

**NORMA  
VENEZOLANA**

---

---

**COVENIN  
1170-83**

**ALIMENTOS.  
DETERMINACION DE HIERRO**

**( 1<sup>ra.</sup> REVISION)**



### PROLOGO

La presente norma sustituye a la Norma Venezolana COVENIN Alimentos.  
Determinación de hierro, del año 1977.

T R A M I T E

COMITE: CT10 ALIMENTOS

PRESIDENTE: Dr. Horacio Rosales

SECRETARIA: Ing. Milagros Díaz

SUBCOMITE: SC1 ALIMENTOS PARA NIÑOS

COORDINADORA: Lic. Omaira Guaita

P A R T I C I P A N T E S

ENTIDAD

REPRESENTANTES

TECNI-ALIMENTOS C.A

Carín Soulavy

INDUSTRIAS WYETH

Wenceslao Montserratte

PRODUCTOS ALIMENTICIOS  
VENEZOLANOS (PRALVEN)

María Julia Alvarez

INDUSTRIAS HEINZ

Douglas Bruce  
Jaime Romero

MINISTERIO DE SANIDAD Y  
ASISTENCIA SOCIAL  
DIVISION HIGIENE DE LOS ALIMENTOS

Horacio Rosales

ASOCIACION DE FABRICANTES DE ALIMENTOS  
CONCENTRADOS PARA ANIMALES (AFACA)

Javier Ferradas

INSTITUTO NACIONAL DE NUTRICION

José Félix Chávez

CAMARA VENEZOLANA DE LA INDUSTRIA  
DE ALIMENTOS (CAVIDEA)

Manuel Cole Páez

ASOCIACION DE INDUSTRIALES DE LA  
CARNE (AICAR)

Emigdio Rojas

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y CRÍA

Elsa Milagros Key



NORMA VENEZOLANA  
ALIMENTOS  
DETERMINACION DE HIERRO

COVENIN  
1170-83  
(1<sup>era</sup> Revisión)

1 NORMAS COVENIN A CONSULTAR

Esta norma es completa.

2 OBJETO Y CAMPO DE APLICACION

Esta norma contempla dos métodos de ensayo para la determinación de hierro en los alimentos.

3 METODOS DE ENSAYO

3.1 METODO 1

3.1.1 Principio del ensayo

El método se basa en la reducción del hierro férrico presente en la muestra a hierro ferroso por acción de la hidroquinona. El hierro ferroso reaccionará con la ortofenantrolina para formar un complejo fenantrolina ferroso  $[(C_{12}H_8N_2)_3 Fe^{++}]$  de color rojo naranja, el cual puede formarse cuantitativamente en un margen de pH de 2 a 9. Los colores desarrollados son bastante estables y se cumple la ley de Beer.

3.1.2 Equipo de ensayo

3.1.2.1 Matracas aforados de 25, 100, 250 y 1000 ml.

3.1.2.2 Matracas Erlenmeyers de 50 ml.

3.1.2.3 Pipetas aforadas de 1, 5, 10 y 25 ml.

3.1.2.4 Cápsula de cuarzo, porcelana o platino, de fondo plano.

3.1.2.5 Embudos de vidrio de tallo largo.

3.1.2.6 Papel de filtro para filtración rápida y exento de cenizas.

3.1.2.7 Balanza analítica.

3.1.2.8 Mufla con regulador de temperatura que permita graduarla de 525°C a 550°C.

3.1.2.9 Estufa con regulador de temperatura que permita graduarla de 100°C a 110°C.

3.1.2.10 Hornilla o mechero de llama regulable.

3.1.2.11 Baño-María.

3.1.2.12 Mortero.

3.1.2.13 Espectrofotómetro o colorímetro fotoeléctrico calibrado a 480-520 nm.

3.1.2.14 Cubetas o tubos ópticamente calibrados.

### 3.1.3 Reactivos

Todos los reactivos deben conservarse en frascos de vidrio borosilicato con tapas de vidrio esmerilado. Todas las diluciones de los reactivos deben prepararse con agua bidestilada. A menos que se indique lo contrario las soluciones serán acuosas.

3.1.3.1 Acido acético ( $C_2H_4O_2$ ), para análisis.

3.1.3.2 Solución de ácido acético 2M. Se diluyen 120 g de ácido acético en un litro de agua.

3.1.3.3 Solución de hidróxido de sodio al 0,05%.

3.1.3.4 Solución indicadora de azul de bromofenol. Se tritura 0,1 g de azul de bromofenol para análisis con 3 ml de NaOH al 0,05%, se transfiere a un matraz aforado de 250 ml y se lleva a volumen con agua.

3.1.3.5 Acetato de sodio trihidratado ( $CH_3COONa \cdot 3H_2O$ ), para análisis.

3.1.3.6 Solución de acetato de sodio 2M. Se disuelven 272 g de acetato de sodio trihidratado en agua, en un matraz aforado de 1000 ml y se lleva a volumen.

3.1.3.7 Solución tampón de pH 3,5. Se mezclan 6,4 ml de solución de acetato de sodio 2M con 96,6 ml de ácido acético 2M en un matraz aforado de 1000 ml y se lleva a volumen.

3.1.3.8 Solución tampón de pH 4,5. Se mezclan 43 ml de solución de acetato de sodio 2M con 57 ml de ácido acético 2M en un matraz aforado de 1000 ml y se lleva a volumen.

3.1.3.9 Solución de hidroquinona. Se disuelve 1 g de hidroquinona en 100 ml de solución tampón de pH 4,5. Se mantiene bajo refrigeración y cuando se torne amarilla se descarta.

3.1.3.10 Solución de O-fenantrolina. Se disuelven 10 g de ortofenantrolina en agua, calentando ligeramente y luego se lleva a 100 ml. Se mantiene en la oscuridad y si se forma cualquier color se descarta.

3.1.3.11 Hierro electrolítico o una sal de hierro patrón primario.

3.1.3.12 Solución de ácido sulfúrico al 50%.

3.1.3.13 Solución patrón de hierro (1 mg Fe/ml). Se disuelve 1 g de hierro electrolítico en 50 ml de  $H_2SO_4$  al 50%, calentando suavemente en la hornilla y bajo campana. Se deja enfriar y se transfiere cuantitativamente a un matraz aforado de 1000 ml y se lleva a volumen. Esta solución es estable a temperatura ambiente.

3.1.3.14 Solución de trabajo ( $1 \mu g/ml$ ).

Se transfiere 1 ml de la solución patrón de hierro (3.1.3.13) a un matraz aforado de 1000 ml y se lleva a volumen. Esta solución se prepara antes de hacer la determinación.

3.1.3.15 Acido clorhídrico concentrado ( $HCl$ ,  $d = 1,19 g/ml$ ), para análisis.

### 3.1.3.16 Solución de ácido clorhídrico (1:1).

#### 3.1.4 Procedimiento

3.1.4.1 El material a ensayar es una muestra representativa del alimento. La cantidad de muestra recomendada es la siguiente:

- a) Pescados y sus derivados: La cantidad de muestra debe ser tal que produzca al menos 2 g de materia seca (muestra desprovista de humedad).
- b) Cereales, leche y queso: de 3 a 5 g de muestra o una cantidad suficiente para obtener de 0,20 a 0,30 g de cenizas.
- c) Azúcares y sus derivados, carnes y sus derivados y productos vegetales: de 5 a 10 g de muestra.
- d) Jugos de frutas: 25 ml de muestra.
- e) Jaleas, jarabes y mermeladas: 10 g de muestra.

NOTA: Según las características del alimento de que se trate, puede que haya alguna variación en cuanto al método, lo cual será contemplado en la norma respectiva.

#### 3.1.4.2 Preparación de la muestra

##### 3.1.4.2.1 Obtención de las cenizas

- a) En la cápsula (3.1.2.4) previamente incinerada y tarada, se pesa la cantidad adecuada de muestra (en el caso de materia vegetal con alto contenido de hierro deben usarse crisoles de porcelana y hacerse determinaciones en blanco).
- b) Se seca en estufa a 100°C - 110°C, durante la noche, a fin de eliminar el agua presente en la muestra.
- c) Se agregan unas gotas de aceite de oliva o ajonjolí, se calienta cuidadosamente en el mechero con la llama muy suave al comienzo y

luego con la llama mas fuerte y el crisol inclinado, hasta que la muestra se carbonice completamente, Se tapa el crisol, se coloca en la mufla a 525°C y se incinera durante la noche, hasta que se obtenga un residuo (cenizas) blanco, gris pálido o amarillento.

d) Las cenizas frías se humedecen con un poco de agua, se secan en baño-maría y luego en la plancha de calentamiento. Se incinera de nuevo en la mufla a 525°C hasta obtener peso constante (4 horas aproximadamente).

3.1.4.2.2 Preparación de la solución de cenizas (sirve para la determinación de hierro y fósforo).

a) Las cenizas obtenidas (3.1.4.2.1-d) se humedecen con 5 ml de solución de HCl (1:1), se calientan hasta sequedad en la hornilla con la temperatura más baja (o en baño maría aproximadamente 2 horas) a fin de deshidratar los silicatos y hacerlos insolubles.

b) Se agregan 5 ml de HCl (1:1) y se calienta suavemente en baño maría o en la hornilla durante 30 min, a fin de hidrolizar los pirofosfatos a ortofosfatos para que no interfieran en la determinación de hierro.

c) Se filtra la solución a través de papel de filtro a un matraz aforado de 1000 ml. (Este paso es opcional).

d) Se incinera el papel con las cenizas **insolubles** en el mismo crisol. A estas cenizas se agregan 5 ml de HCl (1:1) y se calientan algunos minutos en la hornilla.

e) Se filtra a través de papel de filtro con el mismo embudo y el mismo matraz aforado, filtrando también las aguas de lavado del crisol.

f) Por último se lava bien el papel de filtro y el tallo del embudo y se lleva a volumen. La solución así obtenida es la solución de cenizas.

### 3.1.4.3 Determinación

3.1.4.3.1 Con la pipeta se transfieren dos alícuotas iguales (2 a 10 ml) de la solución de cenizas, (que contienen de 10 a 40  $\mu$ g de hierro), a un matraz aforado de 25 ml y a un matraz Erlenmeyer de 50 ml respectivamente. Paralelamente se prepara un blanco de reactivos utilizando agua bidestilada en lugar de la solución de cenizas y siguiendo el mismo procedimiento, pero utilizando 0,5 ml de solución tampón de pH 3,5 (3.1.3.7) en lugar del acetato de sodio.

3.1.4.3.2 Se agregan 5 gotas de la solución indicadora de azul de bromofenol (3.1.3.4) a la alícuota contenida en el matraz Erlenmeyer y se titula con la solución de acetato de sodio (3.1.3.6) hasta que el color sea igual al color obtenido con un volumen de solución tampón de pH 3,5 igual al de la alícuota de la solución de cenizas y con la misma cantidad de solución indicadora.

3.1.4.3.3 A la alícuota contenida en el matraz aforado se agrega 1 ml de solución de hidroquinona (3.1.3.9), 2 ml de la solución de o-fenantrolina y la misma cantidad de acetato de sodio que se gastó para titular la alícuota contenida en el matraz Erlenmeyer.

3.1.4.3.4 Se lleva a volumen, se mezcla y se deja en reposo durante una hora en la oscuridad.

3.1.4.3.5 Con el blanco de reactivos se calibra el espectrofotómetro a 100% de transmitancia y a continuación se hace la lectura correspondiente a la muestra, a 515 nm.

3.1.4.3.6 Si el color obtenido es demasiado intenso para hacer la lectura, se repite la determinación utilizando una alícuota más pequeña de la solución de cenizas (3.1.4.2.2) y la diferencia de volumen se compensa con agua bidestilada (si la alícuota es menor de 25 ml se lleva a este volumen con agua bidestilada).

La relación de volúmenes del blanco y de la muestra debe mantenerse constante.

#### 3.1.4.4 Preparación de la curva patrón.

3.1.4.4.1 A partir de la solución de trabajo de hierro (3.1.3.14) se transfieren alícuotas de 2, 3, 5 y 6 ml a matraces aforados de 25 ml.. Se sigue el mismo procedimiento que para las muestras, omitiendo la adición de acetato de sodio, en cuyo lugar se agregan 0,5 ml de solución tampón de pH 3,5.

3.1.4.4.2 Con los valores de absorbancia obtenidos para los patrones se construye un gráfico de absorbancia contra microgramos de hierro en papel milimetrado. Si las lecturas son en porcentaje de transmitancia, se usa papel semilogarítmico y se grafica transmitancia sobre la escala logarítmica. Como generalmente hay alguna desviación de la linealidad, las lecturas para la muestra deben hacerse en la parte recta de la curva.

NOTA 1: Todo el material de vidrio, incluyendo las pipetas, deben enjuagarse cuidadosamente con agua bidestilada antes del ensayo.

NOTA 2: La porción del material de vidrio que está en contacto con la muestra no debe dejarse en contacto con cualquier otra superficie que pueda causar contaminación (gradillas, estantes, mesas, manos del analista, etc.).

#### 3.1.5 Expresión de los resultados

3.1.5.1 Utilizando la curva patrón y el valor de transmitancia o absorbancia obtenido para la muestra, se determina el contenido de hierro mediante la siguiente expresión:

$$\mu\text{g Fe}/100 \text{ g de muestra} = \frac{f \times V \times 100 \times 100}{P \times V_0 \times 1000}$$

Donde:

f = contenido de hierro en la alícuota de la solución de cenizas de la muestra, determinado a partir del gráfico de calibración, en microgramos.

P = masa de la muestra utilizada para la determinación de cenizas, en gramos.

V = volumen total de la solución de cenizas, en mililitros.

V<sub>0</sub> = volumen de la alícuota de la solución de cenizas tomada para el análisis, en mililitros.

## 3.2 METODO 2

### 3.2.1 Equipo de ensayo

3.2.1.1 Balanza analítica.

3.2.1.2 Matraces aforados de 25, 50 y 1000 ml.

3.2.1.3 Cápsulas de porcelana.

3.2.1.4 Mufla.

3.2.1.5 Cilindro graduado, de 100 ml.

3.2.1.6 Baño-María.

3.2.1.7 Papel de filtro de filtración lenta con un 0,01% de cenizas, para retención de cristales finos.

3.2.1.8 Pipetas graduadas de 10 ml.

3.2.1.9 Espectrofotómetro o colorímetro, calibrado a 470 nm.

### 3.2.2 Reactivos

3.2.2.1 Sulfato doble de hierro y amonio dodecahidratado

$[\text{Fe}(\text{NH}_4)(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}]$  para análisis.

3.2.2.2 Acido sulfúrico concentrado ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 98% de pureza), para análisis.

3.2.2.3 Solución de ácido sulfúrico al 10%.

3.2.2.4 Solución patrón de hierro (0,1 mg Fe/ml). Se pesan 863,4 mg de sulfato férrico amónico (3.2.2.1), se añaden 10 ml de solución de ácido sulfúrico (3.2.2.3) en un matraz aforado de 1000 ml y se lleva a volumen con agua destilada.

3.2.2.5 Acido clorhídrico concentrado ( $\text{HCl}$ ,  $d = 1,19 \text{ g/ml}$ ), para análisis.

3.2.2.6 Solución de ácido clorhídrico al 10%.

3.2.2.7 Persulfato de amonio o de potasio  $\left[ (\text{NH}_4)_2 \text{S}_2\text{O}_8 \right]$  o  $(\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8)$  para análisis.

3.2.2.8 Solución de persulfato de amonio o de potasio al 1%.

3.2.2.9 Tiocianato de amonio  $\left[ \text{SCN}(\text{NH}_4) \right]$ , para análisis.

3.2.2.10 Solución de tiocianato de amonio al 8%.

### 3.2.3 Procedimiento

3.2.3.1 Se pesa una cantidad de muestra tal que contenga 1,5 mg de hierro, en una cápsula de porcelana.

3.2.3.2 Se incinera a  $500^\circ\text{C}$ , hasta la obtención de cenizas blancas.

3.2.3.3 Se deja enfriar y se añaden 5 ml de ácido clorhídrico (3.2.2.5) lentamente, tratando de disolver las cenizas.

3.2.3.4 Se evapora a sequedad en baño maría bajo campana. Se repite la operación con otros 5 ml de ácido clorhídrico (3.2.2.5) y se evapora.

3.2.3.5 Se retoma el residuo con aproximadamente 10 ml de solución de ácido clorhídrico (3.2.2.6) y se transfiere cuantitativamente a un matraz aforado de 25 ml y se lleva a volumen con agua destilada.

3.2.3.6 Se filtra la solución a través de papel de filtro (3.2.1.7), se añaden 10 ml de esta solución (que contiene 0,30 mg Fe) en un matraz aforado de 50 ml, se añaden 4 ml de solución de persulfato de amonio o potasio (3.2.2.8), 3 ml de la solución de tiocianato de amonio (3.2.2.10) y se lleva a volumen con agua destilada. Esta es la solución A o solución de muestra.

3.2.3.7 En un matraz aforado de 50 ml se añaden 3 ml de solución patrón (3.2.2.4), 4 ml de solución de persulfato de amonio o potasio (3.2.2.8), 3 ml de la solución de tiocianato de amonio (3.2.2.10) y

se lleva a volumen con agua destilada. Esta es la solución B o solución patrón.

3.2.3.8 En un matraz aforado se añaden 4 ml de solución de persulfato de amonio o potasio (3.2.2.8), 3 ml de la solución de tiocianato de amonio (3.2.2.10) y se lleva a volumen con agua destilada. Esta es la solución del blanco.

3.2.3.9 Se hacen las lecturas a 470 nm en el espectrofotómetro o colorímetro (3.2.1.9).

#### 3.2.4 Expresión de los resultados

El contenido de hierro en la muestra, se determina mediante la siguiente expresión:

$$\text{mg Fe/ml} = \frac{L_m}{L_p} \times C_p$$

Dónde:

$L_m$  = Lectura de absorbancia de la solución de muestra.

$L_p$  = Lectura de absorbancia de la solución patrón.

$C_p$  = Concentración de la solución patrón, en mg/ml.

#### 4 INFORME

El informe del ensayo debe contener como mínimo la siguiente información:

4.1 Ensayo realizado según la norma COVENIN Nº 1170.

4.2 Fecha en la cual se realizó el ensayo.

4.3 Identificación de la muestra.

4.4 Resultados del ensayo.

4.5 Observaciones.

4.6 Realizado por:

BIBLIOGRAFIA

- AOAC 1980 Official Methods of Analysis Association of Official Analytical Chemists. 13 th edition.  
Washington D.C. pág 212 sección 14011
- Andrews J.S.C. Felt (1941) Cereal Chem 18: 819
- Bernhart, F.W & L. Skegge (1943) J. Biol Chem 147:19
- Horwe. M (1944) Cereal Chem 21: 412
- Pye D.F (1944) Columbia University Desertation
- U.S.P (1980) 20 th edition pág 910.

**COVENIN**  
**1170-83**

**CATEGORIA**  
**C**

---

---

**COMISION VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES**  
**MINISTERIO DE FOMENTO**

**Av. Andrés Bello Edif. Torre Fondo Común Pisos 11 y 12**

**Telf. 575. 41. 11 Fax: 574. 13. 12**

**CARACAS**

publicación de:



**CDU 543.062:546.72**

RESERVADOS TODOS LOS DERECHOS

Prohibida la reproducción total o parcial, por cualquier medio.

---

---