

# VALIDACIÓN INTRALABORATORIO DE UNA METODOLOGÍA ANALÍTICA POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV/VIS PARA EVALUAR EL POTENCIAL IRRITANTE OCULAR DE TENSOACTIVOS EN GLÓBULOS ROJOS

INTRALABORATORY VALIDATION OF AN ANALYTICAL METHODOLOGY BY  
UV/VIS SPECTROMETRY IN ORDER TO EVALUATE THE OCULAR IRRITANT  
POTENTIAL OF TENSOACTIVES IN RED BLOOD CELLS

Luz A. LEGUIZAMÓN B. <sup>1</sup>, Ever A. HERRERA C. <sup>1</sup>, Jorge A. MARTÍNEZ R. <sup>1</sup>,  
María C. LOZANO A. <sup>1\*</sup>

Recibido: Febrero 05 de 2010 Aceptado: Noviembre 24 de 2010

## RESUMEN

Se presentan los resultados de la validación intralaboratorio para los parámetros de linealidad, repetibilidad y precisión intermedia del ensayo en glóbulos rojos, metodología *in vitro* empleada para evaluar la irritación ocular. Este ensayo evaluó los efectos nocivos de los tensoactivos sobre membranas y proteínas celulares, y constituye así una alternativa al test de Draize. A través de espectrofotometría UV/VIS a 577 nm se midió la hemoglobina liberada tras la lisis de los glóbulos rojos, estimando la concentración hemolítica 50 (CH<sub>50</sub>), que constituye un indicador del daño celular ocasionado por el tensoactivo. El ensayo también consideró la desnaturalización de hemoglobina, causada por altas concentraciones del tensoactivo, por la relación de absorbancias a 542 y 577 nm, estimando el índice de desnaturalización (ID). La relación CH<sub>50</sub>/ID es un indicador cuantitativo del potencial irritante del dodecilsulfato de sodio (SDS), surfactante con el que se validó este ensayo. Se logró la validación de los parámetros señalados y se ofrece una metodología confiable y de fácil ejecución, alternativa al uso de animales, para evaluar la irritación ocular de tensoactivos.

**Palabras clave:** dodecilsulfato de sodio, agentes tensoactivos, hemólisis, estudios de validación, alternativas a las pruebas en animales.

## ABSTRACT

Red blood cell assay (RBC) intralaboratory validation was presented, specifically for linearity, repeatability and intermediate precision. RBC is an *in vitro* methodology employed for ocular irritation evaluation measuring surfactants adverse effects on cell membranes and proteins and is an alternative for Draize ocular test. Free hemoglobin after red blood cell lysis was determined through spectrometry at 577 nm in order to estimate medium hemolytic concentration (HC<sub>50</sub>) indicating cell damage by surfactant. Also hemoglobin denaturation induced by high concentrations of surfactants was considered measuring denaturation index (DI) through absorbance ratio at 542 and 577 determinations. HC<sub>50</sub>/DI is an indicator of the dodecylsulphate (SDS) irritant potential, surfactant used in order to validate this assay. Parameters previously mentioned were validated and we present an easy and reliable alternative methodology for animal experimentation to assess surfactants ocular irritation for SDS.

**Keywords:** Sodium dodecylsulphate, surfactants, hemolysis, validation studies, animal testing alternatives.

<sup>1</sup> Grupo en Investigaciones Toxicológicas, Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá D.C., Colombia.

\* Autor a quien se debe dirigir la correspondencia: mlozanoa@unal.edu.co

## INTRODUCCIÓN

Previamente a la exposición de los seres humanos a sustancias químicas, éstas deben ser valoradas para determinar su seguridad, por medio de pruebas que tradicionalmente se han desarrollado en animales (1). Dentro de estas pruebas es común evaluar la irritación ocular con el test de Draize, el cual ha suscitado una gran controversia ética ya que se realiza en conejos albinos conscientes (2). En la actualidad son importantes los esfuerzos orientados a implementar alternativas en este tipo de evaluaciones, máxime si se tiene en cuenta que las regulaciones de algunos países, particularmente los europeos, establecen prohibiciones al empleo de animales para valorar la seguridad de cosméticos, productos en los que se demanda la evaluación de la irritación ocular (3).

Dentro de los compuestos a los cuales se les debe valorar su capacidad irritante están los tensoactivos, importantes ingredientes de un gran número de productos farmacéuticos y cosméticos que, dada su naturaleza química, poseen alta afinidad por las membranas celulares, cuya estructura alteran, ocasionando efectos adversos en la piel y las mucosas (4). Una alternativa ampliamente aceptada al test de Draize, que evalúa la irritación ocular de tensoactivos, es el ensayo en glóbulos rojos (RBC, por sus siglas en inglés), en el que se determina la hemólisis en presencia de surfactantes y la capacidad de estas sustancias para producir desnaturación proteica (5). Estas manifestaciones se relacionan con reacciones celulares propias de la irritación, que pueden conducir a respuestas inflamatorias y cambios en la conformación de cadenas polipeptídicas; tales eventos ocurren, por ejemplo, en la opacidad corneal después del contacto con productos químicos (6, 7).

El ensayo RBC, desarrollado a través de espectrofotometría, usa la hemoglobina (Hb) liberada en la hemólisis como indicador para determinar cuantitativamente la concentración a la cual el tensoactivo destruye la membrana celular en el 50% de los glóbulos rojos (concentración hemolítica media -  $CH_{50}$ ). El ensayo también considera la desnaturación de Hb libre (índice de desnaturación -ID), que ocasionan las altas concentraciones de tensoactivo. La relación  $CH_{50}/ID$  puede determinarse para cada agente, relacionando su capacidad para lesionar la membrana celular, y de esta manera se logra una clasificación de su potencial irritante (6). De esta forma, el ensayo es una alternativa al

test de irritación ocular de Draize para los efectos agudos de las formulaciones e ingredientes con base en surfactantes (5).

El RBC es un ensayo económico que no requiere equipos especiales y constituye una metodología rápida para evaluar la irritación ocular de tensoactivos (7). Además y, aunque no como alternativa oficial, hace parte de las recomendaciones del Banco de Datos de Técnicas *in vitro* en Toxicología (INVITTOX, por sus siglas en inglés) y se considera una técnica de amplia aceptación (5, 8). Sin embargo, para considerar fidedignos los resultados que arroja este tipo de pruebas, es necesario estandarizar y validar la metodología, proceso en el que se establece la fiabilidad (reproducibilidad de un método en un laboratorio y entre laboratorios), y la relevancia (capacidad de predicción y correlación respecto a resultados *in vivo*, aplicabilidad y limitaciones) de una metodología para un propósito en particular (9). La validación de una metodología alternativa difiere en varios aspectos de la de una metodología analítica de cuantificación convencional, pero mantiene de forma estricta muchos parámetros, como la precisión, la linealidad, límites de cuantificación, precisión intermedia y repetibilidad (8, 10, 11).

El presente trabajo describe la validación intralaboratorio del RBC, evaluando los parámetros de linealidad, repetibilidad y precisión intermedia y empleando como tensoactivo prototipo y patrón de relación el dodecilsulfato de sodio (SDS).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Ensayo en glóbulos rojos

Todos los análisis se realizaron en un espectrofotómetro UV/VIS, ATI Unicam<sup>®</sup>, con un rango de absorbancia entre 0,000 y 2,000, ancho de banda de 2 nm, integración de 1s y celdas de 1 cm de espesor. El procedimiento para el RBC se siguió, salvo algunas modificaciones, de acuerdo con la metodología propuesta por Pape *et al.*, 1990 (6), que se describe a continuación:

#### *Preparación de los glóbulos rojos y ajuste de oxihemoglobina*

Se colectó sangre de terneros sanos no medicados (6 meses de edad), en viales de polietileno con buffer citrato como anticoagulante; posteriormente, por centrifugación a 1500 g por 15 minutos, se aislaron los glóbulos rojos (GR) y se lavaron tres veces con PBS (buffer salino de fosfato). Esta

suspensión se almacenó a 8°C, máximo por una semana. Previamente a los ensayos de hemólisis y desnaturalización, se ajustó espectrofotométricamente la concentración de oxihemoglobina (HbO<sub>2</sub>) a un valor de 0,122 ± 0,003 mmol/L, para lo cual se tuvo en cuenta el coeficiente de extinción molar (1,59x10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup>\*cm<sup>-1</sup> a 576 nm) (12).

#### *Hemólisis*

Para el ensayo de hemólisis se incubó la suspensión de GR con diferentes concentraciones de SDS (5, 10, 20, 40, 80, 100, 200, 400, 600 y 1000 ppm) en proporción 1:1, por 10 minutos, a temperatura ambiente, en constante agitación. Para detener la incubación se centrifugó por un minuto a 10000 rpm en microcentrífuga para tubos Eppendorf (centrífuga 5702 Eppendorf) y se monitoreó la concentración de HbO<sub>2</sub> en el sobrenadante a 577 nm, definiendo previamente el espectro de absorción molecular entre 500 y 650 nm. Se determinó la CH<sub>50</sub> ajustando la liberación total de Hb al 100% con la liberación fraccional ocasionada por cada concentración de la sustancia de prueba, expresada como porcentaje relativo de la liberación máxima de Hb.

#### *Desnaturalización de proteínas*

El tensoactivo, a una concentración del 1%, fue incubado con los GR bajo las mismas condiciones que se emplearon en la hemólisis. Como patrón interno de desnaturalización total se tomó una concentración de SDS de 3,47 mmol/L (1000 ppm); el sobrenadante fue monitoreado a 542 y 577 nm.

Para el análisis de los resultados, la absorbancia a 577 nm se dividió por la absorbancia a 542 nm, obteniendo la relación α/β, que se usó para calcular el índice de desnaturalización (ID) de Hb mediante la siguiente ecuación:

$$ID = 100 (R1 - Ri) / (R1 - R2) (\%) \quad \text{Ecuación 1.}$$

donde R1: relación α/β para HbO<sub>2</sub> sin emplear tensoactivo; R2: relación α/β para estándar interno (SDS 3,47 mmol/L); R1- R2: desnaturalización total de HbO<sub>2</sub>; Ri: relación α/β para la sustancia evaluada; R1 – Ri: desnaturalización debida al tensoactivo.

#### *Cálculo del índice de irritación*

La relación CH<sub>50</sub>/ID se emplea como medida del potencial de irritación ocular de acuerdo con la siguiente clasificación: CH<sub>50</sub>/ID > 100 – no irritante; CH<sub>50</sub>/ID >10 –levemente irritante; CH<sub>50</sub>/ID

> 1 - moderadamente irritante; CH<sub>50</sub>/ID > 0,1 – irritante; CH<sub>50</sub>/ID < 0,1 – muy irritante.

### **Validación de la metodología analítica**

#### *Linealidad*

Con el propósito de corroborar la correlación entre la absorbancia de HbO<sub>2</sub> y su concentración, se efectuó una curva de calibración en tres diferentes niveles (0,010, 0,051 y 0,120 mmol/L), con cuatro réplicas. Evaluadores estadísticos: ANOVA, análisis de la regresión y de correlación.

#### *Repetibilidad*

Se estimó mediante el coeficiente de variación promedio ponderado (RSDp), desarrollando la metodología completa en un mismo día, con los mismos reactivos y el mismo analista. Evaluador estadístico: RSDp, obtenido a partir del test de Cochran.

#### *Precisión intermedia*

Este parámetro se valoró mediante la diferencia estadística de los resultados obtenidos al desarrollar la metodología, variando el día, el analista y con 4 réplicas. Evaluador estadístico: análisis estadístico ANOVA.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Ajuste de oxihemoglobina y linealidad**

La linealidad, establecida por mínimos cuadrados para diferentes concentraciones de HbO<sub>2</sub> a una λ de 577 nm, dio como resultado la ecuación de la curva:

$$y = 14,453x + 0,1684 \quad R^2 = 0,9781 \quad \text{Ecuación 2.}$$

Con esta curva de calibración se demuestra el cumplimiento de la ley de Lambert-Beer en un rango de absorbancia de 0,000 a 2,000, dado que al ajustar la HbO<sub>2</sub> a 0,122 mmol/L, concentración empleada para los ensayos de hemólisis y desnaturalización, la absorbancia corresponde aproximadamente a 1,9. El ajuste de HbO<sub>2</sub> permite estandarizar la concentración de la suspensión de GR para cada uno de los ensayos sucesivos (6-8).

En la tabla 1 se reportan los valores experimentales para intercepto y pendiente, así como los valores de t para la prueba de t de Student con 10 grados de libertad y una probabilidad de error del 5%;

así mismo se muestran los límites calculados de acuerdo al error estándar de cada uno. Los valores experimentales de  $t$  indican convergencia al origen ( $t$  experimental  $<$   $t$  de la tabla), un valor de pendiente significativamente diferente a cero ( $t$  experimental  $>$   $t$  de la tabla) y una correlación entre las variables dependientes y las independientes ( $t$  experimental  $>$   $t$  de la tabla). El cero se encuentra dentro de los límites calculados para el intercepto. El valor experimental de Fisher para el análisis de varianza es mayor al  $F$  de la tabla, para los correspondientes grados de libertad ( $F_{exp}$ : 72,22,  $F_{tab}$ : 4,96 (gl1: 1, gl2: 10,  $\alpha$ : 0,05)) e indica una regresión significativa. De esta manera se demostró la capacidad de la metodología analítica de brindar una respuesta directamente proporcional a la concentración del analito en la muestra dentro de un rango definido, acorde al intervalo de concentraciones de trabajo.

**Tabla 1.** Resultados del  $t$  de Student para intercepto y pendiente de la curva de calibración de  $HbO_2$  ( $t$  de la tabla<sub>(gl:10,  $\alpha$ : 0,05)</sub>: 2,228).

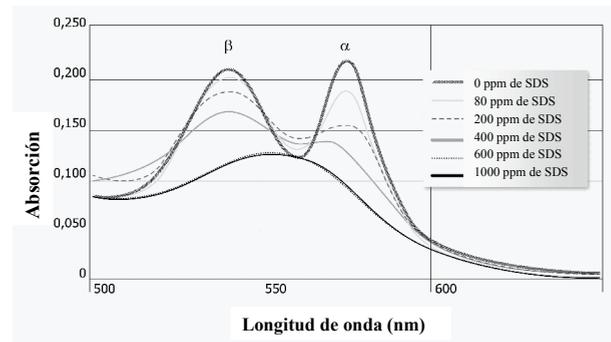
Parámetro	Valor experimental	Intervalo de confianza	$t$ experimental
Intercepto	0,1684	-0,1179 – 0,4548	1,31
Pendiente	14,453	10,660 – 18,245	8,49
Correlación	-	-	142,67

### Hemólisis

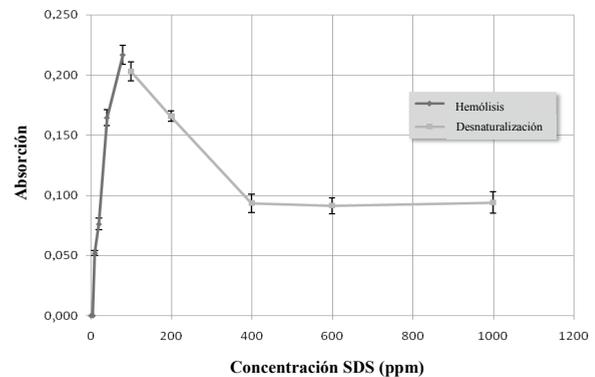
En la figura 1 se muestran los cambios espectrofotométricos de absorción de  $HbO_2$  ante diferentes concentraciones de SDS. Se definen claramente dos máximos de absorción (uno a 542 y otro a 577 nm), siendo mayor a 577 nm cuando se emplean bajas concentraciones de SDS, invirtiendo su comportamiento a concentraciones altas del surfactante (mayores a 80 ppm). Los espectros de absorción a concentraciones de 600 y 1000 ppm no presentan los máximos de absorción característicos a las longitudes de onda mencionadas y tampoco se interceptan con las demás. Allí es claro el fenómeno de desnaturalización de proteínas, lo que hace que disminuya la absorción de la  $HbO_2$ .

Aunque varios autores recomiendan otras longitudes de onda para monitorear hemólisis (6–8, 13–15), en esta investigación se seleccionó 577 nm para ajustar la  $HbO_2$  y determinar la  $CH_{50}$  ya que, además de ser éste un pico de alta absorción, en esta longitud de onda se visualiza con claridad el límite entre la hemólisis y la desnaturalización, tal

como se aprecia en la figura 2, lo cual no ocurre con otras longitudes evaluadas (resultados no mostrados). Además, Kirschenbaum, 1978 (12) reporta diferentes valores para el coeficiente de extinción molar de  $HbO_2$ , siendo 576,5 nm el más cercano a nuestros resultados.



**Figura 1.** Cambios espectrofotométricos en la absorción de  $Hb$ , evaluados bajo concentraciones crecientes de SDS.



**Figura 2.** Hemólisis determinada por los cambios en la absorción de  $Hb$  bajo diferentes concentraciones de SDS a  $\lambda$  577 nm.

La figura 2 señala los cambios en la absorción, inducidos por concentraciones crecientes de SDS. A partir de 10 ppm empieza a hacerse evidente el efecto del tensoactivo sobre las membranas de los GR, liberándose la  $Hb$  y aumentando su absorción hasta llegar a un máximo en 80 ppm, concentración a la cual la hemólisis es del 100%. A partir de esta concentración de SDS, la absorbancia empieza a disminuir, y se inicia la desnaturalización de las proteínas, que se hace máxima en 400 ppm, momento en el cual el tensoactivo no tiene más proteínas por desnaturalizar.

Con la relación dosis-respuesta establecida en la hemólisis, se calculó una  $CH_{50}$  de 21,3 ppm. En las validaciones que realizaron Pape *et al.*, 1990 (6,

7) y Martínez *et al.* 2006 (15), la  $CH_{50}$  para el SDS fue de 29,0 ppm y 43,6 ppm respectivamente. Estas diferencias seguramente obedecen a variaciones en las condiciones de experimentación entre laboratorios. Nuestros resultados son más cercanos a los obtenidos por los creadores de la metodología (6, 7).

La hemólisis ocurre por la interacción entre los fosfolípidos de la membrana celular y los aniones del SDS (16, 17), conduciendo a la liberación del pigmento natural Hb, cuyas cargas y enlaces dobles le brindan la propiedad de absorber al UV/VIS (18); se establece de esta manera el principio del ensayo RBC para la determinación de hemólisis.

#### Desnaturalización de proteínas

En la figura 2 se aprecia que la desnaturalización de la Hb se hace total a partir de 400 ppm. El ensayo RBC establece una concentración del tensoactivo del 1% (10000 ppm) para valorar la desnaturalización, con lo cual se garantiza que ésta sea total. Además, en esta técnica, el estándar interno es el SDS 3,47 mmol/L (1000 ppm), reconociéndose que este tensoactivo genera desnaturalización completa, incluso en concentraciones 10 veces inferiores a la evaluada. La desnaturalización proteica ocurre por perturbación de las interacciones hidrofóbicas y electrostáticas de las proteínas, ocasionada por el SDS (18).

En la presente investigación, el ID del SDS fue  $99,90 \pm 2,18$  y la relación  $CH_{50}/ID$  fue  $0,21 \pm 0,01$ , clasificándose este surfactante como irritante, lo cual concuerda con lo reportado por los creadores de la metodología (6).

#### Repetibilidad

El test de Cochran que se aplicó para esta metodología indica que para todas las longitudes de onda no se rechaza la hipótesis de varianzas equivalentes, lo que sugiere que la varianza de los resultados es independiente de la concentración de surfactante analizada. Tal como se evidencia en la tabla 2, la variación en el resultado de absorbancia en los ensayos de hemólisis y de desnaturalización, permitió obtener unos RSDp considerablemente inferiores al valor máximo permitido para sustancias de origen biológico, que es del 15% (19), lo que brinda un primer nivel de precisión confiable para esta metodología *in vitro*.

**Tabla 2.** Coeficiente de variación ponderado para análisis de repetibilidad para SDS. (Hemólisis: n: 3, k: 10, N: 30; Desnaturalización: n: 4, k: 5, N: 20;  $G_{exp}$ : indicador de varianzas equivalentes experimental).

REPETIBILIDAD							
Hemólisis				Desnaturalización			
$\lambda$ (nm)	RSDp	$G_{exp}$	$G_{tab}$	$\lambda$ (nm)	RSDp	$G_{exp}$	$G_{tab}$
577	3,141	0,302	0,445	542	2,414	0,465	0,598
				577	3,290	0,496	0,598

#### Precisión intermedia

Partiendo del anterior análisis es posible la aplicación de un ANOVA para evaluar la precisión intermedia a cualquier nivel de concentración de SDS. Los resultados de este análisis muestran que el valor experimental de Fisher en la prueba de hemólisis es menor al F de la tabla en los tres parámetros evaluados, analista, día y réplica ( $F_{exp}$  0,49; 1,02 y 0,01 frente a  $F_{tab}$  de 4,96 4,96 y 3,71 respectivamente, para analista, día y réplica); lo mismo ocurre en la prueba de desnaturalización ( $F_{exp}$  0,17; 1,12 y 0,39 frente a  $F_{tab}$  de 4,96; 4,96 y 3,71 respectivamente, para analista, día y réplica). Lo anterior no indica una regresión significativa y existe evidencia estadística suficiente para señalar que los cambios en cuanto a analista, día y número de réplicas no causan una variación considerable en la respuesta para el SDS.

## CONCLUSIONES

En el marco de las actuales tendencias en materia de regulación es importante contar con alternativas al uso de animales de experimentación para valorar la seguridad de sustancias y formulaciones. Con este estudio se logró la validación intralaboratorio de una metodología *in vitro*, alternativa al test de Draize, evaluando los parámetros de linealidad y precisión a dos niveles (repetibilidad y precisión intermedia con variación de día y analista). Se obtuvo linealidad en el rango de concentraciones empleado en la curva de calibración, lo cual hace posible la valoración de  $HbO_2$  en el intervalo en el que se realiza su ajuste. De igual manera, se demostró la repetibilidad de los ensayos, así como equivalencia entre las varianzas a diferentes concentraciones de SDS en cada ensayo. Se recomienda practicar el test únicamente con extracto de glóbulos rojos frescos, obtenido de terneros sanos y no medicados, para descartar interferencias en las lecturas de absorción. RCB es

una opción que contribuye a evaluar la irritación ocular producida por surfactantes, bien sea como materias primas o incluidos en formulaciones. Esta metodología constituye una alternativa para las evaluaciones de seguridad.

## AGRADECIMIENTOS

Por sus aportes al progreso de esta investigación y al acompañamiento académico extendemos un sincero agradecimiento al laboratorio de Patología Clínica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia y al Grupo de Investigaciones Toxicológicas del Departamento de Farmacia de la Universidad Nacional de Colombia.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Barile F. Principles of toxicology testing. Boca Raton, USA: CRC Press; 2007. 312 p.
2. Wilhelmus KR. The Draize Eye Test. *Surv Ophthalmol*. 2001 May-Jun; 45 (6): 493-515.
3. Commission of the European Communities. Timetables for the phasing-out of animal testing in the framework of the 7<sup>th</sup> Amendment to the Cosmetics Directive (Council Directive 76/768/EEC) [Internet]. Bruselas, Bélgica; 2004 [Citado 2010 Nov 22]. Disponible en: [http://ec.europa.eu/enterprise/sectors/cosmetics/files/doc/antest/sec\\_2004\\_1210\\_cn.pdf](http://ec.europa.eu/enterprise/sectors/cosmetics/files/doc/antest/sec_2004_1210_cn.pdf)
4. Seabaugh VM, Bayard SP, Osterberg RE, Porter WK, McCaulley DF, Hoheisel CA, et al. Detergent toxicity survey. *Am J Public Health*. 1977; 67 (4): 367-369.
5. Vinardell MP, Mitjans M. Alternative methods for eye and skin irritation tests: an overview. *J Pharm Sci*. 2008 Jan; 97 (1): 46-59.
6. Pape WJ, Hoppe U. Standardization of an *in vitro* red blood cell test for evaluation the acute cytotoxicity potencial of tensides. *Drug Res*. 1990; 40 (4): 498 – 502.
7. Pape WJ, Pfannenbecker U, Hoppe U. Validation of the red blood cell test system as *in vitro* assay for the rapid screening of irritation potential of surfactants. *Mol Toxicol*. 1987; 1 (4): 525 – 536.
8. Pape W. Red blood cell system. The ERGATT/FRAME databank of *in vitro* techniques (INVITTOX). IP-37. UK; 1992. 14 p.
9. Hester RE, Harrison RM (Editors). Alternatives to animal testing. Dorchester, UK: RSC Publishing; 2006. Balls M. International validation and barriers to the validation of alternative tests; p. 28-50.
10. The United States Pharmacopeial Convention. USP 32, The United States Pharmacopoeia. Rockville, MD; 2009. 2864 p.
11. WHO, World Health Organization. Technical Report Series, No. 937, Annex 4: Supplementary guidelines on good manufacturing practices: Validation. Geneva, Switzerland; 2006. 77 p.
12. Kirschenbaum DM. Molar Absorptivity and  $A_{1\text{cm}}^{1\%}$  values for proteins at selected wavelengths of the ultraviolet and visible regions. *XV. Anal Biochem*. 1978 Jun 15; 87 (1): 223 – 242.
13. Lagarto A, Vega R, Vega Y, Guerra I, González R. Comparative study of red blood cell method in rat and calves blood as alternatives of Draize eye irritation test. *Toxicol in Vitro*. 2006 Jun; 20 (4): 529 – 533.
14. Mehling A, Kleber M, Hensen H. Comparative studies on the ocular and dermal irritation potential of surfactants. *Food Chem Toxicol*. 2007 May; 45 (5): 747-758.
15. Martinez V, Corsini E, Mitjans M, Pinazo A, Vinardell MP. Evaluation of eye and skin irritation of arginine-derivative surfactants using different *in vitro* endpoints as alternatives to the *in vivo* assays. *Toxicol Lett*. 2006 Jul 15; 164 (3): 259-267.
16. Lin SH, Guidotti G. Purification of membrane proteins. *Method Enzimol*. 2009; 463 (35): 619 – 629.
17. Jones MN. Surfactants in membrane solubilisation. *Int J Pharm*. 1999 Jan 25; 177 (2): 137-159.
18. Kanas T, Acker JP. Biopreservation of red blood cells -the struggle with hemoglobin oxidation. *FEBS J*. 2010 Jan; 277 (2): 343-356.
19. FDA, Food and Drug Administration Department of Health and Human Services, Center for Drug Evaluation and Research, Center for Veterinary Medicine. Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation. Rockville, MD; 2001. 22 p.

## LABORATORIO DE ANÁLISIS SENSORIAL DE ALIMENTOS FACULTAD DE QUÍMICA FARMACEÚTICA - ESCUELA DE NUTRICIÓN Y DIETÉTICA UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA

Nuestra función está orientada al apoyo en el control de calidad de las características sensoriales: apariencia, color, olor, sabor, textura y calidad general, de alimentos y productos alimenticios que realiza un grupo de jueces entrenados a través de un proceso de formación permanente que tiene como objetivo mantener la agudeza de la sensibilidad de los sensores gustativo, olfativo y táctil de acuerdo a las Normas Técnicas Colombianas para el Análisis Sensorial.

### Servicios que ofrece el laboratorio:

- Pruebas Discriminativas: dúo trío, comparación pareada, ordenamiento.
- Pruebas Descriptivas: perfil sensorial por aproximación multidimensional, perfil de textura.
- Pruebas con consumidores: aceptación, par preferencia y ordenación preferencia.
- Elaboración de Ficha técnica sensorial.
- Validación de la información sensorial a través de prácticas Interlaboratorios.
- Estudios de vida útil de alimentos: con el apoyo de los Laboratorios de Microbiología y Físicoquímico de la Facultad Nacional de Salud Pública de la Universidad de Antioquia.
- Elaboración de la Etiqueta Nutricional: de acuerdo a la Resolución 288 de 2008.
- Capacitación en formación de jueces y entrenamiento en análisis sensorial en las industrias de alimentos.
- Apoya grupos interdisciplinarios de investigación en el componente sensorial.
- Brinda asesorías para la conformación de panel sensorial en la industria de alimentos.



Algunos de los usuarios de los servicios del laboratorio son: MIMOS S.A, TECNIAGRO S.A, INDUSTRIAS ALIMENTICIAS NOEL, ZENU, INDUSTRIAS POSTOBÓN, TORTAS Y TORTAS, PRODUCTOS RICOS Y DELICIOSOS, LÁCTEOS PURACE, PLASDECOL, CONDIMENTOS TRIGUISAR DE COLOMBIA, FRIESLAND DE COLOMBIA, PRODUCTOS ROMA, ALIMENTOS FRIKO S.A, LABORATORIO ECAR, ANDERCOL S.A, APOLO, FRUGAL, ALIAZA TEAM, COLANTA, BIOESENCIAL COLOMBIA, TECNAN, NACIONAL DE CHOCOLATES, COLANTA, entre otros.

Carrera 75 No. 65-87 Bloque 44 aula 209 Teléfono: 219 92 33 Fax: 230 50 07 Medellín - Colombia  
labsensorial@pijaos.udea.edu.co - extfaqcf@farmacia.udea.edu.co