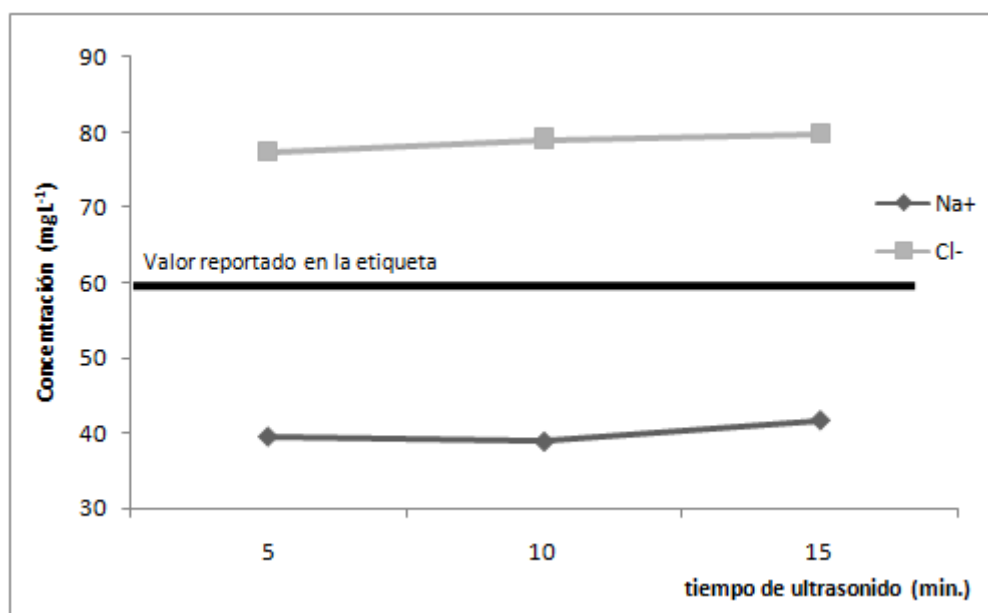


Figura V.21 Extracción de sodio y cloruro de 1g de queso con agua desionizada aplicando ultrasonido a diferentes tiempos.

Las curvas de la figura V.21 permiten observar que el tiempo de ultrasonido no tuvo un efecto para favorecer o perjudicar la extracción de los iones en estudio.



Por lo tanto, a partir de los estudios que se realizaron para optimizar la extracción de los iones sodio y cloruro se dedujo lo siguiente: 1) que la temperatura de extracción fue importante y 2) el volumen de extractante y el tiempo de agitación (solamente para cloruro) fueron factores que ayudaron a solubilizar mejor los iones. La temperatura adecuada para efectuar la extracción resultó ser de 80°C con un tiempo de agitación de 10 minutos y el volumen ideal del extractante de 80 a 100 mL de agua.

Reconsiderando los ensayos en los que se utilizó ácido, se observó que sí se logró extraer al sodio y cloruro, pues el pH bajo sí logró precipitar las proteínas y liberar a los iones, aunque el agua desionizada sola logró liberar cantidades mayores de los dos iones con respecto al agua acidificada. Entonces considerando que el ion H^+ interfiere en las lecturas del electrodo de sodio en un intervalo de pH de 0 a 5.5 y que en los manuales de ambos electrodos se establece que el pH apropiado para las determinaciones es de 6-12 para sodio y 2-12 para cloruro, la extracción con ácido se consideró con desventajas.

Por lo tanto, se seleccionaron 98 mL de agua desionizada sin acidificar, con calentamiento a 80°C con posterior aplicación de 10 minutos de ultrasonido en el método para la extracción.



V.5 Precisión del método ISE para sodio por estándar externo

La concentración de sodio obtenida para un extracto real de queso panela por estandarización externa se presenta en la tabla 5.7 esto se realizó 5 veces el mismo día al mismo extracto para evaluar la repetibilidad del método de determinación con muestra y 5 mediciones a extractos obtenidos en 5 días diferentes para evaluar la reproducibilidad. También se presenta la concentración promedio, desviación estándar y CV.

Tabla 5.7 Evaluación de la precisión del método ISE para sodio por estándar externo. Determinación de sodio en los extractos de queso.

Ensayo	Estándar externo	
	Repetibilidad (mgL ⁻¹)	Reproducibilidad (mgL ⁻¹)
1	65.21	57.85
2	65.23	57.37
3	64.96	56.88
4	56.66	59.11
5	57.13	58.93
Promedio	61.84	58.03
DE	4.52	0.97
CV	7.30	1.67

Las medidas obtenidas con el electrodo de sodio se extrapolaron en la curva de calibración por estándar externo (realizada con disoluciones estándar de 10 a 100 mgL⁻¹) por medio de la ecuación de la recta obtenida, de esta forma se calculó la concentración del extracto. Se puede observar que la variabilidad es poca y que la concentración determinada siempre fue cercana al valor esperado (60 mgL⁻¹), por lo que se dedujo que el electrodo de sodio es suficientemente



preciso para poder realizar las determinaciones en extractos de queso panela por estandarización externa.

V.6 Precisión del método ISE para cloruro por estándar externo

La concentración de cloruro obtenida para un extracto por estandarización externa se presenta en la tabla 5.8. Se realizó 5 veces el mismo día al mismo extracto para evaluar la repetibilidad del método de determinación con muestra y 5 mediciones a 5 extractos obtenidos en días diferentes para evaluar la reproducibilidad. También se presenta la concentración promedio, desviación estándar y CV.

Tabla 5.8 Evaluación de la precisión del método ISE para cloruro por estándar externo. Determinación de la concentración de cloruro en los extractos de queso.

Ensayo	Estándar externo	
	Repetibilidad (mgL ⁻¹)	Reproducibilidad (mgL ⁻¹)
1	109.19	122.39
2	114.86	138.28
3	109.79	127.26
4	109.85	122.06
5	109.55	115.78
Promedio	110.65	125.15
DE	2.37	8.39
CV	2.14	6.71



V.7 Linealidad y precisión del método ISE para sodio por adición patrón

A continuación en la figura V.22 se presenta la curva que representa la linealidad promedio para sodio obtenida durante 3 días de análisis a tres extractos diferentes de la misma muestra. Se presenta la ecuación de la recta con la pendiente, ordenada al origen y coeficiente de correlación (R^2) y entre paréntesis el coeficiente de variación de cada parámetro.

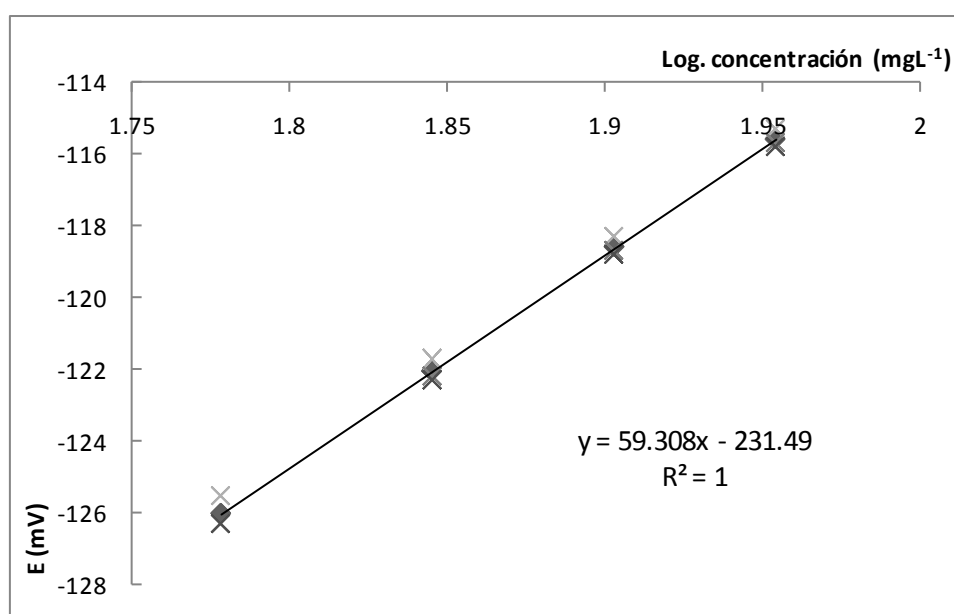


Figura V.22 Linealidad promedio del método de determinación de sodio por adición patrón.

En este caso, el parámetro de importancia en esta evaluación fue el coeficiente de correlación lineal, ya que ayudó a determinar la buena linealidad del método de determinación de sodio por adición patrón.



La concentración de sodio obtenida para un extracto por adición patrón se presenta en la tabla 5.9; esto se realizó 5 veces el mismo día al mismo extracto para evaluar la repetibilidad del método de determinación con muestra y en 5 días diferentes para evaluar la reproducibilidad. En la tabla se presenta la concentración promedio, desviación estándar y CV.

Tabla 5.9 Evaluación de la precisión del método ISE para sodio por adición patrón. Determinación de la concentración de sodio en los extractos de queso.

Ensayo	Adición patrón	
	Repetibilidad (mgL ⁻¹)	Reproducibilidad (mgL ⁻¹)
1	58.42	60.78
2	59.72	62.92
3	57.99	59.13
4	59.52	57.46
5	59.26	62.32
Promedio	58.98	60.52
DE	0.74	2.26
CV	1.26	3.73

Se pudo apreciar que la repetibilidad fue buena debido a que hubo poca variabilidad (1.26) en las determinaciones realizadas un mismo día, aunque la reproducibilidad tuvo un coeficiente de variación superior (3.7), fue aceptable pues las determinaciones se realizaron distintos días aunque se procuró que las condiciones fueran las mismas.



V.8 Linealidad y precisión del método ISE para cloruro por adición patrón

A continuación en la figura V.23 se presenta la curva que representa la linealidad promedio para cloruro obtenida durante 3 días de análisis a tres extractos diferentes. Se presenta la ecuación de la recta con la pendiente, ordenada al origen y coeficiente de correlación (R^2) y entre paréntesis el coeficiente de variación de cada parámetro.

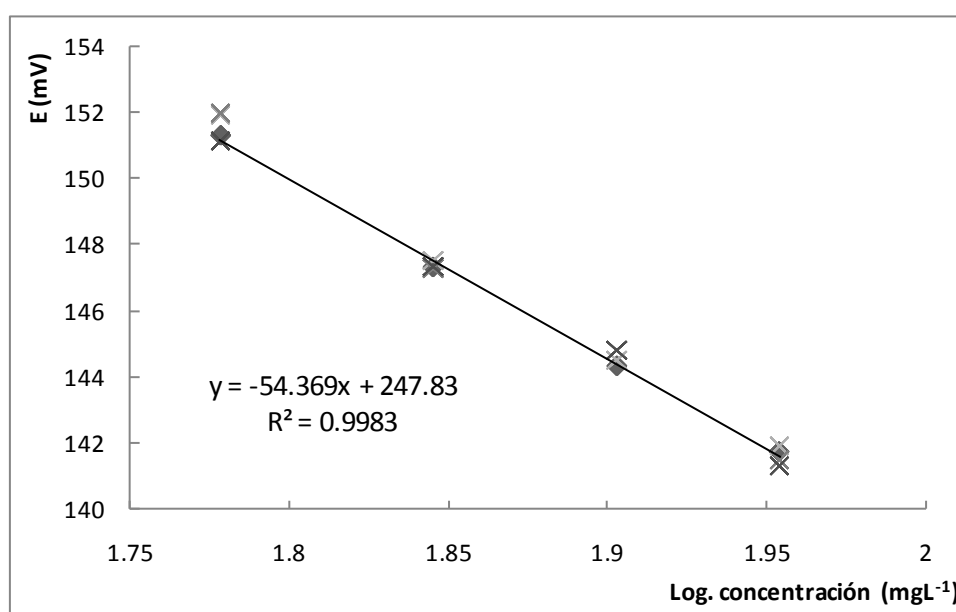


Figura V.23 Linealidad promedio del método de determinación de cloruro por adición patrón.

Se aprecia que la respuesta lineal del electrodo fue bastante buena, ya que el coeficiente de correlación lineal fue muy cercano a 1 (valor óptimo), por lo que es lineal la determinación de cloruro en la muestra.



La concentración de cloruro obtenida para unos extractos por adición patrón se presenta en la tabla 5.10; esto se realizó 5 veces el mismo día al mismo extracto para evaluar la repetibilidad del método de determinación con muestra y a 5 diferentes extractos obtenidos en 5 días diferentes para evaluar la reproducibilidad. En la tabla se presenta la concentración promedio, desviación estándar y CV.

Tabla 5.10 Evaluación de la precisión del método ISE para cloruro por adición patrón. Determinación de la concentración de cloruro en los extractos de queso.

Ensayo	Adición patrón	
	Repetibilidad (mgL ⁻¹)	Reproducibilidad (mgL ⁻¹)
1	92.56	77.21
2	92.56	86.92
3	88.87	87.81
4	88.87	84.39
5	79.31	77.09
Promedio	88.43	82.68
DE	5.42	5.21
CV	6.13	6.3

Se observó lo contrario que para el ion sodio, ya que el coeficiente de variación del cloruro por adiciones estándar (6.1) fue mayor que por estándar externo (2.3), aunque aceptable tratándose de la matriz compleja. Por el contrario, las concentraciones determinadas fueron menores por adición patrón, indicando un mayor efecto de los iones interferentes de la matriz en la medición de este ion. Esta tendencia se presentó en todos los extractos de queso, por lo que resulta más confiable el método de adiciones patrón ya que si existe alguna interferencia



que pueda ocasionar algún error, estará presente en todos los extractos y muestras a evaluar.

Estos resultados indicaron que es más recomendable trabajar con el método ISE de cuantificación por adiciones patrón para esta muestra.

V.9 Precisión del método flamométrico para sodio por estándar externo

La concentración de sodio obtenida por flamometría para un extracto real de queso panela por estandarización externa se presenta en la tabla 5.11 esto se realizó 5 veces el mismo día al mismo extracto para evaluar la repetibilidad del método de determinación con muestra y 5 mediciones a extractos obtenidos en 5 días diferentes para evaluar la reproducibilidad. También se presenta la concentración promedio, desviación estándar y CV.

Tabla 5.11 Evaluación de la precisión del método flamométrico para sodio por estándar externo.

Determinación de sodio en los extractos de queso.

Ensayo	Estándar externo	
	Repetibilidad (mgL ⁻¹)	Reproducibilidad (mgL ⁻¹)
1	69.2	62.94
2	71.2	49.4
3	65.5	58.02
4	60.7	55.49
5	73.4	65.59
Promedio	68.00	58.29
DE	5.01	6.36
CV	7.3	10.91

En la tabla 5.11 se puede apreciar que el coeficiente de variación para la evaluación de la repetibilidad resultó de 7.3 y 10.9 en la reproducibilidad, el extracto de queso es una matriz compleja y se demuestra al obtener estos



coeficientes de variación, por lo que se recomienda el uso del método de adición patrón para las determinaciones. Otra desventaja del uso de la flamometría es que al momento de realizar las diluciones de las muestras se presenta una posibilidad de errores experimentales.

V.10 Linealidad y precisión del método flamométrico para sodio por adición patrón

Se evaluó la linealidad del método flamométrico por adición patrón con el extracto del queso. En la figura V.24 se presenta la curva que representa la linealidad promedio para sodio por flamometría obtenida durante 3 días de análisis a tres extractos diferentes. Se presenta la ecuación de la recta con la pendiente, ordenada al origen y coeficiente de correlación (R^2) y entre paréntesis el coeficiente de variación de cada parámetro.

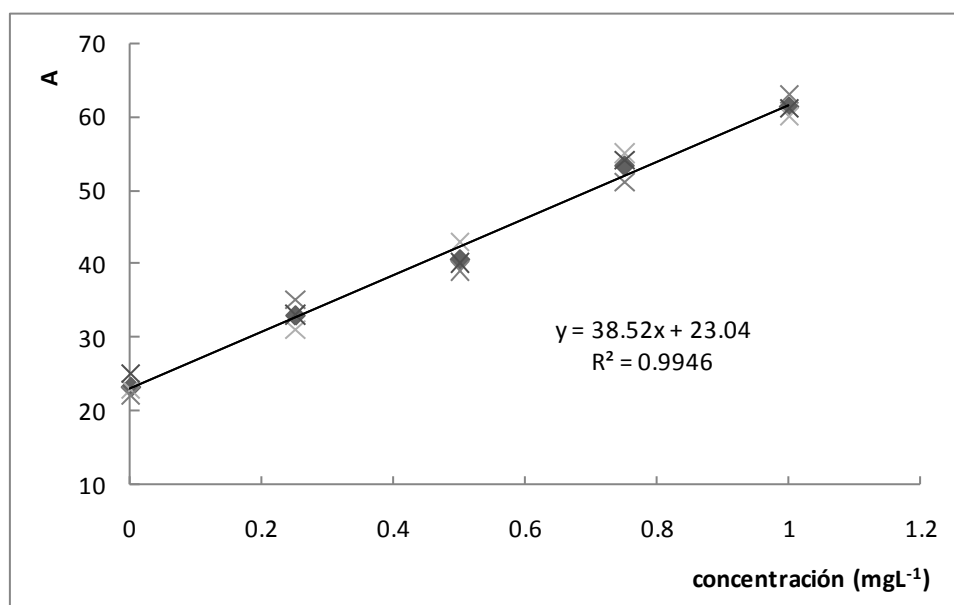


Figura V.24 Linealidad promedio del método de determinación de sodio por adición patrón con flamometría.



La linealidad del método flamométrico fue buena, aunque los coeficientes de variación más altos que para ISE, en los parámetros evaluados, el coeficiente de correlación lineal (R^2) fue muy bueno, ya que fue cercano a 1 (valor óptimo).

Se realizó la evaluación para los mismos extractos evaluados por ISE. En la tabla 5.12 se presenta la concentración obtenida de un extracto evaluado 5 veces el mismo día para verificar la repetibilidad del método de determinación con muestra y a 5 diferentes extractos obtenidos en 5 días diferentes para evaluar la reproducibilidad con muestra por adición patrón. También se presenta la concentración promedio, desviación estándar y CV.

La concentración se presenta ya tomando en cuenta la dilución, ya que en la determinación flamométrica se diluyó el extracto hasta 2 mgL^{-1} de sodio, para realizar la cuantificación como se recomendó en el manual evitando pasar a concentraciones superiores a 6 mgL^{-1} .

Tabla 5.12 Evaluación de la precisión del método flamométrico para sodio por adición patrón. Determinación de la concentración de sodio en los extractos de queso.

Ensayo	Adición patrón	
	Repetibilidad (mgL^{-1})	Reproducibilidad (mgL^{-1})
1	68.74	71.2
2	63.2	75.1
3	59.34	66.4
4	70.51	70.7
5	66.22	63.9
Promedio	65.60	69.46
DE	4.45	4.38
CV	6.79	6.31



En algunos casos la concentración obtenida fue superior a lo esperado, dando como resultado una variabilidad superior que la obtenida por ISE, debido a que el flamómetro es un instrumento muy sensible y el error en las disoluciones (que se prepararon por separado) de sodio es más importante en disoluciones con concentraciones muy bajas como las que se manejaron.

V.11 Exactitud del método ISE.

Todos los alimentos contienen elementos minerales formando parte de los compuestos orgánicos e inorgánicos. Es muy difícil determinarlos tal y como se presentan en los alimentos, la calcinación fue utilizada para destruir toda la materia orgánica y así se conservó únicamente la parte inorgánica del queso en la cual se encuentran el sodio y el cloruro. Este método absoluto se utilizó como referencia del contenido total de los iones en el queso analizado y así se pudo aplicar un factor de corrección por recobro para todas las muestras de queso panela.



A continuación se presentan en la tabla 5.13 las concentraciones de sodio en los extractos obtenidos el mismo día por el método de calcinación hasta cenizas de la misma muestra de queso. Los extractos fueron analizados por estándar externo y adición patrón.

Tabla 5.13 Sodio determinado con ISE en extractos obtenidos por el método de calcinación hasta cenizas.

Ensayo	Método de cuantificación	
	Estándar Externo ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Adición patrón ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)
1	64.23	60.26
2	63.76	60.26
3	64	60.26
4	65.02	58.82
5	66.31	63.33
6	65.82	61.76
Promedio	64.86	60.78
DE	1.04	1.56
CV	1.60	2.56



En la tabla 5.14 se puede apreciar que ambos métodos proporcionaron concentraciones diferentes de sodio en el extracto. El método de estándar externo presentó valores superiores. En cuanto a la desviación y al coeficiente de variación, estos fueron aceptables. Además, estos ensayos corroboraron la concentración establecida en el etiquetado del queso respecto al contenido de sodio. El método de calcinación hasta cenizas es un método absoluto de extracción, los resultados arrojados permitieron deducir la cantidad total de sodio en el queso y por lo tanto se utilizaron para calcular los recobros obtenidos mediante el método de extracción optimizado con agua y ultrasonido.

Tabla 5.14 Sodio determinado con ISE en extractos obtenidos con el método de extracción con disolución acuosa. Comparación con el método de calcinación hasta cenizas.

Ensayo	Estándar Externo (mgL ⁻¹)	Recobro con respecto a cenizas (%)	Adición patrón (mgL ⁻¹)	Recobro con respecto a cenizas (%)
1	66.98	104.28	62.59	103.87
2	65.21	102.27	58.42	96.95
3	65.23	101.92	59.72	99.10
4	64.96	99.91	57.99	98.59
5	56.66	85.45	59.52	93.98
6	57.13	86.80	59.26	95.95
Promedio	62.70	96.67	59.58	98.03
DE	4.55	8.38	1.62	3.39
CV	7.26	8.66	2.71	3.46

En efecto, en la tabla 5.14 se recopilan las concentraciones de sodio medidas para 6 extractos obtenidos con el método de extracción optimizado. Las extracciones y los análisis se realizaron el mismo día por estándar externo y por adición patrón. Como se puede apreciar por comparación con las concentraciones



de sodio obtenidas con los extractos provenientes del método de cenizas, se obtuvo un recobro promedio de 98.03% considerando la cuantificación por adición patrón. Por lo tanto, se pudo afirmar que la extracción de este ion sí fue cuantitativa pues, en la etiqueta del producto se reporta que el contenido es de 180 mg de sodio / 30g de queso, como se analizó 1g, la cantidad esperada en un extracto de 100 mL fue de $60 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, valor muy cercano al que se obtuvo. Respecto al método de cuantificación se puede apreciar que la menor desviación y coeficiente de variación se obtuvo también mediante el método de adición patrón, por lo que este método se seleccionó para cuantificar el sodio en las muestras de queso comerciales.

En la tabla 5.15 se presenta los resultados del análisis de cloruro de 6 extractos por cenizas realizados el mismo día y analizados también por estándar externo y por adición patrón.

Tabla 5.15 Cloruro determinado con ISE en extractos obtenidos por el método de calcinación hasta cenizas.

Ensayo	Método de cuantificación	
	Estándar Externo ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Adición patrón ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)
1	165.53	129.62
2	162.83	122.69
3	164.85	116.44
4	162.83	129.62
5	166.21	129.62
6	164.17	122.69
Promedio	164.40	125.11
DE	1.40	5.44
CV	0.85	4.35



Para el cloruro los resultados obtenidos en las determinaciones por adición patrón fueron menores que para el método de estándar externo, lo cual indicó que efectivamente los iones interferentes en la matriz de la muestra analizada si tuvieron un efecto marcado (como el nitrógeno presente en las proteínas), siendo más confiables los resultados arrojados por adición patrón.

En la tabla 5.16 se encuentran los resultados de las 6 extracciones de cloruro realizadas el mismo día, se analizó por estándar externo y por adición patrón.

Tabla 5.16 Cloruro determinado con ISE en extractos obtenidos con el método de extracción con disolución acuosa. Comparación con el método de calcinación hasta cenizas.

Ensayo	Estándar Externo (mgL⁻¹)	Recobro con respecto a cenizas (%)	Adición patrón (mgL⁻¹)	Recobro con respecto a cenizas (%)
1	109.19	65.96	92.56	71.40
2	108.86	66.86	76.54	62.38
3	114.86	69.68	92.56	79.49
4	109.79	67.43	88.87	68.56
5	109.85	66.09	88.87	68.56
6	109.55	66.73	79.31	64.64
Promedio	110.35	67.12	86.45	69.17
DE	2.24	1.36	6.86	5.98
CV	2.03	2.03	7.94	8.65

Nuevamente las concentraciones obtenidas por estándar externo fueron mayores que por adición patrón aunque tienen la menor variación y desviación. El recobro promedio que se determinó para cloruro fue del 69.17%, tomando en cuenta como 100% el valor promedio arrojado por el método de cenizas como concentración total de cloruro en el extracto del queso y la cuantificación por



adición patrón. Por lo tanto, se aplicó este factor de corrección a las muestras de queso que fueron analizadas.

En el caso de cloruro no se reporta la cantidad en el etiquetado y la cantidad que se adiciona no se reporta por el fabricante. Respecto al método de determinación se pudo apreciar que la menor desviación y coeficiente de variación se obtuvo mediante el método de estándar externo, aunque por adición patrón la variación también fue aceptable y más confiable dado que disminuye el efecto de matriz, por lo que fue el que se utilizó.

El método flamométrico con adición patrón se utilizó como referencia para verificar las mediciones por ISE del ion sodio que es aquel que se reporta en la etiqueta de los quesos.



La tabla 5.17 presenta las 5 concentraciones de sodio y su valor promedio en extractos obtenidos mediante la calcinación hasta cenizas de 5 muestras de queso panela del mismo lote y la misma marca (G). Como se observa, se verificó que las mediciones flamométricas y las mediciones ISE proporcionaran concentraciones parecidas, aunque la variación en las mediciones flamométricas fue mayor (11.85% de flamometría contra 2.7% de ISE)

Tabla 5.17 Concentración determinada con el método flamométrico por adición patrón para extractos de queso panela obtenidos por el método de calcinación hasta cenizas.

Ensayo	Adición patrón (mg*L⁻¹)
1	62.94
2	49.40
3	58.02
4	55.49
5	65.59
Promedio	60.03
DE	7.11
CV	11.85

En resumen, mediante el estudio completo se pudo apreciar y deducir que con la determinación de las cenizas se corroboró que el queso “G” sí cumple con lo establecido en la etiqueta que reporta la información nutrimental del ion sodio. Por otro lado, se pudo apreciar que la extracción de sodio por ISE sí fue cuantitativa y que el mejor método de determinación fue por adición patrón, ya que fue el que presentó menor coeficiente de variación durante el estudio. Y por último, respecto al método de referencia, flamometría, se pudo comprobar nuevamente lo determinado por ISE y por cenizas, la cantidad de sodio que resultó en los 3 casos fue equivalente y concordó con lo reportado en la etiqueta de este queso, aunque



es importante destacar que por medio de flamometría se obtuvieron grandes variaciones, puede ser debido a las diluciones realizadas, lo cual pone en desventaja a este método con respecto a ISE.

V.12 Determinación de sodio y cloruro en queso panela.

En la tabla 5.18 se presenta la concentración de iones que se obtuvieron en los extractos de las muestras de queso panela. Se reportan 3 determinaciones por triplicado por ISE a distintos lotes de la misma marca comercial con el intervalo de concentración correspondiente. Cada determinación se realizó un día distinto.

Los valores de concentración promedio de los 3 lotes, el coeficiente de variación, la cantidad reportada en la etiqueta (mgg^{-1}) y lo correspondiente al extracto de 100 mL (mgL^{-1}) aparecen en negritas.



Tabla 5.18 Contenido de iones determinado por ISE en muestras comerciales de queso panela.

Marca	A	B*	C	D	E	F	G	H*	I	J	K	L	M*	N	O	P**
Na ⁺	66±0.8	46±0.4	70±1.8	53±1.5	79±1.4	26±0.7	61±0.7	50±1.7	57±1.2	74±1.1	44±0.6	40±0.5	58±0.8	35±0.6	47±0.8	46±1.4
Promedio en extracto (mg·L ⁻¹)	66±0.5	47±0.5	61±0.8	57±0.6	78±1.5	30±0.8	66±0.4	58±0.9	55±0.8	82±1.9	59±0.7	34±0.4	26±0.2	43±0.9	49±1.0	49±3.0
	67±0.6	47±0.8	78±2.0	52±0.8	77±1.0	30±0.4	62±1.1	59±0.7	59±0.5	73±0.3	57±1.2	40±0.7	44±0.4	30±0.4	47±0.6	70±0.8
Promedio	66.7	47.1	70.0	54.5	78.3	29.4	63.3	56.2	57.4	76.7	54.1	38.5	43.1	36.3	48.0	55.4
CV	1.0	0.8	11.9	4.0	1.0	8.4	4.1	8.6	3.0	6.0	15.2	8.5	37.0	18.7	1.9	23.8
Etiqueta (mgL ⁻¹)	62.9	47.2	76	54.6	60	90	60	60	55	62.9	64	64	15	60	70	NR
(mgg ⁻¹)	6.2	4.7	7.6	5.4	6	9	6	6	5.5	6.2	6.4	6.4	1.5	6	7	
Congruencia etiqueta/determinado (%)	106.0	99.7	92.1	99.8	130.5	32.6	105.5	93.6	104.3	121.9	84.5	60.1	287.3	50.4	68.5	--
Cl ⁻	141±1.8	114±2.5	144±8.3	126±1.2	171±2.9	81±0.6	122±5.1	125±0.9	120±2.4	118±1.0	109±3.6	105±0.9	108±0.8	91±0.8	129±0.8	108±1.3
Promedio en extracto (mgL ⁻¹)	145±2.5	115±0.9	137±1.4	128±0.5	162±1.8	76±3.4	125±0.5	139±1.6	118±4.1	112±1.8	136±1.5	102±0.9	74±1.1	112±1.2	123±1.0	121±1.2
	131±2.0	112±1.3	143±1.7	125±5.2	160±1.8	74±1.6	122±3.4	141±1.5	120±2.0	112±1.7	123±1.8	108±1.6	105±2.1	103±0.9	131±1.2	156±2.8
Promedio	139.5	114.0	142.2	127.0	164.6	77.4	123.7	135.2	119.8	114.5	122.9	105.4	96.2	102.3	128.3	128.7
CV	5.0	1.0	2.7	1.2	3.7	5.2	1.5	6.6	1.1	2.8	11.1	2.5	19.3	10.1	3.2	19.5
Etiqueta	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR

NR= No reporta

*Queso panela "light".

** Queso panela artesanal.



En la figura V.25 se presenta un diagrama de barras para comparar el contenido de sodio reportado en la etiqueta respecto al sodio que se determinó por ISE. Los valores se reportan en (mgg^{-1}).

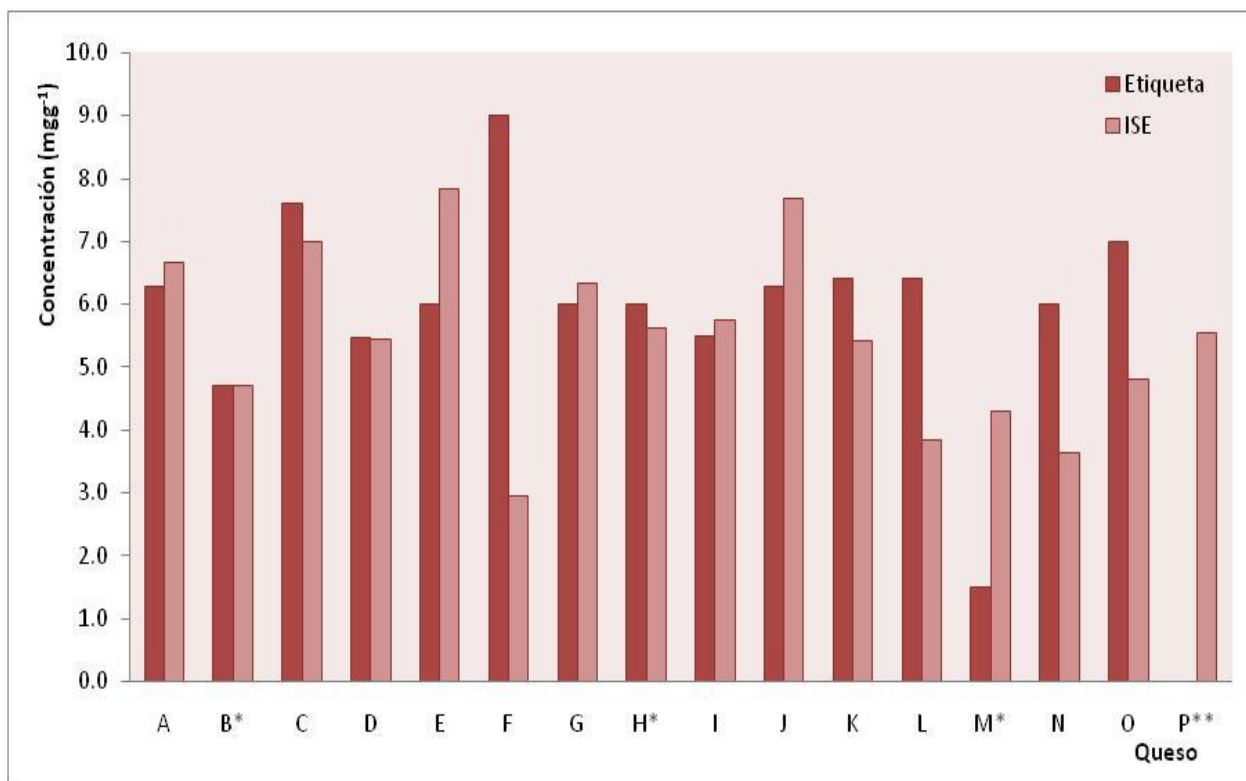


Figura V.25 Comparación de sodio en la etiqueta respecto al sodio determinado por ISE (mgg^{-1}) en los quesos.

En la figura V.25 se observa que en varias de las muestras, las concentraciones de sodio encontradas estuvieron por encima de lo reportado en la etiqueta del queso: las muestras A, E, G, I, J y particularmente la M* que corresponde a un queso “light”. En estos casos, es donde a nivel alimenticio pueden provocar problemas para personas con enfermedades cardiovasculares o renales, las cuales tienen dietas con restricción en el consumo de sodio y no



pueden consumir una cantidad mayor de sodio de la que tienen permitida. Por esta razón, en el control de calidad de las empresas que elaboran alimentos es muy importante la determinación con precisión del contenido de este ion. Las muestras C, F, L, N y O fueron el caso contrario, ya que los valores obtenidos fueron menores a lo reportado en la etiqueta, esto es favorable para ser consumido; lo que se recomienda al fabricante es establecer el contenido exacto en la etiqueta, pues puede llegar a tener un mayor consumo por tratarse de un producto reducido en sodio. Las concentraciones encontradas en las muestras B*, D, H* y K estuvieron muy cercanas a lo establecido en la etiqueta del producto, lo cual indicó que probablemente el proceso de elaboración de estos productos está estandarizado y hay un buen control de calidad del producto final.

En las muestras de queso “light” (B*, H* y M*) el contenido de sodio determinado fue cercano al que reporta en la etiqueta, a excepción de la muestra M* cuyo valor fue superior, aunque en los tres casos los valores son menores que los obtenidos para las muestras normales. Esto era lo que se esperaba pues en la industria llaman productos “light” a aquellos reducidos en grasa, pero también suelen añadir cantidades menores de cloruro de sodio en el proceso de elaboración.

Es importante mencionar que para el queso M* se obtuvo una gran variabilidad en los valores obtenidos entre los 3 lotes que se analizaron (37%), además de que ningún valor de concentración obtenido en éstos se acercó a lo reportado en la etiqueta, lo cual indicó que es necesario mejorar el control de



calidad en este producto, estandarizar el proceso de elaboración del mismo y reportar correctamente el contenido real de sodio en la etiqueta del queso.

El queso artesanal (muestra P**) aunque fue elaborado bajo condiciones caseras sin un control de calidad en el proceso presentó un contenido de sodio promedio de 55.4 con una variabilidad alta entre lotes (23.8%). La determinación por ISE en este queso artesanal fue importante para poder establecer que sin importar el proceso de producción el queso panela contiene una mayor cantidad de cloruro que de sodio.

Se ha documentado que un adulto en condiciones normales requiere de 0.1 a 0.2g de sodio para cumplir con los requisitos mínimos de funcionalidad biológica, y se puede elevar la ingesta hasta 3.3g^1 que equivalen a 3300 mg. Entonces, el sodio promedio cuantificado fue de 5.5 mgg^{-1} , por lo tanto, si se consumen 100 gramos de queso equivalen a 550 mg de sodio; valor que no rebaza el máximo permitido. Aún así es recomendable establecer el contenido real de sodio en los alimentos procesados.



En la figura V.26 se presenta un histograma en el cual se compararon las concentraciones de sodio y cloruro en mgg^{-1} determinadas por ISE.

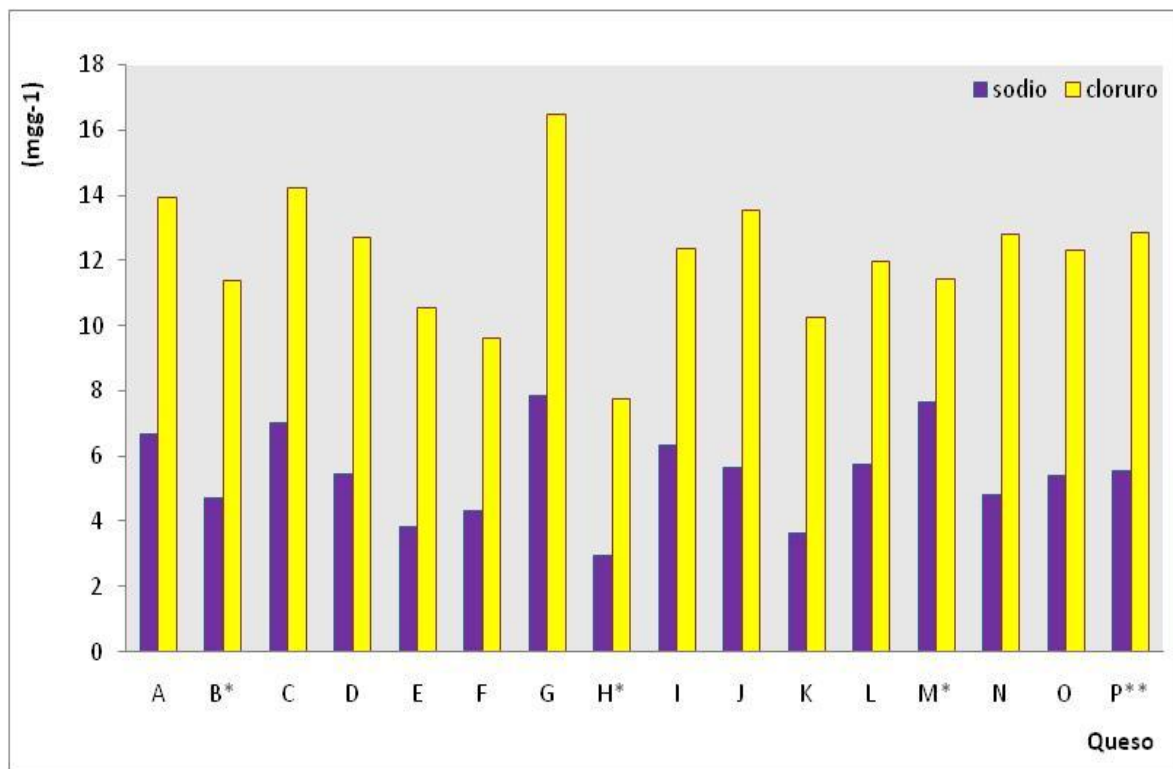


Figura V.26 Comparación de la concentración de sodio contra la concentración de cloruro determinada por ISE (mgg^{-1}) en los quesos.

Se corroboró que en todos los casos la concentración de cloruro es más del doble de la concentración de sodio determinada, lo cual confirmó la presencia de sales de cloruro en el proceso de elaboración del queso panela. Los aditivos más utilizados para quesos son el cloruro de calcio, lactato de calcio como agentes afirmantes y el glutamato monosódico, guanilato o inosinato disódico como potenciadores del sabor, estos aditivos contienen calcio o sodio lo cual puede llegar a aumentar la concentración de los iones de interés. Cabe destacar, que



esto no ocurre para las muestras que se analizaron, pues el único aditivo que reportan en los ingredientes de todos los quesos es el cloruro de calcio.^{9, 11}

En cuanto a la elaboración de queso panela, es importante mencionar que probablemente en algunas industrias se tenga correctamente estandarizado el proceso de elaboración, pues en la mayoría de las determinaciones por ISE de los distintos lotes de una marca coincidieron entre sí, lo cual demostró que el proceso de elaboración es el mismo lote tras lote, en toda la producción de este alimento. Lo que sí es recomendable y sumamente necesario es que la información declarada en la etiqueta este completa y sea comprobado por la producción, pues en muchos casos declaran una cantidad excesivamente superior a la que realmente contiene el queso, lo cual es incorrecto, pues un queso libre de sodio o reducido en sodio tiene un mayor valor comercial.

En la determinación de cloruro, es importante mencionar que este ion no se declara en la etiqueta, aunque debería, pues en los métodos oficiales para la determinación de sodio en alimentos se determina el contenido de cloruro y se reporta como cloruro de sodio presente en el alimento, de esta forma si se reportara sería más fácil corroborar lo determinado y saber si se agregan aditivos que contengan sodio o cloruro en el alimento.

Ahora bien, en el proceso de elaboración del queso, se establece que se debe agregar cloruro de calcio (CaCl_2) a fin de restablecer el equilibrio iónico de la leche que fue sometida al proceso de pasteurización. Según la NOM-035-SSA1-



1993, se establece un 0.2 % máximo, pero cabe mencionar que esta norma se enfoca más a las especificaciones sanitarias y en los quesos analizados no se tiene acceso a la información de la formulación de dicho alimento, por lo cual se desconoce la cantidad agregada de este aditivo.

Para la cuantificación de cloruro por ISE en todos los casos el intervalo de confianza resultó mayor al 1%, lo cual es aceptable, pues el ion cloruro está presente en una cantidad mayor en la leche, aunque no en una cantidad establecida, lo cual pudo ocasionar cierta variación y además se le agrega como un aditivo alimentario al queso.



En la figura V.27 se presenta un histograma de las concentraciones molares de los 2 iones a fin de resaltar el contenido mayoritario de cloruro en el queso panela.

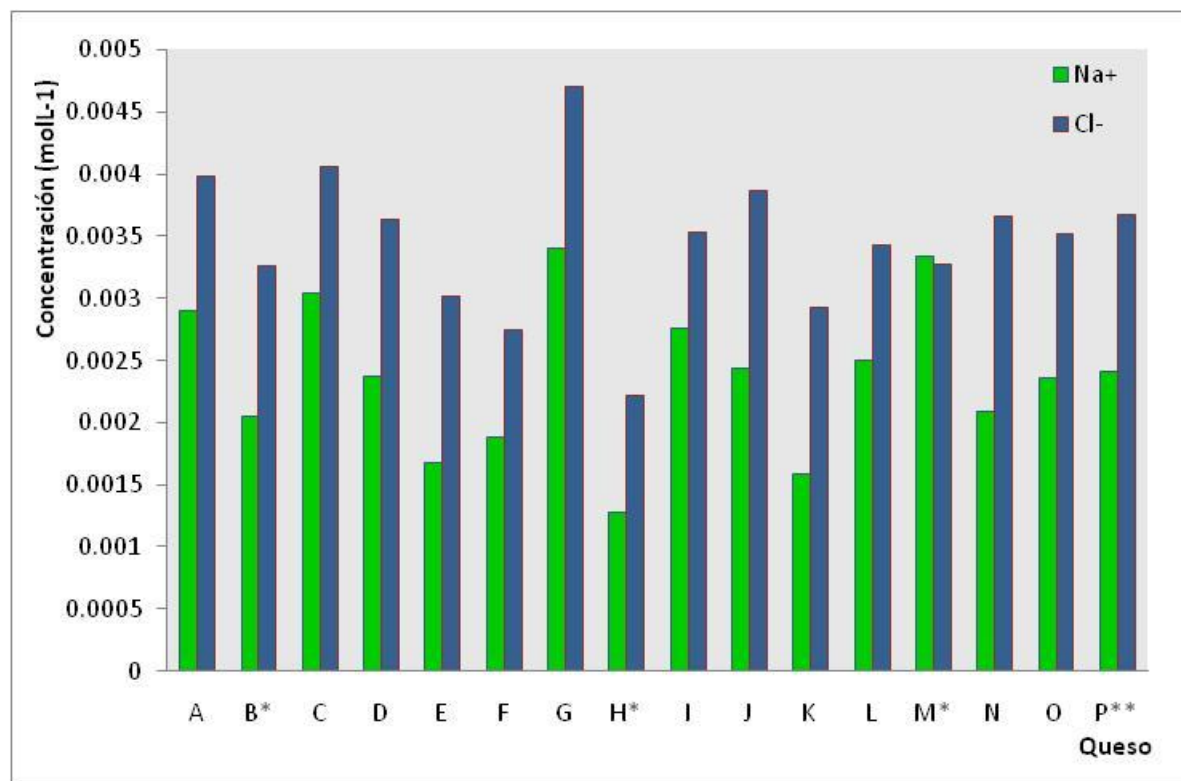


Figura V.27 Contenido de sodio y cloruro en queso panela determinado por ISE (mol·L⁻¹)

A simple vista si se apreció en la mayoría de los casos, un mayor contenido de cloruro que de sodio, lo cual fue normal debido a los aditivos mencionados con sales de cloruro que se agregan en la elaboración del queso. Cabe resaltar el caso de la muestra M* para la cual el contenido determinado para ambos iones fue muy similar, de hecho, hasta se apreció ligeramente mayor el contenido de sodio, probablemente pudo haber sido debido a que se agregó poca cantidad del agente



afirmante en la elaboración y quizá se agregó algún otro aditivo como potenciador de sabor con sales de sodio el cual no reportó en su etiqueta.

La variabilidad de los distintos lotes para ambos iones en estudio fue similar, pues las marcas que presentaron una variabilidad ligeramente alta para sodio y para cloruro de una manera similar. La mayoría de las marcas analizadas presentaron esta variabilidad en ambos iones indicando que el control de calidad en el producto terminado no es del todo preciso.

La figura V.27 también demuestra que tan erróneo es asociar la concentración de cloruro en las muestras a la presencia del cloruro de sodio. El ion cloruro se presenta en la mayoría de los casos con concentración mayor. Lo ideal, sería determinar en un mismo extracto a los 2 iones (sodio y cloruro), lo que puede efectuarse con la metodología con electrodos selectivos.



VI. CONCLUSIONES

- El método de extracción diseñado para la determinación de sodio y cloruro en queso panela resultó ser bastante adecuado, debido a que la cantidad de muestra que se utilizó fue mínima (1g). Además fue rápido, sencillo y seguro, pues no se empleó ningún tipo de ácido. También fue preciso, al realizar extracciones y análisis el mismo día y en diferentes días se arrojaron resultados similares.
- La metodología diseñada para ISE demostró múltiples ventajas, entre ellas ser más económico y rápido por comparación con el método oficial de Volhard para la determinación de cloruro, ya que aunque este último resulta confiable, es caro, requiere la calcinación de la muestra hasta cenizas y le interfiere la turbidez. Por otra parte, el método oficial para la determinación de sodio en alimentos que es la Absorción Atómica requiere de un equipo caro al que muchos laboratorios no tienen acceso ni personal capacitado para su manejo.
- El contenido de sodio promedio reportado en la etiqueta de los quesos analizados fue de 7 mgg^{-1} y el cuantificado por ISE fue de 5.5 mgg^{-1} y 121 mgg^{-1} para cloruro, lo cual resultó una proporción baja ya que aunque ninguno de estos iones tiene una ingesta diaria recomendada (IDR), se ha establecido que se pueden consumir hasta 3g de sodio. Lo que sí es importante mencionar es que a nivel industrial se debe tener un control de calidad adecuado para reportar la cantidad exacta en la etiqueta, pues el



queso panela es un alimento que casi siempre es recomendado para consumir a las personas que tienen una dieta con restricción de sodio.

- El método ISE junto con el método de extracción optimizado en este protocolo pueden ser útiles en la industria láctea, específicamente en quesos, por sus múltiples ventajas como son: simplicidad, rapidez, seguridad en cuanto al uso de agua como agente extractante, a diferencia de otros métodos que requieren el uso de ácido para realizar la extracción de los iones, lo cual ocasionaría un ahorro de costos, tiempo y determinaciones más rápidas y precisas y exactas.



Anexo I. Validación

La validación es un requisito importante en la práctica de los análisis químicos cuyo objetivo es el garantizar que el método analítico y el lugar donde se implementa permiten lograr resultados rutinarios confiables, dentro de las especificaciones del método.³²

Se debe de validar cuando se revisa un método ya establecido para mejorarlo, cuando el control de calidad indica que el método en uso está cambiando con el tiempo, cuando se usa un método ya establecido en un laboratorio diferente, con diferente analista o con diferente instrumental y/o para demostrar la equivalencia entre 2 métodos.³³ Existen ciertos parámetros que proporcionan validez y se deben evaluar. Éstos se definen y describen a continuación.^{32, 34}

Linealidad: define la aptitud para obtener resultados directamente proporcionales a la concentración de analito. La linealidad se determina por medio de una curva de calibración en el intervalo de concentración a evaluar, se registra la lectura del potencial (mV), se grafica y se obtiene la ecuación de la recta y el coeficiente de correlación (R^2) debe ser mayor a 0.99 para indicar que el método es lineal.

Rango lineal: es el rango de concentraciones del analito para las cuales el método brinda resultados directamente proporcionales a la concentración.

Exactitud: es la proximidad entre el resultado de una medición y el valor verdadero.



Precisión: es una medida de cuán cerca están los resultados unos de otros, y generalmente se expresa por medidas como la desviación estándar, que describe la dispersión de los resultados.

Repetibilidad: da una idea del tipo de variabilidad que se puede esperar cuando el método es desarrollado por un mismo analista, en un mismo equipo a lo largo de un periodo de tiempo corto.

Reproducibilidad: representa la variabilidad que se puede esperar cuando el método es desarrollado bajo diferentes condiciones (analista, varios días y otro equipo).

Coefficiente de variación: es una medida de dispersión de una misma medida, útil para comparar dispersiones. A mayor valor de C.V. mayor heterogeneidad de los valores; y a menor C.V., mayor homogeneidad en los valores. Se calcula con la siguiente fórmula:

$$CV = (\text{Desviación estándar (DE)} / \text{Promedio}) (100)$$

Sensibilidad: es la relación que existe entre la variación del instrumento y la del efecto medido.

Selectividad: es la capacidad de un método para determinar exacta y específicamente el analito de interés en presencia de otros componentes en la matriz de la muestra, bajo las condiciones establecidas del ensayo.

Límite de detección: es la menor cantidad que puede ser distinguida con cierto nivel de confianza especificado.



Límite de cuantificación: es la menor cantidad que puede ser determinada cuantitativamente con una incertidumbre asociada, para un dado nivel de confianza.

Robustez: medida de la capacidad de un procedimiento analítico para no ser afectado por variaciones pequeñas pero deliberadas en los parámetros del método y que provee una indicación de su fiabilidad durante su uso habitual.



Anexo II. Disoluciones necesarias para los electrodos de sodio y cloruro.

En la tabla 7.1 se describen las disoluciones necesarias para el manejo del electrodo de sodio, su composición y el número comercial con el que se manejan por ORION.

Tabla 7.1 Disoluciones necesarias para el electrodo de sodio.

# ORION	Disolución	Descripción
900010	Disolución de llenado (altas concentraciones) Concentraciones superiores a 10 mgL^{-1}	Cloruro de amonio (NH_4Cl) 2M Agua desionizada
900012	Disolución de llenado (bajas concentraciones) De 10^{-3} a 10 mgL^{-1}	Cloruro de amonio (NH_4Cl) 0.1M Agua desionizada
841111	Ajustador de fuerza iónica (ISA). Se agrega en una proporción de 10:100 respecto al volumen total.	Cloruro de amonio (NH_4Cl) 4M Hidróxido de amonio (NH_4OH) 4M Agua desionizada
Preparada en el laboratorio	Disolución de enjuague	0.5mL ISA/50mL agua desionizada.
841113	Disolución de reacondicionamiento.	Bifluoruro de amonio (NH_4HF_2) 0.1M Agua desionizada
841101	Disolución de almacenamiento	Cloruro de sodio (NaCl) 5M Cloruro de amonio (NH_4Cl) 0.08M Hidróxido de amonio (NH_4OH) 0.08M Agua desionizada
841109	Estándar de Sodio con ISA	1000 mgL^{-1} de sodio (Na^+) Cloruro de amonio (NH_4Cl) 4M Hidróxido de amonio (NH_4OH) 4M Agua desionizada
841108	Estándar de Sodio	1000 mgL^{-1} de sodio Agua desionizada

ISA: Ionic Strength Adjustor por sus siglas en inglés.



En la tabla 7.2 se muestran las disoluciones necesarias para el manejo del electrodo de cloruro, su composición y el número o nombre comercial proporcionado por ORION.

Tabla 7.2 Disoluciones necesarias para el electrodo de cloruro.

# ORION	Disolución	Descripción
900001	Disolución de llenado (para muestras de concentración mayor que $10^{-2}M$ o $355 \text{ mgL}^{-1} \text{ Cl}^-$)	Nitrato de potasio (KNO_3) 37% Cloruro de potasio (KCl) 5% <57% agua desionizada Cloruro de plata (AgCl) <0.1% Tritón X-100 ($\text{C}_{32}\text{H}_{58}\text{O}_{11}$) <0.1% Cloruro de sodio (NaCl) <1%
900002	Disolución de llenado (para muestras menos concentradas que $10^{-2}M$ o $355 \text{ mgL}^{-1} \text{ Cl}^-$)	Nitrato de potasio (KNO_3) 17% Cloruro de potasio (KCl) 5% <77% agua desionizada Cloruro de plata (AgCl) <0.1% Tritón X-100 ($\text{C}_{32}\text{H}_{58}\text{O}_{11}$) <0.1% Cloruro de sodio (NaCl) <1%
940011	Ajustador de fuerza iónica (ISA)	Nitrato de sodio 5M (NaNO_3) Agua desionizada
941709	CISA ajustador de fuerza iónica para minimizar las interferencias debidas a otros iones presentes	Ácido nítrico (HNO_3) 1M Bromato de sodio (NaBrO_3) 0.1M Agua desionizada
Preparada en el laboratorio	Solución de almacenamiento	Cloruro (Cl^-) 0.01M Agua desionizada

CISA: Complex & Ionic Strength Adjustor por sus siglas en inglés.



VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Valle, V.P., Lucas F.B. Toxicología de alimentos, Instituto Nacional de Salud Pública, Centro Nacional de Salud Ambiental, México. Pág. 166-167. (2000).
2. Kindstedt, P.S., Mattick, L.R., Kosikowski, F.V. Measure of sodium chloride in cheese by a simple sodium ion electrode, Department of Food Science, Cornell University, Ithaca, NY 14853. Journal of Dairy Science. Volumen 66. Pág. 988-993, (1983).
3. Egan, H., Kirk, R.S., Sawyer, R. Análisis químico de alimentos de Pearson. C.E.C.S.A. México, Pág. 16-22, (1988).
4. Norma Mexicana NMX-F-360-S-1981. Alimentos para humanos. Determinación de cloruros como cloruro de sodio (método de Volhard). Publicada en el Diario Oficial de la Federación. Fecha: 20 de mayo de 1997.
5. Ebbing, D. D. Química general, Editorial Mc GRAW-HILL, 5ª edición México, Pág. 43, 60, 88, (1997).
6. Ganong, W. F. Fisiología médica, Editorial El Manual Moderno S.A. de C.V., 12ª edición, Pág. 9, 272, 611-615, 632, (1990).
7. Institute of Medicine of the National Academy (IOM). Dietary reference intakes. Nutrition Reviews. Volumen 10. Pág. 400-401, (2004).
8. Potter, N., Hotchkiss, J. H., Leche y Productos Lácteos Ciencia de los alimentos, Editorial Acribia S.A., 5ª edición, España, Pág. 329-343, (2004).
9. Baudi, D. S. Diccionario de tecnología en los alimentos. Editorial Alambra Mexicana, 3ª edición, México DF., Pág. 252, (1996).



10. Food Standards Agency (FSA). Salt and health, your questions answered.
<http://www.food.gov.uk/news/newsarchive/2001/sep/saltcampaignqand>.
(2004).
11. FAO/OMS, Comité de Expertos en Aditivos Alimentarios, Monografías de los aditivos, (2008).
12. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis, 17th edition. Volumen I. Capítulo 11. EE.UU. (2000).
13. Harris, D., Análisis químico cuantitativo, Editorial Reverté, 2a edición, Barcelona, España, Pág. 89-94, 318-342, 367-368, (1999).
14. Charlot, G., Curso de química analítica general: métodos electroquímicos y absorciométricos, editorial Toray-Masson,. Tomo II. Pág. 289-292. (1982).
15. Skoog, D.A, Holler, F.J., Principios de análisis instrumental. Editorial CENGAGE learning, 6^a edición, México, D.F., Pág 255-261. (2008)
16. Código alimentario. Codex Alimentarius FAO/ OMS/ JECFA/ WHO
http://www.codexalimentarius.net/web/index_esp.jsp (2008).
17. Revista Digital Universitaria. Productos lácteos: ruta de la metamorfosis,
Publicación: 10 de septiembre. Volumen 6, Número 9. Pág 1607-1615.
(2005).
18. Varnam, A. H., Leche y productos lácteos. Tecnología, química y microbiología, Editorial Acribia S.A., España, Pág. 291-294, (1994).
19. Nieto V. Z. y cols., Manual de prácticas de laboratorio de productos lácteos,
Departamento de Alimentos y Biotecnología, Facultad de Química, UNAM,
México 2007-1.



20. Scout, R., Fabricación de queso, Editorial Acribia S.A., España, Pág. 15-22, (1991).
21. Burriel, F., Lucena, F., Arrihas, S., Hernández, J., Química analítica cualitativa. Tomsom Editores, Paraninfo SA. Madrid, España. Pág. 1050-1054, (2001).
22. <http://www.nico2000.net/datasheets/links.html#links3> (2008)
23. Skoog, D.A y West, D.M. Fundamentos de química analítica. Editorial Mc GRAW-HILL, Pág. 175-188, (1988).
24. Termo Electron Corporation, Orion ROSS sodium electrode. Instruction manual. Orion 84-11.
25. Termo Electrón Corporation, Orion chloride electrode. Instruction manual. Orion 94-17.
26. Pérez- Olmos, R, Echevarría, B., Castresana, J.M., Potentiometric method for the determination of sodium in spanish cheeses, Departamento de Química Analítica, Universidad del País Vasco, Bilbao, España. Journal of Food Composition and Analysis. Volumen 4. Pág 158-166, (1991).
27. Pérez- Olmos, R, Herrero, R., Lima, J.L.F.C, Montenegro, M.C.B.S.M, Sequential potentiometric determination of chloride and nitrate in meat products, Departamento de Química Analítica, Universidad del País Vasco, Bilbao, España. Journal of Food Chemistry. Volumen 59. Pág. 305-311, (1997).



28. Poortvliet, L.J., Horwitz, W., Garcia Aragonés, E, Determination of chloride concentration in cheese: collaborative study. Journal of the Association of Official Analytical Chemists. Volumen 73. Pág 657-661, (1997).
29. Pérez- Olmos, R, Echevarría, B., Comparative study of ion-selective electrode versus flame emission photometry techniques for the determination of sodium and potassium in Spanish wines, Journal of Food Chemistry. Volumen 32. Pág 201-207, (1988).
30. Ferren, W. P., Shane, N.A., Potentiometric determination of fluoride in beverages by means of the ion selective solid state electrode, Journal of Food Science. Volumen 34. Pág 317-319, (1969).
31. Da Silva, I.S. y cols. FIA-potentiometry in the sub-Nernstian response region for rapid and direct chloride assays in milk and in coconut water, Departamento de Química, Universidad de Federal Do Maranhão, São Luis, MA, Brazil, Journal of Food Chemistry. Volumen 44. Pág 46-52, 56, (1983).
32. Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México A.C., Guía de validación de métodos analíticos. (2002).
33. Van Zoonen, P y cols. Some practical examples of method validation in analytical laboratory, National Institute of Public Health and the Environment, Trends in analytical chemistry, Volumen 18, Número 9. Pág 584-593. (1999).
34. Wood, R., How to validate analytical methods, Trends in analytical chemistry, Volumen 18, Número 9. Pág. 624-632. (1999).



IX. PERSPECTIVAS Y RECOMENDACIONES

- ✓ Existe la posibilidad de correlacionar la evaluación de sodio en queso panela por ISE con la evaluación sensorial; con el análisis sensorial puede detectarse el queso con la nota más salada y corroborar con la determinación por ISE.
- ✓ Se propone al método ISE como método oficial de determinación de sodio y cloruro en alimentos dado sus ventajas y excelentes resultados de precisión y exactitud.
- ✓ Debido a que ISE es un método simple, sencillo y accesible para cualquier laboratorio se puede aplicar a la docencia.
- ✓ Para optimizar la extracción de iones en el queso se recomienda realizar varias extracciones a una misma muestra, es decir, dividirla en varios lotes y después juntar las alícuotas para llevar al aforo a 100 mL.
- ✓ Se recomienda realizar la determinación de calcio por ISE o por flamometría, de esta forma el cloruro determinado por ISE y el calcio se pueden relacionar mediante un balance de masas.