

ANÁLISIS DE NIVELES DE CONCENTRACIÓN DE VITAMINA C EN MIELES DE LA PROVINCIA DEL CHACO

Tauguinas, Alicia L; Avallone, Carmen M Hoyos, Silvia; Cravsov, Alicia L;

Facultad de Agroindustrias. UNNE.

Cte. Fernández 755. (3700) Pcia. Roque Sáenz Peña. Chaco. Argentina. Tel/ Fax: 03732- 420137.

E-mail: atauguinas@fai.unne.edu.ar.

ANTECEDENTES

La miel es considerada como un alimento natural, energético y nutritivo, fácilmente digerible y con extraordinarias propiedades terapéuticas. En pruebas realizadas en la Universidad de Wisconsin se demostró que distintas muestras de miel de diferentes regiones contenían una amplia gama de vitaminas del grupo B y de vitamina C. Otros estudios encontraron que la vitamina C (ácido ascórbico) contenida en la miel fluctuaba según la región donde haya sido recolectada. Las mieles de color más oscuro contienen más vitaminas que las más claras, así como también son portadoras de más minerales como calcio, magnesio y potasio.

La propiedad química más importante del ácido ascórbico es su oxidación, por la transferencia de uno o dos electrones; debido a esto ayuda a prevenir la oxidación de las moléculas solubles en agua. También, indirectamente, protege a las vitaminas A y E de la oxidación, así como a algunas vitaminas del grupo B; tales como la riboflavina, tiamina, ácido fólico, y ácido pantoténico. Actúa como un desintoxicante y puede reducir los efectos colaterales de drogas como la cortisona, aspirina e insulina y puede reducir la toxicidad de metales pesados como el plomo, mercurio y arsénico.

Gracias a su poder reductor, el ácido ascórbico se puede determinar por valoración con soluciones oxidantes, sin embargo en la miel, como es un producto natural portador de vitaminas, el análisis químico cuantitativo, se dificulta enormemente por la diversidad y la cantidad de otras sustancias que contiene. Por lo que el método de la adición estándar es especialmente útil para analizar muestras complejas donde las probabilidades que se produzcan efectos por la matriz es considerable.

La estabilidad de la vitamina C es otro inconveniente, porque es la más lábil de las vitaminas de los alimentos. La mayor pérdida se produce durante la recolección, el procesamiento y almacenamiento debido a la oxidación; la cual es acelerada por la luz, el oxígeno, el calor, el incremento del pH, la actividad de agua, la presencia de cobre y sales ferrosas y por las oxidasas, por lo que su extracción debe realizarse en medio ácido

Si bien en la literatura aparecen reportados varios métodos para la determinación de ácido ascórbico, recopilados en un trabajo anterior, el método recomendado por la AOAC es la titulación con el indicador redox 2,6 – diclorofenolindofenol, aunque dicha valoración se aplica preferentemente a los extractos vegetales.

En Argentina no hay trabajos publicados sobre contenido de Vitamina C en mieles, aunque según la Guía de Referencia del National Honey Board (USA), en su información nutricional declara un contenido promedio de 0.5 mg por 100 g de miel.

Teniendo en cuenta que el ácido ascórbico presente en la miel se encuentra en pequeñas cantidades y que el HPLC sería el método más apropiado para su cuantificación, dado su alto grado de complejidad desde el punto de vista práctico de ejecución, en la USP XXIII (1995) se propone un procedimiento que consiste en una valoración con Iodo. En este trabajo se presenta la metodología necesaria para la determinación cuantitativa de los niveles de vitamina C en mieles poliflorales de la región, mediante la utilización de volumetría de óxido reducción, con adición estándar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron muestras de mieles obtenidas a través de diferentes apicultores de la provincia del Chaco, trabajando sobre 18 de ellas (identificadas con números del 1 al 18).

La determinación de Vitamina C se realizó según la técnica volumétrica descrita en la USP XXIII, mediante titulación de óxido- reducción en medio ácido. Se utilizó como agente valorante una solución 0.1 N de Iodo, con el agregado hacia el final de la valoración de solución de almidón como indicador. Las valoraciones se efectuaron con material de vidrio calibrado en sus medidas de capacidad y equipo de agitación magnética.

Cada mililitro de solución 0.1 N de Iodo consumido durante la valoración equivale a 8,806 mg de $C_6H_8O_6$.

Entre los reactivos y soluciones utilizados se encuentran agua purificada, solución de Iodo 0.1 N, solución de almidón, solución de ácido sulfúrico 2 N, solución de tiosulfato de sodio 0.1 N y solución de dicromato de potasio 0.1 N.

Para la solución estándar de ácido ascórbico, se pesó con exactitud 400 mg de ácido ascórbico, se transfirió cuantitativamente a un matraz aforado de 100 ml, se añadió 25 ml de ácido sulfúrico 2 N y 50 ml de agua, se agitó hasta completar disolución y se llevó a volumen con el mismo solvente.

Se comprobó la linealidad de la técnica volumétrica, mediante la verificación del cumplimiento de la Ley de Beer en un rango de concentraciones de 0.08- 1.0 mg/ ml. Se realizaron tres réplicas de cada una y se determinó la recta de regresión lineal, así como los coeficientes r y r^2 .

Para realizar el procedimiento de adición estándar múltiple, se tomaron varias alícuotas de 5 ml de una muestra de miel. A cada una se le adicionaron 0.0, 5.0, 8.0, 10.0, 15.0, 20.0, ml de la disolución patrón que contiene $8 \cdot 10^{-2}$ mg/ml, se llevaron a un volumen fijo de 50 ml y se valoraron con solución de Iodo 0.1 N, dando las señales respectivas. Se realizaron tres réplicas de cada una y se determinó la recta de regresión lineal, y sus respectivos coeficientes r y r^2 .

Las determinaciones en las otras muestras de miel se realizaron por el método de adición estándar simple, utilizando solamente dos volúmenes de muestra y una única adición de patrón a una de las dos muestras, utilizando el volumen seleccionado de la recta anterior.

Los resultados obtenidos en la técnica aplicada fueron analizados por medio del software estadístico Statgraphics Plus 4.0.

DISCUSION DE LOS RESULTADOS

Al evaluar estadísticamente la linealidad del método volumétrico, se obtuvieron coeficientes de correlación $r = 0.99945$ y de determinación $r^2 = 99.89 \%$, así como el P-valor < 0.01 en el anova correspondiente, que demuestran que existe correlación lineal entre las variables concentraciones y las señales medidas para nuestra calibración, al 99 % de confianza. La figura 1 ilustra la curva de calibrado característica para vitamina C en el rango $8 \cdot 10^{-2} - 1$ mg/ml.

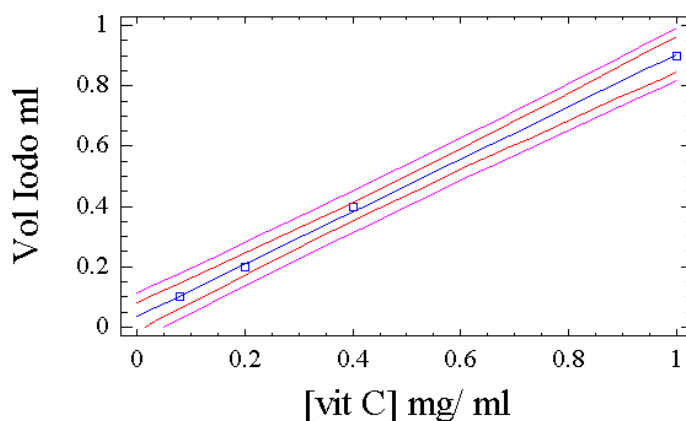


Figura 1

La figura 2 muestra la representación gráfica de la recta de calibrado en el método de adición estándar para la determinación de vitamina C en alícuotas de 5 ml, a las que se les adicionaron distintos volúmenes de una disolución estándar de concentración $8 \cdot 10^{-2}$ mg/ml y luego se diluyeron a un volumen fijo. De esta manera el efecto de las interferencias queda anulado, porque afecta de igual manera a todos los patrones.

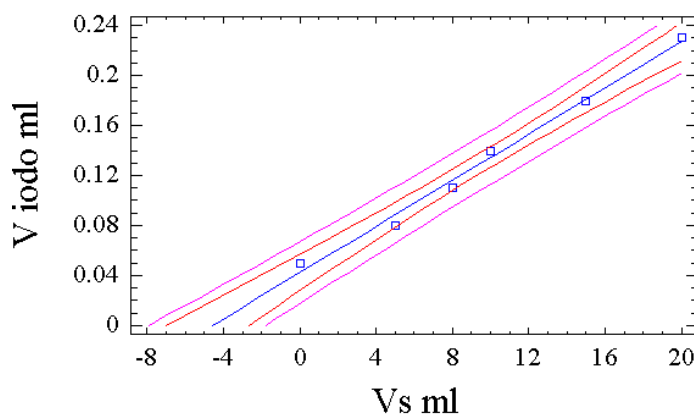


Figura 2

A partir de la recta de regresión se verificó un valor de coeficiente $r = 0.99525$ que explica el 99.052 % de los volúmenes seleccionados en el rango lineal de respuesta y un P-valor en el anova correspondiente < 0.01 demuestran que existe una correlación estadísticamente significativa entre las variables al 99 % de confianza.

La concentración de vitamina C en la solución diluida se determinó por extrapolación como se indica en la figura 2 y también a partir de la pendiente b y la intersección a de la recta de regresión.

Se tomaron 18 alícuotas de 5 ml a las que se le agregaron 8 ml de solución estándar 8.10^{-2} mg/ ml y se analizaron independientemente respetando el procedimiento desarrollado en este trabajo. El contenido de vitamina C en la muestra referidos a 100 g de miel, se calcularon con un factor de dilución de 200. Los resultados se muestran en la Tabla 1.

| Ensayo | Volumen Iodo (ml) | Concentración muestra diluida (mg/ ml) | Concentración muestra inicial (mg/ 100g) |
|--------|-------------------|--|--|
| 1 | 0.13 | 0.40 | 80 |
| 2 | 0.16 | 0.29 | 58 |
| 3 | 0.13 | 0.40 | 80 |
| 4 | 0.14 | 0.36 | 72 |
| 5 | 0.12 | 0.46 | 90 |
| 6 | 0.15 | 0.32 | 60 |
| 7 | 0.12 | 0.46 | 90 |
| 8 | 0.15 | 0.32 | 60 |
| 9 | 0.13 | 0.40 | 80 |
| 10 | 0.14 | 0.36 | 72 |
| 11 | 0.13 | 0.40 | 80 |
| 12 | 0.12 | 0.46 | 90 |
| 13 | 0.15 | 0.32 | 60 |
| 14 | 0.16 | 0.29 | 58 |
| 15 | 0.14 | 0.36 | 72 |
| 16 | 0.13 | 0.40 | 80 |
| 17 | 0.12 | 0.46 | 90 |
| 18 | 0.14 | 0.36 | 72 |

Tabla 1

Se realizó un informe estadístico descriptivo para los 18 valores de contenido de Vitamina C en muestras diluidas de miel, obteniéndose los datos que se muestran en la tabla 2.

| | |
|---------------------------|------------|
| Media | 0.378889 |
| Mediana | 0.38 |
| Moda | 0.4 |
| Varianza | 0.00330458 |
| Desviación Estándar | 0.0574854 |
| Mínimo | 0.29 |
| Máximo | 0.46 |
| Rango | 0.17 |
| Coefficiente de Variación | 15.1721 % |
| Cuartil bajo | 0.32 |
| Cuartil alto | 0.4 |
| Rango intercuartil | 0.08 |

Tabla 2

Al aplicar la estadística gaussiana a este conjunto de datos medidos, se observa una tendencia de los mismos a distribuirse normalmente.

En el diagrama de caja ilustrada en la figura 3 y utilizando una prueba no paramétrica como el rango intercuartil, se pueden apreciar los parámetros estadísticos mostrados en la tabla 2.

Diagrama de caja

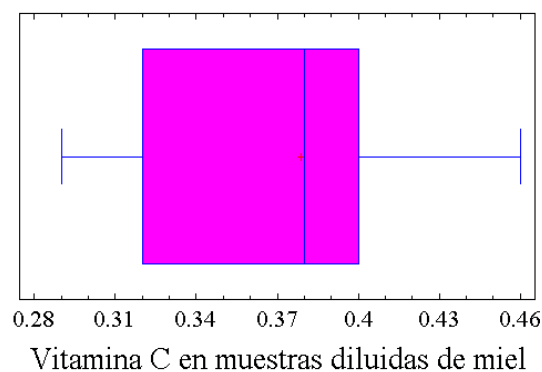


Figura 3

El rango muestra la variación del contenido de vitamina C, aunque no se observan valores discrepantes. Dicha variación probablemente esté asociada a la composición de las mieles, lo que presupone fuentes florales diferentes.

CONCLUSIONES

La técnica desarrollada permite estimar niveles concentración de vitamina C en mieles, en el rango de trabajo estudiado, siendo suficientemente confiable y simple. Permite su aplicación en un laboratorio de control de calidad de mieles y constituye un método alternativo válido en situaciones en que no se dispone de equipamiento de última generación. No obstante, los resultados deberían ser comparados con los obtenidos por un método instrumental, como HPLC.

BIBLIOGRAFÍA

- Association of Official Analytical Chemists. 1990. *Methods of Analysis*. Horwitz, W. 15a ed.
- Clarke, E.G *Isolation and Identification of Drugs*, 1975. Vol. 1 y 2. The Pharmaceutical Press. Londres.
- Gstirner, Federico. 1944. *Métodos Físicoquímicos para la Determinación de Vitaminas*. 3a ed. Barcelona. España.
- Maidana, J. 2000. *Control de Calidad de Miel*. CEDIA.
- Montgomery, Douglas, C. *Diseño y Análisis de Experimentos*. 1991. Grupo Editorial Iberoamérica. México; D.F.
- Skoog, Holler, Neiman. 2001. *Principios de Análisis Instrumental*. 5a ed. Ed. Mc Graw – Hill.
- Vivas, D; Hoyos, S; Ramírez, S; Aztarbe, M; Cravzov, A; Avallone, C; Montenegro, S; Grzynski, A; Baez, M. *Relevamiento de Técnicas Analíticas para la Investigación de Vitamina C en Mieles*. En Jornadas de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. UNNE 2003.
- United States Pharmacopeia 23 and National Formulary 18. 1995. Inc. Rockville: United States Pharmacopeial Convention. pp: 130.