

**Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP)
Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF)
Fundación para la Alimentación y la Nutrición de Centro América y
Panamá (FANCAP)
Proyecto Centroamericano de Fortificación de Alimentos con Ácido
Fólico y otros Micronutrientes como un Bien Público Regional**

**MANUAL PARA LA INSPECCIÓN DE
ALIMENTOS FORTIFICADOS EN PUNTOS DE
ENTRADA DE ALIMENTOS IMPORTADOS**

Segunda edición-2011

**TRADUCCIÓN Y ADAPTACIÓN PARA CENTRO AMÉRICA, PANAMÁ
Y REPÚBLICA DOMINICANA**

Se agradece al Banco Interamericano de Desarrollo BID por la aportación de los recursos de la cooperación técnica no reembolsable AT IV/OC 99 13 RG del BID, en apoyo al Proyecto Centroamericano de Fortificación de Alimentos con Acido Fólico y otros Micronutrientes como un Bien Público Regional.

**MANUAL PARA LA INSPECCIÓN DE ALIMENTOS
FORTIFICADOS EN PUNTOS DE ENTRADA DE ALIMENTOS
IMPORTADOS**

**TRADUCCIÓN Y ADAPTACIÓN PARA CENTRO AMÉRICA, PANAMÁ
Y REPÚBLICA DOMINICANA**

Segunda edición-2011

AGRADECIMIENTOS

La versión original en inglés de este manual fue elaborado para la Comunidad de Salud de los países del Este, Centro y Sur de África, ECSA (por sus siglas en inglés), por Mónica Guamuch – Consultora en fortificación de alimentos de Guatemala con experiencia en América Latina y el Caribe-; Phillip Makhumula –Consultor en fortificación de alimentos de Malawi con experiencia en África y Asia Central-; y el Dr. Omar Dary, especialista en Fortificación de Alimentos de A2Z/El Programa de Micronutrientes y Ceguera Infantil de USAID. La preparación del manual original contó con el apoyo técnico y financiero del proyecto A2Z/El Programa de Micronutrientes y Ceguera Infantil de la Agencia Internacional para el Desarrollo de los Estados Unidos de América (USAID), administrado por la Academia para el Desarrollo Educativo (AED), y el financiamiento de la misión de USAID para el Este de África.

La primera versión en español de este manual fue el producto del esfuerzo conjunto entre el Instituto de Nutrición de Centroamérica, Panamá y República Dominicana -INCAP/OPS/SICA y el Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia -UNICEF-Guatemala. Esta primera versión fue una traducción y adaptación de los manuales originales en inglés, a los que se les incorporaron las observaciones y comentarios recibidos de los países miembros, con el propósito de ajustarlos a las necesidades y condiciones en que funcionan los Programas de Fortificación de Alimentos en Centroamérica, Panamá y República Dominicana. Se agradece a la Comunidad de Salud de los países del Este, Centro y Sur de África –ECSA- por permitir que el material fuera utilizado para su revisión y adaptación en cada uno de los países miembros del INCAP.

Esta segunda edición es resultado de las actividades realizadas por el Proyecto Centroamericano de Fortificación de Alimentos con Acido Fólico y otros Micronutrientes como un Bien Público Regional (BID FANCAP ATN-OC-9913RG) con financiamiento del Banco Interamericano de Desarrollo, la que se ha revisado y actualizado.

REVISIÓN Y ADAPTACIÓN

Para esta segunda edición se realizaron talleres de socialización y validación en diferentes países de Centroamérica, organizados en forma conjunta entre el Ministerio/Secretaría de Salud de los mismos, el Proyecto Centroamericano de Fortificación de Alimentos con Acido Fólico y otros Micronutrientes como un Bien Público Regional (BID FANCAP ATN-OC-9913RG) y el Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá (INCAP/SICA/OPS) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS/OMS). En los talleres participaron funcionarios del Ministerio/Secretaría de Salud de los países, de otros Ministerios y entes del Estado involucrados en los Programas de Fortificación de Alimentos de los países, representantes de la industria de harina de trigo, azúcar y sal y otras agencias de cooperación involucradas en el tema.

Las recomendaciones obtenidas durante los talleres han sido incorporadas a estos manuales, los cuales serán utilizados como instrumento de referencia para el monitoreo de los Programas de Salud Pública de Fortificación de Alimentos en la región.

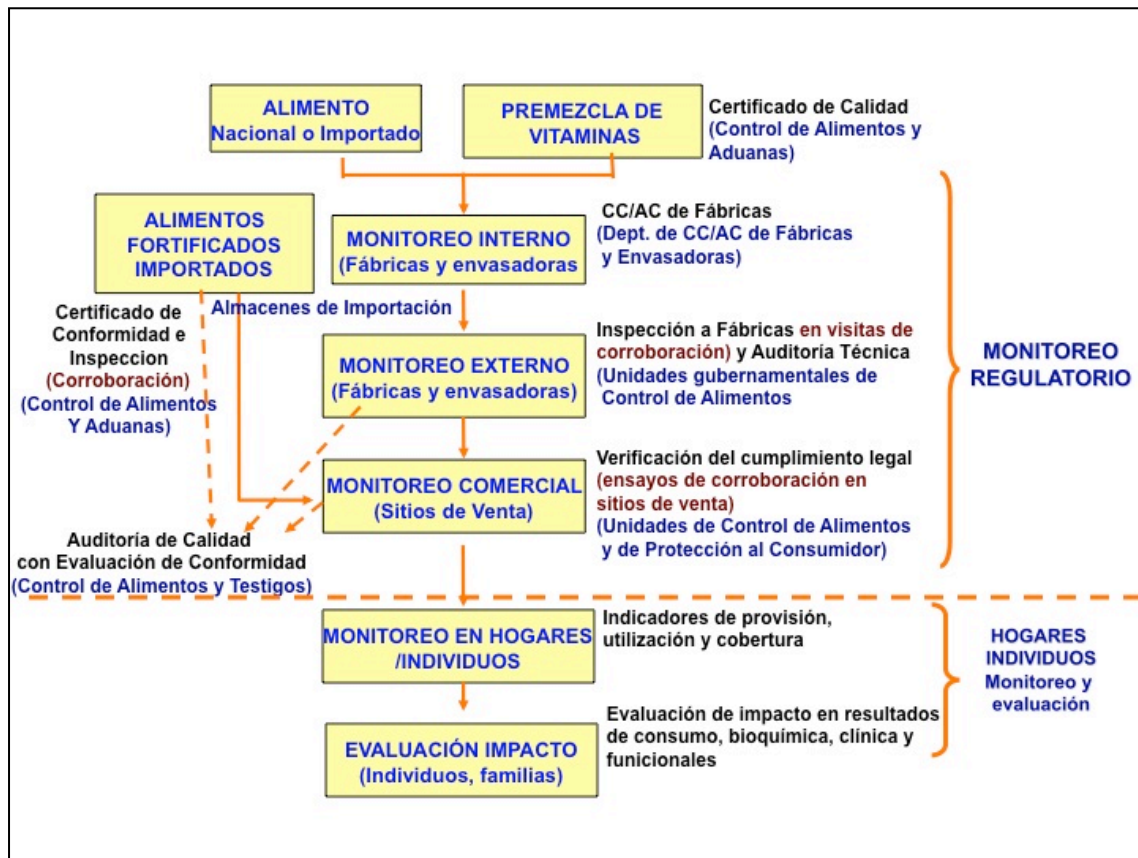
Se agradece a los participante en cada uno de los países la revisión, adaptación, comentarios y recomendaciones realizados durante los talleres.

PRESENTACIÓN

Los programas de fortificación de alimentos han existido en Centro América desde los años cincuenta, cuando se inició la fortificación de la sal con yodo. Estos programas han contribuido de forma importante a la eliminación y prevención de los problemas de deficiencias de micronutrientes en la subregión.

Centro América ha sido pionera en la sistematización de actividades para el monitoreo de los programas de fortificación de alimentos. Desde los años noventa se conceptualizó el sistema de monitoreo y evaluación de los programas de fortificación de alimentos, y durante años se han implementado actividades de monitoreo en las diferentes etapas de la producción y comercialización de los alimentos fortificados. A continuación se presenta el diagrama que resume de forma sencilla cada componente del proceso de fortificación de alimentos desde la adquisición de las premezclas hasta que los alimentos están en la mesa de los consumidores.

DIAGRAMA GENERAL DEL SISTEMA DE MONITOREO Y EVALUACIÓN DE LOS PROGRAMAS DE ALIMENTOS FORTIFICADOS



Fuente: Adaptado de Allen L, de Benoist B, Dary O y Hurrell R. (Eds). *Guidelines for food fortification with micronutrients*. Geneva, FAO/WHO. 2006.

El monitoreo se divide en tres etapas: el monitoreo interno, monitoreo externo y el monitoreo comercial. Esta serie de manuales presentados cubren estas tres etapas, y describen las actividades a ser realizadas en diferentes puntos a lo largo de la cadena de producción y comercialización del alimento para garantizar y verificar la calidad de los alimentos fortificados previo a ser consumidos por la población. Además, estas actividades cuentan con criterios de éxito e indicadores medibles del grado de cumplimiento de las actividades realizadas.

El objetivo de estos manuales es contribuir a sistematizar las actividades realizadas en cada etapa del sistema y armonizar la forma de presentar la información que se genere, de tal manera que de forma sencilla cada país cuente con datos actuales y que los mismos sean fácilmente comparados entre sí y a lo largo de los años.

Por otro lado, los procesos de apertura comercial demandan que los países trabajen en coordinación y que la información que se genere de las actividades de monitoreo y evaluación esté disponible para la toma de decisiones. Contar con lineamientos sencillos y comunes contribuye a la implementación y mejora continua de los sistemas de monitoreo con el fin último de verificar el cumplimiento de la legislación en beneficio de la población consumidora de Centro América, Panamá y República Dominicana.

CONTENIDO

A. Verificación del Cumplimiento de los Requisitos Para Autorizar la Importación del Alimento	2
B. Documentación del Cumplimiento con el Contenido de Micronutriente a Través del Análisis de Laboratorio	6
Anexo 1	10
Método de Mancha Para la Determinación de Hierro Adicionado en la Fortificación de la Harina de Trigo	10
Anexo 2	12
Método de Punto de Corte Fijo Para la Determinación Cualitativa de Retinol en Azúcar Fortificada	12
Anexo 3	16
Determinación Cualitativa de Yodato de Potasio en Sal Fortificada (Punto de Corte Fijo 20 mg/kg)	16

LISTA DE CUADROS

Cuadro A-1-Inspección en Puntos de Entrada	8
Inspección de Importaciones/Formato de Muestreo	8
Cuadro B-1-Registro de Inspección en Puntos de Entrada	9
Informe de Inspección de Importación	9

MANUAL PARA LA INSPECCIÓN DE ALIMENTOS FORTIFICADOS EN PUNTOS DE ENTRADA DE ALIMENTOS IMPORTADOS

A pesar de las normas específicas para inspección de alimentos importados propuestas por el Codex alimentarius, éstas son muy laboriosas, raramente se implementan y son aplicables principalmente para verificar la inocuidad, más que la calidad de la composición nutricional. El propósito de este manual es proveer a los oficiales encargados del cumplimiento de los reglamentos de fortificación de alimentos, una herramienta para evaluar en que medida los importadores de alimentos fortificados cumplen con los reglamentos locales relacionados con fortificación de alimentos. El propósito de esto es asegurar que los alimentos importados no se importan ni distribuyen a los consumidores si no están adecuadamente fortificados. El proceso involucra principalmente la recolección de muestras y la revisión de documentos y declaraciones en las etiquetas de alimentos. Para esto se comprueba que el alimento a ser importado esté autorizado por la Autoridad Sanitaria correspondiente para ser comercializado en el país de destino, se revisa el Certificado de Conformidad o Análisis (CDA) que acompaña a los lotes de alimentos importados, y se toman muestras en los puertos de importación para realizar la determinación cuantitativa del micronutriente. Si se identifican anomalías a través del análisis cuantitativo, los resultados proporcionan una base para alertar a los oficiales de frontera sobre las marcas que no cumplieron y necesitan más escrutinio.

Los procedimientos y requisitos en cada país varían, pero en general se presentan los lineamientos básicos para realizar el procedimiento de inspección, los cuales están divididos en dos categorías:

- Verificación de la presencia del micronutriente indicador para autorizar la entrada
- Documentar el cumplimiento en términos del contenido de micronutriente a través de análisis de laboratorio

A. VERIFICACIÓN DEL CUMPLIMIENTO DE LOS REQUISITOS PARA AUTORIZAR LA IMPORTACIÓN DEL ALIMENTO

I. Objetivos y Responsabilidad

El propósito de evaluar los requisitos para autorizar la entrada es:

- Asegurar que los productos importados cuentan con la documentación que compruebe que los reglamentos y normas nacionales que apliquen se cumplen.
- Confirmar que el alimento cumple con las condiciones de fortificación basado en la presencia de uno o más micronutrientes clave.

Los *oficiales de aduanas*¹, en conjunto con la *Autoridad Sanitaria*² correspondiente responsable de autorizar el ingreso de los alimentos importados y de comprobar su calidad, deben realizar las tareas de recolectar las muestras, transportarlas adecuadamente y hacerlas llegar al laboratorio y revisar la documentación, previo a que se permita el ingreso del alimentos a la cadena de distribución dentro del país.

II. Procedimiento

a. Autorización de la Autoridad Sanitaria

1. En Centro América todos los alimentos deben contar con la autorización de la Autoridad Sanitaria respectiva para poder comercializarse en el país una vez que se ha verificado que éstos cumplen con los requisitos locales generales para cualquier alimentos. En el caso específico de los alimentos fortificados, deben cumplir con los niveles de fortificación y etiquetado establecidos en los reglamentos específicos de cada alimentos, además de utilizar las formas químicas de los micronutrientes; por ejemplo: utilizar fumarato ferroso para fortificar y no hierro electrolítico/micronizado para fortificación de harina de trigo. Todos los alimentos que ingresan a Centro América deben contar con el registro sanitario. Los oficiales de Aduana deben asegurarse que el importador presenta la documentación de la Autoridad Sanitaria que certifique que el alimento cuenta con el registro sanitario del país de destino, tal y como lo exigen los reglamentos nacionales³.

¹ Aunque los oficiales de aduanas no participen directamente en todas las etapas del procedimiento de inspección, tal como el muestreo, ellos deben estar informados sobre los requisitos para importación de los alimentos fortificados para poder brindar el apoyo que la Autoridad Sanitaria necesite.

² Dependiendo del país, uno o más entes del Estado podrían estar involucrados en este proceso tales como Ministerio de Agricultura, Ministerio de Industria y Comercio, Ministerio de Salud, Organismos de Normalización y otros.

³ Algunos países también requieren que el importador presente un Certificado de Libre Venta y Consumo del país de origen del alimento como parte de los requisitos para el trámite de la autorización de la Autoridad Sanitaria.

2. Si el alimento no cuenta con el registro sanitario, requisito indispensable para autorizar su ingreso al país, se debe remitir al importador con la Autoridad Sanitaria correspondiente. El lote de alimento no puede ser liberado mientras no se cumpla con este requisito básico.

b. Revisión del Certificado de Conformidad o Certificado de Análisis y Etiquetado

Para cada lote de alimento que ingrese, los inspectores de alimentos y oficiales de aduanas deben:

3. Revisar los documentos que generalmente certifican la inocuidad del producto importado. Examinar el Certificado de Conformidad o Análisis, emitido por una autoridad de gobierno o un organismo reconocido oficialmente por el país de origen, el cual declararía –basado en análisis de laboratorio- que el alimento está fortificado de acuerdo con lo establecido en las regulaciones del país importador, además de otros análisis que la Autoridad Sanitaria del país importador requiera.
4. Examinar el empaque y etiquetado para asegurar que en éste se indica la marca, número de lote, país de origen y nombre del fabricante. El alimento debe cumplir con la norma de Etiquetado General para Alimentos Preenvasados del país de destino, como también con los requisitos de etiquetado establecidos en los reglamentos de los alimentos fortificados, tales como niveles de micronutrientes. Los inspectores también deberían revisar que no se presenten declaraciones de salud o nutricionales falsas que podrían no cumplir con los lineamientos establecidos en el país. Registrar toda la información recolectada durante la inspección en el Formato de Inspección (**Cuadro A-1**).

c. Confirmación de la presencia de micronutrientes indicadores

Previo al muestreo y análisis cuantitativo de micronutriente en el Laboratorio Nacional de la Autoridad Sanitaria correspondiente, se recomienda comprobar la presencia de los micronutrientes indicadores, con el propósito de tomar decisiones rápidas cuando se presenten lotes que no contienen el micronutriente.

5. De cada lote o camión, tome 3 muestras (500 g ó 100 mL por muestra) de alimento importado. Recolecte las muestras basado en los nombres de las marcas y realice los análisis cualitativos apropiados correspondientes al alimento, usando los métodos descritos en los anexos. Registre los resultados en el Formato de Inspección **Cuadro A-1**.
6. Todas las muestras deberían dar resultados positivo a la prueba cualitativa para el micronutriente indicador.
7. Si existe desacuerdo en los resultados, recolecte tres nuevas muestras y realice la prueba cualitativa de nuevo.

d. Toma de decisión para autorizar el ingreso

8. Si las muestras no pasan la prueba cualitativa o no cumplen en términos de presentar la documentación apropiada o los requisitos de etiquetado, no se debería autorizar el ingreso al país de las marcas afectadas.
9. Si las muestras no pasan la prueba cualitativa, pero el Certificado de Conformidad o Certificado de Análisis declara que el alimento está fortificado conforme el reglamento nacional, se procede a preparar muestras compuestas para determinar el micronutriente cuantitativamente.
10. Si la documentación está en orden, y las muestras muestran la presencia del micronutriente indicador, se procede a preparar las muestras compuestas para la determinación cuantitativa del micronutriente con el propósito de confirmar que los micronutrientes se encuentran dentro del intervalo permitido: mínimo legal – máximo tolerable.⁴

e. Preparación de muestras para análisis cuantitativo

11. Seleccione aleatoriamente nueve (9) muestras individuales de 500 g (ó 100 mL) por cada marca y camión. Prepare 3 muestras compuestas mezclando 3 muestras individuales. Empáquelos bien y verifique que están bien etiquetados. Enviar las muestras al laboratorio con la instrucción que el análisis debe realizarse de urgencia. El laboratorio deberá realizar la determinación cuantitativa de los micronutrientes indicadores. Esto es yodo en sal, vitamina A en azúcar y hierro y por lo menos una vitamina del complejo B⁵ en harina de trigo y maíz.
12. Se autorizará la liberación hasta que se reciban los resultados del laboratorio que demuestren los niveles adecuados del micronutriente indicador.

f. Acciones para marcas cuyas muestras compuestas no pasen las pruebas cuantitativas

13. En el caso que el laboratorio informe resultados de marcas cuyo contenido del micronutriente indicador se encuentra por debajo del nivel mínimo legal, no se permitirá el ingreso del alimento al país. Además, los inspectores de frontera serán notificados inmediatamente y la marca se colocará en una Lista de Alimentos Sin Autorización de Ingreso para que se realice un escrutinio más riguroso en los siguientes envíos. La Autoridad Sanitaria deberá enviar una carta al importador(es) informándoles sobre el nuevo estatus de su marca. Esta carta de

⁴ Algunos países basan su decisión de autorización de ingreso del alimento solamente en la documentación presentada por el importador para agilizar el proceso en aduana, considerando que la verificación de la fortificación se debe realizar en expendios. Sin embargo, no todos los países realizan el monitoreo comercial periódicamente lo que representa una debilidad para el sistema de monitoreo.

⁵ La determinación de una vitamina del complejo B dependerá de la capacidad del país para realizar estos análisis.

advertencia establecerá que cualquier envío que llegue después que se haya emitido la carta se muestreará más estrictamente que el muestreo normal y la revisión de documentos. Los gastos de los análisis cuantitativos serán cubiertos por el importador.

14. Si una marca que está en la Lista de Alimentos Sin Autorización de Ingreso pasa los análisis cuantitativos se eliminará de la misma en frontera.

III. Registros e informes

En todos los casos, el inspector deberá completar debidamente el formato de inspección (**Cuadro B-1**) en la parte relacionada con la inspección de la importación y enviar las muestras para análisis al Laboratorio Nacional de la Autoridad Sanitaria o cualquier laboratorio confiable. Los resultados del análisis cualitativo se deben mantener por la Autoridad Sanitaria en los sitios de ingreso de las importaciones. Los inspectores de frontera deberían enviar un informe cada seis meses un informe a las oficinas centrales de la Autoridad Sanitaria. El Jefe de la Autoridad Sanitaria presentaría este informe a la Comisión Nacional de Fortificación de Alimentos cada seis meses, indicando las fechas, marcas, cantidades y acciones tomadas con relación a la inspección de alimentos fortificados importados.

B. DOCUMENTACIÓN DEL CUMPLIMIENTO CON EL CONTENIDO DE MICRONUTRIENTE A TRAVÉS DEL ANÁLISIS DE LABORATORIO

I. Objetivos y responsabilidad

El objetivo de documentar el cumplimiento en términos del contenido de micronutriente es:

- Proporcionar evidencia documentada que las marcas importadas cumplen con los reglamentos y normas nacionales basados en los informes de laboratorio de análisis cuantitativos realizados en muestras de alimentos importados.
- Proporcionar una base para dar a los importadores recomendaciones específicas para mejorar la calidad.
- Advertir a los oficiales en puntos de entrada de alimentos importados sobre las marcas que no pasan la prueba y que merecen un examen más estricto.

La responsabilidad de esta tarea la tienen tanto el laboratorio de la Autoridad Sanitaria, el Jefe de la División correspondiente de la Autoridad Sanitaria y la oficina respectiva de Importación, y los supervisores de inspectores en los puntos de entrada de importaciones.

II. Procedimientos

a. Recepción de muestras

1. El laboratorio de Control de Alimentos deben registrar la recepción de las muestras enviadas por el oficial del punto de importación, así como el número de muestras recibidas, y la fecha.
2. Almacene las muestras en un lugar oscuro, fresco y seco.

b. Determinación cuantitativa de micronutrientes

3. Mezcle las muestras muy bien y luego determine el contenido del micronutriente indicador, dependiendo del tipo de muestra (por ejemplo, vitamina A en aceite y azúcar, vitamina A y hierro para harinas de trigo y maíz), usando métodos cuantitativos de análisis.

III. Registros e informes

1. El Jefe del Laboratorio de la Autoridad Sanitaria deberá enviar el informe a la Oficina de Importación y al Supervisor de inspectores del punto de entrada de importaciones correspondiente.
2. Cada vez que una muestra no pase los análisis cuantitativos debido a que el contenido de micronutriente es menor al mínimo legal, la Oficina de Importación debería enviar inmediatamente al importador una carta de advertencia para que tome acciones inmediatas.
3. Cuando una marca no pasa los análisis cuantitativos, se deberá enviar una carta a todos los sitios de entrada de importaciones indicando que todos los cargamentos de esa marca deberán entrar en cuarentena hasta que los resultados del laboratorio confirmen que cumplen con los requisitos técnicos. Este tratamiento especial finalizará hasta nueva orden luego que el laboratorio confirme el cumplimiento del producto.
4. El Jefe de la Unidad correspondiente de la Autoridad Sanitaria a cargo de la inspección de alimentos importados deberá preparar, cada seis meses, un informe consolidado por alimento con todos los resultados, indicando marcas, países de origen, cantidad importada, micronutrientes analizados y los resultados del análisis, y cualquier acción tomada.

**CUADRO A-1-INSPECCIÓN EN PUNTOS DE ENTRADA
INSPECCIÓN DE IMPORTACIONES/FORMATO DE MUESTREO**

Fecha: _____ Puesto fronterizo: _____ Distrito/Departamento: _____

Nombre del inspector:		Dirección del Proveedor		Números de lote y Tamaño (TM):	
Producto:	Marca:			Tipo de alimento (refinado, integral, otro):	
País de origen:				Certificado de Conformidad:	
Identificación del registro de envío:		Importador: Nombre y Dirección:			
<i>Inspección del Producto</i> INFORMACIÓN EN EL ETIQUETADO⁶					
	Adecuado	Inadecuado	Comentarios		
Nombre de la marca					
Fabricante					
Declaraciones nutricionales			ESPECIFICAR NUTRIENTES		
Fecha de vencimiento:					
Número de lote					
Presencia de nutriente			Basado en la prueba cualitativa de tres muestras por marca o por camión (consignación)		
Acción:			Firma:		

⁶ Marque (√) en la celda correspondiente *adecuado o inadecuado*.

CUADRO B-1-REGISTRO DE INSPECCIÓN EN PUNTOS DE ENTRADA
INFORME DE INSPECCIÓN DE IMPORTACIÓN

Fecha	Producto (Tipo de alimento)	Marca	País de origen	Cantidad (TM)	Micronutriente analizado	Prueba cualitativa (+ or -)	Acción tomada

ANEXO 1

MÉTODO DE MANCHA PARA LA DETERMINACIÓN DE HIERRO ADICIONADO EN LA FORTIFICACIÓN DE LA HARINA DE TRIGO

I. Referencias

AOAC Methods. 12 ed. Ferrous salts. Official Final Action (7.74).

AACC Method 40-40. Iron –Qualitative Method. First approval 5-5-60; reviewed 10-27-82.

II. Principio

El hierro férrico, en un medio ácido, reacciona con una solución de tiocianato de potasio (KSCN) para formar un pigmento rojo insoluble. Otros tipos de hierro, tales como hierro ferroso y el hierro elemental pueden también producir esta reacción una vez que se han oxidado a su forma férrica usando peróxido de hidrógeno.

III. Materiales

- Papel filtro Whatman # 1
- Tamiz o cernidor
- Vidrio de reloj

IV. Reactivos

- Acido clorhídrico-2N (HCl). En un beaker de 500 mL coloque 100 mL de agua destilada. Luego agregue lentamente 17 mL de HCl concentrado, y finalmente 83 mL más de agua destilada.
- Tiocianato de potasio-10% (KSCN). Disuelva 10 g de KSCN en 100 mL de agua. Antes de usar, mezcle 10 mL de esta solución con 10 mL de HCl-2N.
- Peróxido de hidrógeno-3% (H₂O₂) (solamente cuando el hierro se encuentra como hierro elemental o como una sal ferrosa). Agregue 5 mL de H₂O₂ concentrada (30%) a 45 mL de agua destilada. Prepare esta solución diariamente y descarte el resto después del análisis.

V. Procedimiento

a. Determinación de hierro en muestras que contienen NaFeEDTA

1. Coloque una pieza de papel filtro sobre un vidrio de reloj.
2. Humedezca la superficie del papel filtro con la solución de KSCN-10%. Deje que el líquido penetre las fibras del papel.
3. Usando un tamiz, cierna manualmente la muestra de harina sobre el papel hasta formar una capa delgada sobre el área humedecida. Quite el exceso de harina.
4. Agregue un poco más de solución acidificada de KSCN-10% sobre la harina. Deje reposar por unos minutos para que la reacción ocurra.
5. La formación de puntos rojos indican la presencia de una sal férrica tal como NaFeEDTA.

b. Determinación de hierro de otras fuentes (incluyendo hierro elemental)

1. Coloque un pedazo de papel filtro sobre el vidrio de reloj⁷.
2. Humedezca la superficie del papel filtro con la solución de tiocianato de potasio (KSCN-10%). Deje que el líquido penetre las fibras del papel.
3. Usando un tamiz, cierna manualmente la muestra de harina para cargar una capa gruesa sobre toda el área humedecida. Quite el exceso de harina.
4. Agregue un poco más de solución acidificada de tiocianato de potasio sobre la harina.
5. Agregue pequeñas cantidades de la solución de H₂O₂-3%. Deje reposar por unos minutos para que ocurra la reacción.
6. Los puntos rojos indican la presencia de hierro agregado de cualquier fuente.

VI. Interpretación

El número y densidad de los puntos son un indicativo del nivel de hierro. Use muestras control con cantidades conocidas del mismo tipo de hierro que se espera encontrar en la harina para realizar una evaluación comparativa del rango de contenido de hierro en el que se encuentran las muestras.

⁷ Esta reacción puede realizarse sin papel filtro directamente sobre el vidrio de reloj o sobre las planchas usadas para realizar la prueba de color en el molino, asegurándose que los reactivos se agreguen sobre una superficie lisa de harina.

Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP) Laboratorio de Bioquímica Nutricional		Revisión No. Fecha: 30/septiembre/2002 Fecha de aprobación:
Método de punto de corte fijo para la determinación cualitativa de retinol en azúcar fortificada		

ANEXO 2

MÉTODO DE PUNTO DE CORTE FIJO PARA LA DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE RETINOL EN AZÚCAR FORTIFICADA

I. REFERENCIAS

Bayfield, R.F. and Cole, E.R. 1980. Colorimetric determination of vitamin A with trichloroacetic acid. In: McCormick, D.B. and Wright, L.D., *Eds Methods in Enzymology, part F. Vitamins and Coenzymes*. Vol 67. New York: Academic Press. Pp 189-195.

Arroyave, G., Pineda, O. y Funes, C. de. 1974. Enriquecimiento de azúcar con vitamina A. Método rápido para la fácil inspección del proceso. *Arch. Latinoamer. Nutr.* 24: 155-159.

II. PRINCIPIO

El método determina la presencia de retinol a una concentración igual o mayor a la del punto de corte establecido. El punto de corte es la mínima concentración que puede detectar el método con una buena especificidad y sensibilidad.

El retinol presente en la muestra de azúcar reacciona con el ácido tricloroacético del reactivo cromógeno, para formar un anhidroretinol. Al ocurrir dicha reacción se genera un color azul que indica la presencia de palmitato de retinol en la muestra a igual o mayor concentración que el punto de corte escogido. El color azul es transitorio, por lo que éste se debe observar rápidamente.

III. PUNTOS CRITICOS Y PRECAUCIONES

El reactivo cromógeno es inestable debido a que la humedad del ambiente disminuye su reactividad con el palmitato de retinol, por lo que se debe preparar con frecuencia. Si se agrega anhídrido acético al cromógeno, éste es estable hasta por 18 días a temperatura ambiente o en refrigeración. Si se almacena en refrigeración, se debe esperar de dos a tres horas antes de utilizar el reactivo cromógeno, el cual debe estar a temperatura ambiente cuando es utilizado. Si es necesario el reactivo cromógeno se debe calentar en baño de agua a una temperatura no mayor de 40 °C, debido a que el diclorometano puede ebulir y evaporarse.

Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP) Laboratorio de Bioquímica Nutricional		Revisión No. Fecha: 30/septiembre/2002 Fecha de aprobación:
Método de punto de corte fijo para la determinación cualitativa de retinol en azúcar fortificada		

El reactivo cromógeno es corrosivo, por lo que debe manejarse con precaución y sólo por personal capacitado. Pocos minutos antes de utilizar el reactivo cromógeno, debe colocarse en un vaso de precipitar, la cantidad necesaria para el trabajo del día para que sea más fácil tomarlo con la pipeta pasteur de polietileno. NO debe regresarse el reactivo sobrante del vaso de precipitar al envase original.

IV. MATERIALES Y EQUIPO

- Vaso de precipitar de 25, 250 y 600 mL
- Probeta de 100 y 10 mL
- Frasco de vidrio de boca ancha (para descartar desechos)
- Frasco color ámbar con tapón de vidrio esmerilado
- Guantes desechables
- Tubos de ensayo de vidrio de 15*100 mm con una marca a 1 mL
- Cuchara de plástico (para agregar el azúcar)
- Vidrio de reloj grande
- Cuchara de plástico pequeña
- Pipeta pasteur de polietileno
- Varilla de vidrio
- Balanza semi-analítica
- Hot plate

V. REACTIVOS

- Acido tricloroacético p.a. (Cl_3CCOOH), FW 163.39, 99.5 %.
- Anhídrido Acético p.a. (CH_3CO)₂O, FW 102.092.
- Diclorometano p.a. (CH_2Cl_2), FW 84.93, 99.5 %, d 1.32 g/mL.

Método de punto de corte fijo para la determinación cualitativa de retinol en azúcar fortificada

VI. SOLUCIONES

A. Reactivo Cromógeno

Precaución

El ácido tricloroacético es altamente corrosivo. Al momento de preparar el reactivo, se debe utilizar bata de manga larga, anteojos de seguridad, guantes. Disuelva en campana de gases.

Composición

Acido tricloroacético.....	30 g
Diclorometano.....	61 mL
Anhídrido acético.....	2 mL

Preparación

Disuelva el ácido tricloroacético en 80.0 g de diclorometano (60.6 mL). Para disolver por completo, caliente la mezcla (con el recipiente tapado con un vidrio de reloj) en baño de agua a una temperatura no mayor de 40 °C, agitando constantemente.

Agregue 2 mL de anhídrido acético. Trabaje en campana de extracción de gases.

Almacenamiento y expiración

Agregue 2 mL de anhídrido acético y guarde en frasco ámbar con tapón de rosca preferiblemente en refrigeración. La solución es estable por 18 días, almacenado a temperatura ambiente y/o en refrigeración.

VII. PROCEDIMIENTO

1. Homogenizar el control y/o la muestra de azúcar, mezclar varias veces dentro de una bolsa plástica. Un mal homogenizado de la muestra dará como resultado falso negativo.
2. Añadir a cada tubo de ensayo (Pyrex No. 9825, de 10*1.3cm) alrededor de media cucharadita del control de azúcar y de las muestras de azúcar a analizar.
3. Agregar alrededor de 2 mL de agua destilada a (35-40°C) a tubos de ensayo. Para agregar el agua, puede utilizar una pipeta pasteur de polietileno. Es importante que todos los tubos tengan la misma cantidad de agua destilada. Mezclar el tubo.

Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP) Laboratorio de Bioquímica Nutricional		Revisión No. Fecha: 30/septiembre/2002 Fecha de aprobación:
Método de punto de corte fijo para la determinación cualitativa de retinol en azúcar fortificada		

4. Utilizando otra pipeta pasteur de polietileno. Vertir rápidamente 0.6 mL de reactivo cromógeno dentro de los tubos. (UTILICE GUANTES Y LENTES DE PROTECCION).
5. Si el control y/o las muestras de azúcar están fortificadas con palmitato de retinol se observará la aparición de un color azul o celeste, indicando que el resultado es positivo. Aunque la intensidad del color varía dependiendo la concentración de palmitato de retinol que contenga el control y/o las muestras analizadas, únicamente indique si se tornó celeste. Si la concentración de palmitato es baja, se observará que algunos cristales se tornan celestes depositándose en el fondo del tubo y se irán acumulando lentamente, esta muestra es positiva. Si el color celeste es muy tenue, casi imperceptible o no hubo aparición de color, la muestra se toma como negativa.
6. Una vez realizadas todas las determinaciones depositar el contenido de cada tubo dentro de una solución de bicarbonato de sodio al 10 % para neutralizar el ácido.

VIII. INTERPRETACION DE RESULTADOS

1. Si el control y/o las muestras de azúcar están fortificadas con palmitato de retinol se observará la aparición de un color azul o celeste, indicando que el resultado es positivo. Aunque la intensidad del color varía dependiendo la concentración de palmitato de retinol que contenga el control y/o las muestras analizadas, únicamente indique si se tornó celeste. Si la concentración de palmitato es baja, se observará que algunos cristales se tornan celestes depositándose en el fondo del tubo y se irán acumulando lentamente, esta muestra es positiva.
2. Si el color celeste es muy tenue, casi imperceptible o no hubo aparición de color, la muestra se toma como negativa.

Anotar el resultado únicamente como positivo (+) o negativo (-).

Método de punto de corte fijo para la determinación cualitativa de yodo en sal fortificada

ANEXO 3

DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE YODATO DE POTASIO EN SAL FORTIFICADA (PUNTO DE CORTE FIJO 20 mg/kg)

I. REFERENCIAS

AOAC Official Methods of analysis. 1984. Sección 33.147

Fisher, R. y Peters, D. 1970. Análisis Químico Cuantitativo. 3a. ed. Interamericana, México D.F. pp 327-356.

II. PRINCIPIO

El yodato (como yodato de potasio, KIO_3) agregado a la sal para consumo humano en Guatemala es cuantificado por titulación redox con tiosulfato de sodio. El yodato es un oxidante fuerte y reacciona con el tiosulfato. La reacción se lleva a cabo en medio ligeramente ácido y en presencia de un exceso de iones I^- .

III. PUNTOS CRITICOS Y PRECAUCIONES

Se debe disolver completamente la muestra de sal, al agregar el H_2SO_4 agitar la solución por 45 segundos en forma circular y visualizar el cambio de color a través del tubo, si hay problema de percepción utilizar una hoja blanca como fondo. Al haber muestras con concentraciones menores del punto de corte y son muy débiles casi imperceptibles se deben tomar como negativas.

IV. EQUIPO Y MATERIALES

- Balanza analítica ± 0.0001 g
- Desecadora
- Tubos de ensayo
- Pipeta pasteur de polietileno (de 0.5 a 3 ml)
- Guantes descartables
- Lentes de protección
- Agua destilada
- Agua desionizada previamente hervida.
- Papel bond blanco, para utilizarlo como fondo
- Beakers de 50, 100, 250, 600 mL

Método de punto de corte fijo para la determinación cualitativa de yodo en sal fortificada

- Erlenmeyers 50, 100, 250 mL
- Balones volumétricos 100, 200 mL
- Recipientes de vidrio ámbar

V. REACTIVOS

- Reactivo Cromógeno: yoduro de potasio: KI 99.5%. PM166.01
- Acido sulfúrico: H_2SO_4 95-98%, PM98.08.

VI. SOLUCIONES

a. Reactivo cromógeno yoduro de potasio

Composición

Yoduro de potasio 0.0075 %.....0.01875 g
 H_2SO_4 0.50 M.....10.0 mL

Preparación

Disolver 0.01875 g de yoduro de potasio en 100 mL de agua desionizada, previamente hervida, transferir a un balón de 250 mL, añadir 10 mL de H_2SO_4 0.75 N y aforar con agua desionizada.

Almacenamiento y expiración

Almacenar en frasco oscuro etiquetado correctamente. Cuando la solución se torne amarillenta descartar y preparar nuevamente.

b. Ácido sulfúrico H_2SO_4 -0.50 M

Composición

H_2SO_40.50 mol/L

Preparación

En un beaker graduado de 600 mL agregar 300 ml de agua destilada y 13.88 mL de ácido concentrado. Enfriar a temperatura ambiente, llegue a la marca de 500 mL con agua destilada.

Método de punto de corte fijo para la determinación cualitativa de yodo en sal fortificada

Almacenamiento

Guardar en frasco de vidrio bien tapado, alejado de bases.

Expiración y Precaución

La solución es estable indefinidamente. El ácido es corrosivo, deshidratante e irritante para todos los tejidos. Su inhalación puede provocar daño hepático y el contacto con la piel necrosis. El reactivo concentrado y sus soluciones deben manipularse bajo campana.

VII. PROCEDIMIENTO

A. Preparación de los controles y la muestra:

1. Homogenizar el control y/o la muestra de sal, mezclándola varias veces dentro de una bolsa plástica. Un mal homogenizado de la muestra puede dar resultado falso.
2. Añadir a cada tubo de ensayo alrededor de un cuarto de cucharadita del control y de las muestras de sal a analizar.
3. Agregar, utilizando una pipeta pasteur de polietileno, alrededor de 2 mL de agua desionizada, a tubos de ensayo con la sal. Es importante que todos los tubos tengan la misma cantidad de agua desionizada y sal. Disolver la sal completamente agitando el tubo suavemente. Realizar este procedimiento con precaución para evitar derrames o salpicaduras.
4. A un tubo únicamente añadir 2.0 mL de agua desionizada, sin muestra de sal. Este tubo será el control del reactivo. Este control lo debe correr cada día junto con las muestras.
5. Utilizar otra pipeta pasteur de polietileno, vertir rápidamente 0.6 mL de reactivo cromógeno dentro los tubos. (Utilizar guantes y lentes de protección.) Mezclar perfectamente la solución.
6. Las muestras que dan una reacción débil son difíciles de interpretar, para tales muestras utilice un fondo blanco para realizar las lecturas, puede utilizar una hoja de papel. El fondo blanco permite apreciar mejor el color amarillo, el cual debe ser claramente identificable para ser considerado como positivo, de lo contrario el resultado es negativo.
7. Anotar el resultado únicamente como positivo o negativo. Una vez realizadas todas las determinaciones descarte el contenido de cada tubo en el lavadero y dejar correr agua por 5 minutos.

Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP) Laboratorio de Bioquímica Nutricional		Revisión No. Fecha: 30/septiembre/2003 Fecha de aprobación:
Método de punto de corte fijo para la determinación cualitativa de yodo en sal fortificada		

VIII. INTERPRETACION DE RESULTADOS

1. Si el control y/o las muestras de sal están fortificados con yodato de potasio se observará la aparición de un color amarillo, indicando que el resultado es positivo.
2. El tubo utilizado como control de reactivo debe quedar con la solución incolora indicando un resultado negativo, si en la solución se forma un color amarillento, debe preparar reactivo nuevo o verificar la calidad del agua desionizada.
3. Aunque la intensidad del color varía dependiendo la concentración de yodato que contenga el control y/o muestra analizada, únicamente indicar si se tornó amarilla. Si la concentración de yodato es baja la aparición del color amarillo es casi imperceptible, tome estas muestras como negativo.
4. Las muestras que dan una reacción débil son difíciles de interpretar, para tales muestras utilice un fondo blanco para realizar las lecturas, puede utilizar una hoja de papel. El fondo blanco permite apreciar mejor el color amarillo, el cual debe ser claramente identificable para ser considerado como positivo, de lo contrario el resultado es negativo.

Anotar el resultado únicamente como positivo (+) o negativo (-).