

AVANCES EN MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DE VITAMINAS, MINERALES, ÁCIDOS ORGÁNICOS, COLORANTES Y EDULCORANTES EN ALIMENTOS

(Advances in methods for the determination of vitamins, minerals, organic acids, dyes, and sweeteners in foods)

Lisette Hidalgo¹, Juan Fernández Molina²

¹MSc. (UNELLEZ). Doctorando en Ingeniería Agroindustrial-UNELLEZ - San Carlos, Cojedes. Venezuela. Email-lisettehidalgo1990@gmail.com

²Ph.D. Programa Ciencias del Agro y Del Mar. UNELLEZ-San Carlos, estado Cojedes, Venezuela-Email: jjflearnturbo@gmail.com

Autor de Correspondencia: Lisette Hidalgo: Email-Email-lisettehidalgo1990@gmail.com

Recibido:05-02-22

Aceptado:03-04-22

RESUMEN

Los alimentos poseen una gran cantidad de macronutrientes y micronutrientes, los métodos de determinación de estos suelen estar establecidos en regulaciones dentro de cada país o internacionales, no obstante, en ocasiones la tecnología avanza y algunas regulaciones quedan detrás. Los métodos para micronutrientes como minerales, vitaminas, ácidos orgánicos y otros componentes como colorantes y edulcorantes han sido analizados y sintetizados mediante una revisión documental de normativas venezolanas, ecuatorianas y de investigaciones plasmadas en artículos científicos y tesis recientes, la cual permitió describirlos para facilitar el acceso a la información de investigadores que requieran analizar dichos componentes en un alimento. Es evidente que para este tipo de análisis se amerita de una inversión inicial en equipos para cromatografía, espectrofotometría, colorimetría, entre otros. Sin embargo, algunas universidades o laboratorios privados realizan dichos análisis debido a que poseen los recursos tecnológicos necesarios.

Palabras clave: cromatografía, espectrofotometría, colorímetro

SUMMARY

Foods have a large number of macronutrients and micronutrients, the methods for determining these components are usually established in regulations within each country or internationally, however, sometimes technology advances and some exceptions are left behind. The methods for micronutrients such as minerals, vitamins, organic acids, and other components, for instance colorants and sweeteners have been analyzed and synthesized through a documentary review of Venezuelan and Ecuadorian regulations and investigations reflected in recent scientific articles and theses, which helped describe them to facilitate the accesses to the information for researchers to be able to analyze these components in a food. It is evident that this type of assessment requires an initial investment in equipment for chromatography, spectrophotometry, colorimetry, among others

However, some universities or private laboratories perform such analyzes because they have the necessary technological resources.

Keywords: chromatography, spectrophotometry, colorimetry

INTRODUCCIÓN

En la agroindustria existen diversos métodos para analizar alimentos, los cuales varían según las regulaciones internas de cada país y según el avance tecnológico que posean en el laboratorio. El pH, acidez, °brix se realizan con frecuencia en algunas empresas de alimentos. Sin embargo, los métodos para determinación de vitaminas, minerales, ácidos orgánicos, colorantes y edulcorantes son complejos y requieren el uso de equipos sofisticados y personal de laboratorio especializado.

El término minerales se utiliza para referirse a los diversos elementos químicos que se identifican en los alimentos, sin embargo, de los 60 elementos que se han identificado en humanos, 36 se encuentran con regularidad, el resto se consideran contaminantes, por lo que algunos autores manifiestan que el término correcto sería nutrientes inorgánicos. Al igual que las vitaminas, algunos elementos químicos son nutrimentos indispensables para el buen funcionamiento del organismo humano y su carencia puede provocar serios problemas de salud. Una dieta balanceada aporta todos los nutrimentos inorgánicos suficientes para satisfacer las necesidades del hombre; sin embargo, es práctica común la adición de algunos de ellos, sobre todo de calcio, hierro, yodo y cinc (Badui, 2006).

Cabe destacar que los minerales no son los únicos micronutrientes de interés en la agroindustria y nutrición, las vitaminas son sustancias que facilitan el metabolismo de otros nutrientes y mantienen diversos procesos fisiológicos vitales para todas las células activas, tanto vegetales como animales (Badui, 2006).

Las vitaminas, aunque se requieran en una porción muy pequeña en masa o volumen en el organismo, su ausencia puede ocasionar daños a la salud. La deficiencia de vitaminas en un alimento puede ser causada por procesos térmicos de conservación de alimentos. Por otra parte, los excesos y sobredosis de vitaminas, como la A, D y B6, traen consigo intoxicaciones, lo que hace indispensable la realización de análisis en alimentos industrializados principalmente, existiendo la posibilidad de fortificación (FAO, 2017). Por lo tanto, el establecimiento de métodos para la determinación de vitaminas y su monitoreo en diversas matrices de alimentos es de suma importancia (Zhan *et al.*, 2018).

Los ácidos orgánicos se hallan principalmente en frutos y dentro de su clasificación se encuentran los ácidos carboxílicos que son de gran interés para la industria alimentaria ya que algunos se utilizan como aditivos. Mientras que el color es una propiedad de la materia directamente relacionada con el espectro de la luz y que, por lo tanto, puede medirse físicamente en términos de energía radiante o intensidad, y por su longitud de onda. El ojo humano sólo puede percibirlo cuando su energía corresponde a una longitud de onda que oscila entre 380 y 780 nm; de ahí que una definición de color sea “la parte de la energía radiante que el humano percibe mediante las sensaciones visuales que se generan por la estimulación de la retina del ojo” (Badui, 2006).

Adicionalmente los hidratos de carbono o carbohidratos (CHO) son compuestos formados por carbono, hidrógeno y oxígeno, los más conocidos son la sacarosa, la glucosa, la

fructosa, el almidón y la celulosa. Casi todos los azúcares tienen la característica de ser dulces aun cuando también los hay amargos. Se considera edulcorante a aquella sustancia que proporciona sabor dulce, pudiendo ser calórico o no calórico (Badui, 2006).

Para sintetizar los métodos de análisis de

METODOLOGÍA

Se realizó una investigación descriptiva (Hurtado De Barrera, 2010) con diseño documental (Fidias, 2006), donde se revisaron algunas normativas ecuatorianas, venezolanas e investigaciones recientes publicadas en artículos científicos y tesis debidamente sustentadas en

estas sustancias en alimentos se realiza una revisión y análisis descriptivo de algunas normativas ecuatorianas y venezolanas respecto a las investigaciones recientes, generando un documento guía para investigadores experimentales.

diferentes países. Los métodos de análisis de alimentos encontrados fueron analizados y descritos entre sí, planteando una forma rápida de selección entre la variedad de metodología existente.

MÉTODOS DE DETERMINACIÓN

Determinación de minerales

Es evidente la necesidad de realizar análisis de laboratorio para determinar el contenido de minerales o nutrimentos inorgánicos en alimentos, los minerales a analizar dependerán del tipo de alimento y el método de las normativas que regulen el país. Un método de análisis es la espectrometría de emisión atómica que es la absorción, emisión y/o fluorescencia de radiación electromagnética emitida por las partículas atómicas. Se realiza mediante atomización donde los componentes de la muestra deben convertirse en átomos o iones en estado gaseoso, que pueden determinarse mediante medios espectrales de emisión, absorción, fluorescencia o masa. Se trata de un método rápido, específico y con amplio rango de aplicación (Sosa & Torres, 2008).

Existen varios tipos de atomizadores, pero en Chile, para medir sodio y potasio en alimentos se utilizó el de llama, donde la solución a analizar

es atomizada en el fuego del fotómetro. A esta temperatura, las sales en solución se disocian y los iones llevados a su estado fundamental son excitados y emiten luz. Cada metal emite luz a longitudes de ondas específicas. La longitud de onda específica para un cierto metal es seleccionada por medio de un filtro. Esta luz es transformada en corriente eléctrica por una celda fotoeléctrica y la corriente es medida por un galvanómetro. Así, la concentración de los átomos del metal puede calcularse de las lecturas del galvanómetro, usando una curva estándar (Agüero, 2012).

Santis et al. (2009), analizaron los elementos Ca (calcio), Fe (hierro), Mg (magnesio), Zn (cinc), Cu (cobre), P (fósforo) y K (potasio) por métodos espectrofotométricos (Santis et al., 2009). Las muestras se convirtieron en ceniza como tratamiento de destrucción orgánica y contaminante para su posterior lectura. El

Ca, Mg, Fe, Zn y Cu, se determinaron por espectrofotometría de absorción atómica en llama. La concentración de potasio se determinó por espectrofotometría de emisión atómica en llama. El fósforo (P) se determinó empleando un método colorimétrico comercial. Cabe destacar que la espectrometría de emisión atómica con llama es uno de los métodos recomendados por la AOAC para análisis de minerales (FAO, 2019), por lo que también fue usada la misma metodología en la Universidad de Granada en España para alimentos congelados precocinados (Planells *et al.*, 2003).

Por otra parte, Patel *et al.* (2020), predijeron el contenido de veinte (20) minerales en 18 muestras de bistec (musculo *Longissimus thoracis*), utilizando diferentes espectrofotómetros portátiles en la región de cercana del Infra Rojo Visible (por su siglas en inglés NIRS), estos dispositivos son fáciles de usar, baratos, no destructivos y pueden ser usados en la superficie del ambiente de trabajo, se validaron y se compararon los resultados de los tres instrumentos, NIRS-Visible transportable (peso 5,6 kg, longitud de onda 350-1830 nm), NIRS-Portatil (peso 2,0 kg, longitud de onda 950-1650 nm), Micro NIRS-Manual (peso 0,06 kg, longitud de onda 905-1649 nm), se utilizaron diferentes pretratamientos del espectro y regresiones parciales de mínimos cuadrados, los resultados indicaron que de los 20 minerales estudiados, los que mostraron un potencial para la predicción con los tres instrumentos fueron Fe, P, Mg, S, Na, y Pb, sin embargo, el espectrofotómetro Micro-NIRS-Manual mostró ciertas ventajas en comparación con los otros dos instrumentos. Finalmente, se concluyó que la espectroscopia NIRS no puede analizar los metales per se, pero es de utilidad para la detección de minerales asociados a moléculas orgánicas.

Determinación de vitaminas

Por otra parte, para la determinación de vitaminas últimamente se han ido reemplazando los métodos antiguos por métodos microbiológicos y fisicoquímicos como los cromatográficos, pero lo primordial es evitar la pérdida de vitaminas por acción de la luz y calor excesivo, una manera de protección en el almacén es el uso de envases ámbar. El procedimiento para analizar cada vitamina varía, pero en general, para vitamina A la mayoría de los métodos utilizan una saponificación antes de la extracción con un solvente orgánico adecuado. Para ello, la muestra se saponifica bajo nitrógeno utilizando una mezcla de hidróxido de potasio acuoso, etanol o metanol, agua y ácido ascórbico. Se pueden utilizar dos tipos de cromatografía: fase normal y reversa. Para la vitamina E o tocoferoles, el procedimiento incluye la saponificación alcalina bajo nitrógeno utilizando una mezcla de etanol o metanol, agua, ácido ascórbico y por último hidróxido de potasio, seguida de extracción con disolvente orgánico, se realiza el análisis por cromatografía líquida similar a vitamina A y se detecta mediante fluorescencia. Por otra parte, las vitaminas D2 y D3 son extraídas de los alimentos mediante saponificación en disolución alcohólica de hidróxido de potasio seguida de extracción con disolvente. Posteriormente se aplica cromatografía líquida normal y luego reversa utilizando un detector UV. Para la determinación de vitamina K se realiza una digestión con lipasa y extracción con hexano, posterior cromatografía normal y reversa, se detecta con UV 269 nm. Para vitamina B1 se incluye hidrólisis ácida seguida de desfosforilación enzimática de los ésteres y la cuantificación de la tiamina liberada, se detecta mediante fluorimetría después de oxidar con tiocromo (Bravo, 2013), coincidiendo éste método con las especificaciones de las normativas venezolanas.

Las normas venezolanas para vitaminas

B1 se fundamentan igualmente en la lectura fluorométrica del tiocromo formado por la oxidación en medio alcalino de la tiamina, con extracción previa por cromatografía de intercambio iónico (FONDONORMA, 1986). Por otra parte, para la vitamina A especifican que se hace por lectura espectrofotométrica a 3 longitudes de onda de los trans-retinol, los cuales se extraen por saponificación y cromatografía de partición en columna (FONDONORMA, 1985). En el caso de la vitamina C, la norma COVENIN se fundamenta en la oxidación del ácido ascórbico con el colorante 2,6-dicloroindofenol. Aparece un color rosa persistente el cual indica presencia de exceso del colorante (FONDONORMA, 1982).

Al respecto, en Ecuador la normativa indica que el análisis de vitamina A se basa en la medida de la coloración azul que se obtiene con tricloruro de antimonio en solución clorofórmica a 620 nm. La absorbancia se mide mediante el uso de un colorímetro (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 1980). Mientras que para la vitamina D, señala la normativa que se realiza la extracción de la muestra con cloroformo y se determina mediante la lectura en el espectrofotómetro 500-550 nm (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 1984).

Otros métodos para determinación de vitaminas incluyen la electroforesis, ensayos microbiológicos, inmunoensayos y biosensores (Zhang *et al.*, 2018).

Determinación de ácidos orgánicos

En otro orden de ideas, algunos ácidos de interés son el cítrico, fórmico, propiónico, láctico, acético, entre otros. Cuando se requiere una determinación sencilla en frutas o derivados donde el ácido se asume principalmente como cítrico se realiza una titulación ácido base en presencia de fenolftaleína como indicador o se utiliza un pHmetro, también aplica para

alimentos donde se conoce la presencia de ácido láctico, la diferencia radica en el peso miliequivalente del ácido (FONDONORMA, 1977). Por otra parte, Hellín *et al.* (2001) citados por Vila, 2006, realizó determinaciones de ácidos orgánicos en zumo de membrillo japones (*Chaenomeles sp.* Lindl.) utilizando un método de cromatografía líquida, empleando una columna Interaction ORH-801, usando como eluyente ácido sulfúrico 5 mM. Se utilizó un detector de índice de refracción (RID). La temperatura de la columna fue de 35 °C con un flujo isocrático de 0,6 ml/min.

Determinación de color

Aun cuando se han detallado algunos análisis, la calidad de un alimento además de los aspectos sanitarios, toxicológicos y nutricionales, se basa en parámetros: color, sabor y olor, y textura. No obstante, el primer acercamiento del consumidor al alimento es por su color, ya que relaciona lo adecuado con la aceptación o el rechazo. Los colores de los alimentos pueden ser desarrollados durante el procesamiento como las reacciones de Maillard o la caramelización; o también pueden estar presentes sustancias pigmentantes naturales o añadidas, las cuales pueden analizarse mediante métodos físicos o químicos. Badui, (2006) describe dichos análisis:

Químicamente implica la extracción del o los compuestos pigmentantes mediante solubilización en disolventes polares o no polares, según su estructura. Después se identifica mediante un barrido espectral con el que se obtienen las longitudes de onda en las que hay una absorbancia máxima. Los carotenoides, por ejemplo, absorben la energía radiante alrededor de 440 nm, mientras que las clorofilas, las antocianinas y la mioglobina lo hacen en longitudes de onda de 655, 510 y 555 nm, respectivamente. Los progresos en los últimos años sobre el análisis y separación de los pigmentos carotenoides se debe principalmente

a la introducción de nuevos métodos, tales como la fase reversa no acuosa y fluidos supercríticos, así como la detección en línea por multilongitud de onda en HPLC con detector de arreglo de diodos. La separación de los pigmentos a mayor escala puede llevarse a cabo empleando columnas empacadas con resinas de intercambio iónico, o por extracción sólido-líquido. Aunque algunos investigadores coinciden en que el método más adecuado para separar y cuantificar pigmentos es la cromatografía líquida de alta resolución, otros continúan utilizando métodos tradicionales como la cromatografía en capa fina y cromatografía en columna abierta. Una gran ventaja que tiene la separación en columna abierta es que su equipo es simple, de bajo costo, así como los reactivos y solventes que se utilizan. En contraparte, el HPLC es más caro, requiere de un cuidadoso mantenimiento, alta pureza y solventes caros. El espectro de resonancia magnética permite reconocer las características estructurales más importantes; los glucósidos (antocianinas, flavonoides, betalainas) generalmente se analizan mediante este método (p. 438).

Desde el punto de vista físico, se puede medir con un colorímetro, el método de espectrometría de reflexión se basa en tres coordenadas: el tono (rojo, azul, verde y amarillo, y combinaciones de éstos), la cromaticidad o saturación (qué tan intenso es el color) y la luminosidad (componente blanco o negro). El CIE (Comisión Internacional de la Iluminación) desarrolló un sistema basado en una fuente de iluminación y un observador estándar, sobre el que se construyó un sistema tricromático basado en la percepción del ojo humano: rojo, verde y azul, y tres parámetros: L^* _ luminosidad, a^* _ rojo a verde; b^* _ amarillo a azul (Figura 1) (Andrade, Ferreira Guiné y Conclaves, 2014). Con el espacio de color CIELAB es posible describir cualquier color. Por otra parte, existen dos magnitudes psicofísicas, el tono (h^*) y el croma (C^*), calculadas a través de fórmulas matemáticas a partir de a^* y b^* . Dicha metodología fue empleada en Venezuela por Hidalgo & García (2017) para medir color a un producto cárnico con adición de fibra cuya coloración se veía afectada, se utilizó un colorímetro HunterLAB para medir las coordenadas: Luminosidad L, a y b Calculando Croma Cr.

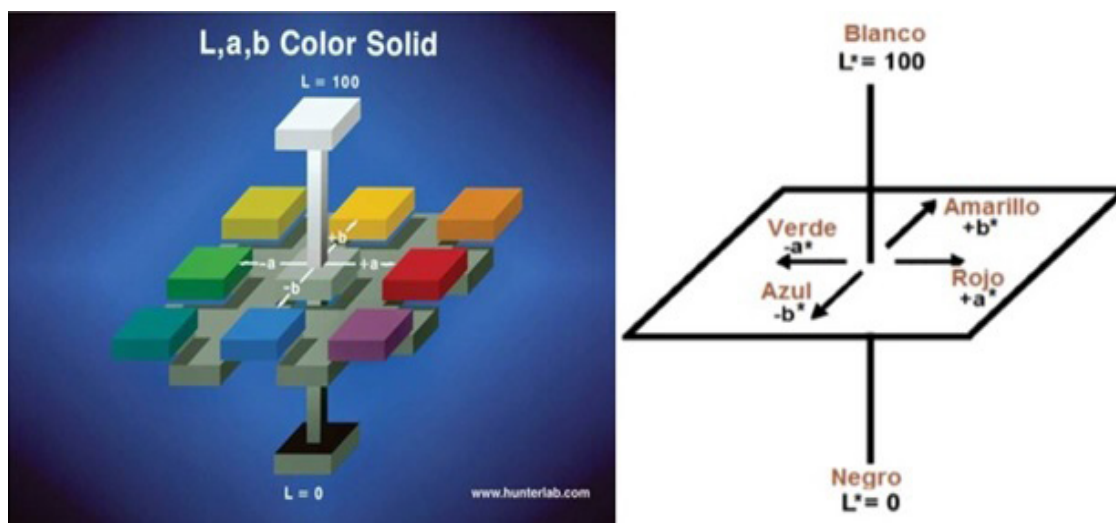


Figura 1. Espacio de color Hunter Lab. (Adaptado de Andrade, Ferreira Guiné y Conclaves, 2014).

Determinación de edulcorantes

En lo que refiere a edulcorantes, la intensidad de dulzura depende de un análisis sensorial por lo que existe discrepancia entre autores respecto al poder edulcorante, el cual además puede verse afectado por la temperatura y la concentración, por ejemplo la D-fructosa es más dulce a temperaturas bajas, fenómeno que se aprovecha en la elaboración de bebidas refrescantes que se consumen normalmente frías; la glucosa es menos dulce que la sacarosa, pero ambas causan la misma sensación a una concentración de 40% (Badui, 2006). Troncoso, (2014) explica la metodología de análisis de edulcorantes mediante cromatografía líquida de alto rendimiento HPLC. Tiene la capacidad de separar, identificar y cuantificar los compuestos que están presentes en cualquier muestra que se puede disolver en un líquido. Según Bruno *et al.* (2014) citado por Troncoso, (2014), la técnica de la cromatografía líquida (HPLC) de alta resolución con detección ultravioleta (HPLC-UV/Vis), es la comúnmente utilizada para la separación, identificación y cuantificación de endulzantes en alimentos y bebidas libre de azúcar. Junto con el HPLC-UV/Vis, se utiliza una columna, donde una sílice unida-C8, es el tipo de columna más utilizado para HPLC-UV/Vis de fase reversa, ya que, por tener una capacidad más reproducible y una amplia aplicabilidad, la cromatografía de fase reversa se utiliza en al menos 75% de los métodos de HPLC. Se usa principalmente una fase móvil de mezcla acuosa de agua con disolvente miscible, polar orgánico como acetonitrilo o

CONCLUSIONES

Los métodos de análisis de alimentos son diversos debido a que cada país establece regulaciones para realizar dichas determinaciones, sin embargo, los avances tecnológicos permiten obtener el mismo resultado en menor tiempo y con mayor precisión.

metanol. Esto garantiza la correcta interacción de analitos con la superficie de la partícula no polar o hidrófoba.

Por otra parte, Cuellar y Funes (2013), utilizaron la misma metodología para analizar acesulfame, aspartame y sucralosa indicando que el rango de la longitud de onda utilizable es de 190 a 380 nm para la espectrofotometría ultravioleta y de 380 a 780 nm para la visible. La absorción de energía en estas regiones se debe a que las moléculas contienen electrones compartidos y sin compartir que puedan excitarse a niveles de energía elevado, experimentando una transición electrónica en la capa más externa. La muestra por analizar debe tener una concentración de aproximadamente 10 µg para producir absorbancia entre 0,2 y 0,8 si se utiliza una celda de 1 cm de espesor.

Un espectrofotómetro de ultravioleta contiene una fuente emisora de radiación ultravioleta que pasa a través de un monocromador que selecciona una longitud de onda determinada que a continuación, es dividida en dos haces. Una pasa a través de una disolución que contiene el compuesto orgánico (haz de la muestra) y la otra pasa a través de la celda de referencia que contiene únicamente el disolvente (IR) y el haz de luz que atraviesa la celda que contiene el compuesto orgánico (IM). Un registrador traza una gráfica (espectro) de la absorbancia de la muestra frente a la longitud de onda y, por tanto, de un espectro UV se extrae directamente el valor de la longitud de onda máxima y de la absorbancia (Cuellar y Funes, 2013).

Los análisis de vitaminas, minerales, edulcorantes, color y ácidos orgánicos requieren de una cuantiosa inversión inicial, principalmente en equipos de cromatografía, colorímetro, entre otros, por lo cual algunas empresas toman la decisión de pagar un laboratorio privado para

que analice sus muestras, la dificultad es que la cantidad de muestras a analizar se limita por la disponibilidad de recursos.

Finalmente, es importante conocer los métodos de análisis de alimentos, en líneas generales, para la determinación de minerales se utiliza espectrometría de emisión atómica o NRIS para detección en superficie de trabajo,

para vitaminas cromatografía de fase normal y reversa, ácidos orgánicos cromatografía líquida, edulcorantes cromatografía líquida de alto rendimiento o espectrofotometría ultravioleta o visible (HPLC-UV/Vis) y para el color cromatografía líquida de alta resolución o físicamente con el uso de un colorímetro.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agüero, S. (2012). Estudio de dieta total: Determinación de sodio y potasio en alimentos consumidos por la población de Valdivia. 106. Recuperado de <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2012/faa282e/doc/faa282e.pdf>
- Andrade, S., Ferrerira Guiné, R.P. and Concalves, F. (2014). Physical-chemical properties of Corema album (white crowberry or camarinha). Recuperado de https://repositorio.ipv.pt/bitstream/10400.19/2999/1/2015_Covilha_ICEUBI_Atta_Sonia_Camarinhas.pdf
- Badui, D. S. (2006). Química de los alimentos. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.procs.2016.07.261>
- Bravo, M. (2013). Hifenaciones instrumentales entre la cromatografía líquida, diferentes sistemas detectores y nuevos métodos de pretratamiento de muestra para la determinación de vitaminas en alimentos. Recuperado de <https://www.tesisenred.net/handle/10803/128865>
- Cuellar, L., & Funes, M. (2013). Determinacion de aspartame, acesulfame k y sucralosa por espectrofotometria ultravioleta visible e infrarrojo en jugos dieteticos comercializados en el municipio de soyapango [Universidad De El Salvador Facultad]. Recuperado de <http://ri.ues.edu.sv/3269/1/16103238.pdf>
- FAO. (2017). Guías para la fortificación de alimentos con micronutrientes. Organización Mundial de la Salud, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Recuperado de <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255541/9789243594019-spa.pdf>
- FAO. (2019). Programa conjunto fao/oms sobre normas alimentarias comité del codex sobre nutrición y alimentos para regímenes especiales. Recuperado de http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/n/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FMeetings%252FCX-720-41%252FWD%252Fnf41_02s.pdf
- Fidias, A. (2006). El proyecto de investigación. Introducción a la metodología científica. En *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53, Número 9). Recuperado de <https://abacoenred.com/wp-content/>

- uploads/2019/02/El-proyecto-de-investigaci%C3%B3n-F.G.-Arias-2012-pdf-1.pdf
- inen_548.pdf
- FONDONORMA. (1977). Frutas Y Productos Derivados Determinacion De La Acidez (pp. 1-10). Recuperado de <http://www.sencamer.gob.ve/sencamer/normas/1151-77.pdf>
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. (1984). Leche y productos lacteos. Determinación del calciferol (pp. 1-8). Recuperado de <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/732.pdf>
- FONDONORMA. (1982). Determinación de Ácido Ascórbico (Vitamina C). Recuperado de <http://www.sencamer.gob.ve/sencamer/normas/1295-82.pdf>
- Patel, N.; Toledo-Alvarado, H.; Cecchinato, A.; Bittante, G. (2020). Predicting the Content of 20 Minerals in Beef by Different Portable Near-Infrared (NIR) Spectrometers. *Foods*:(9):1389. <https://doi.org/10.3390/foods9101389>
- FONDONORMA. (1985). Alimentos. Determinación de vitamina A. Recuperado de <http://www.sencamer.gob.ve/sencamer/normas/2318-85.pdf>
- Planells, E., Baró, L., Mataix, J., & Ochoa, J. (2003). Análisis de la composición mineral en alimentos congelados precocinados de consumo habitual. *Ars Pharmaceutica*, 44(4), 343-350.
- FONDONORMA. (1986). Alimentos. Determinación de vitamina B1. Recuperado de <http://www.sencamer.gob.ve/sencamer/normas/2381-86.pdf>
- Santis, A. De, Linares, L., Valeri Lenin, Hernández, G., & Medina, A. (2009). Determinación del perfil mineral para el etiquetado de alimentos de fabricación artesanal elaborados en tres Municipios del estado Mérida. *Revista de la Facultad de Farmacia*, 9-15.
- Hidalgo, L., & García, T. (2017). Evaluación de las respuestas tecnológicas de un embutido de pollo con adición de fibra. 23-28.
- Hurtado De Barrera, J. (2010). Guía para la comprensión holística de la ciencia. En Dirección de investigaciones y posgrado (Vol. 2). Recuperado de [http://dip.una.edu.ve/mpe/017metodologiaI/paginas/Hurtado,Guia para la comprensión holística de la ciencia Unidad III.pdf](http://dip.una.edu.ve/mpe/017metodologiaI/paginas/Hurtado,Guia%20para%20la%20comprensi%C3%B3n%20holistica%20de%20la%20ciencia%20Unidad%20III.pdf)
- Sosa, Z., & Torres, M. (2008). Espectrometría de Emisión Atómica. 11 de Abril, 2-12. Recuperado de <http://www2.ulpgc.es/hege/almacen/download/27/27865/tema3emisionatomica.pdf>
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. (1980). Alimentos para animales determinación de vitamina A. Recuperado de https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_
- Troncoso, P. (2014). Desarrollo y Validación de Metodología para Determinación de Edulcorantes en Alimentos [Universidad Austral de Chile]. Recuperado de <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2014/fat853d/doc/fat853d.pdf>
-

Vila, R. (2006). Caracterización físico-química del membrillo japonés (*Chaenomeles* sp. Lindl.). Desarrollo Fisiológico y Conservación Frigorífica. Tesis de Doctorado. Universidad de Murcia, España. Recuperado de <https://www.tesisenred.net/CBA0661BF0E582E5ACB9328FFE700>

Zhang Yuan, Wei-e Zhou, Jia-qing Yan, Min Liu, Yu Zhou, Xin Shen, Ying-lin Ma, Xue-song Feng, Jun Yang and Guo-hui Li. (2018). A Review of the Extraction and Determination Methods of Thirteen Essential Vitamins to the Human Body: An Update from 2010. *Molecules*, 23, 1484; doi:10.3390/molecules23061484.