



SECRETARIA DE COMERCIO

Y

FOMENTO INDUSTRIAL

NORMA MEXICANA

NMX-F-364-1983

**ALIMENTOS - MARGARINA - VITAMINA A - METODO DE
PRUEBA**

FOODS - MARGARINES - A VITAMIN - METHOD OF TEST

DIRECCION GENERAL DE NORMAS

PREFACIO

En la elaboración de esta norma participaron los siguientes Organismos:

ANDERSON CLAYTON & CO., S. A.

KRAFT FOODS DE MEXICO, S. A

CARRANCEDO ALIMENTOS, S. A.

ASOCIACION NACIONAL DE FABRICANTES DE MARGARINA, A.C.

SUBSECRETARIA DE SALUBRIDAD. DIRECCION GENERAL DE
LABORATORIOS EN SALUD PUBLICA.

ALIMENTOS - MARGARINA - VITAMINA A - METODO DE PRUEBA

FOODS - MARGARINES - A VITAMIN - METHOD OF TEST

1 OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACION

La presente Norma Mexicana establece el método de prueba espectro fotométrico para la determinación de vitamina A en margarina.

2 FUNDAMENTO

El presente método se basa en la separación de la materia insaponificable de la margarina, la cual se transfiere a una columna de alúmina debidamente preparada, para así, realizar la separación de la vitamina A y cuantificarla por último a partir de la curva de calibración

3 REACTIVOS Y MATERIALES

3.1 Reactivos

Los reactivos que a continuación se indican deben ser grado analítico. Cuando se mencione agua debe entenderse agua destilada.

a) Etanol absoluto

b) Isopropanol (alcohol isorropílico)

c) Solución de hidróxido de potasio.- 50 % m/m (780 g/l)

d) Hidroquinona extrapura

e) Eter dietílico

f) Eter de petróleo: Bencina de petróleo, con punto de ebullición alrededor de 313 K (40°C).

g) Columna de alúmina: 50 g de óxido de aluminio especial para análisis cromatográfico (Brockman), se calcinan en un horno eléctrico, durante 4 horas a 873 K (600° C) aproximadamente. El adsorbente se deja enfriar en un desecador agitándose vigorosamente a continuación con 5 cm³ de agua en un frasco bien tapado. No puede ser empleado para cromatografía hasta después de transcurridas, como mínimo veinticuatro horas, debiendo agitarse de nuevo fuertemente. Se llena con éter de petróleo un tubo para cromatografía en columna de 12 mm de diámetro interno; adicionarle la alúmina hasta obtener una columna de unos 10 cm de altura, una vez que las partículas han sedimentado bien.

h) Cloroformo (contenido alrededor de 1 por ciento de etanol).

i) Solución de tricloruro de antimonio: Se mezclan 500 cm³ de cloroformo con 3 ó 4 porciones de 200 cm³ de agua en un embudo de separación y se guarda con carbonato de potasio en un frasco bien tapado toda una noche. El cloroformo se decanta cuidadosamente del carbonato de potasio.

La primera fracción se descarta. Se determina la masa rápidamente de 30 g de tricloruro de antimonio en terrones tan abultados como sea posible, pasarlos a un mortero y cubrirlos con 20 cm³ de cloroformo destilado, fresco. Se agita rápidamente el mortero dándole vueltas a los terrones en todos los lados, lavándolos en el licor tan completamente como sea posible. Cualquier resto de cloroformo evaporarlo. Los terrones burdos desintegrarlos inmediatamente y determinar la masa de 21 a 23 g en una balanza. Se transfiere sodio a un matraz volumétrico de 100 cm³ completamente seco y disolverlo con cloroformo destilado fresco, como se describió anteriormente y se afora a 100 cm³ con este solvente. La solución final se guarda sobre sulfato de sodio anhidro en un desecador. La concentración de tricloruro de antimonio puede ser revisada con una titulación con yoduro.

3.2 Materiales

- a) Matraz de vidrio color topacio y cuello largo.
- b) Embudo de separación de 500 cm³.
- c) Columna refrigerante.
- d) Material común de laboratorio, no especificado de otra manera.

4 APARATOS E INSTRUMENTOS

- a) Balanza analítica con una precisión de ± 0.01 g
- b) Espectrofotómetro.
- c) Lámpara de rayo ultravioleta.
- d) Evaporador rotatorio.

5 PROCEDIMIENTO

5.1 Determinar la masa de 10 g de margarina en un matraz de vidrio de color topacio y cuello largo.

5.2 Añadir 100 cm³ de etanol absoluto (0-100 cm³ de isopropanol), 100 mg de hidroquinona y 10 cm³ de la solución hidróxido de potasio.

5.3 Se pasa una corriente de nitrógeno sobre la solución, se ajusta la columna refrigerante y se calienta la mezcla a reflujo en un baño de agua durante 30 minutos.

5.4 Dejar enfriar la mezcla de la hidrólisis y transferirla a un embudo de separación de 500 cm³, enjuagándose con 100 cm³ de agua.

5.5 A continuación se extrae la vitamina A, agitando con tres porciones de 100 cm³ de una mezcla de éter dietílico y éter de petróleo a volúmenes iguales.

5.6 Los extractos orgánicos combinados se desecan con sulfato de sodio anhidro (bien lavado luego en éter) y se evaporan a 313 - 323 K (40 - 50°C) en un evaporador rotatorio.

5.6.1 Si todavía persiste una cantidad considerable de agua, se añaden 5 cm³ de etanol y 5 cm³ de benceno, eliminándose el agua por destilación azeotrópica.

5.7 Se recupera el residuo con algunos cm³ de éter de petróleo.

5.8 La solución etérea de la fracción insaponificable de margarina se transfiere cuantitativamente a la columna de alúmina debidamente preparada, se lava bien con éter de petróleo y se deja penetrar el líquido en la columna.

5.9 La columna se eluye primeramente con porciones de 1 cm³ y posteriormente con porciones de 5 - 10 cm³ de éter de petróleo.

5.10 Beta caroteno

5.10.1 Si la margarina ha sido suplementada con Beta caroteno junto con vitamina A, el eluato obtenido con éter de petróleo contendrá Beta caroteno y su coloración será amarillenta.

5.10.2 El caroteno se determina por evaporación de la solución y redisolución del residuo en 10 cm³ de benceno (véase A.1).

5.11 Elución de vitamina A.

5.11.1 La vitamina A forma una zona de fluorescencia amarillenta verdosa en el extremo superior de la columna, fácilmente visible a la luz ultravioleta (366 nm).

5.11.2 Cuando el Beta caroteno ha sido completamente eliminado de la columna y el éter de petróleo que emerge de la misma es incoloro, se lava la columna con éter de petróleo que contenga el 10 por ciento de éter dietílico.

5.11.3 La zona fluorescente de vitamina A se desplaza lentamente a lo largo de la columna, comprobándose su posición de vez en cuando mediante un breve examen de la columna con lámpara ultravioleta.

5.11.4 Se cambia el receptor cuando el borde inferior de la banda se halla todavía a 1 ó 2 cm del final de la columna y se continúa la elución hasta que ya no se detecta en la columna la fluorescencia característica de la vitamina A.

5.11.5 El eluato se evapora cuidadosamente y el residuo se recupera con la cantidad suficiente de cloroformo para proporcionar una solución que contenga de 10 a 15 U.I. de vitamina A por cm^3 .

5.11.6 En el caso de margarinas suplementadas con 10,000 - 20,000 U.I. de vitamina A por kilo deben emplearse 10 cm^3 de cloroformo para disolver el residuo.

6 EXPRESION DE RESULTADOS

6.1 El contenido de vitamina A se determina a partir de la curva de calibración.

6.2 Curva de calibración

6.2.1 A 50 mg de acetato de vitamina A cristalizada se le agrega cloroformo hasta completar 50 cm^3 . 1 cm^3 de esta solución se diluye con cloroformo a 100 cm^3 .

6.2.2 Colocar en celdas de 1 cm de paso de luz los siguientes volúmenes de la solución más diluída.

0.60 cm^3 = 6 ug acetato de vitamina A = 17.44 U.I. de vitamina A

0.50 cm^3 = 5 ug acetato de vitamina A = 14.54 U.I. de vitamina

A 0.40 cm^3 = 4 ug acetato de vitamina A = 11.63 U.I. de vitamina A

0.30 cm^3 = 3 ug acetato de vitamina A = 8.72 U.I. de vitamina A

0.20 cm^3 = 2 ug acetato de vitamina A = 5.81 U.I. de vitamina A

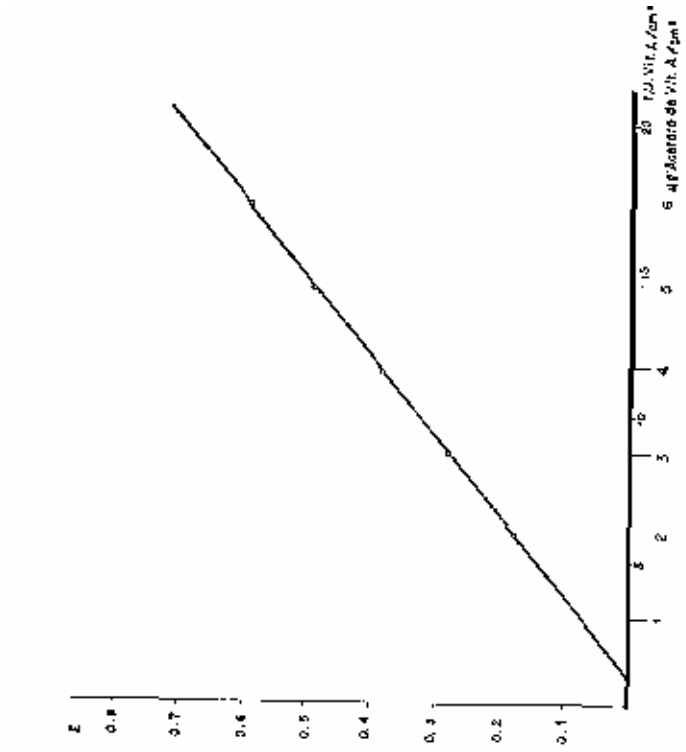
Y cada una se completa a 1.0 cm^3 con cloroformo. Se les agrega a cada una 3 cm^3 de dicloruro de antimonio con una pipeta de salida ancha. (véase A.2).

6.2.3 La extinción a 620 nm es medida inmediatamente de nuevo a celda vacía, en un espectrofotómetro con el filtro adecuado.

6.2.4 Los valores de extinción se trazan contra cantidad de acetato de vitamina A tomada en ug o un submultiplo conveniente o bien la correspondiente cantidad de vitamina A expresada en unidades internacionales.

6.2.5 La calibración de la curva tiene que ser revisada cuando se quiera analizar un nuevo lote de reactivos. Si los reactivos se usaron raramente en largos intervalos, se aconseja revisar la curva (fig 1) con una solución calibrada en cada una de las ocasiones.

FIGURA 1 CURVA DE CALIBRACION PARA EL ANALISIS DE VITAMINA "A" CON TRICLORURO DE ANTIMONIO POR EL METODO DE CARR Y PRICE.



7 REPRODUCIBILIDAD

La diferencia entre el valor obtenido por un analista y el promedio de una serie de determinaciones efectuadas a una misma muestra por diferentes analistas en diferentes laboratorios, no debe ser mayor de 2.5 %.

APENDICE A

A.1 La extinción específica E 1%/1 cm de B-caroteno puro de benceno es 2290 a 464 - 465 nm, en ciclohexano 2440 a 454-455 nm y en luz de petróleo (CF. A.M.- bencina normal) cerca de 2500 a 451 nm.

A.2 Esta parte de la determinación se lleva mejor a cabo por dos personas una que vierta rápidamente con las pipetas los 3 cm³ de solución de tricloruro de antimonio dentro de la celda, mientras la otra mide la extinción. Como el color empieza a decaer inmediatamente, la lectura tendrá que ser hecha dentro de segundos a los máximo.

8 BIBLIOGRAFIA

NMX-F-234-1972 Método de prueba para la determinación de vitamina A en leches. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 13 de abril de 1972.

Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, A.O.A.C. 12 th. edition, 1975. Parts. 43.001 - 43.001 - 43.008 p.p. 816 - 818.

STROHECKER, Henning, 1963. Análisis de Vitamina. Paz Montalvo. Madrid España.

Naucalpan de Juárez, Edo. de México., Junio 3, 1983

EL DIRECTOR GENERAL DE NORMAS



LIC. HECTOR VICENTE BAYARDO MORENO.