

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



COMPARACION DE DOS METODOS PARA LA CUANTIFICACION DE
CALCIO EN YOGUR PARA ADULTOS Y NIÑOS

TRABAJO DE GRADO EN MODALIDAD TRABAJO DE INVESTIGACION

PRESENTADO POR

EDWIN ALEXIS ARAGON MIRANDA
MOISES ARIEL GUILLEN TORRES

PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIADO EN QUIMICA Y FARMACIA

JUNIO 2022

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MAESTRO ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO

SECRETARIO GENERAL

MAESTRO FRANCISCO ANTONIO ALARCON SANDOVAL

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANA

LICDA. REYNA MARIBEL GALDAMEZ

SECRETARIA

LICDA. EUGENIA SORTO LEMUS

DIRECCION DE PROCESOS DE GRADO

DIRECTORA GENERAL

MSc. Cecilia Haydeé Gallardo de Velásquez

TRIBUNAL EVALUADOR

ASESORA DE AREA EN MICROBIOLOGIA:

Dra. Tania Ethel Cuadra Zelaya

**ASESORA DE AREA EN CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS
FARMACEUTICOS Y COSMETICOS:**

Licda. Ariana Lisette García de Ventura

DOCENTE ASESOR

Lic. Guillermo Antonio Castillo Ruiz

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo de graduación lo dedico en especial a Dios porque él nos ha permitido alcanzar este logro, a nuestros familiares y amigos por su apoyo y cariño.

A mis padres, Rosa Hilda Miranda y Juan Francisco Aragón, por su apoyo incondicional en todo el desarrollo de mi carrera, sus consejos y su amor incondicional para conmigo.

A mi novia, Erika Daniela Cañas, por animarme con sus palabras de aliento, por apoyarme siempre y quererme tanto.

A mis tíos Emilio Miranda y Miguel Ángel Miranda, por siempre brindarnos su apoyo y amor incondicional.

A nuestro docente asesor Lic. Guillermo Antonio Castillo por habernos propuesto este reto, por su tiempo, apoyo y dedicación para el desarrollo de este trabajo de graduación.

A nuestras asesoras de área Dra. Tania Ethel Cuadra y Licda. Ariana Lissette García. Además, a nuestra directora de Procesos de Graduación, MSc. Cecilia Haydee Gallardo por sus consejos y sugerencias.

A mi compañero de tesis y amigo Moisés Ariel Guillen, por su tolerancia durante todo el proceso.

A mis hermanos y hermanas Ronald Miranda, Katherine Miranda, Mélida Miranda y Camilo Miranda por su apoyo incondicional en todo el proceso de formación de mi carrera.

Edwin Alexis Aragón Miranda

AGRADECIMIENTOS

A Dios por habernos permitido culminar este trabajo de graduación porque él nos guió y nos dio la sabiduría necesaria para poder realizarlo.

A mis padres, Gilma Mayra Torres y Alfonso Guillen Rodriguez, por su apoyo incondicional en todo el desarrollo de mi carrera, sus consejos y su amor incondicional para conmigo.

A nuestro asesor Lic. Guillermo Castillo, porque siempre nos dedicaron su tiempo durante la realización de nuestro trabajo de graduación y estuvieron incondicionalmente siempre que necesitábamos su ayuda, brindándonos su apoyo y motivación.

A nuestras asesoras de área Dra. Tania Ethel Cuadra y Licda. Ariana Lissette García. Además, a nuestra directora de Procesos de Graduación, MSc. Cecilia Haydee Gallardo por sus consejos y sugerencias.

A mis hermanos Marco Antonio Guillen y Alfonso Alexander Guillen por su apoyo y amor incondicional.

A mi compañero de tesis y amigo Edwin Alexis Aragón por su perseverancia y su lealtad durante todo el proceso.

Moises Ariel Guillen Torres

INDICE GENERAL

	Pag N°
RESUMEN	
CAPITULO I	
1.0 INTRODUCCION	xii
CAPITULO II	
2.0 OBJETIVOS	
2.1 OBJETIVO GENERAL	24
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
CAPITULO III	
3.0 MARCO TEÓRICO	17
3.1 Generalidades del yogur	17
3.2 Metodologías Analíticas para la cuantificación de calcio en alimentos	27
3.3 Parámetros de rendimiento de métodos analíticos	47
CAPITULO IV	
4.0 DISEÑO METODOLOGICO	56
4.1 TIPO DE ESTUDIO	56
4.2 INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA	56
4.3 INVESTIGACIÓN DE CAMPO	56
CAPITULO V	
5.0 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	67
5.1 Determinar el contenido de calcio utilizando el método de oxido reducción y complejométrico en los yogures seleccionados.	67

5.2 Establecer la exactitud de los métodos aplicados mediante la evaluación de tres niveles de concentración a través del agregado de estándar.	70
5.3 Identificar la precisión de las mediciones de calcio realizadas a través de los dos métodos estudiados.	70
5.4 Seleccionar el método más adecuado para cuantificación de calcio en yogur con base en los resultados de exactitud y precisión.	73
CAPITULO VI	
6.0 CONCLUSIONES	75
CAPITULO VII	
7.0 RECOMENDACIONES	78
BIBLIOGRAFIA	
ANEXOS	

INDICE DE TABLAS

Tabla N°		Pag. N°
1	Comparación de la composición nutricional de diferentes tipos de productos lácteos franceses	18
2	Contenido mineral del yogur natural con leche entera	20
3	Contenido de calcio en 100 g de Yogur según el Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá	21
4	Requerimientos Promedio Estimados, Ingestas Dietéticas Recomendadas, Ingestas Adecuadas del calcio por grupo de etapa de la vida.	23
5	Cantidad de ingesta tolerable de calcio	24
6	Resultados obtenidos mediante la aplicación del metodo complejometrico y metodo Oxido-Reduccion en Yogur Liquido en presentación Adulto 200 mL y presentación Niño 100 mL.	67
7	Resultados obtenidos mediante la aplicación del método complejometrico y método Oxido-Reducción en Yogur semisólido en presentación Adulto 100 mL y presentación Niño 90 mL	69
8	Resultados de la evaluación de la exactitud y precisión utilizando el método complejométrico y método de Oxido Reducción en Yogur Liquido en presentación Adulto 200 mL y presentación Niño 100 mL.	70
9	Resultados de la evaluación de la exactitud y precisión utilizando el método complejométrico y método de Oxido Reducción en Yogur semisolido en presentación Adulto 100 mL y presentación Niño 90 mL.	72

INDICE DE FIGURAS

Figura N°		Pag.N°
1	Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA)	37
2	Representación molecular de Murexidina	40

INDICE DE ANEXOS

Anexo N°	
1	Imágenes del proceso experimental
2	Fichas de recolección de muestras
3	Materiales y equipo
4	Preparación de reactivos
5	Esquemas del proceso experimental
6	Cálculos de estandarización de soluciones valorantes
7	Cálculos experimentales de método complejométrico y método de oxidación-reducción

RESUMEN

El calcio, es el mineral más abundante en el cuerpo humano, el cual se puede adquirir a través de la dieta alimenticia, entre los alimentos ricos en calcio se encuentra el yogur. Por tal motivo es de suma importancia, conocer el contenido de calcio que posee este alimento, debido a que este producto es comúnmente consumido por la población.

El método oficial proporcionado por la Asociación Oficial de Químicos Analíticos, para cuantificar el contenido de calcio en alimentos y por lo tanto en yogur se describe la utilización de la técnica de espectrometría de absorción atómica con llama. Sin embargo, este método requiere un equipo especializado, por lo que no siempre se tendrá acceso a él en todos los laboratorios.

Es por ello que la investigación tuvo por objeto comparar los métodos alternativos complejométrico y de Oxido-Reducción para la cuantificación de calcio en yogur. La problemática radica en como asegurar que las metodologías cumplen con los requisitos de desempeño esperados. Para poder realizarlo se evaluaron los parámetros de rendimiento de exactitud y precisión, mediante el método de agregado de estándar para la exactitud y el cálculo de la desviación estándar y coeficiente de variación para la precisión.

La investigación se realizó utilizando cuatro presentaciones de yogur comercializados en un supermercado del país, en el periodo de enero a febrero del año 2022. La parte experimental se realizó en los laboratorios de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.

Conforme a los resultados obtenidos se selecciona el método complejométrico sobre el método de Oxido Reducción, debido a que en todas sus presentaciones demostró ser exacto. Sin embargo, ambos métodos, demostraron no ser precisos. Por ello se recomienda el uso del método oficial y la validación de ambos métodos alternativos.

**CAPITULO I
INTRODUCCION**

1.0 INTRODUCCION

El calcio, es el mineral más abundante en el cuerpo humano, este se encuentra involucrado en un gran número de funciones vitales, entre las que se pueden mencionar las contracciones musculares, la transmisión del impulso nervioso, entre otras. Este mineral se puede adquirir a través de la dieta alimenticia, entre los alimentos ricos en calcio se encuentra la leche y sus derivados, especialmente el queso duro, que puede aportar hasta 1g de calcio por cada 100 g de producto, mientras que la leche y el yogur pueden aportar entre 100 mg y 180 mg de calcio por cada 100 g de producto.

Por tal motivo es de suma importancia, conocer el contenido de calcio que poseen este tipo de alimentos, especialmente el yogurt, debido a que este producto es comúnmente consumido por la población junto con otros productos que contienen calcio, como por ejemplo quesos, huevos, etc. Para conocer dicho contenido de calcio presente en los alimentos la Asociación Oficial de Químicos Analíticos (AOAC,2005) 985.35, describe la utilización de la técnica de espectrometría de absorción atómica con llama, además de este método existen otras metodologías no oficiales para la cuantificación de calcio en alimentos, entre las cuales están la metodología tritrimetrica complejometrica y por Oxido-Reducción, pero se desconoce si dichos métodos tienen la capacidad de cuantificar el analito de forma exacta y precisa. La problemática de la presente investigación radica en como asegurar que las metodologías alternativas cumplen con los requisitos de desempeño esperados (Precisión y exactitud).

Por lo cual en la presente investigación se realizó la comparación de dos métodos de cuantificación de calcio en dos tipos de yogurt en presentación para adulto y niño, dichas muestras fueron de un mismo lote según el tipo de presentación seleccionada. Cabe destacar que las presentaciones de yogurt fueron seleccionadas utilizando un método de muestreo no probabilístico dirigido y

puntual en muestras de un supermercado del país, ubicado en el área metropolitana de San Salvador.

Posteriormente a la obtención de las muestras se les aplicó las dos metodologías tritrimétricas (método complejométrico y método oxido reducción), a cada tipo de presentación de yogurt. También se evaluaron los parámetros de desempeño de ambos métodos como lo son la exactitud y precisión de cada uno de ellos, utilizando muestras enriquecidas con un estándar del analito de interés a 3 diferentes concentraciones.

Posteriormente se aplicó el cálculo de desviación estándar relativa y coeficiente de variación a los datos obtenidos por cada método y presentación, luego se identificó cuál de los dos métodos es el más preciso. Una vez obtenidos los resultados de precisión y exactitud del método se seleccionó cuál de los dos métodos estudiados es adecuado para la cuantificación de calcio en esta matriz. Lo anteriormente descrito se realizó en el laboratorio de Química Analítica de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador en el periodo de agosto de 2021 a mayo 2022.

CAPITULO II
OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Comparar dos métodos para la cuantificación de calcio en yogur para adultos y niños.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- 2.2.1 Determinar el contenido de calcio utilizando el método de oxido reducción y complejométrico en los yogures seleccionados.
- 2.2.2 Establecer la exactitud de los métodos aplicados mediante la evaluación de tres niveles de concentración a través del agregado de estándar.
- 2.2.3 Identificar la precisión de las mediciones de calcio realizadas a través de los dos métodos estudiados.
- 2.2.4 Seleccionar el método más adecuado para cuantificación de calcio en yogur con base en los resultados de exactitud y precisión.

CAPITULO III
MARCO TEORICO

3.0 MARCO TEÓRICO

3.1 Generalidades del yogur

El yogur es un producto lácteo popular que es ampliamente favorecido por su calidad saludable y nutritiva, así como por sus propiedades sensoriales. Según la norma Codex publicada por la FAO / OMS, el yogur se obtiene de la leche por fermentación del ácido láctico, mediante la acción de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus*.⁽¹⁾

A continuación, se describe la clasificación de los tipos de yogur según la FAO/OMS

Tipos de yogur

- *Yogur Cuajado*

El yogur cuajado se produce llenando la base de la leche en recipientes individuales antes de la fermentación y se caracteriza por una textura firme.

- *Yogur batido*

El yogur batido se incuba en un tanque y el coágulo final se rompe agitando antes de enfriar y llenar. La textura será menos firme que la de un yogur cuajado. La mayoría de estos yogures se complementan con frutas, azúcar, edulcorantes, estabilizantes, aromas, etc.

- *yogur Líquido*

El yogur para beber es un tipo de yogur líquido en el que se mezclan estabilizadores, azúcares, saborizantes y otros ingredientes con yogur natural y se homogenizan.

Composición del Yogur

Dado que los productos lácteos tienen una alta concentración de nutrientes importantes en comparación con la energía que proporcionan, se consideran alimentos ricos en nutrientes. La distribución de macronutrientes de diferentes productos lácteos se describe en la Tabla N°1. La composición de nutrientes del yogur se basa en la leche de la que se deriva, esta a su vez varía con la dieta, el balance energético, el estado de salud, la etapa de lactancia, la raza y la edad de la vaca. ⁽²⁾

Tabla N°1. Comparación de la composición nutricional de diferentes tipos de productos lácteos franceses ⁽²⁾

	Leche (Grasa entera)	Leche (Desnatado)	Yogurt natural (Grasa entera)	Yogurt natural (Bajo en grasa)	Queso fresco (Grasa entera)	Yogur endulzado con frutas (bajo en grasa)
Energía(kcal)	64	31	65	42	116	94
Proteína(g)	3.2	3.3	4.0	4.3	6.8	4.3
Carbohidratos(g)	4.7	4.3	2.6	5.1	3.5	15
Grasas(g)	3.7	0.15	3.9	0.31	8.1	1.7
Grasas Saturadas(g)	2.3	0.11	2.0	0.16	5.6	0.86
Sodio(mg)	42	42	52	54	33	58
Colesterol(mg)	14	2.5	10	2.5	8.6	11
Calcio(mg)	112	113	138	149	113	114
Fosforo(mg)	87	89	95	113	102	88
Zinc(mg)	0.38	0.41	0.44	0.46	0.41	0.47
Yodo(µg)	11	12.7	19	19	19	<5
Retinol (µg)	47	0.50	30	<8	68	24
Beta-caroteno (µg)	20	Trazas	14	2	29	2
Vitamina D (µg)	0.03	Trazas	0.04	0.005	<0.2	0.07
Vitamina B2 (mg)	0.18	0.17	0.24	0.25	0.24	0.16
Vitamina B12 (µg)	0.20	0.27	0.2	0.25	0.34	0.15

La composición del yogur puede modificarse según la fuente y el tipo de leche, así como los ingredientes (por ejemplo, frutas, edulcorantes, estabilizadores, colores, sabores, texturizantes y conservantes) que se pueden agregar durante la fabricación. Además, la composición del yogur también puede verse modificada por otros factores, como las especies y cepas de bacterias utilizadas para la fermentación, la temperatura, la duración del proceso de fermentación y el tiempo de almacenamiento. Además, el calor y los ambientes ácidos y alcalinos pueden alterar la integridad de los nutrientes, alterando la composición final del yogur. La composición final del producto puede variar de un país a otro y dentro de un país, dependiendo de la fuente de los ingredientes y los tipos de aditivos utilizados. A pesar de variaciones menores en la composición nutricional, el consumo de yogur contribuye a la ingesta de nutrientes importantes.

A continuación, se describen los macronutrientes presentes en la composición del yogur.

Componentes del yogur:

- Carbohidratos

En el yogur natural, la lactosa es el carbohidrato disponible dominante, que representa alrededor del 98% de los carbohidratos totales y el 54% de los sólidos totales de la leche descremada, aunque también hay pequeñas cantidades de galactosa, glucosa y oligosacáridos

- Proteínas

Los productos lácteos representan una fuente importante de proteínas alimentarias. El contenido de proteínas del yogur es generalmente más alto que el de la leche, debido a la estandarización y enriquecimiento de las proteínas durante el procesamiento mediante la adición de leche en polvo descremada y proteína de la leche, que se utilizan para desarrollar o mejorar la textura.

- Lípidos

La grasa de la leche está compuesta principalmente por triglicéridos (alrededor del 98%), fosfolípidos, colesterol y β -caroteno y tiene una gran diversidad de ácidos grasos. El yogur completo tradicional contiene de 3 a 4 g de lípidos / 100 g de los cuales el 65% son ácidos grasos saturados (AGS). Las fracciones restantes están compuestas por 31% de ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) y 4% de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA).

- Minerales

La fracción mineral de la leche y los productos lácteos está compuesta por macroelementos (Ca, Mg, Na, K, P y Cl) y oligoelementos (Fe, Cu, Zn y Se). El contenido promedio de diferentes minerales que se encuentran en el yogur natural de leche entera se describe en la Tabla N°2.

Tabla N°2. Contenido mineral del yogur natural con leche entera. ⁽²⁾

Mineral	Cantidad
Magnesio (mg / 100 g)	12
Fósforo (mg / 100 g)	95
Potasio (mg / 100 g)	180
Calcio (mg / 100 g)	138
Manganeso (mg / 100 g)	<0.0121
Hierro (mg / 100 g)	0.1
Cobre (mg / 100 g)	<0.0087
Zinc (mg / 100 g)	0.441
Selenio (μ g / 100 g)	<2.2
Yoduro (μ g / 100 g)	18.8
Sodio (mg / 100 g)	51.6

Nota: La composición de nutrientes puede ser diferente en otros países.

Estos están presentes en diferentes formas en los productos lácteos. Por ejemplo, el calcio podría estar libre o asociado con citrato, fosfatos y ácidos grasos libres. Se reconoce que el yogur y los productos lácteos son una fuente rica de calcio y fósforo por unidad de energía en comparación con otros alimentos típicos en la dieta de un adulto (p. Ej., El yogur americano natural de leche entera contiene aproximadamente 138 mg de Ca y 95 mg de P por 100 g o 65 Kcal de yogur). La proporción de Ca: P en el yogur natural es de alrededor de 1,5 y esos minerales son esenciales para la integridad estructural de los huesos. Además, el calcio disponible para la absorción intestinal en el yogur equivale gramo por gramo a la leche. Se informa que la absorción de calcio de los lácteos se ve facilitada en parte por su alto contenido de lactosa y caseína y posiblemente se facilite aún más en un medio fermentado como el yogur. Durante la producción de yogur, el proceso de fermentación disminuye el pH de la leche, que se cree que mejora la solubilidad del calcio y el fósforo. Las concentraciones de magnesio, zinc y calcio en la leche de vaca son relativamente constantes, con poca variación durante la lactancia. (2)

A continuación, se muestra la información nutricional obtenida del Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá (INCAP) acerca del contenido de Calcio presente en diversas presentaciones de Yogur.(3)

Tabla N°3. Contenido de calcio en 100 g de Yogur según el Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá. (3)

Tipo	Calcio (mg) en 100g
Yogurt, leche descremada, natural	199
Yogurt, leche descremada, sabor chocolate	88
Yogurt, leche descremada, sabor frutas	138
Yogurt, leche íntegra, natural	121
Bebida-bebe,jugo procesado, frutas mixtas c/yogurt	81
Comida-bebe, pure procesado, frutas mixtas c/yogurt p2	28
Comida-bebe, pure procesado,postre,manzana yogurt	6

CALCIO

El calcio, un metal blando y maleable de la familia de la tierra alcalina, es el mineral más abundante en el cuerpo humano, en promedio, hay más de un 1 kg de calcio en cada cuerpo humano adulto. Esencialmente todo (99%) de este contenido de calcio se puede encontrar en los huesos en forma de hidroxapatita, que forma una matriz inorgánica con fosfato. El 1% restante de calcio circula en la sangre como calcio libre, ionizado con proteínas plasmáticas o asociado a aniones, como el citrato o el lactato. El calcio debe suministrarse con los alimentos para satisfacer esta demanda.

Los iones de calcio son esenciales para los organismos vivos y para el funcionamiento normal del cuerpo. Está involucrado en la contracción muscular, muerte celular, transmisión de impulsos nerviosos, diferenciación celular, activación enzimática y respuesta inmune. Los trastornos del estado del calcio contribuyen al desarrollo de enfermedades óseas y aumentan el riesgo de cáncer epitelial y enfermedades metabólicas. Por lo tanto, proporcionar la cantidad adecuada de calcio en la dieta es necesario para el funcionamiento normal del cuerpo. La dieta de la población deficiente en calcio representa un problema a nivel mundial. Pocos países pueden presumir de una ingesta media suficiente de este mineral esencial. La mayoría de la población mundial consume menos de 1000 mg de calcio al día.⁽⁴⁾

Ingestas dietéticas de referencia de calcio

La salud ósea ha sido seleccionada como el indicador para servir como base de las Ingestas Dietéticas de Referencia (por sus siglas en inglés DRI) de calcio. Se examina la relación dosis-respuesta entre la ingesta de nutrientes y la salud ósea y se especifican los valores dietéticos de referencia para su adecuación. En el caso de los DRI para calcio, dichos valores toman la forma de Requerimientos

Promedio Estimados (EAR) y Ingestas Dietéticas Recomendadas (RDA) o, alternativamente, Ingestas Adecuadas (AI).

Los EAR, RDA e IA del calcio se muestran en la tabla N°4: Requerimientos Promedio Estimados, Ingestas Dietéticas Recomendadas, Ingestas Adecuadas del calcio por grupo de etapa de la vida.

Tabla N°4. Requerimientos Promedio Estimados, Ingestas Dietéticas Recomendadas, Ingestas Adecuadas del calcio por grupo de etapa de la vida. ⁽⁵⁾

Etapa de vida	Ingestas Adecuadas (AI)	Requerimientos Promedio Estimados (EAR)	Ingestas Dietéticas Recomendadas (RDA)
Infantes (Meses)			
0 a 6	200 mg	—	—
6 a 12	260 mg	—	—
Niños (Años)			
1-3	—	500 mg	700 mg
4-8	—	800 mg	1,000 mg
Hombres (Años)			
9-13	—	1,100 mg	1,300 mg
14-18	—	1,100 mg	1,300 mg
19-30	—	800 mg	1,000 mg
31-50	—	800 mg	1,000 mg
51-70	—	800 mg	1,000 mg
> 70	—	1,000 mg	1,200 mg
Mujeres (Años)			
9-13	—	1,100 mg	1,300 mg
14-18	—	1,100 mg	1,300 mg
19-30	—	800 mg	1,000 mg
31-50	—	800 mg	1,000 mg
51-70	—	1,000 mg	1,200 mg
> 70	—	1,000 mg	1,200 mg
Embarazo (Años)			
14-18	—	1,100 mg	1,300 mg
19-30	—	800 mg	1,000 mg
31-50	—	800 mg	1,000 mg
Lactancia (Años)			
14-18	—	1,100 mg	1,300 mg
19-30	—	800 mg	1,000 mg
31-50	—	800 mg	1,000 mg

Niveles máximos de ingesta tolerables de calcio

El nivel máximo de ingesta tolerable (por sus siglas en inglés UL) no es una ingesta recomendada. Más bien, tiene la intención de especificar el nivel por

encima del cual el riesgo de daño comienza a aumentar, y se define como la ingesta diaria promedio más alta de un nutriente que probablemente no presente ningún riesgo de efectos adversos para la salud de casi todas las personas de la población general. A medida que la ingesta aumenta por encima del UL, aumenta el riesgo potencial de efectos adversos. Dichos niveles se muestran en la Tabla N°5.⁽⁵⁾

Tabla N°5. Cantidad de ingesta tolerable de calcio. ⁽⁵⁾

Etapa de vida	Nivel máximo de ingesta tolerable (UL)
<i>Infantes (Meses)</i>	
0 a 6	1,000 mg
6 a 12	1,500 mg
<i>Niños (Años)</i>	
1-3	2,500 mg
4-8	2,500 mg
<i>Hombres (Años)</i>	
9-13	3,000 mg
14-18	3,000 mg
19-30	2,500 mg
31-50	2,500 mg
51-70	2,000 mg
> 70	2,000 mg
<i>Mujeres (Años)</i>	
9-13	3,000 mg
14-18	3,000 mg
19-30	2,500 mg
31-50	2,500 mg
51-70	2,000 mg
> 70	2,000 mg
<i>Embarazo (Años)</i>	
14-18	3,000 mg
19-30	2,500 mg
31-50	2,500 mg
<i>Lactancia (Años)</i>	
14-18	3,000 mg
19-30	2,500 mg
31-50	2,500 mg

Los efectos adversos de la ingesta excesiva de calcio se consideraron principalmente en términos de toxicidad aguda, que se definió como la condición de hipercalcemia o, en algunos casos, hipercalciuria con o sin hipercalcemia.

Indicadores potenciales de resultados adversos por ingesta excesiva de calcio:

- Hipercalcemia
- Hipercalciuria
- Calcificación vascular y de tejidos blandos
- Nefrolitiasis (cálculos renales)
- Cáncer de próstata
- Interacciones con hierro y zinc.
- Estreñimiento.

Ingesta de calcio sobre la salud

Una ingesta adecuada de calcio en la dieta se ha asociado no solo con la prevención de los trastornos hipertensivos y la reducción de la presión arterial, sino también con los niveles de colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y la prevención de la osteoporosis y los adenomas colorrectales.

Colesterol

Una revisión sistemática de la suplementación con calcio y el metabolismo de los lípidos informó que la suplementación con calcio redujo el colesterol LDL [-0,12 mmol / L (IC del 95%: -0,22 a -0,02)] y aumentó el colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) [0,05 mmol / L (IC del 95%: 0,00 a 0,10)]. Los autores explicaron que los posibles mecanismos de estos efectos por el aumento del calcio en la dieta incluyen la supresión de las hormonas calcitróficas que reducen el calcio intracelular en los adipocitos, estimulando así la lipogénesis y el almacenamiento de lípidos. Además, el calcio de la dieta puede disminuir el colesterol sérico al inhibir la absorción de colesterol y ácidos grasos saturados.

Salud ósea

Una revisión sistemática de 2006 que incluyó 19 estudios con 2859 niños encontró que la suplementación con calcio tuvo un efecto pequeño sobre el contenido mineral óseo total del cuerpo (diferencia media estandarizada 0,14; IC del 95%: 0,01 a 0,27) y la densidad mineral ósea del miembro superior (0,14, 0,04 a 0,24), y este efecto persistió después del final de la suplementación solo para la densidad mineral ósea del miembro superior (0,14, 0,01 a 0,28). Los beneficios de la suplementación con calcio parecen ser mayores en niños y adolescentes con una ingesta baja de calcio. Los efectos del calcio en otros grupos de edad generalmente se evaluaron en combinación con la vitamina D, por lo que los datos sobre el calcio solo son limitados. El Grupo de trabajo preventivo de Estados Unidos. En 2013 no recomendó la suplementación con vitamina D o calcio para la prevención de fracturas en adultos que viven en la comunidad; sin embargo, la evidencia se actualizó en 2016, y con datos más recientes del estudio Women's Health Initiative, el nuevo metaanálisis mostró una reducción del 15% en la incidencia de fracturas y una reducción del 30% en las fracturas de cadera en personas de mediana edad a adultos mayores.

Adenomas colorrectales recurrentes

Una revisión sistemática de ensayos controlados aleatorios encontró que la suplementación de calcio con dosis de 1200 a 2000 mg / día y la duración del tratamiento de 36 a 60 meses redujeron el riesgo de adenomas colorrectales recurrentes (RR = 0,89; IC del 95%: 0,82 a 0,96, 5 estudios, 2984 participantes). Se propuso que el calcio se une a los ácidos biliares en la luz intestinal, inhibiendo sus efectos proliferativos y cancerígenos. En apoyo de esta hipótesis, los estudios en animales han indicado un efecto protector del calcio de la dieta sobre el daño mucoso inducido por la bilis y la carcinogénesis intestinal experimental.⁽⁶⁾

Debido a las cantidades importantes de calcio presente en el yogur y a los efectos positivos y negativos de este mineral al cuerpo humano, es de suma importancia conocer el contenido de calcio en este alimento, para ello la Asociación Oficial de Químicos Analíticos (AOAC,2005) 985.35 proporciona la metodología de espectrofotometría de absorción atómica con llama, pero existen otras metodologías no oficiales para la cuantificación de calcio en alimentos las cuales se describen a continuación.

3.2 Metodologías Analíticas para la cuantificación de calcio en alimentos

Valoraciones

Las valoraciones son ampliamente utilizadas en química analítica para determinar ácidos, bases, agentes oxidantes, agentes reductores, iones metálicos, proteínas y muchas otras especies químicas. Las valoraciones se basan en la reacción que se da entre un analito y un reactivo estándar conocido como titulante. Dicha reacción tiene una estequiometría conocida y reproducible. En una valoración se determina el volumen o la masa de titulante necesaria para reaccionar completamente con el analito, y este dato se utiliza posteriormente para calcular la cantidad de analito. (7)

El objetivo principal de un análisis titrimétrico es determinar la pureza y la composición de una sustancia. De los diferentes tipos de análisis volumétricos, el análisis titrimétrico es el más utilizado, hasta el punto de que el análisis volumétrico suele denominarse titrimetría. El análisis titrimétrico implica una reacción química entre la solución patrón de una sustancia y una solución de otra sustancia cuyo contenido o composición con respecto a un constituyente particular se quiere determinar. La reacción entre las dos sustancias debe completarse muy rápidamente, lo que hace que la reacción sea cuantitativa. El ejercicio de determinar el volumen de la solución patrón necesario para reaccionar con un determinado volumen de la solución de la sustancia cuya

concentración o composición se quiere determinar, o bien ir a la inversa del proceso, se denomina "valoración".

El análisis titrimétrico ofrece las ventajas de ser muy sencillo y fácil de adoptar, y de no necesitar pasos que requieran mucho tiempo y trabajo, como el pesaje de los residuos, la filtración, el aislamiento, el secado en horno o la liofilización, la ignición, el secado y el enfriamiento en un desecador, ninguna herramienta analítica sofisticada, ni un gran grado de habilidad y experiencia. Estas ventajas permiten completar el análisis titrimétrico en un tiempo razonablemente corto, y hacen que los "resultados del informe de análisis" sean suficientemente precisos al evitar la entrada de errores inevitables asociados a un mayor número de pasos como en otros métodos de análisis. Antes de seguir discutiendo más detalles del análisis titrimétrico, será conveniente familiarizarse con algunos de los términos de uso muy frecuente en la titrimetría.

Solución estándar

Una solución cuya concentración es conocida se denomina solución patrón debe tener una trazabilidad a una sustancia de referencia internacional.

Valorante

La solución de la sustancia que se añade en pequeños incrementos desde un dispositivo adecuado a un volumen conocido de una solución de la otra sustancia.

Analito

En química analítica, un analito es un componente (elemento, compuesto o ion) de interés.

Punto de equivalencia

El punto particular durante la realización de una valoración en el que la cantidad de una sustancia (ya sea Titulante o analito) presente en un volumen conocido de su solución es estequiométricamente "igual" para su reacción cuantitativa con la cantidad del Titulante o analito, según sea, presente en un volumen conocido de su solución.

Indicador

Un producto químico especialmente añadido en muy pequeña cantidad para ayudar a detectar la llegada del punto de equivalencia de un ejercicio de valoración, la mayoría de las veces por un cambio de color de la solución valorada.

Punto final

El punto final de una valoración es el punto en el que el "indicador" muestra el cambio de color de la solución valorada, indicando que se ha añadido la cantidad suficiente de la solución reaccionante desde la bureta o desde otros dispositivos similares para que la valoración llegue al punto de finalización. Para que los resultados de un análisis titrimétrico sean lo más precisos posible, el "punto de equivalencia" y el "punto final" de la valoración deben coincidir perfectamente y no debe haber ninguna diferencia significativa entre ambos.

Tipos de valoraciones (Diferentes tipos de titrimetría)

Titrimetría ácido-base

El análisis titrimétrico ácido-base incluye valoraciones de soluciones de ácidos o sales de bases débiles de concentración desconocida mediante la adición de soluciones alcalinas estándar, o valoraciones de soluciones de bases o sales de ácidos débiles de concentración desconocida mediante la adición de soluciones

ácidas estándar. Una titulación ácido-base implica una reacción de neutralización y la llegada del punto final se controla mediante el uso de indicadores ácido-base.

Titrimetría de base ácida no acuosa

La titrimetría ácido-base no acuosa se ocupa de las titulaciones de neutralización ácido-base excluyendo debidamente el uso de agua como medio o diluyente o en la preparación de cualquiera de los reactivos utilizados en el proceso de titulación.

Titrimetría Óxido – Reducción

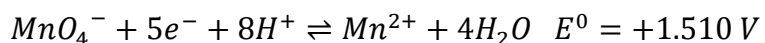
Una valoración de oxidación-reducción, también denominada valoración redox, implica una reacción química definida entre un agente oxidante y otro reductor. Uno de los dos debe estar en forma de solución patrón para poder determinar la concentración del otro. En química analítica, las valoraciones de oxidación-reducción superan con creces a las valoraciones de neutralización ácido-base, de precipitación y complejométricas, debido principalmente a la disponibilidad de un mayor número de agentes oxidantes y reductores, a la rápida finalización de un gran número de tales reacciones y a la disponibilidad de indicadores, denominados indicadores redox, suficientemente capaces de localizar los puntos de equivalencia estequiométrica de tales valoraciones con un alto grado de precisión. Con la adición gradual de la solución oxidante o reductora, el valor del potencial redox de la solución valorada resultante sigue cambiando a un ritmo lento, pero no uniforme. Sin embargo, en el punto de equivalencia se produce un cambio repentino y abrupto en el potencial redox de la solución valorada resultante, al igual que el cambio repentino y abrupto del pH de la solución valorada resultante en las valoraciones ácido-base. El punto de equivalencia o, mejor dicho, el punto final de una reducción de oxidación se caracteriza por un valor definido del potencial redox de la solución valorada, al igual que el pH de una solución valorada con base ácida. Este punto de equivalencia del potencial

redox de la solución valorada se detecta visualmente mediante el uso de indicadores llamados indicadores.

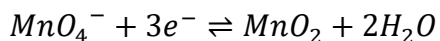
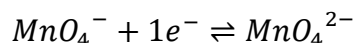
Agentes oxidantes y reductores ampliamente utilizados en titulaciones Oxido-Reducción

Permanganato

La principal ventaja de uno de los agentes oxidantes más utilizados en química analítica es su alto potencial de oxidación-reducción. Sin embargo, el reactivo adolece de varios defectos que restringen su uso como sustancia estándar primaria. Además, una solución no es muy estable y sufre una lenta descomposición. Lleva a cabo la oxidación en tres estequiometrías diferentes aceptando 1, 3 y 5 electrones de los agentes reductores. La aceptación de 5 electrones es, sin embargo, la más común con la propiedad oxidante. En consecuencia, la semirreacción más importante en el uso como agente oxidante es la siguiente



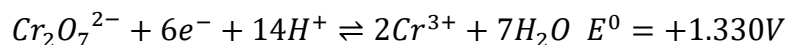
Las otras dos semirreacciones para aceptar 1 y 3 electrones son



Dicromato

Es también un agente oxidante ampliamente utilizado en química analítica debido principalmente a su fácil disponibilidad, estabilidad bastante prolongada de sus soluciones y un rango de sus características que le permiten ser utilizado como una sustancia estándar primaria razonablemente buena, a diferencia de como agente oxidante, sin embargo, no es tan fuerte o un defecto que limite su uso en el análisis de sustancias que son agentes reductores comparativamente más

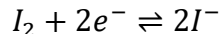
débiles. como agente oxidante generalmente acepta 6 electrones de los agentes reductores y la semirreacción del proceso se puede escribir como



Yodo

Es un agente oxidante más utilizado en las valoraciones redox, se puede utilizar en valoraciones redox que implican agentes reductores que son relativamente mucho más fuertes. Sin embargo, la limitación demuestra ser una ventaja y la hace muy apropiada en valoraciones contra agentes reductores más fuertes como el tiosulfato de sodio

El yodo al actuar como agente oxidante acepta 2 electrones de los agentes reductores y la semirreacción se escribe como



Tipos de titrimetría de oxidación-reducción

Los principales tipos de titrimetría de oxidación-reducción son:

Permanganometría

Como su nombre lo indica, la solución estándar en permanganometría es la de permanganato, que generalmente se usa como titulante y también sirve como indicador, el primer ligero exceso después del punto de equivalencia imparte un color rosa estable a la solución titulada, o la desaparición del color rosa en el caso del agente reductor seleccionado como titulante. Por lo tanto, no se requiere un indicador agregado especialmente para señalar el punto final en la titulación permanganométrica.

Dicromatometría

Como su nombre lo indica, la solución estándar en dicromatometría es la de dicromato, por lo general, es una sustancia estándar primaria razonablemente buena y una solución preparada de la misma se puede usarse directamente como solución estándar.

El indicador utilizado en dicromatometría es normalmente difenilbencidina sulfonato de sodio, difenilamina, difenil sulfonato de sodio y difenilbencidina. En el uso de todos estos indicadores, se debe agregar ácido fosfórico a la solución para mantener la discrepancia entre el punto de equivalencia y el punto final del indicador de la titulación al mínimo.

Yodometría

En yodometría, se utiliza una solución de yodo como agente oxidante y una solución estándar de la misma se titula directamente frente a una solución de un agente reductor de concentración desconocida. La yodimetría es, por tanto, la titulación yodométrica directa. En yodimetría, el yodo acepta el electrón (del agente reductor) y se reduce a yoduro.

- Titrimetría complejométrica

Las valoraciones complejométricas implican la formación de un complejo soluble o un compuesto de coordinación durante el curso de la reacción entre el valorante y el analito. En la mayoría de estas sustancias complejas solubles, especialmente en el contexto de la química analítica inorgánica, un ion metálico permanece en el centro rodeado por varios otros iones o moléculas neutras.

Para la viabilidad de las reacciones de formación de complejos para su utilización en el análisis titrimétrico, las reacciones químicas entre los titulante y los analitos,

como en el caso de los otros tipos de titulaciones, deben equilibrarse (o completarse) muy rápidamente, sin ninguna sustancia que interfiera, sin ninguna condición que interfiera, como la formación escalonada de varios complejos que den más de un complejo durante el proceso de titulación, indicadores que marquen el punto de equivalencia o un punto muy cercano a el punto final, por el cambio de color característico de la solución titulada. Cabe mencionar en este contexto que, en comparación con las valoraciones redox, las valoraciones complejométricas se utilizan con mucha menos frecuencia debido principalmente a la falta de indicadores adecuados para que dichas valoraciones se realicen en soluciones diluidas.

Antes de seguir tratando los diferentes aspectos de las titulaciones complejométricas, es conveniente conocer algunos de los conceptos esenciales de este tipo de titulaciones basadas en reacciones de formación de complejos.

Ligando

Un ligando es una especie química rica en electrones y, por tanto, puede actuar como un donante de electrones capaz. Muchos átomos o iones o moléculas pueden actuar como ligandos. En la titrimetría complejométrica, los electrones necesarios para formar un enlace coordinado que involucra un catión metálico se originan en los ligandos. Entre los ligandos que son inorgánicos por naturaleza son comunes los iones haluro. Por ejemplo, el ligando muy simple forma un complejo con la formación de iones en dicho complejo, un ión reside en el centro de cuatro moléculas que actúan como ligandos. Similar es el caso entre cuatro iones (ligando) y uno formador de iones (tertahidroxocincato). Los ligandos orgánicos de gran tamaño pueden tener dos o más "sitios de formación de complejos". En tales casos, el ligando se denomina especialmente agente quelante o simplemente queleón, y los complejos así formados, principalmente con iones metálicos, se denominan quelatos; y el proceso se llama quelación.

Las valoraciones que involucran quelatos a menudo se denominan valoraciones queleométricas.

Quelatos

Los quelatos son ligandos de gran tamaño unidos a iones metálicos en dos o más sitios. Los quelatos pueden retener los iones metálicos con cierta fuerza y evitar que se liberen y se gasten en el entorno químico.

Dentados

Los dentados son los sitios con los que un ligando se une a un ion metálico. Un ligando puede tener uno o más dentados y, por tanto, puede ser monodentado o polidentado. Con un par de electrones solitario no compartido, como en el amoníaco, un ligando es monodentado. El cianuro, el fluoruro, las aminas, el tiocianato y el carboxilato son otros ligandos monodentados importantes. Si el número de dentados en los ligandos es dos o más de dos, el ligando se convierte en un ligando polidentado. Los ligandos polidentados se subclasifican de nuevo en función del número de puntos de unión: ligandos bidentados, tridentados y tetradentados.

Compuesto complejo

El compuesto formado con el ion complejo se denomina compuesto complejo.

Número de coordinación

El número de coordinación es el número total de puntos de unión de los átomos o iones o moléculas (ligandos) al átomo o ion central. El número viene determinado por el tamaño relativo del átomo o ion central y los ligandos, sus cargas y entornos electrónicos. Cuanto mayor sea el tamaño del átomo o ion central, mayor será el número de coordinación posible. Al aumentar la carga, un átomo o ion tiende a ser más pequeño debido a una mayor atracción

electrostática por parte del núcleo, por lo que el número de coordinación disminuye.

Constante de formación

La constante de formación, es un número que indica la tendencia relativa a la formación de un complejo formado por la reacción entre un ión metálico y un ligando, este último normalmente actuando como un ácido o una base de Lewis.

Las valoraciones complejométricas involucran ligandos y, según el tipo de ligandos, dichas valoraciones se clasifican en dos amplias clases.

Valoraciones con ligandos monodentados

Estas valoraciones implican la reacción de los iones metálicos con ligandos monodentados como el amoníaco o el cianuro.

Titulaciones que involucran ligandos polidentados

La mayoría de los ligandos polidentados forman complejos solubles en agua estables en estequiometría 1:1. Las reacciones entre un ión metálico y la mayoría de los ligandos polidentados tienen lugar a través de un solo paso, a diferencia del caso de los monodentados, en los que están implicados varios pasos sucesivos. Los complejos formados también son mucho más estables. Como consecuencia de la reacción de formación del complejo en un solo paso y la alta estabilidad de los complejos, hay un gran cambio en la concentración de iones metálicos en o cerca del punto de equivalencia de la titulación. La detección de los puntos finales de las valoraciones con la ayuda de los indicadores se vuelve, por tanto, muy factible. Este cambio en la concentración de iones metálicos depende del valor de la constante de formación (o la constante de estabilidad) del complejo de ion ligando metálico. Cuanto mayor es el valor de la constante,

mayor es la magnitud del cambio en la concentración de iones metálicos cerca del punto de equivalencia.

Los agentes quelantes son ligandos polidentados. Varios de ellos encuentran uso en valoraciones complejométricas. Sin embargo, el más importante de ellos es el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA). El EDTA por su uso extensivo en valoraciones complejométricas para la determinación de metales de amplio rango debe tratarse con mayor detalle.

Ácido (EDTA):

El ácido etilendiaminotetraacético o peso molecular del EDTA: 292,24 g/mol, también conocido por varios nombres triviales como Versene, Complexone III, Sequestrene, Trilon B y Chelaton 3, es el agente quelante (valorante) más utilizado en valoraciones complejométricas. El agente quelante fue utilizado por primera vez por Schwarzenbach en 1946 cuando pudo encontrar tintes metalocrómicos adecuados como indicadores visuales para marcar los puntos finales de las valoraciones de iones metálicos con EDTA como valorante. A continuación, se muestra la representación del ácido etilendiaminotetraacético (Ver figura N°1)

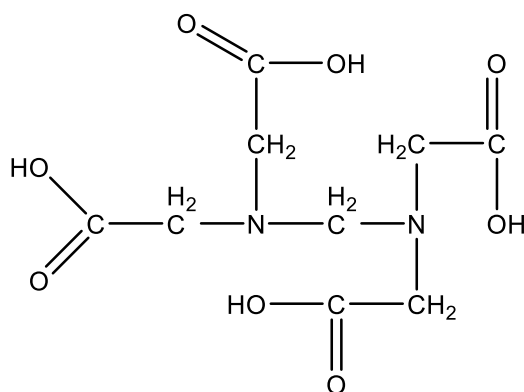


Figura N°1.ácido etilendiaminotetraacético (EDTA)

El EDTA es un ácido aminocarboxílico por naturaleza química, el EDTA es un ácido de Lewis y, como su nombre lo indica, tiene dos grupos amino y cuatro

carboxilo ($-\text{COOH}$). El número de sitios de unión para los iones metálicos en EDTA es por tanto seis debido a los grupos carboxilo y amino (sustituidos) que proporcionan seis pares de electrones no compartidos. El EDTA es, por tanto, un ligando hexadentado con capacidad para donar potencialmente estos seis pares de electrones a cationes metálicos para la formación de enlaces covalentes coordinados. Además, los grupos carboxilo y amino hacen del EDTA una sustancia anfiprótica capaz de actuar tanto como donante como aceptor de protones. A medida que aumenta el pH, el EDTA dona los protones carboxilo formando aniones EDTA. Por otro lado, a pH muy bajo, el EDTA a través de sus grupos amino acepta protones y, en el proceso, se protona para formar cationes EDTA.

Una gama de modificaciones junto con varias técnicas permite que las reacciones de formación de complejos entre un ión metálico y un ligando polidentado se utilicen para la determinación cuantitativa de una amplia gama de metales mediante métodos titrimétricos. Posteriormente se proporciona una descripción general de tales tipos de valoraciones complejométricas.

Valoración directa

En el método de titulación directa, la solución que contiene el metal que se va a determinar y que está presente en su estado iónico se lleva al pH deseado agregando un ácido o una base o un tampón seguido de la adición de los químicos auxiliares como los agentes enmascaradores, requeridos, si lo hay, y por supuesto, el indicador. La solución que contiene el ion metálico se valora luego frente a una solución estándar del ligando polidentado apropiado. Por ejemplo, para la determinación del calcio presente en una sustancia, el pH de una solución representativa se eleva de 11 a 12 añadiendo NaOH concentrado (4 N) seguido de la adición de murexido como indicador. A continuación, la solución tratada se titula frente a una solución estándar de EDTA. En o cerca del

punto de equivalencia, hay una fuerte disminución en la concentración del indicador y este registra este punto final de la titulación por el cambio del color de la solución titulada de rojo a azul violeta. El valor del título corregido por un indicador en blanco ejecutado simultáneamente se utiliza para los cálculos.

Precauciones a tomar en cuenta al titular calcio en complejometría:

- El pH 12 es óptimo para la valoración de Calcio con EDTA 0.05 M, en este pH se observa perfectamente el cambio de color del indicador, de rosado a morado.
- La solución problema y el Hidróxido de Sodio no deben contener ión carbonato, pues podría precipitar como Carbonato de Calcio.

Indicadores de titulación

Los indicadores para detectar los puntos finales en valoraciones complejométricas que involucran iones metálicos en solución y ligandos polidentados se denominan indicadores metalocrómicos. Estos indicadores reaccionan con iones metálicos específicos para formar complejos indicadores de iones metálicos estables; estos últimos poseen colores característicos con alta tonalidad. El color de los complejos ión-indicador metálico varía con el ión metálico. Los indicadores en su estado libre también tienen sus propios colores característicos perceptiblemente diferentes. Por ejemplo, el indicador metalocrómico murexido (perurato de amonio) exhibe un característico color azul violeta en su forma libre, y un color rosa cuando forma complejos con iones. Los dos colores son perceptiblemente diferentes y, por lo tanto, el murexido se usa en la determinación de calcio por titulación contra el ligando polidentado EDTA a un pH de 11 a 12.

Para la viabilidad de su uso en la detección del punto final, la constante de formación de los complejos de iones metálicos-indicador debe ser muy alta; en otras palabras, el complejo indicador de iones metálicos debe ser muy estable.

En la determinación de calcio, el murexido a un pH de 12 existe como un anión que lleva tres cargas negativas.

Murexidina

El murexido posee cinco protones dissociables y puede representarse como La disociación sucesiva de los protones de los grupos amino de diferentes formas iónicas del indicador. Por lo tanto, el murexido existe en diferentes formas iónicas dependiendo del pH y las diferentes formas iónicas muestran diferentes colores. Hasta un pH de 9,0, el murexido en solución presenta un color violeta rojizo debido a la prevalencia de la forma iónica; a un pH de 9,0 a 11,0, el color es violeta debido a la forma iónica; por encima de un pH de 11,0, el color es violeta azulado debido a la forma iónica. Los tres colores, el violeta rojizo, el violeta y el azul violeta, son muy cercanos en su tonalidad y a menudo resultan confusos para el analista. Por otro lado, los colores de los complejos de murexido con los iones metálicos son rojo, naranja y amarillo para el murexido, por lo que es el indicador utilizado de forma rutinaria en la determinación directa del calcio con EDTA a pH 11 y superior. En dicha determinación a pH 12, el punto final está marcado por el cambio de color de rojo a azul violeta. Sin embargo, los dos colores no son muy contrastados, y se requiere un grado de pericia y experiencia para reconocer la distinción. Posteriormente se muestra la representación grafica de la molecula de murexidina (Ver Figura N°2)

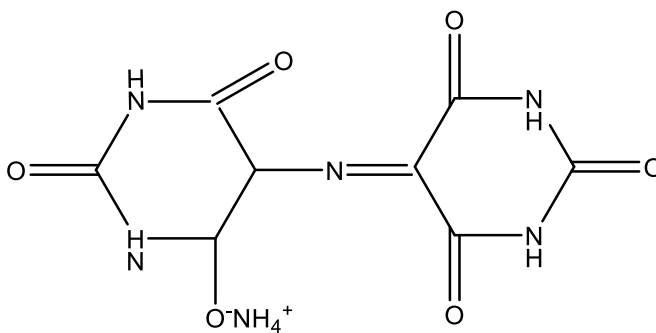


Figura N°2. Representación molecular de Murexidina

Calcón

Cada molécula de calcón contiene un grupo sulfonato y un grupo diazo, y dos protones disociables; estos últimos proceden de los grupos fenólicos OH. El calcón se utiliza como indicador en la determinación del calcio en presencia de magnesio. Sin embargo, el pH de la solución debe ser de 12,5 o superior, manteniéndose normalmente mediante el uso de un tampón de N,N- dietilamina. A un pH tan elevado, el Magnesio se precipita como insoluble y, por tanto, no es valorado por el EDTA. En el pH de la determinación, la solución con el indicador libre es de color rosa, mientras que el complejo indicador-Ca es de color azul brillante. El cambio de color de la solución valorada de azul a rosa señala así el punto final de la valoración.

Patton y Reeder

El indicador de Patton y Reeder, también conocido como ácido calcón carboxílico. Cada molécula del indicador posee uno de cada uno de los grupos carboxilo, sulfonato y diazo, y dos grupos OH fenólicos. El indicador de Patton y Reeder es una alternativa al murexido en la determinación de calcio con EDTA, especialmente en presencia de magnesio. A pH 12 y superior, el indicador libre presenta un color rojo vino. ⁽⁸⁾

Método Oficial para la determinación de Calcio en alimentos según la Asociación Oficial de Químicos Analíticos.

Como antes se mencionó, el método oficial proporcionado por la Asociación Oficial de Químicos Analíticos (AOAC,2005) 985.35, para cuantificar el contenido de calcio en alimentos, se describe la utilización de la técnica de espectrometría de absorción atómica con llama, seguidamente se describen los aspectos más importantes de esta metodología.

Absorción Atómica

La espectrofotometría de absorción atómica ahora se usa ampliamente para la determinación cuantitativa de muchos elementos metálicos y no metálicos presentes en preparaciones farmacéuticas, medicina y estudios clínicos, minería, industrias, suelo, plantas, agua, fertilizantes, muestras ambientales, comida y similares.

En la determinación por fotometría de llama, los átomos en estado fundamental libres de los elementos metálicos son excitados por la energía térmica de la llama, un proceso en el que los electrones orbitales externos de los átomos se transfieren a sus niveles de energía superiores posteriores. Tales estados se denominan estados excitados de los átomos. Sin embargo, solo una fracción muy pequeña del total de átomos libres experimenta el proceso de excitación, mientras que la fracción restante, mucho más grande, continúa en su estado fundamental. Un átomo en su estado fundamental es el estado normal y energéticamente más favorable del átomo; en el estado fundamental de un átomo, los electrones de este último siguen moviéndose en sus orbitales cuantificados normales con espines opuestos. Como solo una pequeña fracción de los átomos puede ser excitada por la energía de la llama, la intensidad de la radiación característica emitida por los átomos en estado excitado o de mayor energía durante su regreso al estado fundamental es bastante baja y, en consecuencia, la sensibilidad de la fotometría de llama como herramienta analítica también es muy baja. Esta baja sensibilidad es, con mucho, el defecto más importante de la determinación fotométrica de llama. Salvo algunos elementos como el sodio, el potasio, el litio, el bario y el calcio, la población de átomos excitados de los demás elementos es extremadamente baja, tanto que la fotometría de llama es inadecuada para su determinación. Sin embargo, una fracción mucho mayor de estos "átomos en estado fundamental" se puede excitar por medio de energía distinta a la energía térmica de la llama y, si eso se puede

lograr, la herramienta analítica se puede volver mucho más sensible. Uno de esos otros medios de proporcionar la energía requerida es la energía disponible en forma de radiación electromagnética de longitud de onda que es característicamente específica para un elemento. Debe mencionarse con mucho énfasis en este contexto que los átomos de un elemento en su estado fundamental pueden tomar solo valores dados de energía para su excitación (para alcanzar un estado de mayor energía), y por lo tanto una radiación de longitud de onda específica para los átomos. Expresado en palabras más simples, para suministrar la cantidad requerida de energía con el fin de excitar los átomos en estado fundamental de un elemento, la espectrofotometría de absorción atómica utiliza la energía de la luz contenida en la radiación con longitudes de onda particulares que son absorbidas específicamente por los átomos del elemento concreto.

Componentes de un espectrofotómetro de absorción atómica

Hay cinco componentes básicos de un espectrofotómetro de absorción atómica:

- Fuente de radiación que emite el espectro del elemento a determinar.
- Atomizador que produce los átomos libres del elemento. El atomizador utiliza una llama o un horno como fuente de energía para producir los átomos del elemento a partir de sus compuestos.
- sistema óptico que aísla la radiación de la longitud de onda deseada.
- detector que mide la intensidad de la luz, generalmente después de la amplificación de la señal de entrada.
- dispositivo de visualización que lee la concentración del elemento en cuestión en formato analógico o digital u otro formato adecuado.

Interferencias en Espectrofotometría de Absorción Atómica

La espectrofotometría de absorción atómica es una herramienta analítica muy sensible. Sin embargo, los resultados del análisis son propensos a errores debido a interferencias de varios tipos. Estas interferencias pueden clasificarse como interferencias químicas, de ionización, espectrales, de emisión, de matriz y de absorción de fondo.

- Interferencia química: La interferencia química es la más común de las interferencias y es causada por los compuestos del elemento (que se está determinando) en la muestra que no están disociados por la energía térmica de la llama. Como resultado, el número de átomos libres del elemento en la llama que van a absorber la radiación de la fuente es menor de lo que debería ser.
- Interferencia de ionización: La interferencia de ionización es causada por la alta temperatura de la llama. La temperatura de la llama a veces resulta ser tan alta que la energía térmica provoca la eliminación de los electrones externos o de valencia de los átomos libres que forman sus respectivos iones.
- Interferencia espectral: La interferencia espectral se puede encontrar cuando otro elemento del cual una o más longitudes de onda de absorción se encuentran dentro del ancho de banda de la línea de absorción del elemento a determinar en la muestra
- Interferencia de emisión: A altas concentraciones de analitos, los resultados del análisis de absorción atómica de elementos altamente emisivos pueden tener una precisión analítica deficiente, si la señal de emisión se encuentra dentro del paso de banda espectral de la radiación utilizada.
- Interferencias de la matriz: Las interferencias de la matriz incluyen interferencias debidas a características físicas como la viscosidad, la tensión superficial y la calidad de combustión de la muestra y los estándares. Las interferencias de la

matriz también pueden deberse a variaciones en las concentraciones de sales o ácidos disueltos y solventes en la muestra y las soluciones estándar.

- Interferencia de absorción de fondo: La interferencia de absorción de fondo en la espectroscopia de absorción atómica es causada principalmente por la dispersión de la luz, por las partículas en la llama, y la absorción de radiación por formas moleculares no disociadas de los materiales de la matriz en la llama.

Preparación de la muestra

Salvo en algunos casos específicos, la muestra que se va a analizar mediante espectrofotometría de absorción atómica no se puede alimentar directamente al instrumento y se debe administrar a la muestra algún tipo de tratamiento llamado preparación de la muestra. La muestra puede ser medicamentos y productos farmacéuticos, cereales, comida rápida, bebidas frías, tierra, plantas, agua, aleaciones, cemento, electrolitos en suero, metales en metaloenzimas, plomo en colorantes alimentarios permitidos y muchos más. Para el análisis elemental total, existen cinco métodos de preparación de muestras: Incineración seca, oxidación húmeda, fusión, disolución a presión y digestión en horno de microondas.

- La incineración seca: Se sigue particularmente para las muestras que tienen un alto contenido de carbono orgánico. Para la incineración seca, una masa dada de la muestra se somete a digestión usando la temperatura alta disponible en un horno de mufla o un horno de aire caliente o una combinación de ambos.
- Oxidación húmeda: Para la oxidación húmeda, también conocida como digestión ácida, una determinada masa de la muestra se digiere tratando la muestra con un ácido mineral fuerte y concentrado o, más comúnmente, con una mezcla de ácidos minerales fuertes y concentrados en proporciones específicas a alta temperatura.

- Fusión: En el método de fusión de preparación de muestras para el análisis elemental total, se transfiere una masa dada de la muestra a un crisol hecho de metales como níquel, zirconio y platino, se mezcla con un fundente apropiado y luego la mezcla se funde sobre una llama caliente hasta formar un fundido.
- Disolución a presión: Se sigue el método de disolución a presión para la determinación de elementos volátiles que se pierden a alta temperatura. Una combinación de alta presión y una mezcla ácida ayuda a digerir la muestra a una temperatura moderada en la que no hay pérdida volátil de los elementos que se están determinando.
- Digestión en horno de microondas: En el método de digestión en horno de microondas para la preparación de muestras para el análisis elemental metálico, una determinada masa de la muestra tomada en un recipiente pequeño resistente a las microondas, como un crisol de teflón o policarbonato, se transfiere a un horno de microondas y luego se digiere a una temperatura moderada. ⁽⁸⁾

El método de digestión en horno de microondas es el método de preparación de muestra utilizado para la determinación de calcio en alimentos según el método oficial, este es una metodología analítica validada, dichas metodologías son acuerdos a nivel internacional. Se denomina validación de un método analítico cuando al método se le aplican diferentes parámetros de rendimiento. El objetivo de la validación de un procedimiento analítico es demostrar que es adecuado para su propósito previsto. Las recomendaciones para la validación de métodos analíticos se pueden encontrar en la Guía ICH Q2 (R1) Validación de procedimientos analíticos: texto y metodología y en el Capítulo general de USP <1225> Validación de procedimientos compendiales.

En cambio, los métodos no oficiales, son metodologías alternativas no validadas. Para su uso y para mayor confiabilidad de los datos dichas metodologías deben ser validadas.

A continuación, se detallan los parámetros de rendimiento comúnmente utilizados para la validación de los métodos analíticos

3.3 Parámetros de rendimiento de métodos analíticos

Selectividad y especificidad

La selectividad de un método se refiere a la medida en que puede determinar analitos particulares en una mezcla compleja sin interferencia de otros componentes de la mezcla. Los términos selectividad y especificidad a menudo se han utilizado indistintamente. El término especificidad generalmente se refiere a un método que produce una respuesta para un solo analito solamente, mientras que el término selectivo se refiere a un método que proporciona respuestas para una serie de entidades químicas que pueden o no distinguirse entre sí. Si la respuesta se distingue de todas las demás respuestas, se dice que el método es selectivo. Dado que muy pocos métodos analíticos responden a un solo analito, el uso del término selectividad es más apropiado que la especificidad.

Se utilizan pruebas de identificación adecuadas para discriminar entre compuestos de estructuras estrechamente relacionadas que probablemente estén presentes. La discriminación de un procedimiento puede confirmarse obteniendo resultados positivos (comparación con un material de referencia conocido) de muestras que contienen el analito, junto con resultados negativos de muestras que no contienen el analito. La prueba de identificación podrá aplicarse a materiales estructuralmente similares o estrechamente relacionados con el analito para confirmar que no se obtiene una respuesta positiva. La elección de tales materiales potencialmente interferentes debe basarse en un

buen juicio científico con una considerable de las interferencias que podrían ocurrir. ⁽⁹⁾

Para las titulaciones, esto significa que el punto de equivalencia encontrado no se desplaza por las impurezas o excipientes agregados, o si se desplaza, se puede observar un segundo punto de equivalencia que corresponde a estos componentes agregados cuando se utiliza un sensor potenciométrico para la indicación. Si se utilizan indicadores de color para la indicación del punto final y se observa un cambio, la demostración de la especificidad puede lograrse mediante una segunda titulación con otro indicador de color adecuado. En algunos casos, la titulación no es específica. Un ejemplo es cuando el ensayo de una sustancia se realiza mediante titulación no acuosa y las impurezas o los productos de degradación tienen un valor de pKa similar al de la sustancia de interés. En tales casos, la especificidad debe complementarse con otras técnicas.

⁽¹⁰⁾

Linealidad

La linealidad de un método analítico es su capacidad para obtener resultados de pruebas que son directamente proporcionales a la concentración de analitos en muestras dentro de un rango dado. Linealidad generalmente expresada en términos de la varianza alrededor de la pendiente de la línea de regresión calculada de acuerdo con una relación matemática establecida a partir de los resultados de las pruebas obtenidas por el análisis de muestras con concentraciones variables de analito. ⁽⁹⁾

Los resultados de un procedimiento analítico lineal son proporcionales a la concentración del analito, ya sea directamente o mediante una transformación matemática bien definida dentro de un rango dado. Como la titulación es un método absoluto, la linealidad generalmente se puede obtener directamente.

Para ello, se titulan al menos cinco concentraciones diferentes y se establece una regresión lineal del tamaño de la muestra frente al volumen de titulación consumido. Para evaluar la linealidad se utiliza el coeficiente de determinación (R^2). La recomendación es utilizar un rango de concentración del 80 % al 120 % del peso de ensayo previsto. ⁽¹⁰⁾

Rango

El rango de un procedimiento analítico es el intervalo entre la concentración superior e inferior de analito en la muestra para el cual se ha demostrado que el procedimiento analítico tiene un nivel adecuado de precisión, exactitud y linealidad. El rango normalmente se expresa en las mismas unidades que los resultados de las pruebas (por ejemplo, porcentaje, partes por millón) obtenidos por el procedimiento analítico.

Exactitud

La Conferencia Internacional de Armonización (ICH) define la exactitud y el procedimiento analítico como la cercanía de acuerdo entre los valores que se aceptan como valores verdaderos convencionales o un valor de referencia aceptado y el valor encontrado. La exactitud de un método analítico puede definirse como la proximidad de los resultados de los ensayos obtenidos por el método al valor verdadero. Es la medida de la exactitud del método analítico desarrollado. En el caso de la sustancia farmacológica, la exactitud puede definirse mediante la aplicación del procedimiento analítico a un analito de pureza conocida (por ejemplo, una norma de referencia). El documento del ICH también recomienda evaluar un mínimo de nueve determinaciones sobre un mínimo de tres niveles de concentración que cubran el rango especificado. La exactitud generalmente se informa como la recuperación porcentual por el ensayo (utilizando el procedimiento analítico propuesto) de la cantidad agregada

conocida de analito en la muestra o como la diferencia entre la media y el valor verdadero aceptado junto con los intervalos de confianza. El rango para el límite de exactitud debe estar dentro del rango lineal. Se espera que la exactitud de la recuperación del analito sea de aproximadamente 90-110%. Los valores de exactitud de los datos de recuperación más allá de este rango deben investigarse según corresponda. La exactitud de un método analítico puede determinarse mediante el método de recuperación de placebo con picos (matriz de producto) y el método de adición estándar.

- Método de recuperación con placebo con picos (matriz de productos)

En este método, se agrega una cantidad conocida de componente activo puro a la formulación en blanco (muestra que contiene todos los demás ingredientes excepto el ingrediente activo), se analiza la mezcla resultante y los resultados obtenidos se comparan con el resultado esperado.

- Método de adición estándar

En este método, se analiza una muestra, se agrega una cantidad conocida de constituyente activo puro y se vuelve a ensayar la muestra. La diferencia entre los resultados de los dos ensayos se compara con la respuesta esperada. La exactitud debe establecerse en toda la gama especificada del procedimiento analítico.

La exactitud debe evaluarse empleando un mínimo de nueve determinaciones sobre un mínimo de tres niveles de concentración que cubran el intervalo especificado (como por ej., tres concentraciones/ tres repeticiones completas del método). La exactitud se calcula como el porcentaje de recuperación obtenido a partir de la valoración de una cantidad agregada conocida de analito en la

muestra, o como la diferencia entre la media y el valor aceptado como verdadero junto con los intervalos de confianza. (9)

A continuación, se detalla la fórmula para realizar el cálculo de porcentaje de recuperación:

$$\% \text{ Recuperación} = \left(\frac{C_f - C_v}{C_a} \right) * 100 \quad (11)$$

Donde:

Cf: Es concentración del analito en la muestra fortificada

Cv=Concentración del analito medida en la muestra no fortificada

Ca=Es la concentración de analito añadida a la muestra fortificada

Criterio de Aceptación

El porcentaje de recuperación debe estar entre el 90% -110% del valor real.

Precisión

Según la USP, la precisión de un método analítico es el grado de concordancia entre los resultados de las pruebas individuales cuando el método se aplica repetidamente a múltiples muestreos de muestras homogéneas. Esto generalmente se expresa como la desviación estándar o la desviación estándar relativa (coeficiente de variación). La precisión generalmente se investiga en tres niveles de repetibilidad, precisión intermedia y reproducibilidad.

Para las titulaciones, la precisión y la repetibilidad generalmente se determinan juntas. Se recomiendan al menos nueve determinaciones a tres niveles de concentración diferentes para la determinación de ambos parámetros. ⁽¹⁰⁾

Repetibilidad

La repetibilidad implica el análisis de réplicas por parte del analista utilizando el mismo equipo y método y realizando el estudio de precisión durante un corto período de tiempo, mientras que la reproducibilidad implica un estudio de precisión en diferentes ocasiones, diferentes laboratorios y diferentes lotes de reactivos, diferentes analistas y diferentes equipos. La repetibilidad es una medida de la precisión bajo las mismas condiciones de operación durante un corto intervalo de tiempo que está bajo condiciones normales de operación del método analítico con el mismo equipo. A veces se conoce como precisión intra ensayo. Se requiere el informe de la desviación estándar, la desviación estándar relativa (coeficiente de variación) y el intervalo de confianza. Los valores del ensayo son análisis independientes de muestras que se han llevado a cabo a través del procedimiento analítico completo desde la preparación de la muestra hasta el resultado final de la prueba.

El ICH recomienda que la repetibilidad se evalúe utilizando un mínimo de nueve determinaciones que cubran el rango especificado para el procedimiento (por ejemplo, tres concentraciones / tres réplicas como en el experimento de precisión) o utilizando un mínimo de seis determinaciones al 100% de la concentración de prueba. Normalmente se espera que se realicen al menos seis réplicas y que los resultados obtenidos se utilicen para calcular la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación para el conjunto de n valores. Los valores de RSD son importantes para mostrar el grado de variación esperado

cuando el procedimiento analítico se repite varias veces en una situación estándar.

A continuación, se detalla la fórmula para el cálculo de desviación estándar relativa (RSD):

$$\%RSD= S*100/MEDIA$$

Donde:

RSD: Desviación estándar relativa

S: Varianza

MEDIA: Media de los datos obtenidos

Criterio de aceptación: RSD<2%

Reproducibilidad

La reproducibilidad mide la precisión entre múltiples laboratorios. Este parámetro se considera en la estandarización de un procedimiento analítico (por ejemplo, inclusión de procedimientos en farmacopeas y transferencia de métodos entre diferentes laboratorios) Para validar esta característica; estudios similares deben realizarse en diferentes laboratorios utilizando el mismo lote de muestra homogéneo y el mismo diseño experimental. En el caso de la transferencia de métodos entre dos laboratorios, se pueden adoptar diferentes enfoques para lograr la transferencia exitosa del procedimiento. Las comparaciones de los resultados obtenidos por diferentes analistas mediante el uso de diferentes equipos, o mediante la realización del análisis en diferentes momentos también pueden proporcionar información valiosa. La desviación estándar, la desviación estándar relativa (coeficiente de variación), y el intervalo de confianza deben notificarse para cada tipo de precisión investigada. El enfoque más común es la transferencia directa del método desde el laboratorio de origen al laboratorio

receptor. El laboratorio de origen se define como el laboratorio que ha desarrollado y validado el método analítico o un laboratorio que ha sido previamente certificado para realizar el procedimiento y participará en los estudios de transferencia de métodos. El laboratorio receptor se define como el laboratorio al que se transferirá el procedimiento analítico y que participará en los estudios de transferencia de métodos. En la transferencia directa de métodos, se recomienda que se inicie un protocolo con detalles de los experimentos a realizar y criterios de aceptación (en términos de la diferencia entre los medios de los dos laboratorios) para pasar la transferencia de métodos. La reproducibilidad se evalúa mediante un ensayo interlaboratorio. La reproducibilidad debe considerarse en caso de estandarización de un procedimiento analítico, por ejemplo, para la inclusión de procedimientos en farmacopeas.

Robustez

La robustez de un método analítico, es una medida de su capacidad para no verse afectada por una pequeña pero deliberada variación en los parámetros del método y proporciona una indicación de su fiabilidad durante el uso normal. La robustez de un método se evalúa mediante diferentes parámetros del método, como el porcentaje de disolvente orgánico, el pH, la resistencia iónica, la temperatura y determinan el efecto (si lo hay) en los resultados del método. La evaluación de la robustez debe considerarse durante la fase de desarrollo y depende del tipo de procedimiento en estudio. Si las mediciones son susceptibles a variaciones en las condiciones analíticas, las condiciones analíticas deben controlarse adecuadamente o debe incluirse una declaración de precaución en el procedimiento. La evaluación de la robustez debe consistir en que se establezcan una serie de parámetros de idoneidad del sistema (por ejemplo, prueba de resolución) para garantizar que la validez del procedimiento analítico se mantenga siempre que se utilice. ⁽⁹⁾

CAPITULO IV
DISEÑO METODOLOGICO

4.0 DISEÑO METODOLOGICO

4.1 TIPO DE ESTUDIO

-Prospectivo: Con los resultados obtenidos se establece un precedente en cuanto a la cuantificación de calcio en yogures infantiles y de adultos utilizando los métodos complejométricos y de óxido reducción, esto con la finalidad de que se tome en cuenta en futuras investigaciones.

-Experimental: Porque todas las muestras que se recolectaron fueron procesadas en el Laboratorio de Química Analítica cuantitativa de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, El Salvador.

4.2 INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA

La investigación bibliográfica se desarrolló con la revisión virtual de literatura en los siguientes sitios:

- “Dr. Benjamín Orozco” de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.
- Central, Universidad de El Salvador.
- Salvadoreña Alberto Masferrer (USAM).
- José Simeón Cañas "Florentino Idoate S.J." (UCA).
- Internet.

4.3 INVESTIGACIÓN DE CAMPO

Universo:

Yogures en presentación para adultos y niños, comercializados en un supermercado de la cadena más grande del país, ubicado en el área metropolitana de San Salvador en el periodo Enero a febrero de 2022.

Muestra:

6 frascos del mismo lote de yogur de cada tipo de presentación. Dos tipos de yogurt en presentación para adulto (yogurt sabor manzana, presentación 212g/200 mL, el cual rótula 190 mg de Calcio por frasco y yogurt semisólido natural sin azúcar, presentación 125 g/100 mL, el cual rótula 180 mg de Calcio por frasco) y dos tipos de yogurt en presentación para niños (yogur semisólido sabor banana fresa, presentación tarro de 100 g/ 90 mL, el cual rótula 130 mg de Calcio por frasco y yogurt líquido sabor galleta de fresa presentación 105 g/ 100 mL, el cual rótula 90 mg de Calcio por frasco). (Ver anexo N°1, Presentaciones de Yogur utilizados para el análisis)

Tipo de muestreo:

Puntual y dirigido a las muestras en el establecimiento seleccionado. (Ver anexo N°2.Fichas de recolección de muestras)

PARTE EXPERIMENTAL (Ver anexo N°3 y N°4 materiales, equipos y reactivos)

Para cada método, se realizaron dos repeticiones, con dos analistas, en días diferentes. (Ver Anexo N°5, Esquemas de Procesos Experimentales figura N°10)

Procedimiento para la cuantificación de Calcio utilizando método de Complejometrico.⁽⁷⁾**a) Estandarización de la solución valorante de EDTA 0.05M con CaCO₃ 0.01M** (Ver anexo N°5, Esquemas de Procesos Experimentales, Figura N°11)

1. Medir con pipeta volumétrica de 10 mL la solución estándar de Carbonato de Calcio y colocarla en un erlenmeyer de 250 mL.
2. Adicionar lentamente 7 gotas de solución de hidróxido de sodio 4 N para llevar la solución a pH 12 (verificar con papel pH).

3. Adicionar unas gotas de indicador purpurato de amonio o murexida. Agitar la solución.
4. Llenar la bureta de 50 mL previamente ambientada con solución valorante de EDTA 0.05 M.
5. Titular el patrón primario con la solución EDTA que está en la bureta hasta que el color de la solución vire de rosado a violeta. (Ver anexo N°1, Figura N°4)
6. Anotar los mililitros gastados en la valoración.
7. Realizar 2 valoraciones más.

Reacción del proceso:



Donde: Y= EDTA

Fórmulas: (Ver anexo N°6 para la observación de los cálculos realizados)

- **Molaridad real de EDTA (solución valorante)**

Patrón primario: Carbonato de Calcio

Peso de Carbonato de Calcio en alícuota utilizada:

Peso de CaCO₃ en el volumen total -----50.0 Volumen total STD)

X (g de CaCO₃ en alícuota) -----10.0 mL(alícuota)

X= g de CaCO₃ en alícuota/ 10mL

Molaridad real de EDTA:

$$M_{EDTA} = \frac{\left(\frac{g_{Patron\ primario}}{Alicuota}\right)}{(V_{Valorante})(Meq_{patron\ primario})}$$

Donde:

g: gramos de patrón primario en alícuota.

V: Volumen de EDTA en mL.

Meq: Miliequivalentes de patrón primario.

b) Procedimiento para la cuantificación de Calcio en la muestra: (Ver anexo N°5, Esquemas de Procesos Experimentales Figura N°12)

1. Medir con pipeta volumétrica de 10 ml la muestra tomada directamente desde el frasco y transferirlo a un erlenmeyer de 250 mL.
2. Agregar lentamente gotas de solución de hidróxido de sodio 4 N. para llevar la solución a pH 12 (comprobar el pH con el papel indicador).
3. Agregar una mínima cantidad de indicador purpurato de amonio o murexida. Agitar la solución.
4. Llenar la bureta con solución estándar secundario de EDTA 0.05 M.
5. Titular la muestra con la solución de EDTA que está en la bureta, hasta que el color varía de rosado a violeta, anotar los mililitros gastados en la valoración.
6. Realizar por duplicado el procedimiento.

Fórmulas:

Cantidad de mg de Carbonato de Calcio encontrados en alícuota valorada:

$$\frac{1 \text{ mL EDTA } 0.05 \text{ M} \text{ ----- mg de CaCO}_3 \text{ estandarizados}}{\text{mL de EDTA gastados/ } 10 \text{ mL} \text{ ----- } X}$$

$$X = \text{mg de CaCO}_3 \text{ encontrados/ alícuota}$$

Cantidad de CaCO₃ en mg en muestra total:

$$\frac{\text{mg de CaCO}_3 \text{ / alícuota} \text{ ----- } 10 \text{ mL de Alícuota}}{Y \text{ ----- Volumen total de producto (mL)}}$$

$$Y = \text{mg de CaCO}_3 \text{ en muestra total}$$

Conversión de CaCO₃ a Calcio elemental (Ca²⁺):

$$\frac{\text{Peso molecular de CaCO}_3 \text{ ----- Peso molecular de Calcio (Ca}^{2+})}{\text{mg de CaCO}_3 \text{ en muestra total} \text{ ----- } Z}$$

$$Z = \text{mg de Calcio en muestra total}$$

Procedimiento para la cuantificación de Calcio utilizando método de Oxido- Reducción (PERMANGANOMETRIA).⁽⁷⁾

a) Estandarización de la solución de KMnO₄ con oxalato de sodio 0.1N(Ver Anexo N°5, **Esquemas de Procesos Experimentales** Figura N°13)

1. Tomar con pipeta volumétrica 10.0 mL de la solución estándar primario (oxalato de sodio) y transferir a un erlenmeyer de 250 mL.

2. Adicionar con probeta 7.5 mL de ácido sulfúrico 2 N. y calentar la solución a 60 °C, hasta que se observen signos de evaporación en el cuello del erlenmeyer.
3. Valorar en caliente con la solución de permanganato de potasio 0.1N. Agitando constantemente hasta la aparición de un color rosado pálido que persiste por 30 segundos.
4. Efectuar 3 valoraciones

Fórmula:

Normalidad real de Permanganato de Potasio: (Ver Anexo N°2)

$$N_{KMnO_4} = \frac{g_{Na_2C_2O_4 \text{ en alícuota}}}{(V_{mL \text{ gastados de } KMnO_4})(mEq_{Na_2C_2O_4})}$$

Donde:

g: gramos de patrón primario en alícuota.

V: Volumen de KMnO₄ en mL.

Meq: Miliequivalentes de patrón primario.

b) Procedimiento para la cuantificación de calcio en muestra de yogur

Tratamiento de Muestra (Ver Anexo N°5, Esquemas de Procesos Experimentales, Figura N°14, N°15, N°16)

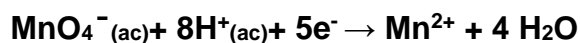
1. Transferir el volumen total de yogur de la presentación a analizar beaker de 500 mL
2. Agregar 100 mL de HCl 3 M para llevar a pH ácido para separar las proteínas y dejar reposar por 1 semana
3. Separar por medio de filtración.

4. agregar al filtrado 30 mL de ácido oxálico 2% (p/v) y 15 mL de Amoniaco para la formación del precipitado.
5. Calentar en baño de maria por 30 minutos
6. Filtrar al vacío con papel whatman N°40 libre de ceniza.
7. El precipitado calentarlo en estufa a 105°C por una hora, posteriormente colocarlo en desecador por 1 hora
8. Pesar en balanza analítica y transferirlo a beaker de 100 mL
9. Realizar los cálculos pertinentes para la formación de una solución 0.1 N de Oxalato de calcio.

Cuantificación de Calcio (Ver Anexo N°5, Esquemas de Procesos Experimentales Figura N°17)

1. Tomar con una pipeta volumétrica 10.0 mL de solución problema y transferir a un erlenmeyer de 250 mL
2. Adicionar 8 mL de ácido sulfúrico 2N
3. Calentar 60°C
4. Valorar la muestra hasta la aparición de un rosado pálido
5. Realizar por duplicado

Reacción del proceso:



Fórmulas: (Ver anexo N°6 para la observación de los cálculos realizados)

Gramos de Oxalato de Calcio (CaC_2O_4) en alícuota de 10mL: (Ver anexo N° 2)

$$g(\text{Mx}) = N (\text{titulante}) * V (\text{titulante}) * \text{Meq} (\text{Mx } \text{CaC}_2\text{O}_4)$$

Donde:

Mx : Oxalato de calcio (CaC_2O_4)

Titulante: Permanganato de potasio 0.1 N (KMnO_4)

Peso molecular de (CaC_2O_4) = 128 g/mol

$$\text{Meq} = \text{PM}(\text{Mx}) / 2000 = 128 \text{ g/mol} / 2000 = 0.064$$

Gramos de CaC_2O_4 en Precipitado Total :

$$g \text{ de } \text{CaC}_2\text{O}_4 / 10 \text{ mL} \text{-----} g \text{ de precipitado de } \text{CaC}_2\text{O}_4 / \text{alícuota}$$

$$X \text{ ----} g \text{ totales de precipitado de } \text{CaC}_2\text{O}_4 / \text{presentación}$$

$$X = g \text{ de } \text{CaC}_2\text{O}_4 \text{ en la presentación total}$$

Conversión de Oxalato de Calcio (CaC_2O_4) a Calcio elemental (Ca^{2+}):

$$\text{Peso molecular de } \text{CaC}_2\text{O}_4 \text{ -----} \text{Peso molecular de Calcio}$$

$$\text{Peso (g) de } \text{CaC}_2\text{O}_4 \text{ en la presentación total -----} X$$

$$X = g \text{ de Calcio en la presentación total}$$

EXACTITUD Y PRECISIÓN DE LOS MÉTODOS UTILIZADOS

Evaluar niveles de concentración de 100% (muestra), 110% y 120%.

Para el método complejométrico se realizó los cálculos pertinentes para calcular el nivel de 110% y 120% de calcio elemental utilizando para el método complejométrico el estándar de Carbonato de Calcio y el método Oxido-Reducción el estándar de Oxalato de Calcio (Ver Anexo N°5, Esquemas de Procesos Experimentales, Figura N°18,)

Procedimiento:

1. Calcular por cada presentación, el 10% y 20% de Calcio elemental de acuerdo al estándar utilizado por cada método.
2. Pesar por cada método y nivel de concentración la cantidad de calcio calculada en el paso 1.
3. Agregar a cada una de las muestras la cantidad de estándar pesado.
4. Continuar el análisis como se indica en cada método.
5. Realizar 1 muestra por cada nivel de concentración y realizar 3 repeticiones.
6. Calcular el porcentaje de Recuperación para Exactitud
7. Calcular a los datos obtenidos la Desviación estándar y Desviación estándar Relativa para la precisión.

Fórmula:

$$\% \text{ Recuperación} = \left(\frac{Cf - Cv}{Ca} \right) * 100$$

Donde

Cf= Concentración del analito en la muestra fortificada

Cv= Concentración del analito medida en la muestra no fortificada

Ca= Concentración del analito añadida previamente calculada a la muestra fortificada

Criterio de aceptación: 90-110%

Desviación estándar

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

donde

x_i : Porcentaje de recuperación de calcio

\bar{x} : Promedio de recuperación en porcentaje de calcio

n : Número de recuperaciones efectuadas

Criterio de aceptación: *Desviacion estandar* < 2%

Coefficiente de variación:

$$CV = \frac{\sigma}{|\bar{x}|}$$

Donde:

σ : Desviación estándar del porcentaje de recuperación

$|\bar{x}|$: media del porcentaje de recuperación

Criterio de aceptación: *CV* < 2%

CAPITULO V
RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.0 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.1 Determinar el contenido de calcio utilizando el método de oxido reducción y complejométrico en los yogures seleccionados.

Tabla N°6. Resultados obtenidos mediante la aplicación del método complejométrico y método Oxido-Reducción en Yogur Líquido en presentación Adulto 200 mL y presentación Niño 100 mL.

	YOGUR LIQUIDO PRESENTACION ADULTO 200mL				YOGUR LIQUIDO PRESENTACION NIÑO 100mL			
	METODO COMPLEJOMETRICO		METODO OXIDO- REDUCCION		METODO COMPLEJOMETRICO		METODO OXIDO- REDUCCION	
	ANALISTA 1	ANALISTA 2	ANALISTA 1	ANALISTA 2	ANALISTA 1	ANALISTA 2	ANALISTA 1	ANALISTA 2
	% R		% R		% R		% R	
	PROMEDIO	101.30	102.16	94.32	92.96	100.73	100.36	92.14
DES. EST.	1.60	1.33	3.04	2.59	1.36	1.73	1.73	1.95
CV	1.58	1.30	3.22	2.79	1.35	1.72	1.88	2.12

%R=Porcentaje sobre lo rotulado; DES.EST=Desviación estándar; CV=Coficiente de Variación

En la Tabla N°6. Se presenta los resultados obtenidos a partir de la aplicación del método complejométrico y método de Óxido- Reducción en yogurt líquido en presentación para adulto con número de Lote: YGE3305, presentación 212 g/ 200 mL, sabor manzana, el cual rótula en su etiqueta 190 mg de Calcio y yogurt líquido en presentación para niños con numero de Lote: YGE33233, presentación 105 g/ 100 mL, sabor galleta de fresa el cual rótula en su etiqueta 90 mg de Calcio (Ver anexo N°7 tabla N°10, N°11 para observar resultados generales obtenidos mediante la aplicación de ambos métodos en la presentaciones de yogur), donde se observa que al aplicar el método complejométrico en muestras de yogur liquido se obtienen resultados de porcentaje sobre lo rotulado de calcio cercanos al 100% en ambas presentaciones. Por otra parte, se observa que al aplicar el método de Oxido-Reducción en muestras de yogur liquido se obtienen resultados de porcentaje sobre lo rotulado de calcio que rondan el 90%. Los resultados obtenidos mediante el método Oxido-Reducción, muestran ser mucho más bajos en comparación con los resultados obtenidos mediante la aplicación del método complejométrico, probablemente debido a que para el desarrollo del método de Oxido-Reducción implica la precipitación del calcio presente en la muestra en

oxalato de calcio mediante la adición de ácido oxálico, posterior separación y filtración del precipitado obtenido, en lo cual pudo haber pérdida del analito en dichos procesos y producir errores, por lo que no se obtuvieron los resultados esperados así como también pudo haber interferido el no separar las proteínas con la cantidad estequiométricamente correcta de ácido clorhídrico 3 M u otros aditivos presentes en el yogur de manera correcta. Por otra parte, para el desarrollo del método complejométrico la reacción de la solución valorante de EDTA con el calcio ocurre directamente en el seno de la muestra, sin ninguna transformación del analito y por lo tanto hay poca probabilidad de pérdida de este con la aplicación de este método. Al observar los valores obtenidos de desviación estándar en las muestras de yogur líquido en presentación para adulto y presentación para niño, se aprecia que hay una baja dispersión de los datos. En cuanto, a los valores de desviación estándar deben ser menores al 2%, de acuerdo a lo establecido en el parámetro de precisión, al observar la desviación estándar obtenida mediante la aplicación del método Oxido-Reducción en las presentaciones antes mencionadas los valores aumentan hasta a un 3%. Si observamos los valores del coeficiente de variación, muestra que para el método complejométrico los valores son menores al 2%, en cambio para el método Oxido-Reducción los valores son mayores al 2%. La mayor dispersión de los datos del método de Oxido-Reducción pudo ser a causa de los múltiples procesos involucrados antes mencionados para su desarrollo, en cambio el método complejométrico involucra una menor serie de pasos para su realización.

Tabla N°7. Resultados obtenidos mediante la aplicación del método complejométrico y método Oxido-Reducción en Yogur semisólido en presentación Adulto 100 mL y presentación Niño 90 mL.

	YOGUR SEMISOLIDO PRESENTACION ADULTO 100mL				YOGURT SEMISOLIDO PRESENTACION NIÑO 90mL			
	METODO COMPLEJOMETRICO		METODO OXIDO-REDUCCION		METODO COMPLEJOMETRICO		METODO OXIDO-REDUCCION	
	ANALISTA 1	ANALISTA 2	ANALISTA 1	ANALISTA 2	ANALISTA 1	ANALISTA 2	ANALISTA 1	ANALISTA 2
	% R		% R		% R		% R	
PROMEDIO	99.73	100.09	92.06	91.89	100.64	100.30	90.24	90.65
DES. EST.	1.18	1.09	1.10	1.80	1.13	1.07	1.46	1.91
CV	1.18	1.08	1.19	1.96	1.12	1.07	1.62	2.10

%R=Porcentaje sobre lo rotulado; DES.EST=Desviación estándar; CV=Coficiente de Variación

En la Tabla N°7. se presenta los resultados obtenidos a partir de la aplicación del método complejométrico y método de Oxido- Reducción en yogur semisólido para adultos con número de Lote: YGE33034, presentación 125 g/ 100 mL, sabor natural sin azúcar el cual rótula en su etiqueta 180 mg de Calcio y yogurt semisólido para niños con numero de Lote: YGE33135, presentación 100 g/ 90 mL, sabor banano/ fresa el cual rótula en su etiqueta 130 mg de Calcio(Ver anexo N°7 tabla N°12, N°13 resultados generales obtenidos mediante la aplicación de ambos métodos en la presentación de yogur) donde se observa que al aplicar el método complejométrico en muestras de yogur semisólido se obtienen resultados de porcentaje sobre lo rotulado de calcio cercanos al 100% en ambas presentaciones. Por otra parte, se observa que al aplicar el método de Oxido-Reducción en muestras de yogur semisólido se obtienen resultados de porcentaje sobre lo rotulado de calcio que rondan el 90%. En cuanto, a los valores de desviación estándar deben ser menores al 2%, de acuerdo a lo establecido en el parámetro de precisión, al observar los valores obtenidos de desviación estándar en las muestras de yogur semisólido en presentación para adulto y presentación para niño, se aprecia que hay una baja dispersión de los datos tanto para el método de Oxido-Reducción como para el método complejométrico lo cual sus valores se mantienen alrededor del 2%. Si observamos los valores del coeficiente de variación, muestran que para

el método complejométrico y para el método Oxido-Reducción los valores son menores al 2%.

Como se puede observar, mediante el método complejométrico se obtienen resultados de porcentaje sobre lo rotulado de calcio entorno a lo esperado en ambas presentaciones. En cambio, la tendencia de los resultados obtenidos derivados de la aplicación del método de Oxido-Reducción se mantiene en torno al 90% en estas presentaciones de yogur semisólido lo cual indica que los resultados obtenidos mediante el método complejométrico y método Oxido-Reducción son independientes de su viscosidad

PRECISIÓN Y EXACTITUD

5.2 Establecer la exactitud de los métodos aplicados mediante la evaluación de tres niveles de concentración a través del agregado de estándar.

5.3 Identificar la precisión de las mediciones de calcio realizadas a través de los dos métodos estudiados.

Tabla N°8. Resultados de la evaluación de la exactitud y precisión utilizando el método complejométrico y método de Oxido Reducción en Yogur Liquido en presentación Adulto 200 mL y presentación Niño 100 mL.

	YOGUR LIQUIDO ADULTO PRESENTACION 212g/200mL 190 mg Calcio						YOGUR LIQUIDO NIÑO PRESENTACION 105g/100mL 90 mg Calcio					
	METODO COMPLEJOMETRICO			METODO OXIDO- REDUCCION			METODO COMPLEJOMETRICO			METODO OXIDO- REDUCCION		
	100%	110%	120%	100%	110%	120%	100%	110%	120%	100%	110%	120%
	% R			% R			% R			% R		
PROMEDIO	102.20	118.95	102.32	91.90	57.75	76.77	100.91	94.67	101.63	90.98	103.26	93.31
DES. EST.	1.04	4.63	8.95	0.61	16.29	6.26	1.26	12.70	12.57	1.15	10.00	2.93
CV	1.02	3.89	8.74	0.67	28.20	8.15	1.25	13.42	12.37	1.27	9.69	3.14

%R=Porcentaje sobre lo rotulado (para el nivel de 100%) o porcentaje de recuperación (para el nivel de 110% y 120%); DES.EST=Desviación estándar; CV=Coficiente de Variación

En la Tabla N°8. Se observan los resultados al evaluar la exactitud y precisión del método (específicamente esta última se evaluó la Repetibilidad) utilizando el método complejométrico y el método de Oxido- Reducción en muestras de yogurt líquido en presentación para adulto y yogurt líquido en presentación para niños (Ver anexo N°8, Tabla N°17-18, N°21-22). Se observan los resultados obtenidos mediante la evaluación de la exactitud utilizando el método complejométrico en los niveles de concentración de 100%, 110%, 120%, sus porcentajes de recuperación de calcio rondan el 100% para ambas presentaciones de yogur líquido, demostrando una muy buena exactitud del método. En cambio, si observamos los resultados obtenidos mediante la utilización del método Oxido-Reducción a las muestras antes mencionada, se obtienen porcentajes de recuperación de calcio por debajo del valor esperado, lo cual indica una muy baja exactitud. Dichos resultados del método Oxido-Reducción como anteriormente se expresan pueden deberse a la aplicación de una mayor serie de pasos lo cual puede haber perdida significativa del analito o probablemente los resultados obtenidos pueden deberse a que no se tomó en cuenta la humedad presente en el estándar de oxalato de calcio utilizado como estándar en dicho método. También los resultados pudieron haber sido afectados por la utilización de diferentes tipos de sales de estándares tanto para el método complejométrico como para el método Oxido-Reducción. Al observar la desviación estándar y coeficiente de variación de ambos métodos en las dos presentaciones de yogur líquido muestran valores muy superiores al 2% (Valor de referencia), lo cual muestra una gran dispersión de los datos obtenidos y por lo tanto una baja precisión de ambos métodos, probablemente debido a que los estándares utilizados de carbonato de calcio para el método complejométrico y de oxalato de calcio para el método redox no se homogenizaron bien en todas las muestras evaluadas, además del error inevitable realizado por cada analista.

Tabla N°9. Resultados de la evaluación de la exactitud y precisión utilizando el método complejométrico y método de Oxido Reducción en Yogur semisólido en presentación Adulto 100 mL y presentación Niño 90 mL.

	YOGUR SEMISOLIDO ADULTO PRESENTACION 125g/100mL 180mg Calcio						YOGURT SEMISOLIDO NIÑO PRESENTACION 100g/90mL 130mg Calcio					
	METODO COMPLEJOMETRICO			METODO OXIDO- REDUCCION			METODO COMPLEJOMETRICO			METODO OXIDO- REDUCCION		
	100%	110%	120%	100%	110%	120%	100%	110%	120%	100%	110%	120%
	% R			% R			% R			% R		
PROMEDIO	99.82	101.81	99.81	90.98	103.06	92.84	100.41	94.97	97.24	91.38	101.38	95.44
DES. EST.	0.63	6.13	3.14	1.01	0.67	10.90	1.36	13.58	3.92	1.19	11.86	10.38
CV	0.63	6.02	3.15	1.11	0.65	11.74	1.35	14.30	4.03	1.30	11.70	10.88

%R=Porcentaje sobre lo rotulado (para el nivel de 100%) o porcentaje de recuperación (para el nivel de 110% y 120%); DES.EST=Desviación estándar; CV=Coeficiente de Variación

En la Tabla N°9. Se observan los resultados al evaluar la exactitud y precisión del método (específicamente esta última se evaluó la Repetibilidad) utilizando el método complejométrico y en el método de Oxido- Reducción en muestras de yogur semisólido para adultos y yogurt semisólido para niños, Se observan los resultados obtenidos mediante la evaluación de la exactitud utilizando el método complejométrico en los niveles de concentración de 100%, 110%, 120%, sus porcentajes de recuperación de calcio rondan el 100% para ambas presentaciones de yogur semisólido (Ver anexo N°8, Tabla N°19-20, N°23-24), demostrando una muy buena exactitud del método. En cambio, si observamos los resultados obtenidos mediante la utilización del método Oxido-Reducción a las muestras antes mencionada, se obtienen porcentajes de recuperación de calcio por debajo del valor esperado, lo cual indica una muy baja exactitud. Dichos resultados del método Oxido-Reducción como anteriormente se expresan pueden deberse a la aplicación de una mayor serie de pasos lo cual puede haber perdida significativa del analito o probablemente los resultados obtenidos pueden deberse a que no se tomó en cuenta la humedad presente en el estándar de oxalato de calcio utilizado como estándar en dicho método. También los resultados pudieron haber sido afectados por la utilización de diferentes tipos de sales de estándares tanto para el método complejométrico como para el método Oxido-Reducción. Al observar la desviación estándar y

coeficiente de variación de ambos métodos en las dos presentaciones de yogur semisólido muestran valores muy superiores al 2% (Valor de referencia), lo cual muestra una gran dispersión de los datos obtenidos y por lo tanto una baja precisión de ambos métodos, probablemente debido a que los estándares utilizados de carbonato de calcio para el método complejométrico y de oxalato de calcio para el método Oxido-Reducción no se homogenizaron bien en todas las muestras evaluadas, además del error inevitable realizado por cada analista.

5.4 Seleccionar el método más adecuado para cuantificación de calcio en yogur con base en los resultados de exactitud y precisión.

Tomando en cuenta los resultados obtenidos anteriormente mediante la aplicación del método complejométrico y método de Oxido Reducción para evaluar la concentración de Calcio en yogur en sus diferentes presentaciones, se selecciona el método complejométrico sobre el método de Oxido Reducción como una alternativa viable, de fácil aplicación, ya que en todas sus presentaciones demostró ser exacto (sus porcentajes de recuperación del analito en todos sus niveles de concentración y presentaciones evaluados fueron cercanos al valor de referencia). En cambio, al aplicar el método de Oxido Reducción en las mismas muestras y condiciones que el método complejométrico, se obtuvieron valores de porcentajes de recuperación del analito inferiores al valor de referencia establecido en la bibliografía (90% - 110%) por lo cual este método no es exacto ya que no se obtienen porcentajes de recuperación cercanos a los valores esperados, esto puede deberse a la pérdida del analito en los diferentes procesos que se realizan para el desarrollo del método. Sin embargo, los valores de desviación estándar y coeficiente de variación fueron superiores al 2% (criterio de aceptación según el parámetro de precisión) para ambos métodos, demostrando así que los dos métodos no son precisos. Cabe destacar que los resultados obtenidos en esta investigación pudieron haberse visto afectado por diferentes factores entre los cuales se encuentran, la destreza de los analistas, el material y reactivo utilizado para el desarrollo de los métodos, la marca comercial de las muestras utilizadas entre otros.

CAPITULO VI
CONCLUSIONES

6.0 CONCLUSIONES

1. Para las cuatro presentaciones de yogur evaluadas, mediante el método complejométrico se obtuvo un porcentaje sobre lo rotulado de calcio que ronda el 100% (entre 100-102%). En cambio, al aplicar el método Oxido-Reducción a las mismas presentaciones de yogur se obtuvo un porcentaje de recuperación cercano al 90% (entre 90 y 94%).
2. Se determina que el método complejométrico es mucho más exacto que el método de oxido-reducción, debido a que en los datos obtenidos del método complejométrico, el porcentaje de recuperación del analito se encuentra cercano e incluso superior al 100% en todas sus presentaciones. En cambio, el método de Oxido - Reducción es mucho menos exacto ya que se obtuvieron porcentajes de recuperación del analito menores al 100%.
3. Los dos métodos no son precisos, se evidencio mediante los resultados de la desviación estándar y el coeficiente de variación mayores al 2% (criterio de aceptación según el parámetro de precisión), lo cual demuestra una alta dispersión de los datos y por lo tanto una muy baja precisión.
4. Tomando en consideración los resultados de la exactitud y precisión de ambos métodos, se selecciona el método complejométrico ya que demostró ser exacto, por lo que, se puede utilizar para la cuantificación de calcio en yogur. Sin embargo, dicho método demostró no ser preciso. Debido a que factores como la destreza, marcas comerciales, materiales y reactivos utilizados pudieron haber afectado el proceso.
5. En el método óxido-reducción es necesario convertir el Calcio presente en la muestra en Oxalato de calcio ya que es el que participa en la reacción.

6. Se dificultó la observación del punto final de la reacción en las valoraciones complejométricas en muestras de yogur que presentaban coloración.

CAPITULO VII
RECOMENDACIONES

7.0 RECOMENDACIONES

1. El uso del método oficial proporcionado por la Asociación Oficial de Químicos Analíticos (AOAC,2005) 985.35 para cuantificar el contenido de calcio en alimentos, denominado espectrometría de absorción atómica con llama para la cuantificación de calcio en muestras de yogur.
2. En futuras investigaciones realizar una validación para el método complejométrico y método de Oxido-Reducción en muestras de yogur, para así corroborar los parámetros de rendimiento.
3. En futuras investigaciones utilizar volúmenes de acuerdo a relación estequiométrica de ácido clorhídrico 3M en el método Oxido-Reducción de acuerdo al volumen de la presentación a evaluar.
4. Secar en estufa los estándares de Carbonato de calcio y Oxalato de calcio utilizados en la exactitud y precisión debido a que la humedad puede afectar a los valores obtenidos.
5. El constante monitoreo de las concentraciones de Calcio en el yogur y en otros alimentos comúnmente consumidos por la población, ya que este mineral es de vital importancia para el desarrollo de las funciones anatómicas y fisiológicas del organismo humano.
6. Evaluar la exactitud y precisión de ambos métodos utilizando la misma sal de estándar de calcio

BIBLIOGRAFIA

1. Nagaoka S. Yogurt Production. *Methods in molecular biology* (Clifton, NJ). 2018;45-54.
2. Marette A, Picard-Deland E, Fernandez M. *Yogurt*. 1st ed. Estados Unidos: CRC Press Taylor & Francis Group; 2017.
3. Menchú M, Méndez H. *Tabla de composición de alimentos de Centroamérica*. 2nd ed. Guatemala: INCAP/OPS; 2007.
4. Wawrzyniak N, Suliburska J. Nutritional and health factors affecting the bioavailability of calcium: a narrative review. *Nutrition Reviews*. 2021;79(12):1307-1320.
5. Ross AC, Taylor CL, Yaktine AL, Del Valle HB, *Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D*, Estados Unidos: National Academies Press; 2011
6. Cormick G, Belizán J. Calcium Intake and Health. *Nutrients*. 2019;11(7):1606.
7. Skoog, D., West, D., Holler, F., & Crouch, S. *Fundamentals of analytical chemistry* (9th ed.). Erindale College, University of Toronto: 2015
8. Sarkar D, *Fundamentals of Analytical Chemistry* (1st ed.). PharmaMed Press; 2021.
9. Sahoo CK, Sudhakar M, Sahoo NK, Rao SRM, Panigrahy UP. Validation of Analytical Methods: A Review. *Int J Chromatogr Sep Tech: IJCST*(2018)
10. Marques M, Pappa H, Chang M, Spafford L, Klein M, Meier L. Recommendations for titration methods validation.
11. AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals 2002.

ANEXOS

ANEXO N°1

IMÁGENES DEL PROCESO EXPERIMENTAL



Figura N°3. Presentaciones de Yogur utilizados para el análisis



Figura N°4. Etiqueta nutricional de yogures (izquierda se muestra la presentación de yogur semisólido niño, a la derecha se observa etiqueta nutricional de yogur semisólido adulto).



Figura N°5. Etiqueta nutricional de yogur utilizado (izquierda se muestra etiqueta nutricional de yogur líquido adulto, a la derecha se observa etiqueta nutricional de yogur líquido niño)



Figura N°6. Demostración de viraje de color al realizar una valoración complejométrica con EDTA 0.05M (a la derecha se observa la muestra inicial y a la izquierda se muestra el punto final)



Figura N°7. Tratamiento de muestras para ser utilizadas en el método Oxido-Reducción (muestra más Acido Clorhídrico)

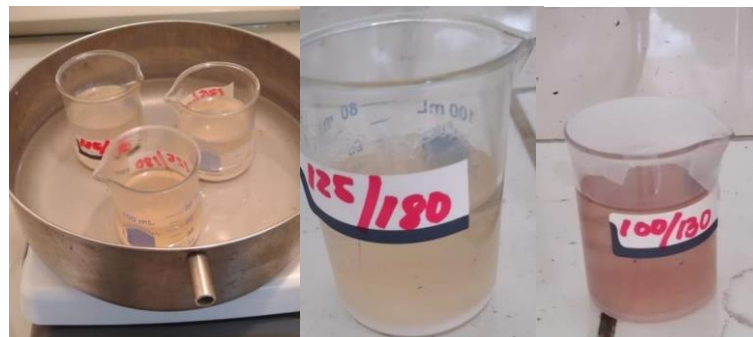


Figura N°8. Suero Obtenido de las muestras después del proceso de reposo en el desarrollo del método de Oxido Reducción

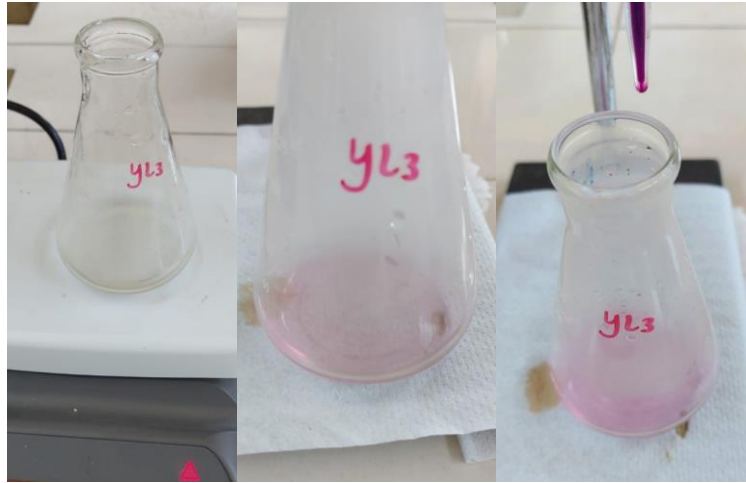






Figura N°9. Demostración de viraje de color al realizar una valoración Oxido-Reducción con permangato de potasio 0.01M

ANEXO N°2
FICHAS DE RECOLECCIÓN DE MUESTRAS



**Cuadro N°1. Ficha de recolección de muestra de yogur liquido adulto
212g/200mL**

	FICHA DE RECOLECCIÓN DE MUESTRAS TRABAJO DE INVESTIGACIÓN COMPARACION DE DOS METODOS PARA LA CUANTIFICACION DE CALCIO EN YOGUR PARA ADULTOS Y NIÑOS	
Nombre de Muestra	yogur liquido adulto	
Tipo de presentación	212g/200mL	
N° de Lote	YGE3305	
Fecha de recolección	10 de enero de 2022	
Cantidad de muestra	10	
Lugar de muestreo	Super selectos, Centro metropolitano de san salvador	
Observaciones	Conservar en refrigeración	



**Cuadro N°2. Ficha de recolección de muestra de yogur liquido Niño
105g/100mL**

	FICHA DE RECOLECCIÓN DE MUESTRAS TRABAJO DE INVESTIGACIÓN COMPARACION DE DOS METODOS PARA LA CUANTIFICACION DE CALCIO EN YOGUR PARA ADULTOS Y NIÑOS	
Nombre de Muestra	YOGUR LIQUIDO NIÑO	
Tipo de presentación	105g/100mL	
N° de Lote	YGE33233	
Fecha de recolección	10 de enero de 2022	
Cantidad de muestra	10	
Lugar de muestreo	Super selectos, Centro metropolitano de san salvador	
Observaciones	Conservar en refrigeración	

Cuadro N°3. Ficha de recolección de muestra de yogur semisólido adulto 125g/100mL

	FICHA DE RECOLECCIÓN DE MUESTRAS TRABAJO DE INVESTIGACIÓN COMPARACION DE DOS METODOS PARA LA CUANTIFICACION DE CALCIO EN YOGUR PARA ADULTOS Y NIÑOS	
Nombre de Muestra	YOGUR SEMISOLIDO ADULTO	
Tipo de presentación	125g/100mL	
N° de Lote	YGE33034	
Fecha de recolección	10 de enero de 2022	
Cantidad de muestra	10	
Lugar de muestreo	Super selectos, Centro metropolitano de san salvador	
Observaciones	Conservar en refrigeración	

Cuadro N°4. Ficha de recolección de muestra de yogur semisólido niño 100g/90mL

	FICHA DE RECOLECCIÓN DE MUESTRAS TRABAJO DE INVESTIGACIÓN COMPARACION DE DOS METODOS PARA LA CUANTIFICACION DE CALCIO EN YOGUR PARA ADULTOS Y NIÑOS	
Nombre de Muestra	YOGURT SEMISOLIDO NIÑO	
Tipo de presentación	100g/90mL	
N° de Lote	YGE33135	
Fecha de recolección	10 de enero de 2022	
Cantidad de muestra	10	
Lugar de muestreo	Super selectos, Centro metropolitano de san salvador	
Observaciones	Conservar en refrigeración	

ANEXO N°3
MATERIALES Y EQUIPO

MATERIALES:

- Erlenmeyer 250 mL.
- Probeta de 25 mL.
- Beaker de 50.0, 100.0, 250.0, 500.0 mL .
- Agitador.
- Pipeta volumétrica de 10.0 mL.
- Bureta de 50 mL.
- Soporte para bureta.
- Pinza para bureta.
- Papel Whatman N°40 libre de ceniza
- Espatula
- Baño Maria

EQUIPOS

- Hotplate con agitador magnético.
- Balanza Analítica.
- Equipo de filtrado al vacío

ANEXO N° 4

PREPARACIÓN DE REACTIVOS

Método Complejométrico.

Reactivos:

- Carbonato de calcio sólido.
- Ácido etilendiaminotetracético sal disódica (EDTA) sólido.
- Indicador murexida o purpurato de amonio.
- Hidróxido de Sodio 4N.

Preparación de reactivos:

Solución de estándar primario de carbonato de calcio 0.01 M.⁽⁷⁾

Peso molecular: 100.0869 g/mol

- Pesar la cantidad de 0.2500 g de Carbonato de Calcio reactivo analítico puro previamente desecado en un Beaker de 30 mL.
- Agregar 10 gotas de ácido clorhídrico 3N y agitar hasta disolver.
- Cuando se haya disuelto completamente, diluir a 30 mL con agua destilada libre de CO₂.
- Transferir a un balón de 50.0 mL y aforar con agua libre de CO₂.

Solución valorante de sal disódica del ácido etilendiaminotetracético (EDTA) 0.05 M.⁽⁷⁾

Peso molecular de EDTA: 292.2438 g/mol

- Secar en una estufa el EDTA a 80°C durante 2 horas.
- Colocar el EDTA en un desecador durante 30 minutos antes de la preparación del estándar de EDTA. 94
- Pesar 3.7224g de EDTA
- Disolverlo en un beaker de 250 mL con agua libre de CO₂.
- Filtrar la solución en un embudo de vidrio tallo largo y recibir en un matraz volumétrico de 1000.0 mL.
- Lavar el beaker para arrastrar restos de la solución de EDTA.

- Adicionar 0.02g de Cloruro de Magnesio Hexahidratado
- Agitar circularmente y llevar a volumen con agua libre de CO₂.

Nota: Guardar la solución de EDTA en un recipiente de polietileno (por que en los frascos de vidrios, la solución de EDTA reacciona gradualmente con los iones del vidrio, por lo que cambia su concentración).

Oxido - Reducción

Reactivos:

- Permanganato de potasio sólido
- Oxalato de sodio
- Ácido sulfúrico 2N
- Ácido Oxálico
- Ácido Clorhídrico

Preparación de Reactivos:

Preparación de la solución estándar primario de oxalato de sodio 0.1N₍₇₎

- Pesar 0.6800 gramos de Oxalato de Sodio en una balanza analítica
- Transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL.
- Disolver, aforar y homogenizar.

Preparación de una solución de permanganato de potasio 0.1

N. farmacopea pagina 312

Peso molecular: 158.0 g/mol

- Pesar en balanza analítica 3.161g de Permanganato de Potasio en Beaker de 30 mL.
- Disolver en 1 litro de agua en un erlenmeyer.
- Calentar a ebullición la solución durante aproximadamente 15 minutos.
- Insertar el tapón en el Erlenmeyer.

- Dejar reposar durante al menos 2 días .
- Filtrar a través de un crisol de vidrio sinterizado de porosidad fina.
- Guardar la solución en un frasco color ámbar.

Nota: En el caso de las valoraciones de soluciones de Permanganato de Potasio, que son soluciones oscuras su lectura se realiza en el borde superior del menisco en vez del inferior como se hace tradicionalmente.

ANEXO N°5
ESQUEMAS DEL PROCESO EXPERIMENTAL

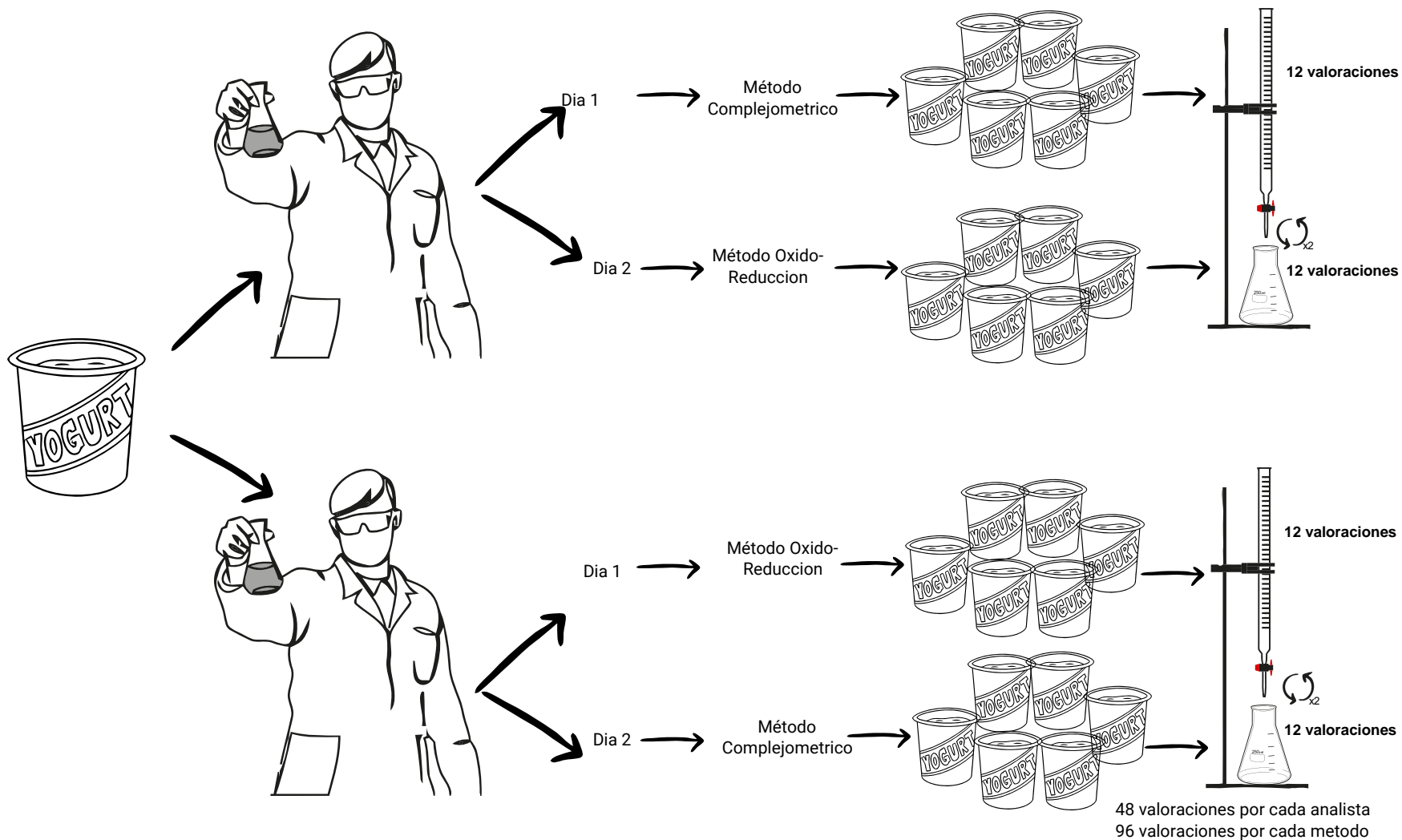


Figura N°10. Esquema de cantidad de muestras a utilizar para el procedimiento del método complejometrico y método Oxido-Reducción

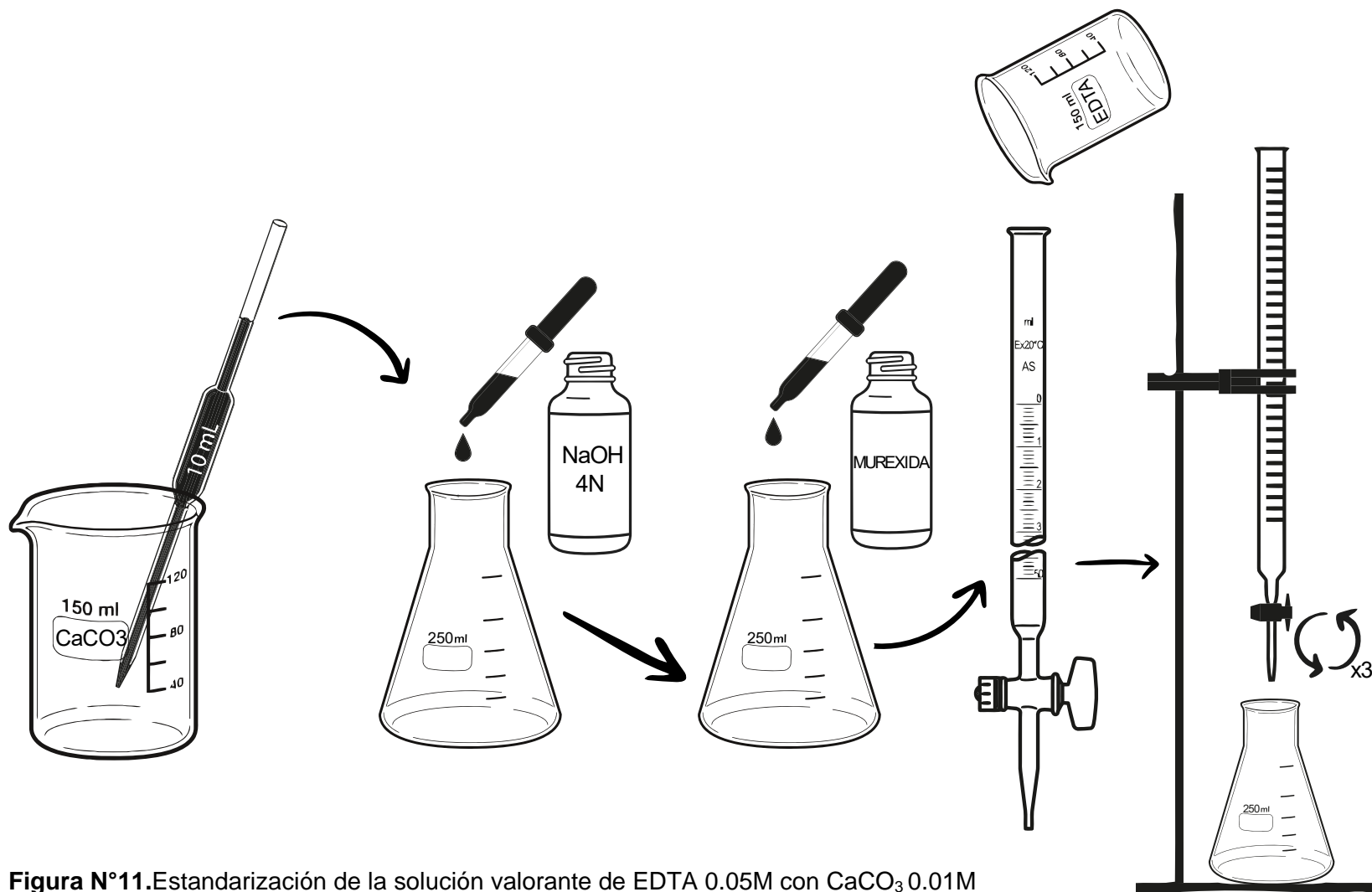


Figura N°11. Estandarización de la solución valorante de EDTA 0.05M con CaCO_3 0.01M

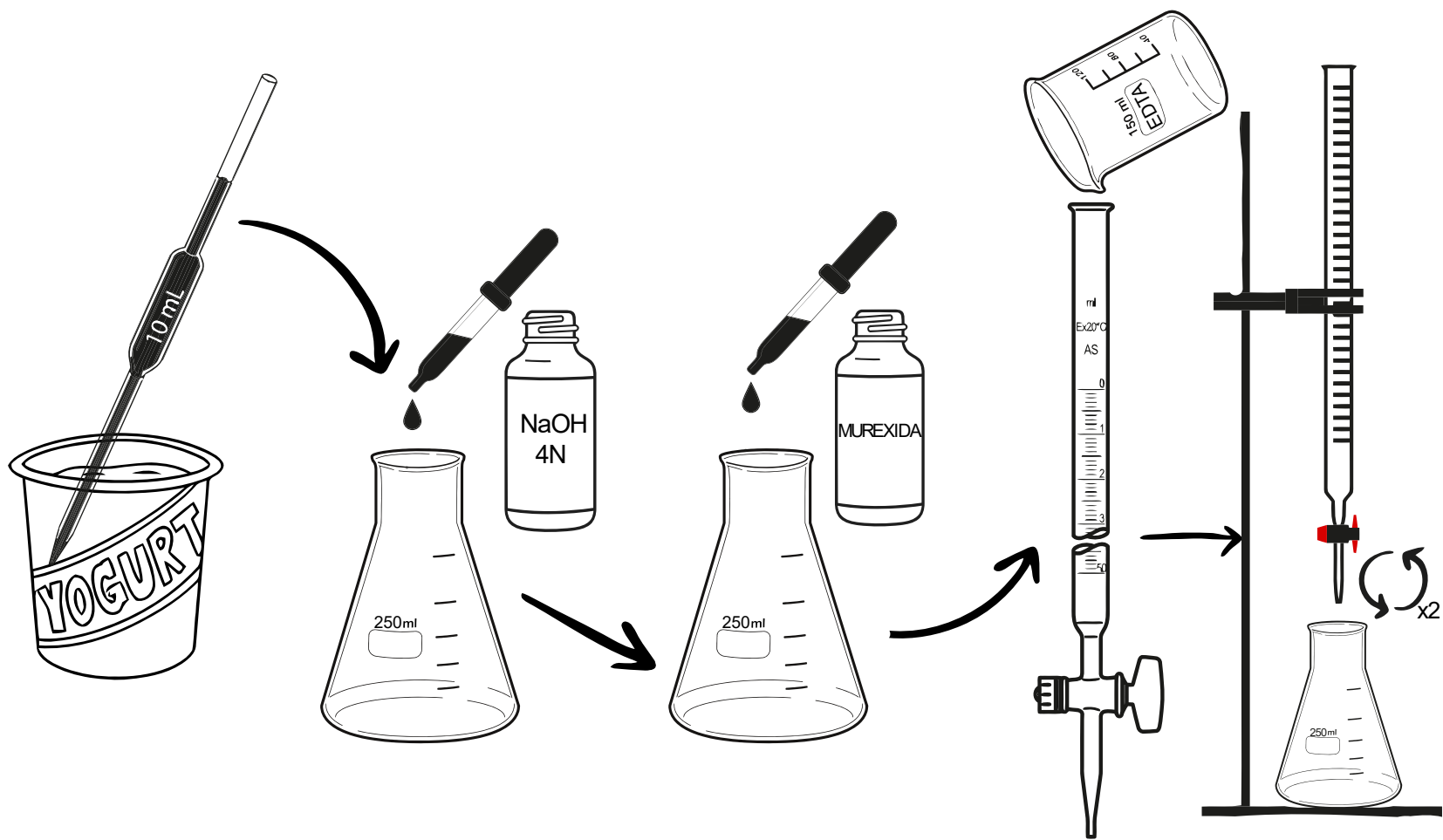


Figura N°12. Procedimiento para la cuantificación de Calcio en la muestra por método complejométrico.

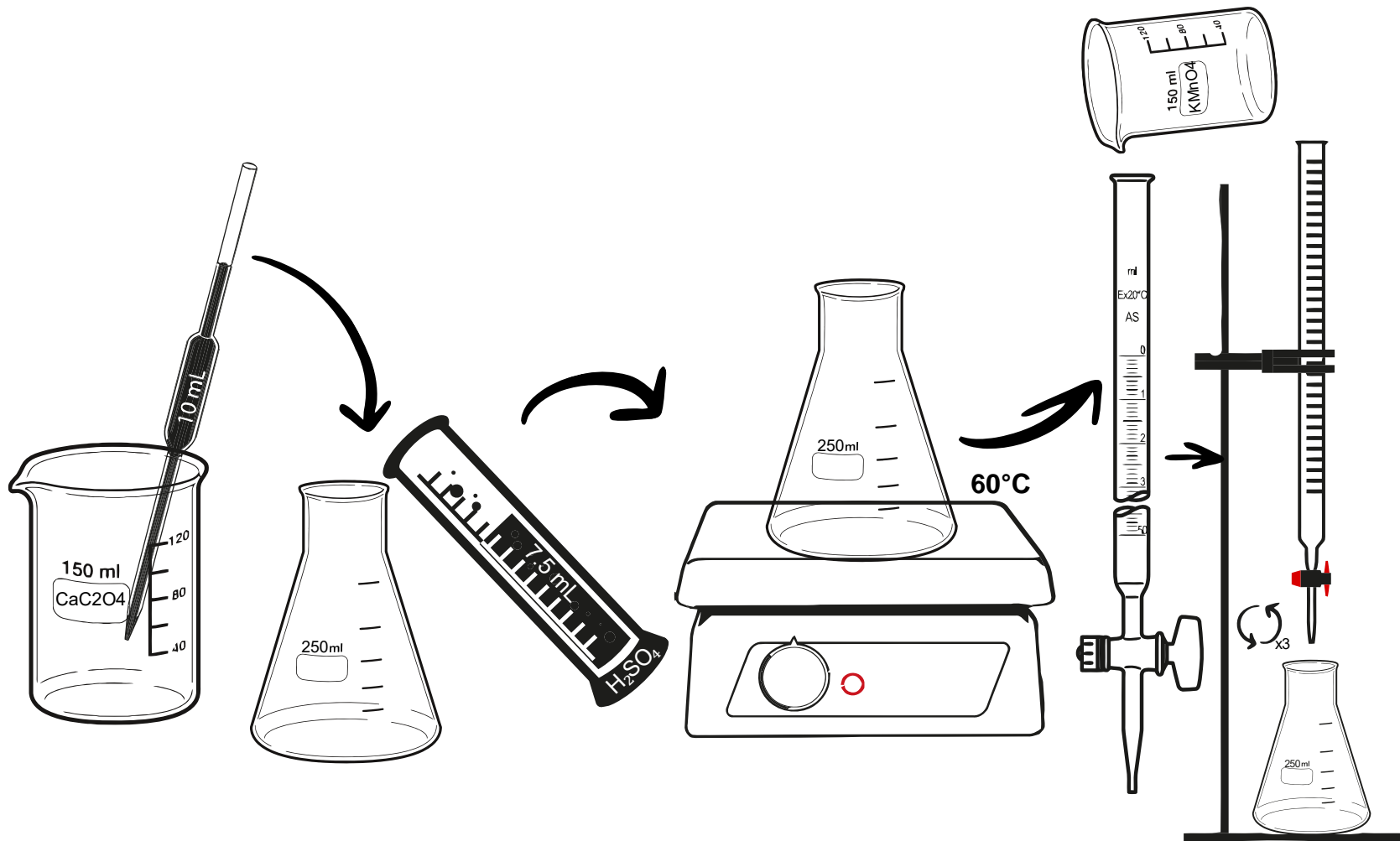


Figura N°13. Estandarización de la solución de KMnO₄ con oxalato de sodio 0.1N

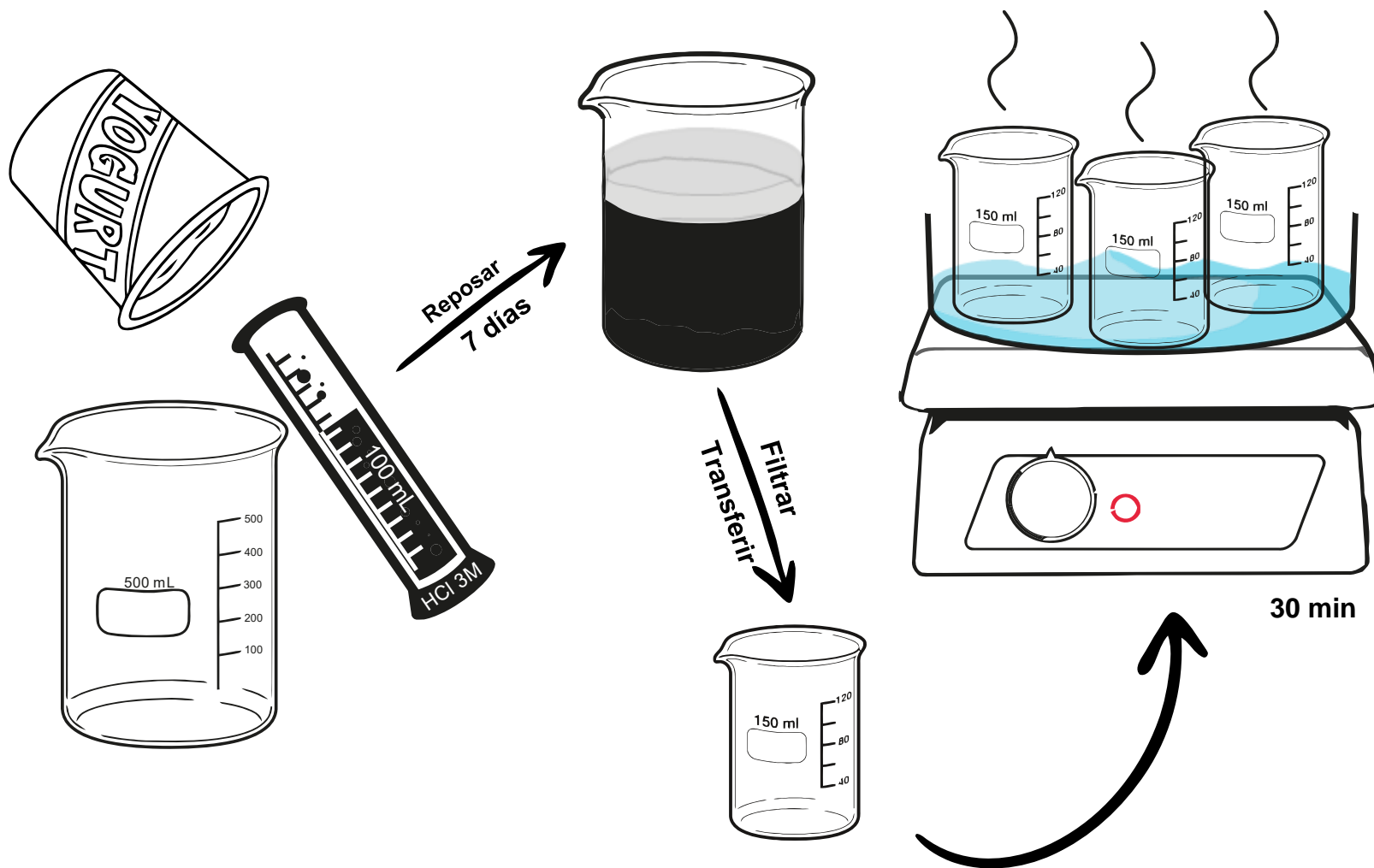


Figura N°14. Procedimiento para la cuantificación de calcio en muestra de yogur (Método Oxido-Reducción)

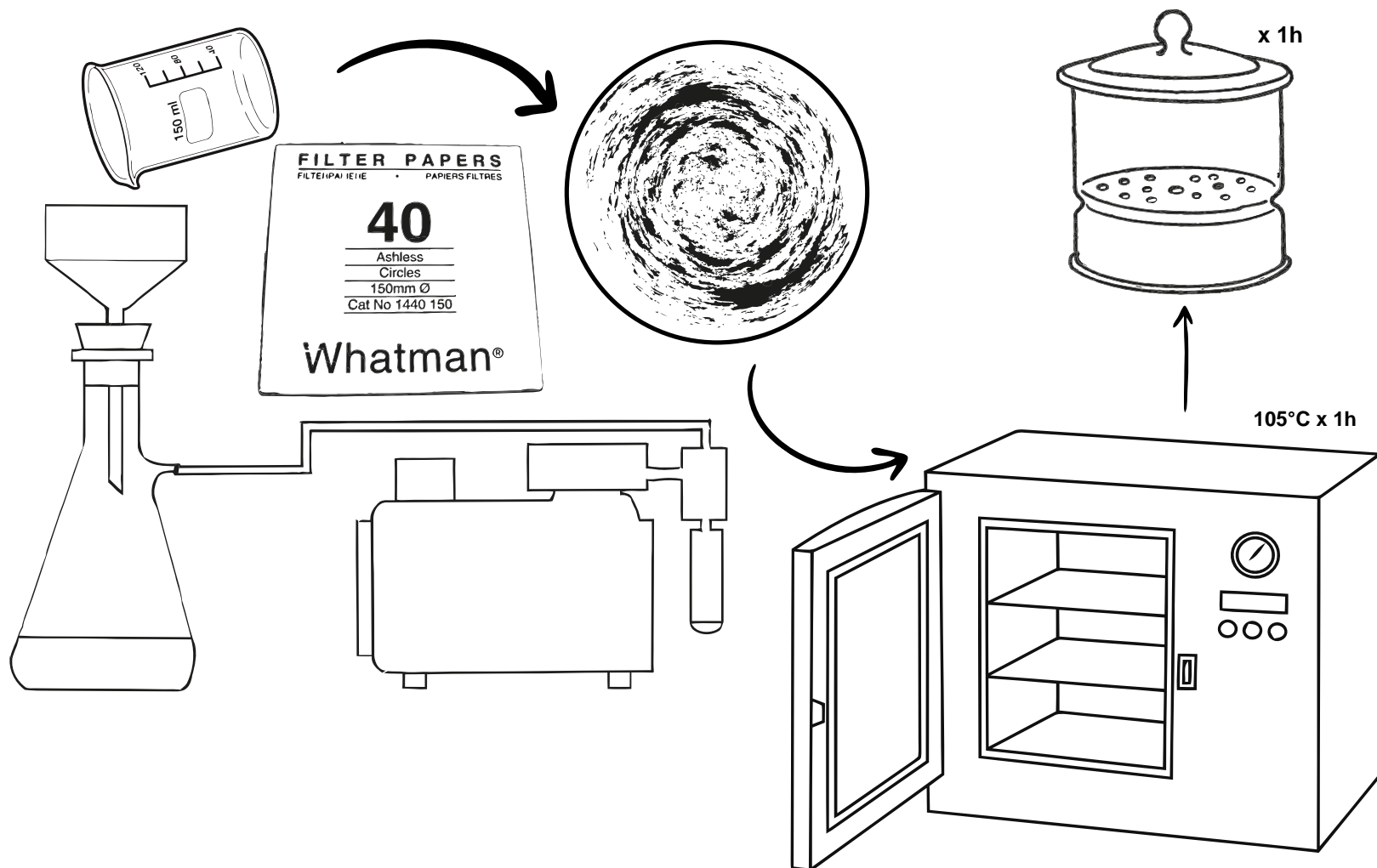


Figura N°15. Procedimiento para la cuantificación de calcio en muestra de yogur (Método Oxido-Reducción)

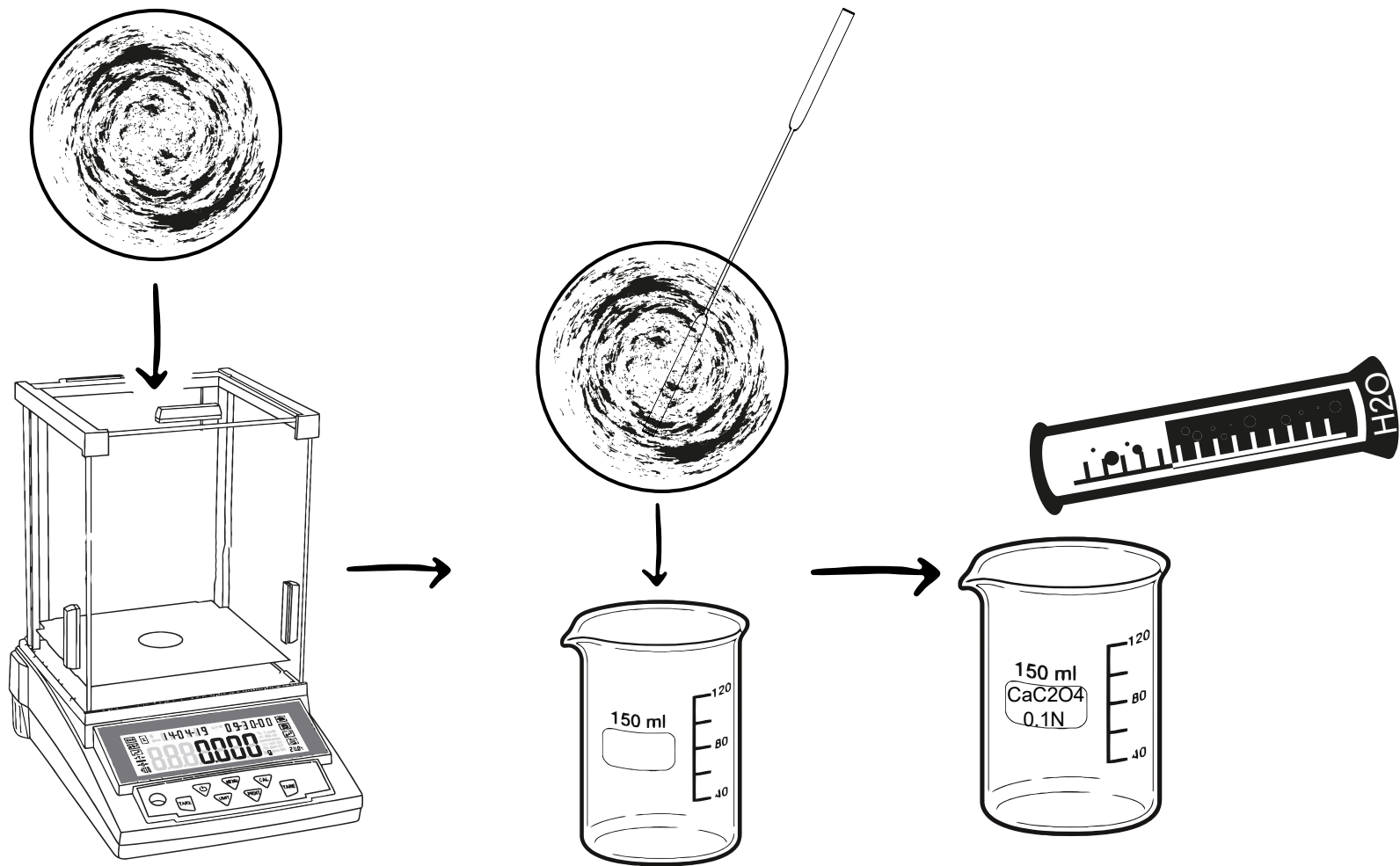


Figura N°16. Procedimiento para la cuantificación de calcio en muestra de yogur (Método Oxido-Reducción)

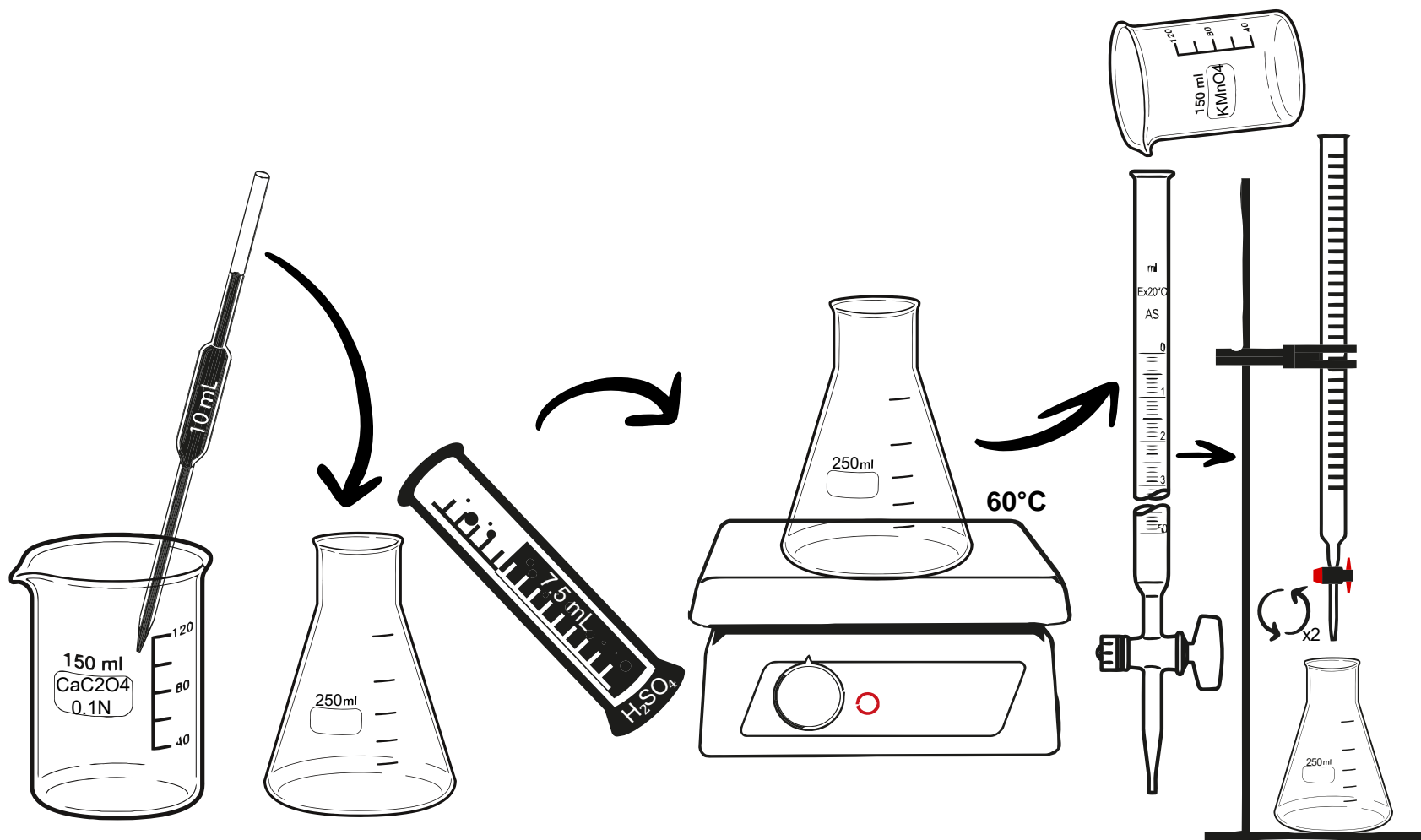


Figura N°17. Procedimiento para la cuantificación de calcio en muestra de yogur (Método Oxido-Reducción)

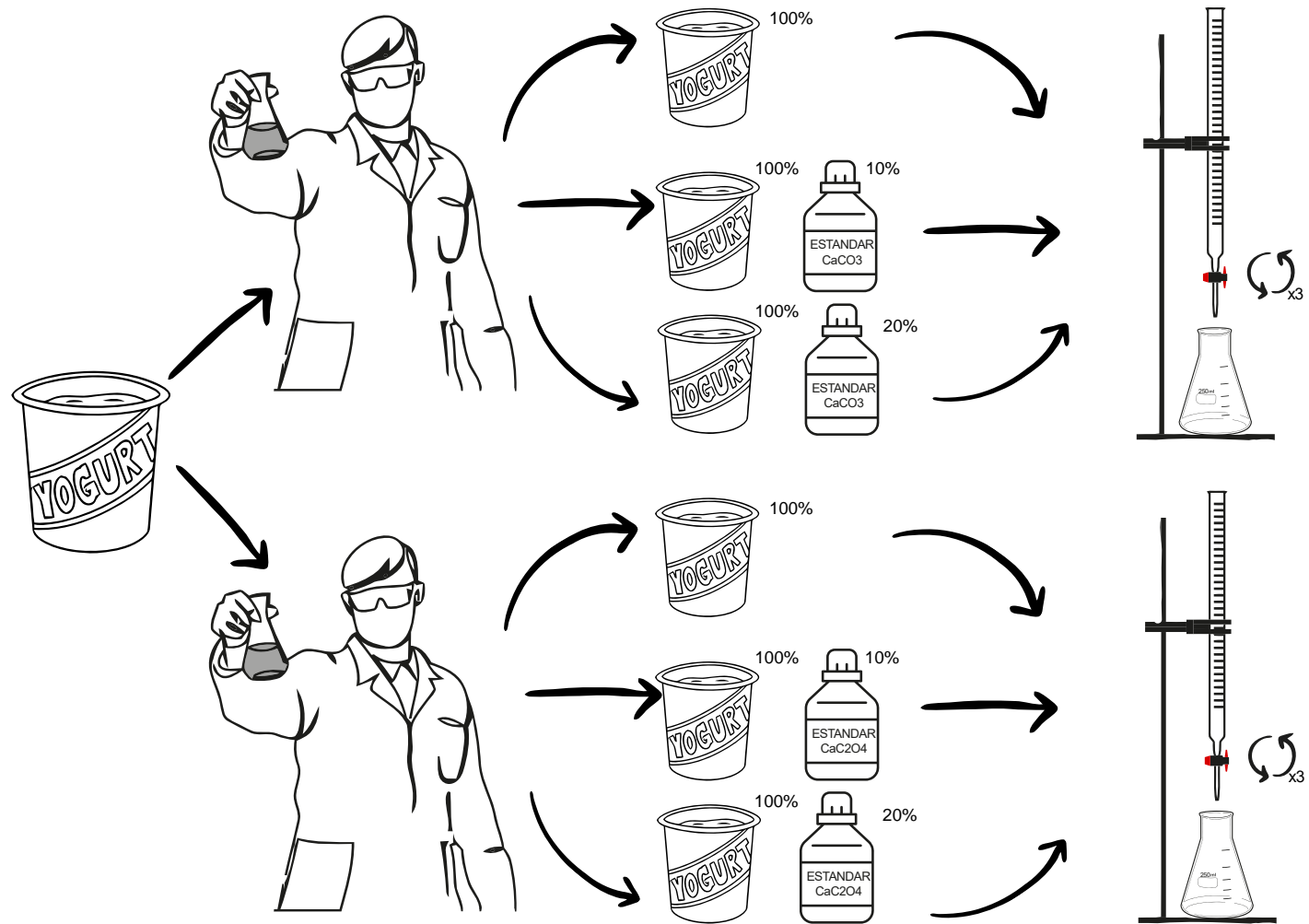


Figura N°18. Esquema de parte experimental para el procedimiento de exactitud y precisión.

ANEXO N°6
CALCULOS DE ESTANDARIZACION DE SOLUCIONES VALORANTES

Estandarización de Solución Valorante de EDTA 0.05M con solución de Carbonato de Calcio.

Peso de Calcio en alícuota utilizada:

$$\begin{array}{l} 0.2515 \text{ g de Calcio} \text{ -----} 50.0 \text{ Volumen total STD} \\ X \text{ (g de Ca en alícuota)} \text{ -----} 10.0 \text{ mL (alícuota)} \end{array}$$

$$X = 0.0503 \text{ g de Calcio/ alícuota}$$

Molaridad real de EDTA;

$$M_{EDTA} = \frac{\left(\frac{g_{Patron\ primario}}{Alicuota}\right)}{(V_{Valorante})(Meq_{patron\ primario})}$$

$$\text{Molaridad de EDTA} = (0.0503 \text{ g}) / (10 \text{ mL} \times 100/1000)$$

$$\text{Molaridad de EDTA} = 0.050$$

1. Volumen gastado= 10.0 mL ; 0.050 M
2. Volumen gastado= 10.2 mL ; 0.049 M
3. Volumen gastado= 10.2 mL ; 0.049 M

$$\text{Molaridad promedio de EDTA} = 0.049$$

Equivalentes de Carbonato de Calcio por cada 1mL de solución valorante

$$g(\text{patrón primario}) = (\text{volumen valorante})(\text{Miliequivalentes CaCO}_3)(\text{Molaridad})$$

$$g(\text{patrón primario}) = (1 \text{ mL})(100/1000)(0.049)$$

$$g(\text{patrón primario}) = 0.049 \text{ g} = 4.9 \text{ mg de CaCO}_3$$

Cada 1mL de solución valorante de EDTA 0.05M gastado equivale a 4.9mg de Carbonato de Calcio.

Estandarización de Solución Valorante de Permanganato de Potasio 0.1N con Oxalato de Sodio

Peso de Oxalato de Sodio en alícuota utilizada:

$$\begin{array}{r} 0.6782 \text{ g de Oxalato de Sodio} \text{ -----} 100.0 \text{ Volumen total STD} \\ X \text{ (g de Oxalato de Sodio en alícuota)} \text{ -----} 10.0 \text{ mL(alícuota)} \end{array}$$

X= 0.0678g de Oxalato de Sodio/ alícuota

$$N. KMnO_4 = \frac{\left(\frac{g_{Patron\ primario}}{Alicuota} \right)}{(V_{valorante})(Meq_{patron\ primario})}$$

Normalidad de Permanganato de Potasio= (0.0678 g)/ (10.1mL x 134/2000)

N KMnO₄= .0.1002

4. Volumen gastado= 10.1 mL ; 0.1002 N
5. Volumen gastado= 10.1 mL ;0.1002 N
6. Volumen gastado= 10.0 mL ;0.1012 N

Normalidad promedio de Permanganato de Potasio=0.1005

ANEXO N°7
CALCULOS EXPERIMENTALES DE METODO COMPLEJOMETRICO Y
METODO DE OXIDO REDUCCION

Tabla N°10. Resultados obtenidos mediante la aplicación del método Complejométrico en yogur líquido presentación para Adulto y presentación para niño.

ANALISIS	YOGUR LIQUIDO PRESENTACION ADULTO 200mL						YOGUR LIQUIDO PRESENTACION NIÑO 100mL					
	ANALISTA 1			ANALISTA 2			ANALISTA 1			ANALISTA 2		
	mL	mg calcio	%	mL	mg calcio	%	mL	mg calcio	%	mL	mg calcio	%
1	4.90	192.08	101.09	5.10	199.92	105.22	4.60	90.16	100.18	4.60	90.16	100.18
2	4.80	188.16	99.03	4.90	192.08	101.09	4.60	90.16	100.18	4.70	92.12	102.36
3	5.00	193.00	103.16	4.90	192.08	101.09	4.70	92.12	102.36	4.50	88.20	98.00
4	4.90	192.08	101.09	5.00	193.00	103.16	4.50	88.20	98.00	4.50	88.20	98.00
5	4.90	192.08	101.09	4.90	192.08	101.09	4.70	92.12	102.36	4.70	92.12	102.36
6	4.80	188.16	99.03	4.90	192.08	101.09	4.60	90.16	100.18	4.60	90.16	100.18
1.1	5.00	193.00	103.16	4.90	192.08	101.09	4.60	90.16	100.18	4.70	92.12	102.36
2.1	4.90	192.08	101.09	5.00	193.00	103.16	4.70	92.12	102.36	4.50	88.20	98.00
3.1	4.70	192.12	102.36	4.70	192.12	102.36	4.60	90.16	100.18	4.60	90.16	100.18
4.1	4.70	192.12	102.36	4.70	192.12	102.36	4.60	90.16	100.18	4.60	90.16	100.18
5.1	4.80	188.16	99.03	5.00	193.00	103.16	4.60	90.16	100.18	4.60	90.16	100.18
6.1	5.00	193.00	103.16	4.90	192.08	101.09	4.70	92.12	102.36	4.70	92.12	102.36
PROMEDIO	4.87	191.34	101.30	4.91	192.97	102.16	4.63	90.65	100.73	4.61	90.32	100.36
DES. EST.	0.11	1.95	1.60	0.12	2.23	1.33	0.06	1.22	1.36	0.08	1.55	1.73
CV	2.20	1.02	1.58	2.37	1.15	1.30	1.34	1.34	1.35	1.72	1.72	1.72

DES. EST=Desviación estándar; CV=Coficiente de Variación; mg=Miligramos de Calcio titulados; mL=Volumen en mL gastado de solución titulante para la valoración de la alícuota de la muestra; %R=Porcentaje sobre lo rotulado o porcentaje de recuperación

Tabla N°11. Resultados obtenidos mediante la aplicación del método Complejométrico en yogur semisolido presentación para Adulto y presentación para niño

ANALISIS	YOGUR SEMISOLIDO PRESENTACION ADULTO 100mL						YOGURT SEMISOLIDO PRESENTACION NIÑO 90mL					
	ANALISTA 1			ANALISTA 2			ANALISTA 1			ANALISTA 2		
	mL	mg calcio	%	mL	mg calcio	%	mL	mg calcio	%	mL	mg calcio	%
1	9.20	180.32	100.18	9.00	176.40	98.00	7.50	132.30	101.77	7.40	130.54	100.41
2	9.30	182.28	101.27	9.30	182.28	101.27	7.50	132.30	101.77	7.30	128.77	99.06
3	9.20	180.32	100.18	9.30	182.28	101.27	7.40	130.54	100.41	7.30	128.77	99.06
4	9.10	178.36	99.09	9.10	178.36	99.09	7.30	128.77	99.06	7.30	128.77	99.06
5	9.20	180.32	100.18	9.20	180.32	100.18	7.40	130.54	100.41	7.50	132.30	101.77
6	9.30	182.28	101.27	9.20	180.32	100.18	7.30	128.77	99.06	7.40	130.54	100.41
1.1	9.10	178.36	99.09	9.20	180.32	100.18	7.50	132.30	101.77	7.40	130.54	100.41
2.1	9.00	176.40	98.00	9.10	178.36	99.09	7.40	130.54	100.41	7.30	128.77	99.06
3.1	9.10	178.36	99.09	9.30	182.28	101.27	7.50	132.30	101.77	7.40	130.54	100.41
4.1	9.00	176.40	98.00	9.30	182.28	101.27	7.30	128.77	99.06	7.50	132.30	101.77
5.1	9.30	182.28	101.27	9.20	180.32	100.18	7.50	132.30	101.77	7.40	130.54	100.41
6.1	9.10	178.36	99.09	9.10	178.36	99.09	7.40	130.54	100.41	7.50	132.30	101.77
PROMEDIO	9.16	179.50	99.73	9.19	180.16	100.09	7.42	130.83	100.64	7.39	130.39	100.30
DES. EST.	0.11	2.12	1.18	0.10	1.95	1.09	0.08	1.47	1.13	0.08	1.40	1.07
CV	1.18	1.18	1.18	1.08	1.08	1.08	1.13	1.13	1.12	1.07	1.07	1.07

DES. EST=Desviación estándar; CV=Coficiente de Variación; mg=Miligramos de Calcio titulados; mL=Volumen en mL gastado de solución titulante para la valoración de la alícuota de la muestra; %R=Porcentaje sobre lo rotulado o porcentaje de recuperación

Ejemplo de Cálculos muestra 1 presentación yogur líquido para adultos:

Cantidad de mg de Carbonato de Calcio encontrados en alícuota valorada:

1mL EDTA 0.05M ----- 4.9 mg de CaCO₃ estandarizados

4.9 mL de EDTA gastados/ 10mL----- X

X= 24.01 mg de CaCO₃ / alícuota

Cantidad de CaCO₃ en mg en muestra total:

24.01 mg de CaCO₃ en alícuota----- 10 mL de Alícuota

X ----- 200 mL Volumen total de producto

X= 480.20mg de CaCO₃ en muestra total

Conversión de CaCO₃ a Calcio elemental (Ca²⁺)

100 g/ mol CaCO₃ ----- 40 g/ mol Ca

480.20mg de CaCO₃----- X

X= 192.08 mg de Calcio en muestra total

Porcentaje sobre lo rotulado:

190.00 mg de Calcio -----100%

192.08 mg de Calcio----- X

X= 101.09%

Tabla N°12. Resultados obtenidos mediante la aplicación del método de Oxido- Reducción en yogur liquido presentación para Adulto y presentación para Niño

ANALISIS	YOGUR LIQUIDO PRESENTACION ADULTO 200mL						YOGUR LIQUIDO PRESENTACION NIÑO 100mL					
	ANALISTA 1			ANALISTA 2			ANALISTA 1			ANALISTA 2		
	mL	mg	%	mL	mg	%	mL	mg	%	mL	mg	%
1	9.30	185.90	97.80	8.80	175.96	92.61	8.90	81.86	90.96	9.10	83.70	93.00
2	9.20	182.12	95.85	9.10	180.14	94.81	9.00	82.78	91.98	8.70	80.02	88.91
3	9.00	176.36	92.82	8.70	170.48	89.73	8.80	82.70	91.89	9.00	84.58	93.98
4	9.20	183.96	96.82	9.20	183.96	96.82	9.30	85.54	95.05	9.00	82.78	91.98
5	8.80	174.20	98.69	8.90	176.18	92.73	8.80	80.94	89.94	9.10	83.70	93.00
6	8.60	177.12	93.22	8.50	175.06	92.14	9.10	83.70	93.00	8.80	80.94	89.94
1.1	9.20	183.96	96.82	8.50	169.96	89.45	9.10	83.70	93.00	8.70	80.02	88.91
2.1	8.90	176.18	92.73	8.70	172.22	90.64	8.90	81.86	90.96	9.10	83.70	93.00
3.1	8.90	174.40	91.79	8.90	174.40	91.79	8.90	83.64	92.94	8.80	82.70	91.89
4.1	9.10	181.96	95.77	9.30	185.90	97.80	8.90	81.86	90.96	9.30	85.54	95.05
5.1	8.60	170.24	89.60	8.90	176.18	92.73	9.30	85.54	95.05	8.90	81.86	90.96
6.1	8.30	170.94	89.97	8.70	179.18	94.31	8.80	80.94	89.94	9.10	83.70	93.00
PROMEDIO	8.93	178.11	94.32	8.85	176.64	92.96	8.98	82.92	92.14	8.97	82.77	91.97
DES. EST.	0.30	5.31	3.04	0.25	4.94	2.59	0.18	1.56	1.73	0.19	1.75	1.95
CV	3.42	2.98	3.22	2.87	2.80	2.79	2.00	1.88	1.88	2.09	2.12	2.12

DES.EST=Desviación estándar; CV=Coficiente de Variación; mg=Miligramos de Calcio titulados; mL=Volumen en mL gastado de solución titulante para la valoración de la alícuota de la muestra; %R=Porcentaje sobre lo rotulado o porcentaje de recuperación

Tabla N°13. Resultados obtenidos mediante la aplicación del método de Oxido- Reducción en yogur semisólido presentación para Adulto y presentación para Niño

ANALISIS	YOGUR SEMISOLIDO PRESENTACION ADULTO 100mL						YOGURT SEMISOLIDO PRESENTACION NIÑO 90mL					
	ANALISTA 1			ANALISTA 2			ANALISTA 1			ANALISTA 2		
	mL	mg	%	mL	mg	%	mL	mg	%	mL	mg	%
1	9.00	163.77	90.98	9.20	167.40	93.00	8.80	117.90	90.69	8.70	116.56	89.66
2	8.80	165.49	91.89	8.90	167.28	92.94	8.90	117.46	90.35	9.10	120.09	92.38
3	9.10	163.77	90.98	9.20	167.40	93.00	9.00	113.38	87.21	9.10	114.64	88.18
4	9.10	165.59	91.99	9.10	165.59	91.99	8.70	116.56	89.66	8.80	117.90	90.69
5	9.00	167.36	92.98	8.70	161.79	89.88	8.70	118.30	91.00	8.50	115.58	88.90
6	9.00	163.77	90.98	8.80	158.37	87.98	9.30	119.02	91.55	9.40	120.29	92.53
1.1	9.10	165.59	91.99	9.40	169.22	94.01	8.80	117.90	90.69	8.90	119.23	91.71
2.1	8.80	165.49	91.89	9.00	169.16	93.98	9.00	118.77	91.37	9.00	118.77	91.37
3.1	9.40	169.22	94.01	9.20	167.40	93.00	9.10	114.64	88.18	9.00	113.38	87.21
4.1	9.10	165.59	91.99	9.00	163.77	90.98	8.70	116.56	89.66	8.90	119.23	91.71
5.1	9.10	169.22	94.01	8.80	163.65	90.91	8.60	116.94	89.95	8.60	116.94	89.95
6.1	9.00	163.77	90.98	9.00	163.77	90.98	9.40	120.29	92.53	9.50	121.57	93.52
PROMEDIO	9.04	165.72	92.06	9.03	165.40	91.89	8.92	117.31	90.24	8.96	117.85	90.65
DES. EST.	0.16	1.97	1.10	0.21	3.24	1.80	0.25	1.89	1.46	0.30	2.48	1.91
CV	1.73	1.19	1.19	2.27	1.96	1.96	2.82	1.61	1.62	3.31	2.10	2.10

DES.EST=Desviación estándar; CV=Coefficiente de Variación; mg=Miligramos de Calcio titulados; mL=Volumen en mL gastado de solución titulante para la valoración de la alícuota de la muestra; %R=Porcentaje sobre lo rotulado o porcentaje de recuperación

Gramos de Oxalato de Calcio en alícuota valorada con permanganato de potasio 0.1N

$$g(Mx) = (0.1N) * (9.30mL) * (0.064)$$

$$g(Mx) = 0.0595 \text{ g de Oxalato de Calcio}$$

Gramos de CaC₂O₄ en Precipitado Total:

$$0.0595g \text{ de CaC}_2\text{O}_4 \text{ en alícuota de 10 mL} \text{-----} 0.0638 \text{ g de precipitado de CaC}_2\text{O}_4 \text{ alícuota}$$

$$X \text{-----} 0.6378 \text{ g totales de precipitado de CaC}_2\text{O}_4 \text{ en presentación}$$

$$X = 0.5950 \text{ g de CaC}_2\text{O}_4 \text{ en la presentación total}$$

Conversión de Oxalato de Calcio CaC_2O_4 a Calcio elemental (Ca^{2+}):

129.0270 g/mol de CaC_2O_4 ----- 40.0000 g/ mol de Calcio

0.6378 g de CaC_2O_4 en la presentación total ----- X

X= 0.1859 g de Calcio en la presentación total = 185.90 mg de Calcio

Porcentaje sobre lo rotulado:

190.00 mg de Calcio -----100%

185.90 mg de Calcio----- X

X= 97.80%

Tabla N°14. Volúmenes agregados de agua para realizar una solución 0.1N de Oxalato de Calcio con el precipitado obtenido y los gramos de precipitado presente en una alícuota de 10 mL valorada.

Volumen agregado (mL)				Precipitado (g)/ 10 mL			
P1	P2	P3	P4	P1	P2	P3	P4
100	46	91	67	0.0638	0.0630	0.0640	0.0640
99	46	94	66	0.0640	0.0636	0.0644	0.0641
98	47	91	63	0.0640	0.0644	0.0640	0.0643
100	46	88	67	0.0644	0.0639	0.0640	0.0642
99	46	93	68	0.0639	0.0642	0.0642	0.0637
103	46	90	64	0.0640	0.0643	0.0639	0.0642

Donde:

P1: Yogur líquido adulto de 200 mL.

P2: Yogur líquido niño de 100 mL.

P3: Yogur semisólido adulto de 100 mL.

P4: Yogur semisólido niño de 90 mL.

Tabla N°15. Pesos de precipitado en gramos de Oxalato de Calcio obtenido en el proceso de aplicación del método de Oxido Reducción para las presentaciones de yogur líquido para Adulto y Niño

ANALISIS	YOGUR LIQUIDO PRESENTACION ADULTO 200mL			YOGUR LIQUIDO PRESENTACION NIÑO 100mL			
	NUMERO	PESO DE PAPEL (g)	PAPEL+MX(g)	MX (g)	PESO DE PAPEL (g)	PAPEL+MX (g)	MX (g)
	1	0.9257	1.5635	0.6378	0.9252	1.2152	0.2900
	2	0.9133	1.5467	0.6334	0.9163	1.2089	0.2926
	3	0.9205	1.5478	0.6273	0.9078	1.2104	0.3026
	4	0.9219	1.5654	0.6435	0.9154	1.2095	0.2941
	5	0.9139	1.5467	0.6328	0.9301	1.2254	0.2953
	6	0.9084	1.5678	0.6594	0.9251	1.2207	0.2956
PROMEDIO		0.9173	1.5563	0.6390	0.9200	1.2198	0.2950

MX=Muestra

Tabla N°16. Pesos de precipitado en gramos de Oxalato de Calcio obtenido en el proceso de aplicación del método de Oxido Reducción para las presentaciones de yogur semisólido para Adulto y Niño

ANALISIS	YOGUR SEMISOLIDO PRESENTACION ADULTO 100mL			YOGURT SEMISOLIDO PRESENTACION NIÑO 90mL			
	NUMERO	PESO DE PAPEL (g)	PAPEL+MX (g)	MX (g)	PESO DE PAPEL (g)	PAPEL+MX (g)	MX (g)
	1	0.9163	1.4978	0.5815	0.9234	1.3500	0.4266
	2	0.9052	1.5102	0.605	0.9067	1.3298	0.4231
	3	0.9118	1.4943	0.5825	0.9129	1.3179	0.4050
	4	0.9253	1.4887	0.5634	0.9834	1.4136	0.4302
	5	0.9007	1.4980	0.5973	0.9345	1.3678	0.4333
	6	0.9352	1.5107	0.5755	0.9256	1.3367	0.4111
PROMEDIO		0.9158	1.4398	0.5842	0.9311	1.3526	0.4216

MX=Muestra

Tabla N°17. Resultados obtenidos mediante la evaluación de la exactitud y precisión utilizando el método complejométrico en yogur líquido para adulto.

PRESENTACION	YOGUR LIQUIDO ADULTO PRESENTACION 212g/200mL 190 mg Calcio								
	100%			110%			120%		
ANALISIS	V	mg	%	V	mg	%	V	mg	%
1	5.00	193.00	103.16	5.50	215.60	118.95	6.00	235.20	111.05
2	4.90	192.08	101.09	5.30	213.80	114.32	5.90	231.28	103.16
3	4.70	192.12	102.36	5.50	215.60	123.58	5.80	227.36	92.74
PROMEDIO	4.87	192.40	102.20	5.43	215.00	118.95	5.90	231.28	102.32
DES	0.15	0.52	1.04	0.12	1.04	4.63	0.10	3.92	8.95
C.V.	3.14	0.27	1.02	2.13	0.48	3.89	1.69	1.69	8.74

%R=Porcentaje sobre lo rotulado (para el nivel de 100%) o porcentaje de recuperación (para el nivel de 110% y 120%); DES.EST=Desviación estándar; CV=Coficiente de Variación

Tabla N°18. Resultados obtenidos mediante la evaluación de la exactitud y precisión utilizando el método complejométrico en yogur líquido para Niño.

PRESENTACION	YOGUR LIQUIDO NIÑO PRESENTACION 105g/100mL 90 mg Calcio								
	100%			110%			120%		
ANALISIS	V	mg	%	V	mg	%	V	mg	%
1	4.70	92.12	102.36	5.10	100.00	87.56	5.50	107.80	87.11
2	4.60	90.16	100.18	5.10	100.00	109.33	5.60	109.76	108.89
3	4.60	90.16	100.18	5.00	98.00	87.11	5.60	109.76	108.89
PROMEDIO	4.63	90.81	100.91	5.07	99.33	94.67	5.57	109.11	101.63
DES	0.06	1.13	1.26	0.06	1.15	12.70	0.06	1.13	12.57
C.V.	1.25	1.25	1.25	1.14	1.16	13.42	1.04	1.04	12.37

%R=Porcentaje sobre lo rotulado (para el nivel de 100%) o porcentaje de recuperación (para el nivel de 110% y 120%); DES.EST=Desviación estándar; CV=Coficiente de Variación

Tabla N°19. Resultados obtenidos mediante la evaluación de la exactitud y precisión utilizando el método Complejometrico en yogur semisólido para adulto.

PRESENTACION	YOGUR SEMISOLIDO ADULTO PRESENTACION 125g/100mL 180mg Calcio								
	100%			110%			120%		
NIVEL	100%			110%			120%		
ANALISIS	V	mg	%	V	mg	%	V	mg	%
1	9.20	180.32	100.18	10.10	197.96	98.00	11.00	215.60	98.00
2	9.10	180.32	99.09	10.30	198.06	98.56	11.10	217.56	103.44
3	9.20	180.32	100.18	10.20	199.92	108.89	11.00	215.60	98.00
PROMEDIO	9.17	180.32	99.82	10.20	198.65	101.81	11.03	216.25	99.81
DES	0.06	0.00	0.63	0.10	1.10	6.13	0.06	1.13	3.14
C.V.	0.63	0.00	0.63	0.98	0.56	6.02	0.52	0.52	3.15

%R=Porcentaje sobre lo rotulado (para el nivel de 100%) o porcentaje de recuperación (para el nivel de 110% y 120%); DES.EST=Desviación estándar; CV=Coeficiente de Variación

Tabla N°20. Resultados obtenidos mediante la evaluación de la exactitud y precisión utilizando el método Complejometrico en yogur semisólido para Niño.

PRESENTACION	YOGURT SEMISOLIDO NIÑO PRESENTACION 100g/90mL 130mg Calcio								
	100%			110%			120%		
NIVEL	100%			110%			120%		
ANALISIS	V	mg	%	V	mg	%	V	mg	%
1	7.50	132.30	101.77	8.20	144.65	95.00	9.00	158.76	101.77
2	7.40	130.54	100.41	8.00	141.12	81.38	8.80	155.23	94.96
3	7.30	128.77	99.06	8.10	142.88	108.54	8.70	153.47	95.00
PROMEDIO	7.40	130.54	100.41	8.10	142.88	94.97	8.83	155.82	97.24
DES	0.10	1.77	1.36	0.10	1.77	13.58	0.15	2.69	3.92
C.V.	1.35	1.35	1.35	1.23	1.24	14.30	1.73	1.73	4.03

%R=Porcentaje sobre lo rotulado (para el nivel de 100%) o porcentaje de recuperación (para el nivel de 110% y 120%); DES.EST=Desviación estándar; CV=Coeficiente de Variación

Tabla N°21. Resultados obtenidos mediante la evaluación de la exactitud y precisión utilizando el método de Oxido-Reducción en yogur líquido para adulto.

PRESENTACION	YOGUR LIQUIDO ADULTO PRESENTACION 212g/200mL 190 mg Calcio								
	100%			110%			120%		
NIVEL	V	mg	%	V	mg	%	V	mg	%
ANALISIS									
1	8.80	175.96	92.61	9.00	183.56	40.00	9.80	203.80	73.26
2	8.70	173.96	91.55	9.20	187.64	72.00	9.70	201.72	73.05
3	8.70	173.96	91.55	9.10	185.60	61.26	9.90	205.88	84.00
PROMEDIO	8.73	174.63	91.90	9.10	185.60	57.75	9.80	203.80	76.77
DES	0.06	1.15	0.61	0.10	2.04	16.29	0.10	2.08	6.26
C.V.	0.66	0.66	0.67	1.10	1.10	28.20	1.02	1.02	8.15

%R=Porcentaje sobre lo rotulado (para el nivel de 100%) o porcentaje de recuperación (para el nivel de 110% y 120%); DES.EST=Desviación estándar; CV=Coficiente de Variación

Tabla N°22. Resultados obtenidos mediante la evaluación de la exactitud y precisión utilizando el método de Oxido-Reducción en yogur líquido para Niño.

PRESENTACION	YOGUR LIQUIDO NIÑO PRESENTACION 105g/100mL 90 mg Calcio								
	100%			110%			120%		
NIVEL	V	mg	%	V	mg	%	V	mg	%
ANALISIS									
1	9.00	80.98	89.98	9.70	91.16	113.11	9.80	97.97	94.39
2	9.20	82.78	91.98	9.80	92.10	103.56	10.00	99.98	95.56
3	9.20	82.78	91.98	9.70	91.16	93.11	9.90	98.98	90.00
PROMEDIO	9.10	81.88	90.98	9.73	91.47	103.26	9.90	98.98	93.31
DES	0.12	1.04	1.15	0.06	0.54	10.00	0.10	1.01	2.93
C.V.	1.27	1.27	1.27	0.59	0.59	9.69	1.01	1.02	3.14

%R=Porcentaje sobre lo rotulado (para el nivel de 100%) o porcentaje de recuperación (para el nivel de 110% y 120%); DES.EST=Desviación estándar; CV=Coficiente de Variación

Tabla N°23. Resultados obtenidos mediante la evaluación de la exactitud y precisión utilizando el método Oxido-Reducción en yogur semisólido para adulto.

PRESENTACION	YOGUR SEMISOLIDO ADULTO PRESENTACION 125g/100mL 180mg Calcio								
	100%			110%			120%		
NIVEL									
ANALISIS	V	mg	%	V	mg	%	V	mg	%
1	8.90	161.95	89.97	9.30	180.38	102.39	10.30	199.78	105.08
2	9.10	165.59	91.99	9.50	184.26	103.72	10.10	195.90	84.19
3	9.00	163.77	90.98	9.40	182.32	103.06	10.10	195.90	89.25
PROMEDIO	9.00	163.77	90.98	9.40	182.32	103.06	10.17	197.19	92.84
DES	0.10	1.82	1.01	0.10	1.94	0.67	0.12	2.24	10.90
C.V.	1.11	1.11	1.11	1.06	1.06	0.65	1.14	1.14	11.74

%R=Porcentaje sobre lo rotulado (para el nivel de 100%) o porcentaje de recuperación (para el nivel de 110% y 120%); DES.EST=Desviación estándar; CV=Coficiente de Variación

Tabla N°24. Resultados obtenidos mediante la evaluación de la exactitud y precisión utilizando el método Oxido-Reducción en yogur semisólido para Niño.

PRESENTACION	YOGURT SEMISOLIDO NIÑO PRESENTACION 100g/90mL 130mg Calcio								
	100%			110%			120%		
NIVEL									
ANALISIS	V	mg	%	V	mg	%	V	mg	%
1	9.00	120.57	92.75	10.00	131.97	87.69	11.30	142.35	83.77
2	8.80	117.90	90.69	10.00	131.97	108.23	11.50	144.85	103.65
3	8.80	117.90	90.69	10.00	131.97	108.23	11.40	143.61	98.88
PROMEDIO	8.87	118.79	91.38	10.00	131.97	101.38	11.40	143.60	95.44
DES	0.12	1.54	1.19	0.00	0.00	11.86	0.10	1.25	10.38
C.V.	1.30	1.30	1.30	0.00	0.00	11.70	0.88	0.87	10.88

%R=Porcentaje sobre lo rotulado (para el nivel de 100%) o porcentaje de recuperación (para el nivel de 110% y 120%); DES.EST=Desviación estándar; CV=Coficiente de Variación

Tabla N°25. Cantidad en miligramos de estándar de calcio agregado por cada nivel de concentración evaluado en la exactitud y precisión

NIVEL	PRESENTACION 1	PRESENTACION 2	PRESENTACION 3	PRESENTACION 4
100%	0.00	0.00	0.00	0.00
110%	19.00	9.00	18.00	13.00
120%	38.00	18.00	36.00	26.00

Donde:

Presentación 1: Yogur líquido adulto de 200 mL.

Presentación 2: Yogur líquido niño de 100 mL.

Presentación 3: Yogur semisólido adulto de 100 mL.

Presentación 4: Yogur semisólido niño de 90 mL.

Tabla N°26. Pesos obtenidos de precipitados en gramos de Oxalato de Calcio para yogur líquido en presentación para Adulto y Niño, para evaluar la exactitud y precisión en los diferentes niveles de concentración evaluados

ANALISIS	YOGUR LIQUIDO PRESENTACION ADULTO 200mL			YOGUR LIQUIDO PRESENTACION NIÑO 100mL		
	PESO DE PAPEL (g)	PAPEL +MX (g)	MX (g)	PESO DE PAPEL (g)	PAPEL+MX (g)	MX (g)
100%	0.9257	1.5635	0.6378	0.9252	1.2152	0.2900
110%	0.9156	1.5657	0.6501	0.9254	1.227	0.3016
120%	0.9235	1.5888	0.6653	0.9103	1.2309	0.3206

MX=Muestra

Tabla N°27. Pesos obtenidos de precipitados en gramos de Oxalato de Calcio para yogur semisólido en presentación para Adulto y Niño, para evaluar la exactitud y precisión en los diferentes niveles de concentración evaluados

ANALISIS	YOGUR SEMISOLIDO PRESENTACION ADULTO 100 mL			YOGURT SEMISOLIDO PRESENTACION NIÑO 90 mL		
	PESO DE PAPEL (g)	PAPEL+MX (g)	MX (g)	PESO DE PAPEL (g)	PAPEL+MX (g)	MX (g)
100%	0.9163	1.4978	0.5815	0.9234	1.3500	0.4266
110%	0.9207	1.5437	0.6230	0.9067	1.3298	0.4231
120%	0.9176	1.5361	0.6185	0.9129	1.3179	0.4050

MX=Muestra

Tabla N°28. Exactitud y precisión: Volúmenes agregados de agua para realizar una solución 0.1N de Oxalato de Calcio con el precipitado obtenido y los gramos de precipitado presente en una alícuota de 10 mL valorada.

volumen agregado (mL)				Precipitado (g)/ 10 mL			
Presentación 1	Presentación 2	Presentación 3	Presentación 4	Presentación 1	Presentación 2	Presentación 3	Presentación 4
100	45	91	67	0.0638	0.0644	0.0639	0.0637
102	47	97	66	0.0637	0.0642	0.0642	0.0641
104	50	97	63	0.0640	0.0641	0.0638	0.0643

Donde:

Presentación 1: Yogur líquido adulto de 200 mL.

Presentación 2: Yogur líquido niño de 100 mL.

Presentación 3: Yogur semisólido adulto de 100 mL.

Presentación 4: Yogur semisólido niño de 9