

ACTUALIZACION DEL MANUAL DEL LABORATORIO DE ANALISIS DE ALIMENTOS DEL
PROGRAMA DE TECNOLOGIA QUIMICA DE LA UNIVERSIDAD TECNOLOGICA DE PEREIRA

LUISA FERNANDA SERNA RIVERA
COD: 1112761382
SILVANA D"MARIA LOPEZ GARCIA
COD: 1088241502

UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA
FACULTAD DE TECNOLOGÍA
ESCUELA DE QUÍMICA
PROGRAMA DE TECNOLOGÍA QUÍMICA
2010

ACTUALIZACION DEL MANUAL DEL LABORATORIO DE ANALISIS DE ALIMENTOS DEL
PROGRAMA DE TECNOLOGIA QUIMICA DE LA UNIVERSIDAD TECNOLOGICA DE PEREIRA

LUISA FERNANDA SERNA RIVERA
COD: 1112761382
SILVANA D^{MA}MARIA LOPEZ GARCIA
COD: 1088241502

Trabajo de grado para optar el titulo de
TECNOLOGA QUIMICA

DIRECTOR

Carlos Humberto Montoya Navarrete
Jefe de Laboratorios de Química

UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA
FACULTAD DE TECNOLOGÍA
ESCUELA DE QUÍMICA
PROGRAMA DE TECNOLOGÍA QUÍMICA
2010

Nota de aceptación

Presidente del jurado

Jurado

Jurado

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradecemos a Dios por darnos la oportunidad de estudiar y acompañarnos en todo este camino y poder lograr nuestras metas y sueños.

A nuestras familias por brindarnos el apoyo incondicional, el amor y comprensión que necesitamos para culminar nuestra carrera.

A nuestro director el profesor Carlos Humberto por su dedicación, apoyo y asesoría en la realización de este proyecto.

TABLA DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	4
GLOSARIO	5
INTRODUCCION	7
1. JUSTIFICACION	8
2. OBJETIVOS	9
2.1 Objetivo General	9
2.2 Objetivos Específicos	9
3. MARCO CONCEPTUAL	10
4. METODOLOGIA	11
4.1 Etapas de la Metodología	13
5. RESULTADOS MANUAL DEL LABORATORIO DE ANALISIS DE ALIMENTOS	15
6. RECOMENDACIONES	16
7. CONCLUSIONES	18
BIBLIOGRAFIA	19
ANEXOS	20

GLOSARIO

Lactodensímetro: Aparato utilizado para determinar la densidad de la leche.

Butirómetro: Instrumento para determinar la riqueza de manteca que contiene la leche.

Picnómetro: Es un frasco con un cierre sellado de vidrio que dispone de un tapón provisto de un finísimo capilar, de tal manera que puede obtenerse un volumen con gran precisión. Esto permite medir la densidad de un fluido, en referencia a la de un fluido de densidad conocida como el agua o el mercurio.

pH-metro: El pH-metro es un sensor utilizado en el método electroquímico para medir el pH de una disolución. La determinación de pH consiste en medir el potencial que se desarrolla a través de una fina membrana de vidrio que separa dos soluciones con diferente concentración de protones. Una celda para la medida de pH consiste en un par de electrodos, uno de calomel (mercurio, cloruro de mercurio) y otro de vidrio, sumergidos en la disolución en la que queremos encontrar el pH.

Alimento: Todo producto natural o artificial, elaborado o no, que ingerido aporta al organismo humano los nutrientes y la energía necesarios para el desarrollo de los procesos biológicos. Quedan incluidas en la presente definición las bebidas no alcohólicas, y aquellas sustancias con que se sazonan algunos comestibles y que se conocen con el nombre genérico de especia.

Alimento adulterado: El alimento adulterado es aquel:

- a. Al cual se le hayan sustituido parte de los elementos constituyentes, reemplazándolos o no por otras sustancias.
- b. Que haya sido adicionado por sustancias no autorizadas.
- c. Que haya sido sometido a tratamientos que disimulen u oculten sus condiciones originales y,
- d. Que por deficiencias en su calidad normal hayan sido disimuladas u ocultadas en forma fraudulenta sus condiciones originales.

Alimento alterado: Alimento que sufre modificación o degradación, parcial o total, de los constituyentes que le son propios, por agentes físicos, químicos o biológicos.

Alimento contaminado: Alimento que contiene agentes y/o sustancias extrañas de cualquier naturaleza en cantidades superiores a las permitidas en las normas nacionales, o en su defecto en normas reconocidas internacionalmente.

Alimento de mayor riesgo en salud pública: Alimento que, en razón a sus características de composición especialmente en sus contenidos de nutrientes, Aw actividad acuosa y pH, favorece el crecimiento microbiano y por consiguiente, cualquier deficiencia en su proceso, manipulación, conservación, transporte, distribución y comercialización, puede ocasionar trastornos a la salud del consumidor.

Alimento falsificado: Alimento falsificado es aquel que:

- a. Se le designe o expendan con nombre o calificativo distinto al que le corresponde;
- b. Su envase, rótulo o etiqueta contenga diseño o declaración ambigua, falsa o que pueda inducir o producir engaño o confusión respecto de su composición intrínseca y uso y,
- c. No proceda de sus verdaderos fabricantes o que tenga la apariencia y caracteres generales de un producto legítimo, protegido o no por marca registrada, y que se denomine como éste, sin serlo.

INTRODUCCION

Los seres humanos necesitan, además del agua que es vital, una ingestión de alimentos variada y equilibrada. La razón es que no existe un único alimento que proporcione todos los nutrientes para mantener la vida y la salud. El consumo regular de un conjunto de alimentos (dieta) debe proporcionar las cantidades adecuadas de proteínas, lípidos, glúcidos, vitaminas y minerales. La base de una buena nutrición reside en el equilibrio, la variedad y la moderación de nuestra alimentación. Pero la alimentación moderna urbana es muy a menudo desequilibrada, desestructurada y se suele juntar con una vida cada vez más sedentaria. **(1)**

La asignatura de Análisis de Alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira es una materia aplicada al programa de Tecnología Química, la cual pretende dar a los estudiantes no solo unas bases teóricas del análisis de alimentos si no también y con mayor intensidad horaria una parte practica.

Este proyecto tuvo como finalidad la actualización del manual de análisis de alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira, con el fin de implementar en el laboratorio pruebas analíticas de mayor relevancia en el medio de la industria alimenticia, que además contaran con un tiempo razonable en la obtención de resultados los cuales serán confiables.

El contenido del manual esta dividido en 11 capítulos, cada uno se enfoca en un cierto grupo alimenticio, se propuso una estructura definida e igual para todos los capítulos el cual cuenta con los objetivos de la practica, una introducción y/o marco teórico, materiales, reactivos con su respectivo R y S, los procedimientos para cada prueba, que van organizadas de forma tal que el tiempo del que se dispone sea optimizado, un cuestionario y la bibliografía, recursos del laboratorio y una mayor implementación de de técnicas instrumentales.

1. JUSTIFICACION

Al actualizar el Manual de Laboratorio de Análisis de Alimentos del Programa de Tecnología Química se busca una mejor orientación y capacitación hacia los estudiantes respecto a las técnicas, normas y adelantos tecnológicos e introducirlos al conocimiento de la composición de cada alimento, sus características físicas, químicas, nutricionales, microbiológicas, organolépticas, modo de recepción, rotulación y manejo de muestras y por último el manejo de resultados que deberían esperarse en cada prueba para verificar que el alimento cumpla con los parámetros de calidad; adquiriendo habilidades que le serán útiles en el desempeño en las industrias alimentarias, ya que serán capaces de realizar técnicas importantes para el análisis de los alimentos y de esta manera aprenderán a valorar y manejar un control de calidad.

Igualmente realizar una selección de aquellas técnicas más relevantes y que puedan desarrollarse en nuestros laboratorios de acuerdo con la disponibilidad de recursos y equipos, la experimentación y el ajuste de las especificaciones según las condiciones de nuestro medio.

Con esta actualización también se pretende reducir costos para la Escuela de Química ya que se le dan pautas al estudiante para hacer un uso racional de reactivos y un buen manejo de todo el material utilizado en las prácticas.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Actualizar el Manual de Laboratorio de Análisis de Alimentos del Programa de Tecnología Química de la Universidad Tecnológica de Pereira.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Recopilar toda la bibliografía de manuales existentes, bibliografía asociada, normas técnicas colombianas, legislación sobre alimentos en Colombia y otros documentos e igualmente elegir los grupos de alimentos de mayor impacto en la industria alimentaria.

- Ejecutar los ensayos en el laboratorio de las pruebas propuestas para cada grupo de alimentos, con el fin de fijar las cantidades de reactivos justamente necesarias para las pruebas.

- Implementar algunas de las técnicas de análisis instrumental modernas, tales como Absorción Atómica, Cromatografía de Gases, Ultravioleta Visible, Equipo de Nitrógeno y de Grasas en el análisis de los alimentos.

- Estructurar el contenido del manual de laboratorio especificando el manejo de datos, composición e interpretación frente a la legislación vigente, el cuestionario de cada guía y el uso racional de los reactivos.

- Diseñar e imprimir el documento final como el Manual del Laboratorio de Alimentos.

3. MARCO CONCEPTUAL

Las entidades reguladoras de alimentos están concebidas para velar por la seguridad de la salud humana al hacer reducir los factores de riesgo en los alimentos, dando unos valores y pautas a seguir en el momento de la elaboración y distribución de alimentos.

En Colombia la entidad reguladora para los productos farmacéuticos, equipos médicos, alimentos es el Ministerio de Salud Pública y los requisitos se establecen a través de la oficialización como obligatorias de algunas normas técnicas colombianas, elaboradas por el ICONTEC.

El Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC) es un organismo multinacional de carácter privado, sin ánimo de lucro, que trabaja para fomentar la normalización, la certificación, la metrología y la gestión de la calidad en Colombia. ICONTEC, como Organismo Nacional de Normalización (ONN) representa a Colombia ante organismos de normalización internacionales y regionales como la Organización Internacional de Normalización (ISO), la Comisión Electrotécnica Internacional (IEC), y la Comisión Panamericana de Normas de la Cuenca del Pacífico (COPANT).

El Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos INVIMA es un establecimiento público del orden nacional, de carácter científico y tecnológico, con personería jurídica, autonomía administrativa y patrimonio independiente, perteneciente al Sistema de Salud, adscrito al Ministerio de la Protección Social y con sujeción a las disposiciones generales que regulan su funcionamiento.

Su misión es garantizar la Salud Pública en Colombia, ejerciendo inspección, vigilancia y control sanitario de carácter técnico científico sobre los asuntos de su competencia.

4. METODOLOGIA

Para el desarrollo del proyecto de grado se propuso la realización de cuatro etapas, las cuales contienen tareas y actividades que permitían secuencialmente ir cumpliendo los objetivos específicos y finalmente la culminación del proyecto.

Las etapas en las que se divide el proyecto son:

- Primera etapa: Análisis preliminar.

Para desarrollar esta etapa se propuso hacer una consulta bibliográfica de manuales existentes, bibliografía asociada, normas técnicas colombianas, legislación sobre alimentos en Colombia y otros documentos.

La revisión consistió en: Determinar los grupos de alimentos sobre los cuales versaría el manual, los análisis sugeridos para cada grupo de alimentos, la disponibilidad de recursos, equipos y reactivos para su ejecución, las necesidades académicas del plan de estudio de la materia Análisis de Alimentos.

- Segunda etapa: Estructurar el Manual

Con base en el análisis anterior se propuso estructurar un documento que contenga los siguientes capítulos:

Capítulo 1: Introducción

Capítulo 2: Análisis Proximal

Capítulo 3: Leche

Capítulo 4: Grasas y Aceites

Capítulo 5: Cereales, Leguminosas y otras farináceas

Capítulo 6: Jugos de fruta

Capítulo 7: Carnes y derivados cárnicos

Capítulo 8: Panela

Capítulo 9: Miel

Capítulo 10: Vinos

Capítulo 11: Bebidas estimulantes

- Tercera etapa: Verificación, revisión y ejecución de las pruebas propuestas.

Después de haber recopilado toda la información necesaria, de elegir los grupos de alimentos de mayor impacto y seleccionado los análisis para cada grupo se pretendió ejecutar estas prácticas para revisar y verificar con cuales se obtenía una buena información y buenos resultados para un excelente control de calidad.

- Cuarta etapa: Diseño final e impresión del Manual de Laboratorio.

Al finalizar el cumplimiento de todas las etapas anteriores se diseñó e imprimió el Manual de Laboratorio con los puntos propuestos en la primera etapa.

4.1 ETAPAS DE LA METODOLOGIA

Etapa	Objetivos a cumplir	Actividades, tareas y Acciones Realizadas.	Recursos
1. Análisis Preliminar	- Realizar un análisis preliminar de la importancia y necesidad que se tiene para modificar el manual actual recopilando toda la información necesaria respecto a otros manuales ya existentes, igualmente elegir los grupos de alimentos de mayor impacto en la industria alimentaria.	<ul style="list-style-type: none"> - Recopilar bibliografía de manuales existentes. - Revisión de normas técnicas colombianas y legislación sobre alimentos en Colombia. - Elegir los grupos de alimentos de mayor impacto. - Revisar la disponibilidad de recursos, equipos y reactivos para la ejecución de las practicas. 	<ul style="list-style-type: none"> - Manuales - Libros de la Biblioteca Jorge Roa. - Textos propios. - Normas técnicas. - Métodos de AUAC.
2. Estructurar el manual	- Estructurar el contenido del manual de laboratorio especificando el manejo de datos, composición e interpretación frente a la legislación vigente, la disposición de los residuos, el cuestionario de cada guía y el uso racional de los reactivos.	<ul style="list-style-type: none"> - Revisión y discusión con el Director. - Generación de un modelo de guía. - Evaluación del modelo propuesto. 	<ul style="list-style-type: none"> - Manuales - Libros de la Biblioteca Jorge Roa. - Textos propios. - Normas técnicas. - Métodos de AUAC.
3. Verificación, revisión y ejecución de las pruebas propuestas.	- Ejecutar los ensayos en el laboratorio de las pruebas propuestas para cada grupo de alimentos, con el fin de fijar las cantidades de reactivos justamente necesarias para las	- Ejecutar las pruebas para cada grupo de alimentos.	<ul style="list-style-type: none"> - Manuales - Libros de la Biblioteca Jorge Roa. - Textos propios. - Normas técnicas. - Métodos de AUAC.

	pruebas.		
4. Diseño final e impresión del Manual de Laboratorio.	- Diseñar e imprimir el documento final como el Manual del Laboratorio de Alimentos.	- Digitación del manual. - Impresión del manual.	- Manuales - Libros de la Biblioteca Jorge Roa. - Textos propios. - Normas técnicas. - Métodos de AUAC.

5. RESULTADOS
MANUAL DEL LABORATORIO DE ANALISIS DE ALIMENTOS

MANUAL DEL LABORATORIO DE ANALISIS DE ALIMENTOS

INTRODUCCIÓN

El aspecto esencial y punto de partida para el estudio de la ciencia alimenticia está en el conocimiento tanto de los componentes químicos de los alimentos como de las reacciones que conducen a los cambios en la constitución y las características de dichas sustancias. Estos compuestos contienen radicales o partes químicamente activas que pueden participar en complicadas series de reacciones entre sí y con los medios que rodean a los alimentos, tales como aire, agua, empaques, equipos de procesamiento, etc. Durante su preparación, los alimentos se ven expuestos a la humedad, el calor, el frío, la interacción con otros materiales y sustancias, lo que puede inducir reacciones adicionales; esta reactividad hace que los alimentos deban ser considerados como sistemas químicos que están cambiando de modo rápido y permanente.

El estudio del agua y el análisis de la composición elemental y mineral de los alimentos implica destruir las estructuras moleculares de que dichos elementos forman parte; mientras que en el estudio de la composición molecular de los alimentos se debe conservar la integridad de las diversas entidades moleculares con el fin de poder caracterizarlas y discernir acerca de su comportamiento y su contribución a las propiedades y la calidad de los alimentos. Esta identificación y discernimiento deben entonces referirse no solo a los compuestos que constituyen los nutrientes sino también a otros compuestos del alimento que contribuyen a definir las propiedades, comportamiento y calidad de los productos alimenticios o que simplemente son materiales de relleno, desecho alimentario, o más aun, representan de manera real o potencial sustancias indeseables para el consumidor o tóxicas y nocivas para su organismo. Por esta razón, en este manual la parte experimental se dirige hacia el estudio de los carbohidratos, proteínas, lípidos, ácidos y otros componentes de los alimentos, buscando conocer acerca de su naturaleza, propiedades, su comportamiento en los productos alimenticios y su contribución para definir la calidad de los alimentos.

Entre los diversos análisis que se realizarán, se encuentran un conjunto de determinaciones que describen la composición nutritiva de una sustancia alimenticia y al cual se le da el nombre de análisis próximo, comprende las determinaciones de humedad o sustancias volátiles a 105°C, extracto etéreo o grasa bruta, cenizas o material mineral, fibra bruta, proteína bruta y extracto no nitrogenado. Entiéndase el término bruto para estas determinaciones en el sentido de que se analizan grupos de sustancias que responden a ciertas características pero no se identifican particularmente con cada una de ellas. Además se incluyen análisis representativos de varios

grupos de alimentos (leche y derivados, productos cárnicos, cereales y harinas... etc.) encaminados a identificar y cuantificar sustancias o fenómenos que ocurren específicamente en ellos.

EL ANALISIS DE LOS ALIMENTOS

La importancia de la alimentación como necesidad vital es un hecho incuestionable conocido por todos. Si bien es importante comprender esta verdad, también es necesario conocer como nos alimentamos, es decir cual es la calidad de los alimentos que ingerimos, sobre todo por la gran relación que se ha demostrado que tiene la alimentación con la salud. La alimentación por ser un acto reiterado, a largo plazo y vital, constituye el factor ambiental que más influye en la etiología, es decir la causa, de numerosas enfermedades como el cáncer, la obesidad, la aterosclerosis, etc.

Los alimentos no son compuestos estáticos, sino dinámicos y consecuentemente las ciencias alimentarias deben estudiar la composición de los alimentos y los efectos que sus componentes provocan en el curso de los diferentes procesos a que están sujetos los alimentos, investigando y descubriendo las conexiones que existen entre la estructura de los diferentes compuestos y sus propiedades organolépticas así como su capacidad de deterioro en función de su composición química.

La caracterización de los alimentos proviene de los resultados de los diferentes ensayos a que puede someterse utilizando diferentes métodos de evaluación, los cuales pueden agruparse en función de los objetivos que persigan y los principios en que se fundamentan. Así, la evaluación de los alimentos involucra tres tipos de análisis: análisis físico-químico, análisis microbiológico y análisis sensorial.

Análisis físico-químico: Implica la caracterización de los alimentos desde el punto de vista físico-químico, haciendo énfasis en la determinación de su composición química, es decir, cuales sustancias están presentes en un alimento (proteínas, grasas, vitaminas, minerales, hidratos de carbono, contaminantes metálicos, residuos de plaguicidas, toxinas, antioxidantes, etc.) y en que cantidades estos compuestos se encuentran. El análisis físico-químico brinda poderosas herramientas que permiten caracterizar un alimento desde el punto de vista nutricional y toxicológico, y constituye una disciplina científica de enorme impacto en el desarrollo de otras ciencias como la bioquímica, la medicina y las ciencias farmacéuticas, por solo mencionar algunas.

Análisis microbiológico: Los alimentos son sistemas complejos de gran riqueza nutritiva y por tanto sensible al ataque y posterior desarrollo de microorganismos (bacterias, hongos y levaduras). En todos los alimentos hay siempre una determinada carga microbiana, pero esta debe ser

controlada y no debe sobrepasar ciertos límites, a partir de los cuales comienza a producirse el deterioro del producto con la consecuente pérdida de su calidad y aptitud para el consumo. Por otra parte, existen microorganismos patógenos que producen enfermedades y cuya presencia es por tanto indeseable y hace extraordinariamente peligroso su consumo. El análisis microbiológico se realiza entonces con vistas a identificar y cuantificar los microorganismos presentes en un producto así como también constituye una poderosa herramienta en la determinación de la calidad higiénico sanitaria de un proceso de elaboración de alimentos, lo que permite identificar aquellas etapas del proceso que puedan favorecer la contaminación del producto.

Análisis sensorial: Constituye una disciplina científica que permite evaluar, medir, analizar e interpretar las características sensoriales de un alimento (color, olor, sabor y textura) mediante uno o más órganos de los sentidos humanos. A pesar de que la evaluación sensorial es el análisis más subjetivo, pues el instrumento de medición es el ser humano, muchas veces define el grado de aceptación o rechazo de un producto. Está claro que un alimento que no resulte grato al paladar, a la vista o al olfato, no será aceptado aunque contenga todos los constituyentes nutritivos necesarios y esté apto desde el punto de vista microbiológico.

Debe tenerse muy presente que ninguno de los métodos señalados tiene mayor o menor importancia que los otros y todos desempeñan un gran papel en la determinación del valor de los alimentos. Solo la aplicación articulada y consecuente de los métodos físico-químicos, microbiológicos y sensoriales puede ofrecer evidencia objetiva de la calidad integral de un alimento.

Los contenidos que se presentan en este curso, estarán centrados en el estudio de los métodos químicos de análisis. De ahí, que a continuación reseñaremos brevemente cuales son los principales campos de aplicación de estos métodos en las ciencias alimentarias, de los cuales se deriva su incuestionable importancia.

Principales campos de aplicación de la química analítica en el área de los alimentos.

- Control de la calidad:

La norma ISO 9000 define el término "calidad" como el conjunto de propiedades y características de un producto o servicio que le confieren su actitud para satisfacer necesidades al consumidor.

Hoy en día, ningún producto sale al mercado sin antes ser sometido a un riguroso control de calidad que garantice su aceptación para ser comercializado. En los alimentos el control de calidad constituye una etapa más del proceso productivo y adquiere una particular importancia por la relación existente entre la alimentación y la salud. Por otra parte el control de calidad en la industria de los alimentos permite encontrar las fallas y los errores en el proceso de fabricación y en lo que

respecta a las materias primas, almacenamiento, transportación, etc., proponiendo medidas eficaces para disminuir o eliminar estos errores.

Las determinaciones físicas y químicas que se realizan a los alimentos como parte del control de calidad así como los límites en que deben encontrarse los componentes que se cuantifican están contenidas en ocasiones en documentos técnicos (Normas Técnicas Colombianas), Decretos, Resoluciones y dependen del tipo de alimento.

El control de calidad no se circunscribe solo al producto final sino que también deben controlarse rigurosamente la materia prima y el producto durante el propio proceso de elaboración.

- Estudios de almacenamiento y conservación:

Durante la etapa de almacenamiento, los alimentos pueden sufrir transformaciones que involucren cambios en su composición química con la consecuente aparición de productos indeseables que afectan su conservación y por ende su aptitud para el consumo. Así, la efectividad de un nuevo envase o método de conservación y/o almacenamiento puede ser evaluado a través de la determinación cualitativa o cuantitativa de ciertas sustancias. Estas determinaciones se realizan empleando métodos químicos y constituyen una medida de la estabilidad del producto, bajo las condiciones de conservación y almacenamiento.

- Estudios nutricionales y toxicológicos:

El valor nutricional de un alimento depende obviamente de su composición química y está asociado no solo a la cantidad de nutrimentos que posea sino también y sobre todo a la calidad de estos nutrimentos. No basta con conocer la cantidad de proteínas o grasas presentes en un alimento sino que también es necesario conocer como estos se metabolizan y la incidencia que los mismos tienen en la salud. Auxiliándose de los métodos químicos es posible no solo determinar la cantidad de proteínas o grasas de un alimento sino también la composición de aminoácidos que poseen las proteínas y la proporción de ácidos grasos presentes en los lípidos.

Por otra parte, la calidad de un alimento depende también de su inocuidad, es decir de la ausencia de ciertas sustancias que pueden resultar tóxicas y por tanto dañinas al organismo. Estas sustancias son de naturaleza muy variada y pueden contaminar los alimentos durante los procesos tecnológicos de elaboración o ser parte de una contaminación ambiental del producto (contaminación metálica con los envases o durante el proceso productivo, presencia de aflatoxinas como resultado de una contaminación fúngica, presencia de residuos de plaguicidas, etc.). Otras sustancias tóxicas son componentes naturales en los alimentos (glucósidos cianogénicos, alcaloides, aminos biogénicas, etc.) o se forman como resultado de procesos fermentativos por microorganismos (formación de metanol, alcoholes superiores, etc.). También existen sustancias denominadas aditivos, que se añaden intencionalmente dado que cumplen alguna función en el

proceso de elaboración (preservantes, colorantes, saborizantes, etc.) y algunas de ellas poseen efectos tóxicos si se sobrepasan determinados niveles, por lo que su presencia debe ser rigurosamente controlada.

- **Estudios de nuevas fuentes de alimentación no convencionales y productos para regímenes especiales:** La búsqueda de nuevas fuentes de alimentación no convencionales (salvado de arroz, frijol de soya, etc.), así como la formulación de nuevos productos utilizando estas fuentes es un objetivo esencial de la investigación actual, que requiere la aplicación de numerosos métodos de análisis químico con vistas a caracterizar nutricionalmente estos productos y evaluar su factibilidad en la alimentación humana.

Por otra parte hoy se investigan y producen un conjunto de alimentos dirigidos a grupos de consumidores que reclaman una alimentación especial (deportistas, diabéticos, obesos, personas con trastornos del metabolismo, etc.). Sin el auxilio de la química analítica estos estudios serían imposibles de completar satisfactoriamente.

El impacto y alcance de los métodos químicos de análisis en la producción y la investigación es enorme. Los diferentes campos de aplicación en el área de los alimentos, arriba referidos, constituyen tan solo algunos ejemplos de la extraordinaria importancia de la química analítica como herramienta indispensable para el desarrollo de investigaciones que pueden conllevar a nuevos hallazgos y descubrimientos en las ciencias alimentarias.

DEFINICION Y CLASIFICACION DE LOS METODOS DE ANALISIS

Para poder realizar el análisis químico de los alimentos, hay que auxiliarse de una de las más antiguas e importantes ramas de la química: "la química analítica", la cual brinda las herramientas necesarias para poder determinar quiénes son las sustancias que están presentes en los alimentos y en qué cantidades ellas se encuentran. Así, la química analítica puede definirse como la rama de la química que se ocupa de la identificación y cuantificación de un componente químico en una sustancia dada.

De esta definición se deriva que la química analítica se divide en dos grandes campos de actuación: el análisis cualitativo, cuyo objeto es identificar cuales son los componentes que están presentes en una muestra, y el análisis cuantitativo, a través del cual se determina cuanto hay de cada componente en la muestra evaluada.

Para complementar cualquiera de estos objetivos (cualitativos o cuantitativos), el procedimiento del cual se vale la química analítica se denomina método analítico. El método analítico puede definirse como el conjunto de operaciones físicas y químicas que permite identificar y/o cuantificar un

componente químico, al cual se denomina “analito” en el sistema material que lo contiene, al cual se le denomina “matriz”. Así por ejemplo, en la determinación de vitamina C en muestras de naranjas de diferentes variedades, las naranjas constituyen la “matriz” en la cual se desea determinar el “analito” (vitamina C). Atendiendo a las características del procedimiento analítico y del principio general en el cual se fundamenta la determinación, los métodos de análisis químico pueden clasificarse en dos grandes grupos: métodos clásicos y métodos instrumentales.

- **Métodos químicos clásicos:** Son los métodos más antiguos e involucran generalmente la aplicación de una reacción química en la que interviene el constituyente que se desea determinar.

- **Métodos instrumentales:** Constituyen un conjunto de procedimientos basados en la medición instrumental de alguna propiedad físico-química del sistema estudiado.

Los métodos cuantitativos de análisis clásico pueden clasificarse en:

- **Métodos de análisis gravimétrico:** Se fundamentan en el hecho de que la determinación del analito se alcanza midiendo directa o indirectamente su masa.

- **Métodos de análisis volumétrico:** Los cuales se basan en la medida exacta del volumen de una solución que contiene suficiente reactivo para reaccionar completamente con el analito.

A pesar de que estos métodos son los más antiguos, debe señalarse que hoy en día conservan su vigencia y específicamente en el campo del análisis de los alimentos poseen una enorme aplicación para la cuantificación de una amplia gama de compuestos de gran importancia nutricional. Muchos de los métodos clásicos sirven, incluso, como punto de comparación para determinar la utilidad de un nuevo método.

ESQUEMA DE UN ANALISIS COMPLETO

Lo ideal sería contar con un método analítico que requiera del mínimo número de operaciones, con el mínimo de muestra, en el cual el resultado pueda ser obtenido de forma rápida y a bajo costo y que cuente con adecuados criterios de calidad.

Ante esta realidad que hemos expuesto, contar con un método que reúna todas estas características es prácticamente imposible, pero lo que sí debe quedar claro es que cuando se

concibe una metodología para enfrentar un determinado problema analítico, debe estar dirigida a garantizar al menos algunos de estos requerimientos.

En la práctica nos enfrentamos a múltiples dificultades entre las que podemos citar la complejidad de la matriz, aspecto que desde el comienzo de la investigación debe ser cuidadosamente valorado. Otra dificultad muy común es no contar con una metodología apropiada que se ajuste perfectamente a nuestra situación, que en muchos casos nos obliga a adoptar procedimientos ya reportados en la literatura científica, o a cambiar algunos de los pasos fundamentales.

Es necesario señalar que elaborar procedimientos analíticos no es fácil incluso para analistas experimentados. Por otra parte cada vez aumentan más las exigencias de calidad para la aceptación de un método analítico, lo que exige esfuerzo y un riguroso tratamiento estadístico que permita considerar el resultado como confiable.

El camino que conduce al conocimiento de la composición total o parcial de una matriz requiere indiscutiblemente de esfuerzo intelectual, aptitud, experiencia, intuición y sobre todo de un adecuado criterio químico analítico. Este criterio tiene muchas veces más peso que la disponibilidad de grandes y costosos instrumentos.

La solución es llegar a una metodología analítica que permita transformar el material (matrices alimentarias, en nuestro caso) en una muestra medible y que a su vez obtengamos resultados que puedan considerarse confiables. Para conseguir estos objetivos debe centrarse la atención tanto en las especies a analizar como en la matriz, lo cual es la base del denominado "Enfoque Analítico".

El Enfoque analítico es básicamente una cadena de operaciones que se construye a partir del cuestionamiento de aspectos esenciales para la realización del análisis. Veamos a continuación algunas de las interrogantes que surgen a la hora de enfrentar un problema analítico:

¿Qué especie (o especies) quiero medir y en qué matriz se encuentran?

¿En qué rango de concentraciones están presentes?

¿Qué operaciones o procesos químicos, físicos o biológicos pueden afectar la concentración o la estabilidad de las especies objeto de estudio?

¿Qué técnica analítica es la adecuada para el estudio de dichas especies?

¿Qué componentes propios de la matriz pueden constituir interferencias en el análisis?

¿Qué nivel de precisión y exactitud requiere el método analítico para cumplimentar el objetivo propuesto?

¿Qué materiales y equipos se necesitan para ejecutar el proyecto?

Las respuestas a estas interrogantes permite conformar una metodología analítica que permitirá abordar de forma integral el análisis. Esta metodología se conoce también con el nombre de “Esquema de un análisis completo”, el cual pudiera definirse como una serie de etapas y operaciones comunes a cualquier método analítico, que es necesario considerar a la hora de realizar el análisis. Este esquema está conformado básicamente por las siguientes etapas:

- Definición de los objetivos
- Selección del método analítico
- Muestreo
- Preparación de la muestra
- Determinación
- Cálculos, reporte e interpretación de los resultados

SELECCIÓN DE UN METODO

La selección del método analítico ha sido considerada siempre como una de las etapas de mayor importancia en el esquema de un análisis completo. Para la correcta selección del método adecuado para la realización de un análisis es necesario considerar diferentes aspectos tales como:

- **Características del analito:** En este sentido debemos considerar la naturaleza química y las propiedades fisicoquímicas del componente que se desea cuantificar. No existe ningún método analítico universal, es decir que sea aplicable a la determinación de toda clase de analitos. De hecho no se utilizan los mismos métodos para la determinación de sustancias orgánicas que para sustancias inorgánicas o para la determinación de sustancias de bajo y alto peso molecular. Sin embargo no basta con tener en cuenta las características del analito, sino que es también importante tener en cuenta las características de la matriz.

- **Características de la matriz:** Obviamente dentro de las características importantes a considerar está el estado de agregación y la complejidad de la matriz. No es lo mismo realizar un análisis sobre un producto líquido que sobre uno sólido, puesto que la matriz ha de sufrir diferentes tratamientos en función de su estado de agregación. Así mismo, estos tratamientos serán más engorrosos en la medida que la matriz sea más compleja, es decir, posea un mayor número de componentes, puesto que entonces el método seleccionado ha de ser más específico a fin de determinar solo aquella sustancia que interesa (analito) en presencia de un gran número de otras

sustancias que coexisten en la matriz. Si por el contrario, se trata de una matriz con un reducido número de sustancias, resulta más fácil muchas veces la selección del método.

- **Validación del método analítico:** El término validación está directamente relacionado con la palabra calidad. En términos generales validación es el programa mediante el cual se establecen los requisitos óptimos para cumplir el objetivo propuesto. De hecho pueden ser validados los métodos analíticos, los instrumentos, el personal etc. y en este sentido aumentan cada día más las exigencias a nivel internacional.

La validación del método analítico es el proceso que permite establecer qué características del funcionamiento del método analítico son adecuadas para la aplicación que se pretende. En este sentido es importante señalar que para obtener los mejores resultados deben considerarse todas las variables del método, que incluyen la etapa de muestreo, la preparación de la muestra, la detección y evaluación de los datos, es decir se deben considerar todas las etapas del esquema.

El objetivo principal de la validación analítica es el de asegurar que un procedimiento analítico dará resultados reproducibles y confiables que sean adecuados para el propósito previsto.

Hay importantes razones para validar los métodos de análisis. En primer lugar la validación es una parte integral del desarrollo de un método analítico, en segundo lugar, las Buenas Prácticas de Elaboración así lo exigen. Por otra parte y desde el punto de vista comercial los métodos validados permiten obtener datos fiables por lo que se facilitan las transacciones comerciales basadas en la aceptación mutua de los resultados.

Los requisitos o criterios de validación que debe cumplir un método analítico y que deben ser determinados en el procedimiento de validación, según lo estipulado por diferentes organizaciones internacionales tales como: NMKL, (1996); AOAC, (2000); Codex Alimentarius, (2001) y IUPAC (2002) son los siguientes:

1. Exactitud
 - Precisión
 - Veracidad o Justeza
2. Selectividad
3. Linealidad
4. Sensibilidad de calibrado
5. Límite de detección y límite de cuantificación
6. Tolerancia o fortaleza
7. Robustez

CONSIDERACIONES PARA LA TOMA Y PREPARACION DE MUESTRAS

Con el fin de evitar que se produzcan errores ajenos a la eficacia y exactitud del analista, hay que seguir los procedimientos correctos en la toma de muestras. Con frecuencia esto escapa al control del químico, pero los procedimientos en cuestión pueden aplicarse una vez que se recibe la muestra bruta en el laboratorio. La muestra debe ser lo más representativa del lote que se va a analizar y la porción que se pesa para efectuar las diferentes determinaciones debe ser una fracción exacta del producto total.

En análisis bromatológico, los resultados analíticos pueden variar entre límites más amplios comparados con los demás casos de análisis cuantitativos (análisis de medicamentos, análisis industriales diversos, etc.), esto es debido a la enorme variación existente en la composición de las diferentes partes constitutivas de una muestra de alimentos:

- Las frutas y vegetales varían su contenido de azúcares, ácidos y agua, dependiendo de la cantidad de luz durante el periodo de crecimiento, del suelo, del clima, del grado de maduración y de las condiciones de almacenamiento y su duración.
- Las carnes varían en su composición especialmente en el contenido de grasa; cuantitativamente ellas tienen la misma composición, variando principalmente según la edad del animal (tratándose de una misma especie).
- Algunos nutrientes de los alimentos varían más que otros: el contenido de carbohidratos, grasas y proteínas de los alimentos vegetales es más constante que el de los alimentos minerales.

Además de las variaciones anotadas debidas a la naturaleza misma del alimento, hay que tener en cuenta las resultantes de su preparación, cuando se trata de alimentos elaborados:

- Varios azúcares pueden introducirse en los alimentos enlatados, en los alimentos endulzados o bien como preservativo de las frutas (frutas en su jugo o cristalizadas).
- La sal se agrega en cantidades variables en la preparación de encurtidos a los alimentos enlatados, etc.

Fuera de lo anotado en cuanto a la variación de las sustancias constituyentes del alimento, hay que tener en cuenta, la anatomía y fisiología de las diferentes partes del alimento vegetal o animal, algunos constituyentes pueden localizarse en un área especial del vegetal:

- Los aceites esenciales de los cítricos se localizan especialmente en las células situadas en la capa amarilla
- Los pigmentos de las antocianinas de ciertas uvas se localizan en las células del epitelio

Es decir, para que una muestra resulte representativa es necesario conocer la estructura y la composición del alimento que se analiza.

En resumen, los errores que más se cometen al tomar la muestra son:

- Descuido o negligencia en la selección de las porciones escogidas al azar para que estas sean representativas de toda la sustancia. Esto se debe principalmente a negligencia del analista y se considera un error de operación.
- Cambio en la composición de la sustancia durante el período en que se debe tomar la muestra, pérdida o absorción de humedad, pérdida de constituyentes volátiles, descomposición debido a la acción enzimática.
- Dificultad para obtener una muestra representativa debido a la imposibilidad para controlar la variación de la muestra: separación de cristales de azúcar en las melazas y jarabes concentrados, la separación de crémor tártaro en el jugo de uvas, etc.

La preparación de una muestra para análisis significa una disminución cuantitativa de ella, la reducción en el tamaño de la partícula, así como también el proceso de mezclado de las diferentes partes que constituyen la muestra con el fin de obtener una sustancia homogénea. A continuación se describe la forma de preparar las muestras en alimentos con diferente consistencia:

- **Alimentos húmedos:** Como es el caso de los productos cárnicos y de pescado, se pican en una batidora mecánica y después se mezclan en un mortero. Este proceso es conveniente repetirlo al menos durante dos ocasiones antes de pasar la mezcla a un recipiente cerrado que debe conservarse refrigerado.

- **Alimentos líquidos:** Se pueden homogenizar fácilmente por medio de la agitación, empleando una licuadora a fin de tener una muestra lo más representativa posible.

- **Alimentos secos:** Se deben pasar a través de un molino ajustable, manual o mecánico, y después mezclarlo en un mortero. En algunas ocasiones es conveniente pasar la harina macerada a través de un tamiz de tamaño de malla adecuado

- **Alimentos Duros:** Como por ejemplo el chocolate, tienen que rallarse.

- **Alimentos embebidos en líquidos:** En particular los que contienen frutas y vegetales en trozos, se separan del líquido y se tratan en una licuadora de alta velocidad. Aparte se puede analizar el líquido en el que estaban embebidos.

- **Alimentos en estado coloidal:** Especialmente los que contienen frutas y vegetales, se homogenizan mejor con una batidora de alta velocidad teniendo precaución de que el batido no vaya a originar separación de la grasa como en las cremas de ensalada o las cremas de sopa.

- **Las emulsiones grasas:** Como la mantequilla o la margarina se calientan a 35 °C en un recipiente con tapa de rosca y se agitan. Los aceites que no estén claros se deben calentar ligeramente (a veces la estearina se separa al enfriar). Por otra parte, la muestra caliente se filtra. Las grasas se filtran después de fundirlas, los antioxidantes presentes se pueden perder si se filtra la muestra a temperatura demasiado alta.

- **Las muestras a granel de materiales granulares o pulverulentos:** Se realiza por cuarteo, según el siguiente procedimiento: Se depositan los gránulos o polvo sobre una gran hoja de papel y se mezcla con una espátula. Se traza una cruz sobre el montón de material apilado y luego se eliminan dos de los segmentos opuestos y se vuelven a introducir en el paquete original. Se continúa este procedimiento hasta que quede una muestra de unos 250 gramos que se transfiere a un frasco de muestras y se tapa herméticamente.

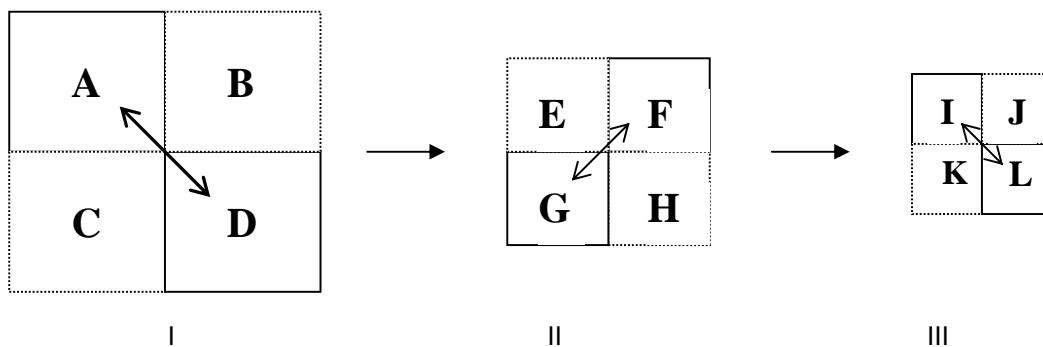


Figura: Preparación de muestras por cuarteo. La muestra pulverizada se extiende formando un cuadrado que se divide en otros 4 cuadros. Los cuartos B y C se rechazan, los cuartos A y D se mezclan para dar II. En las figuras II y III, los cuartos E, H, J y K serán rechazados; I y L serán la muestra a analizar.

CONSERVACION DE LAS MUESTRAS

Si una vez que la muestra ha sido preparada adecuadamente, no es posible realizar el análisis en el mismo día, es preciso evitar los cambios en su composición, para ello es necesario conservarla adecuadamente. Existen tres clases de cambios en los alimentos con el transcurso del tiempo:

1. Evaporación o absorción de humedad, evaporación de otros constituyentes volátiles, oxidación debida al aire.
2. Cambios en la composición de las muestras debido a la acción de las enzimas hidrolíticas.
3. Cambios debido a la acción de los microorganismos.

La evaporación se evita guardando las muestras preparadas en recipientes de vidrio provistos de tapón esmerilado; los cambios producidos por la acción de las enzimas son tan rápidos, que la determinación de ciertos nutrientes en especial de azúcares reductores en presencia de sacarosa y de invertasa es necesario efectuarla inmediatamente después de procesada la muestra. De no ser así, se debe introducir la muestra en alcohol caliente para almacenarla a una temperatura inferior a 0 °C. Se ha encontrado, que la acción enzimática no puede evitarse completamente por congelación de los vegetales, incluso las bajas temperaturas tienen como consecuencia rompimiento de tejido vegetal ya que los cristales de agua congelada actúan como finas navajas que pueden producir daño celular. Es aconsejable entonces hacer un calentamiento previo (80 °C por 1 min.) de la muestra antes de la congelación.

La acción de los microorganismos depende de la cantidad y calidad de los nutrientes presentes en el alimento, de la cantidad de agua y del pH (presencia de ácido tartárico, ácido acético, ácido benzoico) del medio. Por esta razón para conservar la muestra adecuadamente, existen métodos químicos (utilización de preservativos) y métodos físicos (bajas temperaturas, desecación). Los preservativos químicos a emplear dependen de la naturaleza del análisis que se va a efectuar, los más empleados son: salicilato de sodio, benzoato de sodio, ambos en la proporción de 0,1% completamente disueltos y mezclados con las muestras; el acetato de plomo y el formol, en leche, semillas oleaginosas y frutas. Las soluciones azucaradas pueden conservarse durante un tiempo relativamente corto, agregándoles tolueno o timol los cuales no interfieren en la determinación analítica de los azúcares.

Para las muestras se utilizan frascos de vidrio o de polietileno, bien limpios y secos, prestando especial atención a la tapadera por el agua que se puede quedar retenida en el enroscado. Se conservan si es posible en envases esterilizados, cerrados herméticamente a una temperatura de 4 °C.

La muestra se debe etiquetar de una forma clara y garantizando que la información que tiene la etiqueta no se pierda. La rotulación debe contener al menos los siguientes datos:

- Producto en elaboración
- Fecha
- Hora en que se toma la muestra
- Aspecto externo al momento del muestreo
- Mencionar el tratamiento del producto recibido (Ej. una esterilización a 121 °C durante 20 °C).

Las muestras deben analizarse lo más rápidamente posible, para evitar alteraciones. En el laboratorio se realizan primero los análisis físicos y luego los análisis químicos.

Cuando se realizan análisis a productos terminados se deben seguir los siguientes pasos:

1. Inspeccionar detalladamente el producto, su envase o empaque, rotulado, etc. (Esta etapa es fundamental cuando se buscan adulteraciones o alteraciones del producto).

2. Recolectar toda la información pertinente sobre el producto y en el reporte de laboratorio se debe declarar esta información:

- a. Nombre del producto.
- b. Fabricante o productor.
- c. Dirección de la fábrica.
- d. Registro sanitario.
- e. Numero del lote.
- f. Fecha de fabricación y fecha de vencimiento.
- h. Otras observaciones que aparezcan en la etiqueta del producto.

GUIA DE PREPARACIÓN Y TRATAMIENTO DE ALGUNAS MUESTRAS ALIMENTICIAS

GRASAS Y ACEITES

Para las determinaciones de impurezas, agua y materias volátiles e insaponificable, se debe agitar enérgicamente la muestra para homogenizarla lo mejor posible antes de la toma de muestra para el ensayo. Para el resto de análisis de una sustancia grasa es necesario eliminar las impurezas grandes y el agua que pueda contener, por lo tanto, si la muestra no está completamente limpia, se le deja en reposo durante un tiempo en estufa a 50 °C hasta que se clarifique si es líquida y para que funda completamente si es sólida; recién entonces se filtra por papel (manteniendo la

Temperatura a 50 °C) una o más veces evitando dejar caer el agua que pudiera existir debajo de la grasa. Colocar la muestra en un recipiente con tapa y guardarla en un sitio fresco, protegida de la luz y del aire.

Para todas las determinaciones, antes de realizar la toma de muestra para el ensayo, ésta debe agitarse como medida de precaución. Si es sólida, fundir a una temperatura 10 °C por encima del punto de fusión y proceder como se indica en la primera parte.

LECHE, CREMA, LECHES FERMENTADAS Y OTROS PRODUCTOS LIQUIDOS

Antes de tomar porciones para el análisis, llevar la muestra a aproximadamente 20 °C y mezclar por trasvase a otro recipiente limpio, repitiendo la operación hasta asegurar una muestra homogénea. Si no han desaparecido los grumos de crema, calentar la muestra en baño de agua hasta casi 38 °C, mezclar y luego enfriar a 15-20 °C. Para cualquier determinación debe llevarse la muestra a esa temperatura antes de pipetear. Los grandes volúmenes se agitan, procurando que no se incorpore aire al producto.

QUESO

Se elimina la corteza y se toman varias muestras con un sacabocados.

MANTEQUILLA

Se inserta diagonalmente un sacabocado en el bloque de ésta, luego se calienta a 35 °C en un recipiente con tapa rosca y se agita.

FRUTAS HORTALIZAS Y SUS PRODUCTOS

La preparación de las muestras difiere del tipo de análisis que se va a realizar. Si se trabaja únicamente con el jugo del limón o de la naranja para determinar su contenido de vitamina C, por ejemplo, es necesario extraerlo de la fruta. Si se va a analizar una muestra de plátano, es necesario separarlo de la cáscara, molerlo, secarlo, pulverizarlo y envasar la harina obtenida en un frasco hermético, determinando previamente la humedad. En la mayoría de los casos, hay que determinar primero el contenido de agua y proceder luego a los demás análisis. El tipo de análisis que se debe aplicar a una sustancia vegetal depende, al igual que para otras muestras, de la finalidad de sus resultados.

Para la determinación de agua se requieren cuidados especiales, debido a las pérdidas que sufre el material desde el lugar de la recolección hasta cuando llega al laboratorio. Para evitar los

errores consiguientes, es indispensable pesar la muestra en el sitio donde se toma, anotando el peso obtenido y empacarla para su transporte en una bolsa de un material adecuado, por ejemplo de polietileno. Volverla a pesar al llegar al laboratorio y anotar la pérdida de peso que haya podido sufrir. Desecarla a baja temperatura (40-60 °C) en una estufa de aire durante unas seis horas. Pasarla a una bolsa de polietileno y dejarla enfriar. Pesarla y anotar la pérdida de peso, moler la muestra en un molino de martillo, teniendo cuidado que no se produzca recalentamiento y pasarla por un tamiz y volverla a pasar por el mismo. Terminar la determinación de la humedad sobre una cantidad de muestra pulverizada, exactamente pesada, alrededor de 5 g, secándola en la estufa a 90-95 °C hasta peso constante. Sumar todas las pérdidas de peso obtenidas, relacionándolas a ciento, para obtener el dato de agua en el producto vegetal.

El residuo pulverizado y bien mezclado se reduce por cuarteo, si es el caso, a unos 100 g y se envasa en frascos bocales herméticos, para el análisis próximo y de contenido mineral.

JUGOS DE FRUTAS

En la mayor parte de los casos el tamaño y el método de muestreo no los controla el analista. Lo que éste debe decidir es si ha de usar toda la muestra o una parte de la misma, reservando el resto para comprobaciones u otros fines. Habitualmente el inspector o la persona que envía la muestra al laboratorio la divide en dos porciones: una la envía al analista y guarda la otra.

Jugo procesado: Mézclese la muestra por agitación del recipiente a mano y a menos que se indique lo contrario, fíltrese a través de algodón absorbente u otro filtro rápido.

MERMELADAS Y JALEAS

Remover el empaque un tercio del centro del material que se va a analizar, trasladarlo a una licuadora u otro mezclador apropiado y mezclar durante 1 ó 2 minutos. Tomar las porciones de análisis en tal forma que se tome una muestra representativa de toda la sustancia, evitando tomar demasiadas semillas o partículas que se hayan separado por flotación.

MIEL DE ABEJAS

Las mieles que presentan cristalización de azúcares (granulación) deben homogenizarse, introduciendo el envase en un baño de agua a 60 °C. Agitar hasta disolución de los cristales, enfriar y tomar la porción para el análisis. Si no se observa granulación basta agitar con una varilla.

FARINÁCEAS

Se pulveriza la muestra hasta que pase por un tamiz No.20 y se guarda en un frasco tapado.

PAN

Cortar una porción de aproximadamente 200g en rebanadas de 5mm de espesor, desmenuzar, mezclar y almacenar inmediatamente en una bolsa de plástico o en un frasco de vidrio bien tapado.

HARINAS

La muestra que va a utilizar para análisis debe ser representativa del lote, para que los resultados obtenidos tengan validez. Con este fin tomar porciones de las partes periféricas y centrales de los sacos, mezclar bien y hacer un cuarteo para reducir la muestra a unos 200 g. Guardar en frasco seco y bien tapado.

PASTAS ALIMENTICIAS

Se utilizará para estos ensayos la muestra tal cual se presenta en el mercado. Observar su apariencia y anotar si se ve partida o entera. Triturar mediante un mortero o molino, aproximadamente 100 g de muestra y almacenar la harina obtenida en un frasco seco y bien tapado.

PRODUCTOS CARNICOS PROCESADOS

El tamaño de la muestra a analizar debe determinarse de acuerdo al tamaño del lote y del peso en gramos de la unidad del mismo aplicando métodos estadísticos. A la muestra para análisis se le retiran las envolturas artificiales si las tiene, tanto la exterior como la interior. Se utiliza una muestra representativa de por lo menos 200 g. La muestra se homogeniza pasándola cuantas veces sea necesario por el picador de carne (tamaño de laboratorio) y mezclándola. Se guarda en un recipiente hermético y cerrado en el refrigerador, el cual debe estar a una temperatura entre 0 y 5 °C. La muestra se analiza lo antes posible pero en todos los casos dentro de las 24 horas siguientes.

VINOS

Si la muestra se toma en la fábrica, es necesario mezclar bien el líquido en el recipiente (toneles de muchos hectolitros) y extraerlo con ayuda de un sifón a alturas diferentes, uniendo después las porciones tomadas y homogenizando bien la muestra final, que puede ser 750 mL a 1 L y envasándola en un recipiente hermético. Las recomendaciones anteriores son necesarias, pues en el tonel se forman estratificaciones que pueden variar de peso específico y de graduación

alcohólica: si se desea obtener una muestra única del producto repartido en diversos recipientes, se toman muestras separadas de cada uno siguiendo las instrucciones anteriores y cuidando que sean proporcionales a los respectivos contenidos; luego se mezclan bien. La muestra final para el análisis debe ser, por lo menos, de 750 mL (1 botella).

MALTA

Moler 250 g de muestra en tal forma que el 90% de los granos pasen por tamiz ICONTEC No.30 (595 m). Se mezclan bien y se guardan en frasco de boca ancha, bien tapado.

CERVEZA

Pasar 500 mL de la muestra a un erlenmeyer de 1 dm³ y dejar en baño de agua a 20 °C. Descarbonatar por agitación suave al principio y vigorosa después, hasta que no se observe desprendimiento de gas. Si es necesario filtrar para retirar las materias en suspensión y la espuma, cubrir el embudo con un vidrio de reloj para reducir las pérdidas por evaporación.

BEBIDAS Y CONCENTRADOS NO ALCOHOLICOS

Si la bebida es carbonatada se enfría antes de abrir; se transvasa repetidamente entre dos vasos de precipitados para expulsar el CO₂ antes de proceder al análisis. Si lo que ha de examinarse es una bebida en polvo, se pesa la muestra deshidratada y se diluye luego de acuerdo con las instrucciones de la etiqueta para producir la bebida acabada. Los resultados se expresan sobre producto seco o sobre bebida acabada, según las circunstancias.

ALGUNAS NORMAS DE SEGURIDAD EN EL LABORATORIO

(Tener presente el reglamento interno de los Laboratorios de Tecnología Química de la Universidad Tecnológica de Pereira, pegado en la cartelera de estudiantes)

ESTA TOTALMENTE PROHIBIDO BEBER, COMER O FUMAR EN EL LABORATORIO

- En todas las prácticas es obligatorio el uso de la bata de laboratorio blanca. Debe vestirse adecuada y cómodamente el día de laboratorio, no usar falda, bermudas o pantalones cortos. Utilizar zapatos cerrados.
- Para proteger en forma adecuada los ojos, siempre debe usar gafas de seguridad. Nunca deben llevarse lentes de contacto.
- Nunca se debe trabajar solo sin supervisión en el laboratorio, ni realizar ningún experimento sin previa autorización.

- Mantener el área de trabajo limpia, seca y ordenada.
- Antes de utilizar un reactivo, asegurarse de que es el correcto.
- No calientar solventes volátiles (éteres, benceno, etanol, etc.) con mechero de gas. Hacerlo en un baño de agua caliente o en parrilla eléctrica.
- Nunca dirigir la boca del recipiente en el cual se está efectuando una reacción, hacia los compañeros.
- Muchos de los reactivos que se manipulan son tóxicos, evitar el contacto con la piel, ojos y mucosa, evitar inhalarlos o pipetearlos directamente si son líquidos.
- Al vaciar un líquido hacerlo por el lado contrario de la etiqueta o rótulo.
- Cuando se deban insertar tubos de vidrio o varillas en corchos o tapones, debe tenerse la precaución de pulir los extremos y lubricar con gotas de glicerina, agua jabón o grasa. Proteger las manos con varias capas de toalla o unos guantes resistentes mientras se inserta el vidrio o el material cortante.
- Nunca se debe agregar agua a un ácido concentrado, diluir el ácido adicionándolo lentamente al agua con agitación constante; las bases deben ser diluidas de forma análoga.
- Distribuya bien el tiempo de trabajo en el laboratorio.
- Nunca utilizar el material de laboratorio para realizar pruebas organolépticas.

ANÁLISIS PRÓXIMAL

El análisis proximal es un análisis de tipo preliminar en el cual no se pretende determinar en detalle la complicada composición de los alimentos de forma completa, ya que esto caería dentro del campo más especializado de la bromatología.

Ordinariamente este análisis se refiere a unas pocas determinaciones convencionales afines, las cuales sirven para calificar su valor como una primera aproximación, desde el punto de vista nutricional, constituyéndose de esta manera en una técnica *In Vitro* que evalúa el valor nutritivo potencial de una determinada dieta o alimento.

Las determinaciones que se realizan en un análisis próximo implican una metodología que ha resultado ser muy útil para programas de selección de alimentos básicos en investigaciones agrícolas y en actividades relacionadas con los efectos de conservación y procesamiento, mejoramiento de la calidad proteínica, desarrollo de alimentos de alto valor nutritivo y, entre otros más, para propósitos de control de calidad.

Las pruebas básicas del análisis próximo son:

1. Humedad
2. Cenizas
3. Determinación de proteína
4. Determinación de Grasa
5. Determinación de fibra bruta.

Otras Pruebas:

Carbohidratos, pH, índice de refracción, acidez, etc.

DETERMINACION DE HUMEDAD O SUSTANCIAS VOLATILES

OBJETIVOS

- Determinar el contenido de humedad de una muestra alimenticia de origen animal o vegetal, aplicando la técnica de deshidratación completa con aire caliente.
- Escoger un alimento cuyos resultados se puedan comparar con datos teóricos encontrados en la bibliografía.

INTRODUCCION

El agua es el único ingrediente de los alimentos que está prácticamente presente en todos ellos y su cantidad, estado físico y dispersión en los alimentos afectan su aspecto, olor, sabor y textura. Las reacciones químicas y las interacciones físicas del agua y de sus posibles impurezas con otros componentes de los alimentos determinan frecuentemente alteraciones importantes durante su elaboración. Los alimentos en general pueden considerarse integrados por dos fracciones primarias: *su materia seca* y cierta cantidad de *agua o humedad*; esta agua no está solamente adherida a la superficie de los alimentos sino que también se encuentra íntimamente asociada como tal a ellos y por tanto incorporada a su naturaleza y composición química. Es obvio que el hidrógeno y el oxígeno constitutivos de esta agua deben ser considerados como parte de la composición elemental de la masa y materia de los alimentos, en consecuencia, si se lograra extraer esta agua presente en los productos alimenticios, se puede así demostrar y precisar la contribución real de estos dos elementos y del agua que ellos forman a la composición elemental y a la composición molecular de un alimento dado. El contenido de agua en los alimentos guarda estrecha relación con el contenido de humedad en el aire que los rodea. Esta relación reviste gran importancia en la conservación de los materiales alimenticios y por tanto en la protección de su calidad.

MATERIALES

Material de vidrio y elementos de laboratorio	Cantidad
Capsula de porcelana	2
Espátula	1
Pinza para crisol	1

PROCEDIMIENTO

La determinación de humedad o sustancias volátiles a 105 °C se basa en la pérdida de peso que sufre el alimento al calentarlo a 105 °C. Este valor incluye además del agua propiamente dicha, las sustancias volátiles que acompañan al alimento. (Realizar prueba por duplicado)

- Se pesan con exactitud 5g de la muestra preparada en una capsula de porcelana previamente tarada y pesada.
- Se lleva a desecación en una estufa a presión atmosférica entre 100 °C y 105 °C, o en una estufa al vacío a 70°C, durante dos a tres horas.
- Se retira la capsula de la estufa y se coloca inmediatamente en un desecador hasta que alcanzan la temperatura ambiente.
- La muestra desecada se pesa.
- Si es posible, se deben repetir las operaciones de secado, enfriada y pesada hasta cuando se obtenga un peso constante, esto es cuando toda el agua de la muestra haya sido eliminada; luego se guarda en el desecador la muestra deshidratada.
- A partir del peso obtenido se calcula el porcentaje de agua en base húmeda (se expresa en gramos de agua por unidad de peso o por 100 gramos del alimento (g agua/g producto).
- Calcular el porcentaje de materia seca.

CALCULO

% Humedad = pérdida de peso * 100 / peso muestra

GUARDAR LA MUESTRA SECADA EN EL DESECADOR PARA LA DETERMINACION DEL EXTRACTO ETereo O GRASA BRUTA.

PREGUNTAS

- a. ¿Cuál es la importancia del contenido de humedad y la actividad acuosa en los alimentos?
- b. ¿Que influencia tiene el agua en las reacciones que ocurren en los alimentos desde el punto de vista deteriorativo y cuál es su relación con la estabilidad y la calidad de los alimentos?
- c. ¿Que otros métodos existen para la determinación de humedad en alimentos y en que casos deben utilizarse?
- d. Investigar en que consiste un análisis bromatológico.

BIBLIOGRAFIA

- **BERNAL DE RAMÍREZ, I.** *Análisis de Alimentos*. Santa fe de Bogotá: Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 1993. 313 p.
- **FISCHER H. J. y HART, F. L.** *Análisis Moderno de los Alimentos*. España: Editorial Acribia, 1971. 619 p.
- **PEARSON O.** *Técnicas de Laboratorio para el Análisis de Alimentos*. España: Editorial Acribia, 1976.
- **VARGAS O., W.** *Fundamentos de Ciencia Alimentaria*. Santa fe de Bogotá: Fundación para la Investigación Interdisciplinaria y la Docencia, 1984. 440 p.

DETERMINACION DE CENIZAS O MATERIA MINERAL

OBJETIVOS

- Determinar el residuo inorgánico de una muestra alimenticia de origen animal o vegetal, utilizando la técnica de calcinación a 550°C.
- Escoger un alimento cuyos resultados se puedan comparar con datos teóricos encontrados en la bibliografía.

INTRODUCCION

Todos los alimentos contienen elementos minerales formando parte de compuestos orgánicos e inorgánicos. La incineración para destruir toda la materia orgánica cambia su naturaleza; las sales metálicas de los ácidos orgánicos se convierten en óxidos o carbonatos o reaccionan durante la incineración para formar fosfatos, sulfatos o haluros y algunos elementos, como el azufre y los halógenos, pueden no ser completamente retenidos en las cenizas perdiéndose por volatilización. Debido a esto, la naturaleza y calidad de las variadas combinaciones minerales que se encuentran en los alimentos son difíciles de determinar, aún cuando el resultado de la incineración del material permite una orientación sobre su cantidad aproximada.

En general, las cenizas se componen de carbonatos originados de la materia orgánica y no propiamente de la muestra; en las cenizas vegetales predominan los derivados del potasio y en las animales los del sodio. El carbonato potásico se volatiliza apreciablemente a 700°C y se pierde casi por completo a 900°C, el carbonato sódico permanece inalterado a 700°C, pero sufre pérdidas considerables a 900°C. Los fosfatos y carbonatos reaccionan además entre sí. La determinación debe hacerse aumentando progresivamente la temperatura del horno, hasta alcanzar el rojo oscuro ($\pm 550^{\circ}\text{C}$). No se debe dejar pasar de esta temperatura pues se podrían descomponer los carbonatos presentes y se volatilizarían otras sustancias como los compuestos de fósforo produciendo resultados erróneos.

Otra forma de destruir la materia orgánica es por oxidación húmeda, con ácido nítrico o sulfúrico concentrado. Posteriormente, el residuo de cenizas puede utilizarse para el análisis del contenido de algunos elementos que, ahora en forma predominantemente mineral, ofrecerán características

físicas y químicas que harán posible su identificación y determinación mediante reacciones o pruebas rápidas y completas, con mayor facilidad, exactitud y certeza.

MATERIALES

Material de vidrio y elementos de laboratorio	Cantidad
Crisol de porcelana con su tapa	2
Espátula	1
Pinza para crisol	1

PROCEDIMIENTO

Realizar prueba por duplicado

- Secar en la estufa a 100⁰C por 30 minutos un crisol de porcelana limpio con tapa y posteriormente enfriarlo dentro de un desecador y pesarlo exactamente.
- Pesar con la mayor precisión posible una muestra de 1.0 g. del alimento preparado en el crisol de porcelana con tapa.
- Colocar el crisol con la muestra y su tapa en un horno o mufla y llevarlo progresivamente a una temperatura que no exceda los 425⁰C, con el fin de lograr la incineración y liberación de los compuestos gaseosos sin formación de llamas.
- Aumentar la temperatura gradualmente hasta llegar a un máximo de 550⁰C y mantenerla a este nivel durante el tiempo necesario (~2h) para obtener unas cenizas blancas o grisáceas.

Nota: En ocasiones, de acuerdo al tipo de muestra se requieren aproximadamente 5 horas.

“Se debe tener cuidado para evitar la pérdida de cenizas ligeras; para esto se debe mantener el crisol tapado incluso dentro del desecador”.

- Dejar enfriar el crisol tapado en la mufla o en el aire hasta cerca de 60⁰C y luego llevarlo a temperatura ambiente dentro del desecador.
- Pesar el crisol con las cenizas y la tapa.
- Con los resultados obtenidos, calcular en bases húmeda y seca el porcentaje de cenizas.

PREGUNTAS

- a. ¿Que elementos con significado en la alimentación animal y humana, podrían ser determinados en las cenizas de los productos alimenticios?
- b. ¿Cuál es el papel de los elementos químicos en los alimentos?
- c. ¿Que indica un alto contenido de cenizas?

BIBLIOGRAFIA

- **BERNAL DE RAMÍREZ, I.** *Análisis de Alimentos*. Santa fe de Bogotá: Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 1993. 313 p.
- **FISCHER H. J. y HART, F. L.** *Análisis Moderno de los Alimentos*. España: Editorial Acribia, 1971. 619 p.
- **PEARSON O.** *Técnicas de Laboratorio para el Análisis de Alimentos*. España: Editorial Acribia, 1976.
- **VARGAS O., W.** *Fundamentos de Ciencia Alimentaria*. Santa fe de Bogotá: Fundación para la Investigación Interdisciplinaria y la Docencia, 1984. 440 p.

DETERMINACION DEL EXTRACTO ETereo O GRASA BRUTA

OBJETIVOS

- Determinar gravimétricamente el contenido graso de una muestra alimenticia de origen animal o vegetal.
- Escoger un alimento cuyos resultados se puedan comparar con datos teóricos encontrados en la bibliografía.

INTRODUCCION

El término extracto etéreo se refiere a las sustancias extraídas con éter etílico que incluyen el grupo de nutrientes llamados grasa bruta o lípidos y son todos los ésteres de los ácidos grasos con el glicerol a los fosfolípidos, las lecitinas, los esteroides, las ceras, los ácidos grasos libres, vitaminas liposolubles, los carotenoides, la clorofila y otros pigmentos. En el proceso de digestión estas sustancias son transformadas en sustancias semejantes, pero características del organismo que las ingiere, por eso se consideran precursores dietéticos; la grasa es un componente necesario de los tejidos vivos y es esencial en la nutrición humana. Debido a que puede almacenarse y movilizarse, es el principal material de reserva corporal, son la fuente más concentrada de energía en la dieta, dando aproximadamente 9.3 calorías por gramo; su ingesta equilibrada es también esencial para asegurar el aporte dietético de ácidos grasos esenciales y vitaminas liposolubles A, D y E.

Las grasas se clasifican con las proteínas y carbohidratos, como sustancias alimenticias fundamentales y se consumen en gran cantidad, actúan como lubricantes, plastificantes y buenos conductores del calor, comunicando sabores y texturas especiales a los alimentos que se cuecen con ellas.

Los lípidos son compuestos insolubles en agua pero solubles en solventes orgánicos tales como el éter, acetona, alcohol, cloroformo o benceno, generalmente se encuentran distribuidos ampliamente en la naturaleza como ésteres de ácidos grasos de cadena larga. Es decir, que una propiedad suya predominante radica en su escasa o nula solubilidad en compuestos típicamente polares, con el agua en primer término, frente a una alta solubilidad en líquidos caracterizados por su pobre polaridad y su significativa capacidad para establecer enlaces hidrófobos.

En consecuencia, esta clase de comportamiento tendrá que incidir de modo directo sobre la forma de extraerlos, manipularlos, procesarlos, acondicionarlos, conservarlos y utilizarlos en los alimentos y en la industria alimentaria.

MATERIALES

Material de vidrio y elementos de laboratorio	Cantidad
Algodón	1
Balón de 250 mL y tapón	1
Beaker de 100 mL	1
Cartucho de extracción o papel filtro	1
Equipo de destilación fraccionada	1
Equipo de extracción Soxhlet	1
Erlenmeyer de 250 mL	1
Espátula	1

REACTIVOS

Nombre	Código de color	Riesgos específicos	Consejos de prudencia
n-Hexano	Rojo	11-48/20	9-16-24/25-29-51
Solución de NaOH al 10%	Blanco //	35	26-37/39-45

PROCEDIMIENTO

Dada la insolubilidad de las sustancias grasas en el agua y su inmiscibilidad con ella, la extracción de la grasa a partir de las materias primas que la contienen se debe llevar a cabo justamente prescindiendo de la intervención del agua. La grasa se extraerá basándose en su miscibilidad en disolventes orgánicos, que a su turno, son insolubles en agua e inmiscibles con ella. La extracción de una muestra previamente deshidratada en estufa, se hace en un equipo Soxhlet con n-Hexano. Posteriormente, se elimina el disolvente y se determina gravimétricamente el extracto seco que representa los lípidos de la muestra.

El balón de extracción junto con las perlas de ebullición debe lavarse con la solución de soda al 10%, enjuagarlo bien con agua destilada, luego con éter, secarlo en la estufa por 30 minutos a 100°C y enfriarlo en un desecador.

- El equipo Soxhlet, el cartucho de extracción y el algodón deben lavarse previamente con n-Hexano.
- Pesar exactamente el balón con las perlas de ebullición.
- En un papel filtro pesar de 2.0 a 5.0 g de la muestra previamente secada en la estufa (utilizar la muestra secada en la determinación de humedad), y colocar todo el conjunto dentro del cartucho y luego en la cámara de extracción del Soxhlet.
- Conectar el balón al aparato de extracción según la Figura y agregar suficiente cantidad de n-Hexano para llenar dos veces y media la cámara de extracción. Extraer la muestra durante 3 horas con un reflujo de 5 o 6 gotas por segundo.
- Recuperar el n-Hexano mediante destilación fraccionada y luego desecar el residuo en una estufa de aire a 100 °C durante 30 minutos.
- Enfriar en un desecador hasta temperatura ambiente y pesar.
- Con los resultados obtenidos, calcular el porcentaje de grasa.

LA MUESTRA DESENGRASADA DEBE GUARDARSE PARA LA DETERMINACION DE FIBRA RUDA.

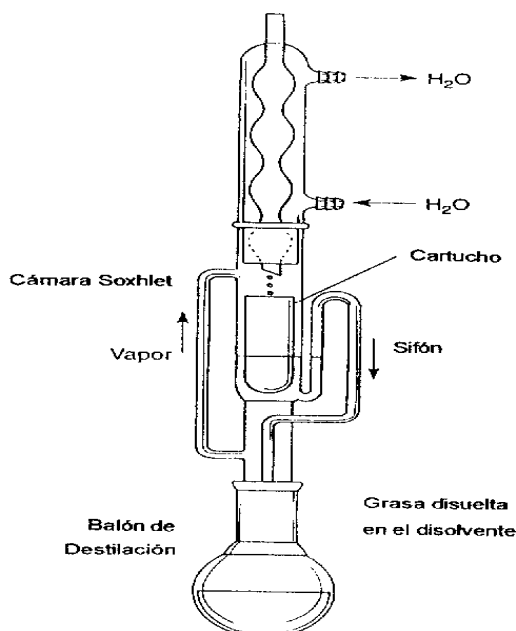


Figura. Equipo de Extracción Soxhlet

PREGUNTAS

- a. ¿Que otros tipos de extractores pueden usarse para determinaciones de grasa? ¿Cuál es la diferencia entre ellos?
- b. ¿Cómo podemos clasificar los lípidos?
- c. ¿Cuál es el papel de los lípidos en los alimentos?
- d. ¿Que sucedería si la extracción de grasa se realiza con la muestra húmeda?

BIBLIOGRAFIA

- **BERNAL DE RAMÍREZ, I.** *Análisis de Alimentos*. Santa fe de Bogotá: Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 1993. 313 p.
- **FISCHER H. J. y HART, F. L.** *Análisis Moderno de los Alimentos*. España: Editorial Acribia, 1971. 619 p.
- **PEARSON O.** *Técnicas de Laboratorio para el Análisis de Alimentos*. España: Editorial Acribia, 1976.
- **VARGAS O., W.** *Fundamentos de Ciencia Alimentaria*. Santa fe de Bogotá: Fundación para la Investigación Interdisciplinaria y la Docencia, 1984. 440 p.

DETERMINACION DE NITROGENO (PROTEINA)

OBJETIVOS

- Determinar cuantitativamente el contenido de nitrógeno por el método Kjeldahl, en una muestra alimenticia de origen animal o vegetal.
- Escoger un alimento cuyos resultados se puedan comparar con datos teóricos encontrados en la bibliografía.

INTRODUCCION

El término *proteína bruta* se aplica a gran número de compuestos nitrogenados, clasificados como alimentos plásticos. Estructuralmente, son polímeros cuyas unidades básicas son amino o aminoácidos, unidos por un enlace característico que recibe el nombre de enlace peptídico. La secuencia de grupos aminoácidos caracteriza a una proteína y las propiedades físicas, químicas y nutricionales dependen de la composición en aminoácidos de la molécula proteica y de la forma como se enlazan para conformar su estructura. En el trabajo de rutina se determina más frecuentemente la proteína total que las proteínas o aminoácidos individuales y puesto que el nitrógeno representa en la mayoría de las sustancias proteicas un porcentaje relativamente constante, alrededor del 16%, determinación sirve como una medida del contenido proteico en los alimentos.

MATERIALES

Material de vidrio y elementos de laboratorio	Cantidad
Balón Kjeldahl de 250 mL	1
Balón Kjeldahl de 250 mL.	1
Beaker de 100 mL	1
Bureta de 25 mL	1
Destilador Kjeldahl	1
Erlenmeyer de 125 mL.	2
Espátula	1
Mechero	1

Pipeta de 10 mL	1
Probeta de 50 mL	1
Vidrio reloj	1

REACTIVOS

Nombre	Código de color	Riesgos específicos	Consejos de prudencia
H ₂ SO ₄ concentrado	Blanco	35	26-30-45
Pastilla catalizadora Kjeldahl			
Indicador Tashiro			
HCl 0.1 N estandarizado	Blanco	34-37	26-45
Acido Bórico al 4%	Verde		

En la práctica se emplean tabletas catalizadoras Kjeldahl según Wieninger con selenio. Se utiliza un cuarto de pastilla por muestra.

PROCEDIMIENTO

El contenido en nitrógeno que se expresa como *nitrógeno total o proteína bruta* (Nx6.25), se determina casi siempre por combustión líquida en la que se convierte el nitrógeno primero en sulfato amónico y finalmente en amoníaco; el amoníaco formado se destila, se recoge en ácido bórico y se titula con una disolución ácida normalizada. Este método, ideado por J. Kjeldahl en 1883, ha sufrido numerosas modificaciones, no en lo fundamental, sino en lo que se refiere a los catalizadores aplicados para acelerar o hacer más completa la digestión, en general consiste en:

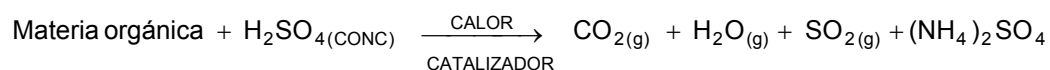
- Oxidación de la muestra con H₂SO₄ y un catalizador, durante la cual la materia orgánica se destruye y el nitrógeno se convierte en sulfato ácido de amonio.
- Descomposición del sulfato ácido de amonio por medio de un exceso de álcali fuerte para liberar el amoníaco, el cual se recoge por destilación sobre ácido bórico.
- Titulación del borato de amonio formado con solución patrón de HCl o de H₂SO₄, usando como indicadores de punto final una mezcla de rojo de metilo y azul de metileno o una mezcla de rojo de metilo y verde de bromocresol.

Los fundamentos de cada una de las etapas se describen a continuación:

Digestión:

Se emplea ácido sulfúrico concentrado y sulfato de cobre como catalizador, que con ayuda de calor y sulfato de potasio oxidan la materia orgánica hasta CO₂ y agua y transforman todo el nitrógeno amínico (NH₂) e imínico (NH=NH) provenientes de proteínas y aminoácidos en ión amonio (NH₄⁺).

La reacción general que tiene lugar es la siguiente:



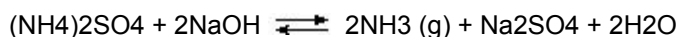
Varios catalizadores han sido empleados, entre ellos: mercurio, cobre y selenio.

Cuando la digestión termina, la solución queda transparente, libre de partículas carbonosas. En el caso de haber empleado como catalizador el sulfato de cobre, la solución toma un color azul verdoso.

Destilación:

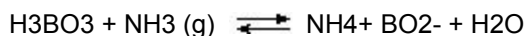
En la muestra digerida se trata con un álcali (NaOH 40% m-V) añadido en exceso, el cual reacciona descomponiendo el sulfato de amonio en amoníaco, que es volátil y se destila por arrastre con vapor.

La reacción que tiene lugar es la siguiente:



El amoníaco destilado se recoge en un erlemeyer con una mezcla de indicadores (bromocresol verde-rojo de metilo) y solución alcohólica de ácido bórico.

La reacción que ocurre es:



Valoración:

El borato de amonio formado se valora entonces utilizando como patrón valorante una solución estandarizada de ácido clorhídrico, según:



El punto final de la valoración estará a pH ácido, por la presencia de ácido bórico finalmente formado.

La cantidad de proteína bruta se obtiene multiplicando el porcentaje de nitrógeno total (N) por un factor de conversión (F) y el resultado (NxF) se expresa como proteína: para las proteínas vegetales cuyo contenido en nitrógeno oscila entre 16.4% y el 18% aproximadamente se aplica el factor de conversión 5.7 (Nx5.7) (pudiéndose aplicar otros particulares para cada vegetal); para las proteínas animales que contienen aproximadamente el 16% de nitrógeno se aplica el factor de 6.25

(Nx6.25). Como caso particular, para la caseína de la leche, que contiene el 15.5% el factor utilizado es 6.38 (Nx6.38), para la gelatina 5.55 (Nx5.55).

Este método así como otros, se basa en la medición del amoníaco formado por todo el nitrógeno presente en la muestra (nitrógeno en ácidos nucleicos y sales de amonio, también el nitrógeno ligado de compuestos aromáticos como pirazina, pirrol y oxazol, así como también el nitrógeno orgánico ligado de las vitaminas como la B1, la B2 y la nicotinamida), por lo tanto el valor obtenido no es el real a no ser que de alguna manera se elimine el nitrógeno no proteico en la preparación de la muestra. No obstante, como por lo general los alimentos solo contienen cantidades traza de compuestos aromáticos nitrogenados y de vitaminas, el error cometido se considera despreciable; además, este método da una apreciación cuantitativa de la proteína presente, mas no orientan sobre la calidad de la misma, su riqueza en aminoácidos y capacidad de asimilación, factores que determinan el valor nutricional de la proteína.

- Pesar de 0.2 a 0.8 g de la muestra en un papel filtro o vidrio reloj, se transfiere a un balón de digestión Kjeldahl de 250mL (limpio y perfectamente seco) y se agrega un cuarto de pastilla del catalizador y 9 mL de H₂SO₄ (conc.).
- Se pone el balón en posición inclinada y se calienta suavemente hasta que deje de formar espuma. Digeste hasta que la muestra este completamente clara, libre de materia orgánica; de vez en cuando se debe hacer girar el balón para recoger cualquier material carbonizado adherido a la pared.
- Enfriar a temperatura ambiente y diluir con precaución con agua destilada (aprox. 200 mL).
- Adicionar 100 mL de solución de H₃BO₃ al 4% con unas gotas del indicador Tashiro a un erlenmeyer de 250 mL para recoger el destilado.
- Conectar el balón en el aparato de destilación con el extremo del condensador penetrando en la disolución de ácido bórico contenido en el erlenmeyer (Figura).
- Adicionar cuidadosamente 50 mL de la solución de hidróxido de sodio al 50% (o de solución de hidróxido de sodio y tiosulfato si el catalizador es de mercurio).
- Calentar y recoger el destilado hasta cambio a verde; dejarlo 6 minutos más. La destilación no debe ser muy rápida porque el amoníaco no alcanza a solubilizarse en el ácido bórico produciéndose su escape.
- Retirar el balón y titular el borato de amonio con la solución de HCl 0.1N.

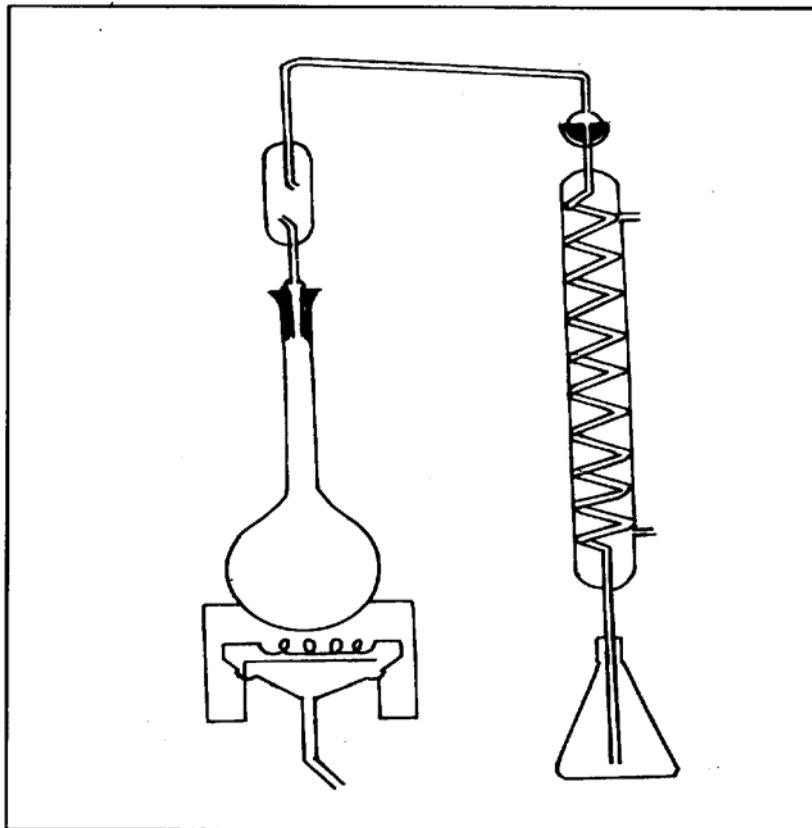


Figura 1.7 Equipo de destilación Kjeldahl

Figura. Equipo de destilación Kjeldahl

Con los resultados obtenidos, calcule el porcentaje de nitrógeno y con el factor apropiado encuentre el porcentaje de proteína.

$$\% N = V \times N \times 14/1000 \times 100/\text{Peso de la muestra.}$$

$$\% \text{ Proteína} = \% N * F$$

Tipo de alimento	Factor (F)
Vegetales	5.7
Carnes	6.25
Leche	6.38
Gelatina	5.55

PREGUNTAS

- a. ¿Cuál es la función de cada uno de los reactivos de la mezcla catalítica?
- b. Investigue que otros procedimientos existen para determinar el nitrógeno en los alimentos y en que consisten?
 - c. ¿Cuál es el papel de las proteínas en los alimentos?

BIBLIOGRAFIA

- **BERNAL DE RAMÍREZ, I.** *Análisis de Alimentos*. Santa fe de Bogotá: Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 1993. 313 p.
- **FISCHER H. J. y HART, F. L.** *Análisis Moderno de los Alimentos*. España: Editorial Acribia, 1971. 619 p.
- **PEARSON O.** *Técnicas de Laboratorio para el Análisis de Alimentos*. España: Editorial Acribia, 1976.
- **VARGAS O., W.** *Fundamentos de Ciencia Alimentaria*. Santa fe de Bogotá: Fundación para la Investigación Interdisciplinaria y la Docencia, 1984. 440 p.

DETERMINACION DE FIBRA BRUTA Y EXTRACTO NO NITROGENADO

OBJETIVOS

- Determinar la cantidad de fibra bruta y carbohidratos solubles presentes en una muestra alimenticia de origen animal o vegetal.
- Escoger un alimento cuyos resultados se puedan comparar con datos teóricos encontrados en la bibliografía.

INTRODUCCION

Los carbohidratos abarcan un gran número de compuestos que van desde los azúcares simples mono y disacáridos como la glucosa y la sacarosa, hasta los más complejos como el almidón y la celulosa. No es posible determinar el gran grupo de carbohidratos por medio de un procedimiento analítico sencillo puesto que esta integrado por numerosas entidades químicas que carecen de una característica analítica común, por lo cual se ha dividido toda esta fracción en dos grandes grupos: *una parte insoluble en ácidos y bases a la que se llamó “fibra bruta” y una fracción soluble a la que se denominó “extracto no nitrogenado”*.

La fibra bruta constituye un índice de las sustancias presentes en los alimentos de origen vegetal cuyo valor alimenticio es igual al del heno. Está constituida fundamentalmente por celulosa, lignina y pentosanas, suberina, cutina, alginatos y pectinas; constituyentes, junto con pequeñas cantidades de sustancias nitrogenadas, de las estructuras celulares de los vegetales. Aunque la fibra no posee un valor nutritivo apreciable, su función en el tracto intestinal es la de aumentar el volumen de las materias nutritivas y estimular el peristaltismo intestinal.

La fibra sobre las bases nutritivas se define como las sustancias vegetales insolubles no digeridas por las enzimas diastásicas o proteolíticas, nutritivamente inútiles excepto por fermentación microbiana en el tracto digestivo de los animales. **La fibra dietaria** es el nombre que se le da a la fracción de la fibra bruta que puede ser útil para los procesos digestivos del tracto humano, en ella se incluyen compuestos tales como el almidón, los polisacáridos no celulósicos, la celulosa, la lignina, la hemicelulosa y sustancias pépticas.

En el **Extracto No Nitrogenado** se agrupan mono y disacáridos, la parte soluble de la celulosa, pentosanas y lignina, las hemicelulosas, el almidón, la inulina y toda clase de azúcares, materias

pépticas, ácidos orgánicos y otras materias solubles libres de nitrógeno, constituyendo así la fracción más valiosa del alimento. Los carbohidratos son compuestos con características fuertemente polares, solubles en agua con algunas excepciones (polisacáridos), es por esto que su análisis se realiza generalmente en medio acuoso.

MATERIALES

Material de vidrio y elementos de laboratorio	Cantidad
Balón de 250 mL	1
Beaker de 250 mL	2
Condensador para reflujo con sus mangueras	1
Crisol de porcelana	1
Equipo para filtración al vacío	1
Erlenmeyer de 250 mL	1
Erlenmeyer de 600 mL	1
Espátula	1
Pinza para crisol	1
Probeta de 200-250 mL	1
Tela de dril o lona	1
Varilla de vidrio	1
Vidrio reloj	1

REACTIVOS

Nombre	Código de color	Riesgos específicos	Consejos de prudencia
Solución de H ₂ SO ₄ 0.255N	Blanco	35	26-30-45
Metanol, etanol (95%) o alcohol Isopropílico	Rojo	1-23/25-39/23/24/2	7-16-36/37
Solución de NaOH 0.313N	Blanco //	35	26-37/39-45

PROCEDIMIENTO

Hasta el momento no hay un método oficial para su determinación. El método más común no ha experimentado variaciones esenciales desde su introducción (1864), se basa en la digestión ácido-alcalina de la muestra bajo condiciones específicas. La finalidad del método es la de eliminar las proteínas, carbohidratos solubles, residuos de grasas, vitaminas y otros compuestos diferentes que interfieren en su determinación; el fundamento del método es asemejar este proceso al que desempeña el organismo en su función digestiva.

La muestra deshidratada y exenta de grasa obtenida de la extracción del extracto etéreo, se trata con ácido sulfúrico en ebullición y después con hidróxido sódico en ebullición. El residuo se somete a calcinación a 550°C, la diferencia residuo - cenizas se considera fibra bruta.

El Extracto no nitrogenado se obtiene restando de 100 la suma de los porcentajes de agua, proteína bruta, cenizas, extracto etéreo y fibra bruta. A veces se usa el término "carbohidratos por diferencia" o "carbohidratos totales", pero en este último se incluye con frecuencia también la fibra bruta.

Es importante tener presente que cualquier error cometido en las determinaciones de grasa, proteína, cenizas, agua y fibra bruta, quedan reflejadas en el valor de las sustancias extractivas no nitrogenadas.

- Transferir cuantitativamente (1-2 g) el residuo obtenido de la determinación de grasa (muestra desengrasada) a un balón de 250 mL.
- Calentar en un erlenmeyer 100 mL de H₂SO₄ 0.255N y cuando este en ebullición verterlo sobre la muestra y dejarlo en reflujo por exactamente 30 minutos (contados a partir de la ebullición), teniendo cuidado de que no haya material fuera de contacto con la solución. Si hay pérdidas de agua, deben reponerse.
 - En un erlenmeyer calentar 250-500 mL de agua destilada.
 - Retirar la mezcla del reflujo y filtrarla al vacío a través de una tela ya sea de dril o lona.
- Lavarla con suficiente agua caliente teniendo en cuenta de no perder nada de la muestra, hasta que el agua de lavado salga a un pH neutro (utilizar papel indicador).
- Calentar 100 mL de NaOH 0.313N en un erlenmeyer y una vez empiece a ebullición verterlo sobre la muestra lavada anteriormente y dejar toda la mezcla en reflujo por exactamente 30 minutos, proceder como en la digestión ácida.

-
- En un erlenmeyer calentar 250-500 mL de agua destilada.
 - Retirar la mezcla del reflujo y filtrarla al vacío a través de una tela ya sea de dril o lona como se realizó anteriormente.
 - Lavar nuevamente con suficiente agua caliente teniendo en cuenta de no perder nada de la sustancia problema hasta neutralidad de las aguas de lavado.
 - Transferir la muestra lavada a un vaso de precipitados de 100 mL que contenga 25 mL de alcohol y filtrarla utilizando la misma tela y lavando con 25 mL de alcohol etílico.
 - Transferir el residuo a un crisol (si es necesario lavar la tela con unas gotas de agua caliente, reservando los lavados en el mismo vaso) y dejar en la estufa a una temperatura de 100-110^oC hasta obtener un peso constante (anotarlo).
 - Una vez obtenido el peso constante trasladar el crisol a la mufla y dejarlo por espacio de 20 minutos a 550^oC en la mufla.
 - Colocar el crisol en el desecador, dejarlo enfriar a temperatura ambiente y pesar.

La pérdida de peso en la calcinación se considera como la fibra cruda de la muestra pesada antes de extraer la humedad.

- Con los resultados obtenidos, calcule el porcentaje de fibra cruda en base seca y húmeda.
- Calcule el porcentaje de extracto no nitrogenado en base húmeda.

Con los resultados obtenidos en el análisis próximo, elaborar una discusión de resultados integrada para el alimento analizado.

PREGUNTAS

- a. Qué reacciones están involucradas en las digestiones ácida y básica de la muestra?
- b. Porque la denominada fibra bruta, es indigerible por el hombre?
- c. Como puede calcularse la fibra dietaria total?

BIBLIOGRAFIA

- **BERNAL DE RAMÍREZ, I.** *Análisis de Alimentos*. Santa fe de Bogotá: Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 1993. 313 p.
- **FISCHER H. J. y HART, F. L.** *Análisis Moderno de los Alimentos*. España: Editorial Acribia, 1971. 619 p.
- **PEARSON O.** *Técnicas de Laboratorio para el Análisis de Alimentos*. España: Editorial Acribia, 1976.
- **VARGAS O., W.** *Fundamentos de Ciencia Alimentaria*. Santa fe de Bogotá: Fundación para la Investigación Interdisciplinaria y la Docencia, 1984. 440 p.

ANALISIS DE GRASAS Y/O ACEITES

OBJETIVOS

- Reconocer la importancia de las técnicas fisicoquímicas estandarizadas para el análisis de grasas y aceites alimenticios.
- Investigar, estudiar y comparar las normas y resoluciones que rigen los requisitos que deben cumplir las grasas y aceites alimenticios para el consumo humano y aplicarla a la interpretación de los valores obtenidos experimentalmente.

INTRODUCCIÓN

Definiciones según la Resolución 126 de 1964

- **Grasas Animales Comestibles:** Las provenientes de los animales vacunos, ovinos, porcinos, caprinos, aves y animales marinos, declaradas aptas para consumo humano por la autoridad sanitaria respectiva, en los establecimientos autorizados para su faena y que se ajusten a las condiciones sanitarias establecidas en la Resolución No. 000917 de 1963, para su elaboración. Tales grasas, como las demás empleadas en la alimentación deban estar exentas de suciedad, con una acidez máxima de 0.5%, en ácido oleico y un máximo de 1 % de sustancias extrañas al producto, necesariamente incorporado en el proceso de fusión. Se entenderá por sustancias extrañas: agua, cenizas, e impurezas insolubles. El punto de fusión no excederá a 45C (método de tubo capilar 0.5% A 30 Ca-125 A.O.C.S.). Queda permitida la adición de sustancias antioxidantes y retardadoras de la rancidez aprobadas por el Ministerio de Salud y en las proporciones admitidas por éste.

- **Margarina:** Toda grasa alimenticia simple o compuesta, que presente la apariencia de mantequilla y que está constituida con materias grasas de origen animal o vegetal o por una mezcla de ambas, con o sin aceites o grasas hidrogenadas, leche entera o descremada, derivados lácteos, fermentos lácteos, vitaminas y colorantes aprobados por el Ministerio de Salud Pública, no tendrá menos de 80% de materia grasa total ni más de 16% de agua y deberá conservarse sólida a una temperatura de 20°C; su punto de fusión final no será superior a 38°C.

Las margarinas que se encuentran en el mercado para consumo directo del público tendrán los siguientes valores físicos y químicos:

Humedad	12 a 16 %
Grasa (extracto etéreo)	80 a 85 %
Ácidos grasos libres	0.5%
Punto de fusión máximo	38 °C
Índice de saponificación de grasa	169 a 260
Índice de peroxide	2.5 a 3

- **Mantequilla:** Se empleará para designar o denominar la grasa alimenticia obtenida de la crema de leche o de la mezcla de cremas de la leche con leche completa, sometida al batido y amasado con o sin modificación biológica de la crema.

La composición físico-química de las mantequillas que se encuentran en el mercado será la siguiente:

Humedad	No mayor de 16 %
Grasas	No mayor de 825
Índice de saponificación	220 a 235
Índice de acidez	No mayor de 4% como ácido oleico
Punto de fusión	29 a 32 °C
Rancidez	0
Índice de yodo	26 a 38
Índice de Reichert	23 a 32
Índice de Polenske	1.6 a 3.5
Índice de refracción	A 35 °C. 1.4425 a 1.4650
Gravedad específica	0.907 a 0.912

Los lípidos juegan papeles de importancia en el organismo como son:

- Función energética.
- Papel funcional en la estructura de las células a nivel de membranas.
- Fuente de ácidos grasos esenciales.
- Proceso digestivo retardando la producción de jugos gástricos generando así la sensación de saciedad.

-
- Constituyen una clase de materiales bien definidos, los cuales son solubles en éter y otras solubles orgánicos.
 - No son solubles en agua
 - Son Producidos por las plantas y todos los animales.
 - Es el mayor grupo que aporta energía: 9,3 Kcalorías x gramo. La Proteína aporta: 4 Kcalorías x gramo.
 - Son sustancias alimenticias fundamentales.

Además de la alimentación se pueden tener otras aplicaciones:

- a. Como formadores de revestimientos elásticos en la elaboración de pinturas, barnices y tintas.
- b. Como materia prima para la elaboración de jabones.

En la operación de freído, las grasas actúan como transmisores de calor y como lubricantes evitando que los alimentos se peguen a los utensilios, a las altas temperaturas del proceso, reaccionan con las proteínas y con los carbohidratos comunicándoles su característico sabor y aroma a frito. La cantidad de grasa que absorbe un alimento durante el freído depende del alimento y de la composición de la grasa que se utilice y de la temperatura a la cual se realiza la fritura.

Las grasas como la manteca de cerdo, las grasas plásticas, las margarinas y la mantequilla son utilizadas como ingredientes de las masas de productos de panadería. Allí debido a su inmiscibilidad en el agua, forman capas entre las células de gluten evitando que se peguen y además contribuyen a atrapar y retener aire en forma de pequeñas burbujas, dándole su textura tierna y liviana.

No existe diferencia química o nutritiva clara entre aceites y grasas, la mayor parte de estos productos sufren idéntico proceso de refinado antes de entrar en los canales del comercio alimentario (el único aceite vegetal que no se refina antes de su consumo es el aceite de oliva). Tras la refinación, todas las grasas y aceites están constituidas fundamentalmente, por triglicéridos de ácidos grasos alifáticos de cadena recta, saturados y no saturados e insolubles en agua y una pequeña cantidad (no superior a un 3%) de otras sustancias (fosfolípidos, esteroides, tocoferoles, carotenoides, vitaminas y pigmentos liposolubles) llamada materia insaponificable. Proviene de vegetales (en especial de semillas y frutos) o de diversas partes de los animales y reciben el nombre de *ACEITES* si se presentan en estado líquido a temperatura ambiente y *GRASAS*, si se comportan como sólidos; pero unos u otros pueden ser de origen animal o vegetal.

Las propiedades físicas y químicas de un aceite o grasa varían entre ciertos límites generalmente no muy amplios, de allí que se encuentre alguna bibliografía en donde se las denomina "constantes", aunque resulta más apropiado el término "características", entre ellas tenemos:

Químicas: a) Relacionadas con los pesos moleculares de los ácidos componentes:

Índices de saponificación, de acidez, de ésteres.

b) Relacionadas con el tipo de insaturación de los ácidos componentes:

Índice de Iodo, de tiocianógeno, de dienos conjugados.

c) Relacionados con grupos funcionales presentes en la grasa:

Índices de aceto, de carbonilo, de peróxidos.

Físicas: Índice de refracción, peso específico, rango de fusión.

En el análisis de rutina es usualmente suficiente determinar los índices de Iodo, saponificación, acidez y peróxidos, materia insaponificable y algunos ensayos cualitativos apropiados para adulterantes. En ciertos casos puede ser necesario un examen más completo incluyéndose entonces determinaciones de agua, índice de refracción, densidad, calor, punto de solidificación de ácidos grasos y ensayos de rancidez. El interés principal al analizar un aceite o una grasa radica en identificarlos a través de sus propiedades físicas y químicas y detectar las adulteraciones por sustitución total o parcial, con aceites más baratos.

- **Aceite crudo:** Es el obtenido por la aplicación de presión o mediante solvente, sin ulterior tratamiento. Los aceites crudos de Oliva, Maní, Ajonjolí y Girasol, obtenidos por presión en frío o primer prensado, son directamente comestibles, previa conveniente depuración y siempre que la acidez libre expresada en ácido oleico, no pase del 1 %.

- **Aceite puro:** Será el proveniente de una sola especie vegetal. Para los efectos de su obtención industrial, podrá admitirse la presencia de otro aceite hasta un máximo de un 5%. No se admitirá presencia de otro aceite en el aceite de Oliva puro.

Composición química y física de los aceites

TIPO DE ACEITE	INDICE DE REFRACCION	DENSIDAD (g/mL)	INDICE DE YODO	INDICE DE SAPONIFICACION	MATERIA INSAPONIFICABLE % MAXIMO
Algodón	1.4720-1.4680	0.918-0.916	101-117	198-189	1.5
Soya	1.4760-1.4720	0.924-0.917	121-135	195-198	1.5
Maíz	1.4740-1.4700	0.920-0.917	111-128	193-187	1.25
Coco	1.4500-1.4480	0.919-0.917	10.5-7.5	264-250	0.5
Oliva	1.4898-1.4715	0.915-0.909	80-83	196-188	1.8
Girasol	1.4750-1.4710	0.918-0.915	136-125	194-188	1.25
Ajonjolí	1.4740-1.4700	0.921-0.916	103-115	195-188	1.8
Palma	1.4560-1.4530	0.918-0.910		205-195	0.8
Maní	1.4700-1.4670	0.915-0.909	83-103	195-188	1.0
Arroz	1.4730-1.4700	0.921-0.916	108-99	194-181	1.3
Palmiste	1.4520-1.4990	0.913-0.900		255-245	0.8

MATERIALES

Material de vidrio y elementos de laboratorio	Cantidad
Algodón	1
Balanza Analítica	1
Baño maría	1

Bureta de 25mL	1
Equipo para reflujo	1
Erlenmeyer de 125mL	2
Erlenmeyer de 250mL	1
Espátula	1
Gotero	1
Picnómetro	1
Pinza para bureta	1
Pipeta graduada de 10mL	1
Pipeta graduada de 5mL	2
Pipeta volumétrica de 25mL	1
Pipeta volumétrica de 5mL	3
Plancha de calentamiento	1
Probeta de 25mL con tapón	1
Probeta de 50mL	2
Refractómetro	1
Soporte universal	1
Termómetro	1
Tubo de ensayo	2
Vaso de precipitados de 250mL	1
Vaso de precipitados de 50mL	2
Vidrio reloj	1

REACTIVOS

Nombre	Código de color	Riesgos específicos	Consejos de prudencia
Almidón al 1%	Verde		
Cloroformo	Azul	22-38-40-48/20/22	36/37
Etanol al 95 % neutralizado			
Fenolftaleína al 1%	Verde		
HCl 0.5N estandarizado	Blanco	34-37	26-45

HCl concentrado	Blanco	34-37	26-45
KI al 15%	Verde		
KOH 1N	Blanco	22-35	26-36/37/39-45
NaOH 0.1 N estandarizado	Blanco	35	26-37/39-45
Reactivo de Hanus.			
Solución 0.1% de floroglucina en éter etílico	Verde	36/37/39	
Solución de cloroformo: ácido acético (1:3 V/V)			
Solución de KOH Alcohólico: Solución al 40 por mil de KOH en etanol libre de aldehídos	Blanco	22-35	26-36/37/39-45
Solución saturada de Ioduro de potasio, en agua recientemente hervida y fría: Disolver 13 g de sal en 10 mL de agua. La presencia de cristales asegura una saturación completa.	Verde		
Tiosulfato de sodio 0.01N	Verde		

PROCEDIMIENTO

Antes de proceder al examen de una sustancia grasa es necesario eliminar las impurezas grandes y el agua que pueda contener, por lo tanto, si la muestra no está completamente limpia, se le deja en reposo durante un tiempo en estufa a 50°C hasta que se clarifique si es líquida y para que funda completamente si es sólida; entonces se filtra por papel (a T = 50°C) una o más veces evitando dejar caer el agua que pudiera existir debajo de la grasa. La muestra debe mantenerse en lugar fresco y protegida de la luz y el aire. Para realizar el trabajo más rápidamente se aconseja comenzar por la determinación de peso específico y aprovechar el volumen de aceite que allí se usa para otras determinaciones.

a.	Densidad ($D^{25^{\circ}\text{C}}$)
----	---

La densidad de una sustancia es el peso de un mililitro de la misma. Se obtiene dividiendo el peso de cierto volumen de sustancia entre el peso del volumen similar de agua. El resultado depende de la temperatura. Normalmente, la densidad se determina a 20°C.

-
- Pesar el picnómetro limpio y seco.
 - Llenar el picnómetro con agua destilada, sin llevar al enrase y colocarlo durante 30 minutos en un baño de agua a 25^oC. Completar hasta el enrase y tapar cuidando de que no queden burbujas. Secar exteriormente y pesar.
 - Vaciar el picnómetro, secarlo e introducir la muestra de aceite y efectuar la misma operación que en el paso anterior. Obtener el peso del aceite contenido en ese volumen y dividirlo por el peso del agua a 25^oC.

b.	Índice de Refracción (n_D)
-----------	--

El índice de refracción mide la refracción de la luz a través de una solución en un refractómetro; se utiliza para comprobar la pureza del aceite. Es un factor que se emplea para determinar la calidad, ya que una variación del índice indica una adulteración de la sustancia, la temperatura a la cual se reporta es de 25^oC para aceites y de 40^oC para grasas sólidas.

- Abrir el doble prisma del refractómetro y esparcir una gota de la muestra, con ayuda de una varilla, sobre la cara inferior.
- Cerrar los prismas firmemente y dejar un minuto para que la temperatura del aceite y del instrumento sea la misma.
- Buscar en el campo del visor la franja que indica reflexión total; ajustar dicha franja en el punto de intersección de la cruz del visor, rotando el tornillo compensador si la línea no fuera nítida y presentara coloración.
- Leer el índice de refracción directamente sobre la escala (hacer 2 ó 3 lecturas y promediarlas), anotando la temperatura. Expresar los resultados a 25^oC.

c.	Índice de Saponificación (I_s)
-----------	--

Se expresa en mg de KOH requeridos para saponificar 1 g de grasa (incluye a los ácidos libres y esterificados). Si los triglicéridos contienen ácidos grasos de bajo peso molecular, el número de moléculas presentes en 1 g de muestra será mayor que si los ácidos poseen pesos moleculares más altos, por lo tanto los aceites con menor peso molecular de ácidos grasos presentarán índices de saponificación mayores. En otras palabras, constituye una medida del peso molecular medio de los triglicéridos constituyentes.

-
- Pesar exactamente 2.0 – 2.5 g de aceite en un balón fondo redondo esmerilado de 125 mL.
 - Agregar 25 mL de solución de KOH alcohólico (40 por mil) con pipeta aforada.
 - Paralelamente montar un **BLANCO** sin muestra y hacer el mismo procedimiento.
 - Conectar en el recipiente un tubo condensador a reflujo y calentar sobre el baño de agua en ebullición, agitando ocasionalmente hasta que la grasa esté completamente saponificada (30 a 45 minutos). La muestra problema pierde toda su turbidez.
 - Separar el balón del montaje y titular con HCl 0.5 N usando 3 ó 4 gotas de fenolftaleína como indicador.
 - Sustraer los mL de HCl 0.5 N requeridos en la muestra a los consumidos por el blanco y obtener así los mL de ácido equivalente al KOH que intervino en la saponificación.
 - Calcular e informar el índice según su definición (peso fórmula del KOH = 56,1).

d.	Índice de Ácidos Grasos Libres (Ia)
-----------	--

Los aceites y grasas, por fenómeno químico y microbiológico, contienen ácidos grasos libres en mayor o menor cantidad según sean las condiciones de manufactura, edad y almacenamiento del producto. Un índice alto indica la presencia de una cantidad elevada de ácidos grasos libres, estos, causan el enranciamiento de las grasas. Se obtiene por titulación directa con KOH normalizado y se expresa en mg de KOH requeridos para neutralizar los ácidos grasos libres presentes en 1 g de grasa.

- Pesar exactamente en un erlenmeyer tarado de 125 mL, 1-2 g de muestra
- Disolverla con 50 mL de etanol al 95 % neutralizado.
- Añadir 3 gotas de fenolftaleína, mezclar.
- Agitar y titular con NaOH 0.1N.
- Calcular e informar la acidez libre en miligramos de KOH por gramo de aceite y en gramos de ácido oleico por 100 g de aceite, que es otra forma común de expresarla (PM ácido oleico, $C_{18}H_{34}O_2 = 282,4$).

e.	Índice de Esteres (Ie)
-----------	-------------------------------

Se define como mg de KOH necesarios para saponificar 1 g de grasa completamente esterificada, o sea que no incluye los ácidos que puedan existir libres, por lo tanto puede calcularse por diferencia entre los índices de saponificación y de acidez. Resulta útil para determinar el peso molecular medio de los glicéridos o ácidos grasos presentes.

f.	Prueba cualitativa para la Materia Insaponificable (Mi)
-----------	--

Las sustancias no saponificables pueden ser sustancias resinosas, parafina o aceites minerales; la presencia de cualquier cantidad apreciable de esta materia se detectará si al añadir a la solución del jabón en potasa alcohólica un poco de agua, aparecen gotas de aceite o una emulsión blancuzca, debida a que las sustancias presentes son incapaces de formar un jabón soluble en los álcalis.

- En un tubo de ensayo añadir 10 gotas de aceite y 5 mL de solución KOH 1.0 N en etanol.
- Calentar sobre baño de agua hirviendo por algunos minutos y agitando frecuentemente para asegurar una saponificación completa.
- Añadir 15 mL de agua, gota a gota, a la solución caliente de jabón, agitando y observando después de cada adición.

La formación de turbidez indica la presencia de aceites minerales o materia insaponificable. En caso de adulteración con aceites minerales la muestra presentará, además, valores bajos en los índices de lodo y saponificación, proporcionales al aceite mineral presente.

g.	Índice de Peróxidos (Ip)
-----------	---------------------------------

Se denomina "índice de peróxidos" a los miliequivalentes (milimoles equivalentes) de oxígeno activo contenidos en un kilogramo de la grasa, calculados a partir del yodo liberado del yoduro de potasio.

Las sustancias que oxidan el yoduro de potasio en las condiciones descritas se supone son peróxidos u otros productos similares de oxidación de la grasa, por lo que el índice obtenido puede tomarse, en una primera aproximación, como una expresión cuantitativa de los peróxidos de la grasa.

El oxígeno activo resultante de la oxidación de los aceites, reacciona con el yoduro de potasio liberando yodo, el cual se valora con tiosulfato de sodio utilizando solución de almidón como indicador.

- Pesar exactamente en un erlenmeyer tarado de 125 mL, 2.5 g de muestra
- Disolverla con 15 mL de la mezcla de solventes cloroformo-ácido acético (1:3 V/V).
- Adicionar 2.5 mL de la solución saturada de KI.
- Tapar el erlenmeyer, agitar y dejar en reposo en la oscuridad con agitación ocasional durante un minuto exacto.
- Adicionar 25 mL de agua destilada.

-
- Titular el lodo libre con tiosulfato de sodio 0.01N, agitando hasta desaparición del color amarillo, utilizar 2 gotas de almidón al 1% como indicador, continuar titulando hasta desaparición del color azul.
 - Paralelamente montar un **BLANCO** sin muestra y hacer el mismo procedimiento. Restar los mL gastados en el blanco de los mL gastados en la muestra.

Calcular e informar el índice así:

$$\text{ValorperoxidomEq/1000gramos} = \frac{(V_m - V_b) * N * 1000}{\text{Pesomuestra}}$$

Donde:

V_m = mL de Tiosulfato consumidos en la titulación de la muestra

V_b = mL de Tiosulfato consumido en la titulación del blanco

N = Normalidad del Tiosulfato.

h.	Ensayo Cualitativo de Rancidez Oxidativa
-----------	---

Las grasas y aceites, por acción de diversos factores físicos o biológicos (disponibilidad de O₂, presencia de ciertas enzimas y metales, acción de la luz, el calor y la humedad etc.) sufren procesos de rancidez oxidativa. Este fenómeno químico puede detectarse, aún en las primeras etapas, por medio de una reacción rápida y sencilla como es el “*Ensayo de Kreiss*”, que se basa en la producción de un color rojo debido a la reacción extremadamente sensible entre floroglucina y una sustancia presente en grasas rancias: el aldehído epidrínico.

- En una probeta de 25 mL provista de tapón, introducir 5 mL del aceite y 5 mL de HCl concentrado.
- Tapar y agitar vigorosamente durante 20 segundos.
- Luego agregar 5 mL de solución de floroglucina y nuevamente tapar y agitar 20 segundos.
- A los 10 minutos observar la coloración, si la grasa está rancia, la capa inferior (ácida) toma un color rosa, violáceo o rojo (descartar colores amarillos o naranjas); en este caso se completa el ensayo con la modificación de Kerr:

Hacer dos diluciones del aceite original

- Un volumen de muestra más 9 volúmenes de glicerina líquida.
- Un volumen de muestra más 19 volúmenes de glicerina líquida

Proceder con 5 mL de cada mezcla tal como se detalló anteriormente.

Observaciones:

- Ningún color: indica que no hay rancidez.
- Reacción positiva cuando no hay dilución y negativa en A y B: implica que no hay rancidez suficiente como para producir cambios en el color y sabor, pero que la grasa presentará pronto esos fenómenos.
- Reacción positiva en el ensayo A pero negativa en el B: indica rancidez incipiente, acompañada de cambios ya perceptibles en el olor y sabor.
- Reacción positiva en la dilución B: .significa definida rancidez.

i.	Índice de Yodo
----	-----------------------

El Índice de Yodo es el número de gramos de yodo absorbido por 100 g de aceite o grasa y es una de las medidas más útiles para conocer el grado de saturación de estos.

Los dobles enlaces presentes en los ácidos grasos no saturados reaccionan con el yodo, o algunos compuestos de yodo, formando compuestos por adición. Por lo tanto, mientras más bajo es el Índice de Yodo, más alto es el grado de saturación de una grasa o aceite.

El Índice de Yodo es una propiedad química característica de los aceites y grasas y su determinación puede ser utilizada como una medida de identificación y calidad.

- Pesar 0,5 gramos del aceite o la grasa en un frasco de yodo. Se agregan 10 mL de CHCl_3 . Se añaden 25 mL del reactivo de Hanus, con precaución. Se deja en reposo la mezcla por 30 minutos.
- Se añaden 10 mL de solución al 15 % de KI, se agita intensamente y se añaden 100 mL de agua fría recién hervida.
- Se titula el yodo con una solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N hasta desaparición del color amarillo, se añaden gotas de almidón al 1% como indicador y se continúa la titulación hasta que el color azul desaparezca.
- Paralelamente montar un **BLANCO** sin muestra y realizar el mismo procedimiento.

Calculo:

Índice de Yodo.

$$\text{Índice de yodo} = \frac{(B - A) * N * 12,69}{\text{Pesomuestra}}$$

N: Normalidad del $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

Donde:

B: mL de titulante gastados en el blanco

A: mL de titulante gastados en la muestra

PREGUNTAS

- a. Elabore un diagrama de flujo sobre el proceso de producción de aceites y grasas comestibles.
- b. Cuál es la función de los antioxidantes en las sustancias grasas?
- c. A qué se debe la presencia de ácidos grasos libres en las sustancias grasas? Para qué sirve conocer su contenido en aceites y grasas? Cual es el valor máximo permitido?
- d. Investigue las causas de la rancidez en los aceites y grasas. Qué otras alteraciones se presentan en los aceites comestibles?
- e. Que son los BHT y BHA?

BIBLIOGRAFÍA

- **Association of Official Analytical Chemists:** *Official Methods of Analysis of A.O.A.C.* 14th Ed. U.S.A.: Arlinton, 1984.
- **BERNAL DE RAMÍREZ, I.** *Análisis de Alimentos.* Santa fe de Bogotá: Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 1993. 313 p.
- **FISCHER H. J. y HART, F. L.** *Análisis Moderno de los Alimentos.* España: Editorial Acribia, 1971. 619 p.
- **GUZMÁN, C.** *Manual de Laboratorio para el curso de Química de Alimentos.* Santiago de Cali: Sección de Alimentos, Facultad de Ingeniería, Universidad del Valle, 1987. 112 p.
- **KIRK, R.S., SAWYER, R. y EGAN, H.** *Composición y Análisis de Alimentos de Pearson.* 2 ed. México: Compañía Editorial Continental S.A. de C.V, 1996. 777p.
- **PEARSON O.** *Técnicas de Laboratorio para el Análisis de Alimentos.* España: Editorial Acribia, 1976.
- **Reye, S. Alcibíades.** Manual de análisis de alimentos. Universidad Tecnológica de Pereira

ANÁLISIS DE LECHE

OBJETIVOS

- Reconocer la importancia de las técnicas de análisis fisicoquímico utilizadas para evaluar la calidad de la leche fresca.
- Investigar, estudiar y comparar las normas, resoluciones y decretos que rigen los requisitos que deben cumplir la leche para el consumo humano y aplicarla a la interpretación de los valores obtenidos experimentalmente.

INTRODUCCIÓN

Definiciones según el decreto 616 del 2006

- **Leche:** Es el producto de la secreción mamaria normal de animales bovinos, bufalinos y caprinos lecheros sanos, obtenida mediante uno o más ordeños completos, sin ningún tipo de adición, destinada al consumo en forma de leche líquida o a elaboración posterior.

- **Calostro:** Para los efectos del presente reglamento técnico, no se considera como leche apta para el consumo humano, al producto obtenido de los animales lecheros dentro de los quince (15) días anteriores y los siete (7) posteriores al parto.

- **Leche cruda:** Leche que no ha sido sometida a ningún tipo de termización ni higienización.

- **Leche pasteurizada:** Es el producto obtenido al someter la leche cruda, termizada o recombinada a una adecuada relación de temperatura y tiempo para destruir su flora patógena y la casi totalidad de flora banal, sin alterar de manera esencial ni su valor nutritivo ni sus características fisicoquímicas y organolépticas. Las condiciones mínimas de pasteurización son aquellas que tiene efectos bactericidas equivalentes al calentamiento de cada partícula a 72°C - 76°C por 15 segundos (pasteurización de flujo continuo) o 61 °C a 63° C por 30 minutos (pasteurización discontinua) seguido de enfriamiento inmediato hasta temperatura de refrigeración.

- **Leche ultra-alta-temperatura (UHT) Larga vida:** Es el producto obtenido mediante proceso térmico en flujo continuo, aplicado a la leche cruda o termizada a una temperatura entre 135 °C a 150 °C y tiempos entre 2 y 4 segundos, de tal forma que se compruebe la destrucción eficaz de las esporas bacterianas resistentes al calor, seguido inmediatamente de enfriamiento a temperatura

ambiente y envasado aséptico en recipientes estériles con barreras a la luz y al oxígeno, cerrados herméticamente, para su posterior almacenamiento, con el fin de que se asegure la esterilidad comercial sin alterar de manera esencial ni su valor nutritivo ni sus características fisicoquímicas y organolépticas, la cual puede ser comercializada a temperatura ambiente.

- **Leche adulterada:** La leche adulterada es aquella:

1. A la que se le han sustraído parte de los elementos constituyentes, reemplazándolos o no por otras sustancias.
2. Que haya sido adicionada con sustancias no autorizadas y,
3. Que por deficiencias en su inocuidad y calidad normal hayan sido disimuladas u ocultadas en forma fraudulenta sus condiciones originales.

- **Leche alterada:** Es aquella que ha sufrido deterioro en sus características microbiológicas, físico químicas y organolépticas, o en su valor nutritivo, por causa de agentes físico-químicos o biológicos, naturales o artificiales.

- **Leche contaminada:** Es aquella que contiene agentes o sustancias extrañas de cualquier naturaleza en cantidades superiores a las permitidas en las normas nacionales o en su defecto en normas reconocidas internacionalmente.

- **Leche falsificada:** Es aquella que:

1. Se designe o expendan con nombre o calificativo distinto al que le corresponde
2. Su envase rótulo o etiqueta contenga diseño o declaración ambigua, falsa o que pueda inducir o producir engaño o confusión respecto de su composición intrínseca y uso.
3. No proceda de los verdaderos fabricantes declarados en el rotulado del empaque
4. Que tenga la apariencia y caracteres generales de un producto legítimo, protegido o no por marca registrada y que se denomine como este sin serlo.

Composición química promedio de la leche de vaca

Constituyentes plásticos energéticos	
Agua.....	(90-91) %
Extracto seco total {	Grasa..... (3,5-4,5) %
	Extracto seco magro {
	lactosa..... (4,7-5,2) %
	sustancias nitrogenadas... (3,3-3,6) %

Sales..... (0,9-0,95) %
Biocatalizadores (no fácilmente determinables o en proporciones vestigiales) Pigmentos- Enzimas- Vitaminas
Gases disueltos (4-5)% del volumen de la leche a la salida de la mama Gas carbónico – Oxígeno – Nitrógeno

Los componentes de la leche se pueden dividir en dos grupos: aquellos que son elaborados por las células de la glándula mamaria, como lo son la lactosa, caseína y grasa y aquellos componentes del plasma sanguíneo que pasan a la leche sin ser modificados en su calidad, pero si en su cantidad, como cloruros, fosfatos, albúmina y globulina.

AGUA: En la fase acuosa se encuentra en solución la lactosa, las sales minerales principalmente de sodio y potasio, las vitaminas hidrosolubles; y en suspensión la grasa, la caseína y ciertas sales minerales como los fosfatos de calcio y magnesio.

GRASA: Este componente se encuentra en forma de glóbulos, recubiertos de una membrana constituida por proteínas y fosfolípidos, esta grasa esta constituida en peso, por 12,5% de glicerol y 85,5% de ácidos grasos como el ácido butírico, en la fase grasa de la leche se hallan, en pequeñas cantidades, otros compuestos como son: fosfolípidos, de los cuales el más importante es la lecitina en un 0,03%; esteroides, entre los que se destaca el colesterol en proporción de 0,015% y los tocoferoles (vitamina E), carotenoides y vitaminas A y D.

CARBOHIDRATOS: La lactosa es un disacárido conformado por (una molécula de glucosa y una de galactosa) predominante de la leche y no se encuentra en ningún otro alimento. En el intestino la lactosa favorece el desarrollo de las bacterias formadoras de ácido que pueden estar presentes; el medio generado por estas inhibe la proliferación de organismos indeseables que producen putrefacción, y facilita la absorción del calcio y la utilización de la vitamina D.

PROTEÍNAS

- Insolubles: El 80% del contenido proteico de la leche esta constituido por caseína; esta se encuentra presente como una sal de calcio y esta probablemente dispersa formando un complejo coloidal con el fosfato de calcio. Es insoluble en agua y se puede precipitar acidificando a pH 4.6

(punto isoeléctrico), gracias a una sustancia acida como el ácido láctico cuando se agria la leche o por medio de enzimas proteolíticas; entre las más utilizadas está la renina, presente en el estómago de terneros, este tipo de acidificaciones son la base de los productos comerciales para la elaboración de quesos. Desde el punto de vista nutricional, la caseína suministra a la dieta los aminoácidos esenciales como lisina 78 mg/g de leche y triptófano 14 mg/g de leche, en metionina es limitante, pero las diferentes fracciones de lactoalbúmina y lactoglobulina son ricas en ella.

- Solubles: No se precipitan al acidificar la leche y están presentes en el suero, este contiene las proteínas lactoalbúmina y lactoglobulina que coagulan al ser sometidas al calor. La lactoglobulina comprende un conjunto de globulinas como euglobulina y la pseudoglobulina, portadoras de los anticuerpos que protegen al ternero contra microorganismos patógenos; el calostro es más rico en globulinas que la leche.

Existen además en la leche, trazas de material nitrogenado no proteico, probablemente subproductos del metabolismo; algunos de estos compuestos son: urea, ácido úrico, amoníaco y creatina.

MATERIAL MINERAL: Los minerales se encuentran en la leche principalmente en forma de fosfatos, citratos de potasio, calcio, sodio y magnesio. Además se encuentran en pequeñas cantidades de cobre, manganeso, zinc, potasio, cloro, fósforo y trazas de muchos otros elementos. La presencia y cuantía de minerales hacen que la leche sea considerada como buena fuente de estos nutrientes; sin embargo es importante destacar la deficiencia de hierro, hecho que debe tenerse en cuenta en los casos de dietas suplementarias a base de lácteos. Un tercio del mineral está en solución acuosa y la cantidad restante en suspensión coloidal combinado con la caseína, el fósforo y los citratos. Su absorción en el tracto intestinal, se ve favorecida por el medio ácido, y por la presencia en la leche de grasa y vitamina D. El contenido de calcio y fósforo en la leche se mantienen aproximadamente constante, aun cuando la dieta del animal sea deficiente en este mineral debido a la capacidad de su organismo para transferirlo de sus huesos hacia la leche.

VITAMINAS: La leche contiene todas las vitaminas requeridas por la dieta humana, algunas en abundancia otras en pequeñas cantidades, se destaca la riboflavina por presentar las mejores cantidades, siguen en orden cuantitativo la vitamina A, la tiamina con muy buenos contenidos, la vitamina D presenta contenidos relativamente bajos. Se puede considerar la leche como un alimento pobre en niacina, ácido ascórbico y vitamina E. La riboflavina, la tiamina y demás vitaminas del complejo B, al igual que la vitamina C, por ser hidrosolubles, se encuentran en la fase acuosa de la leche y por lo tanto se presentan solamente en aquellos derivados lácteos que incluyen la fase acuosa, como son el yogur y el kumis. En general, los contenidos de vitamina C y de vitaminas del complejo B sufren muy pocas fluctuaciones de acuerdo con las variaciones de la

diera del animal; la vitamina C es sintetizada por la vaca en el intestino delgado, y el complejo B en la flora del rumen. Los contenidos de vitamina A y su precursor caroteno, lo mismo que los de vitamina D, sí son muy sensibles a las variaciones en la dieta; tienden a ser mayores cuando el animal tiene a su disposición pastos verdes y posibilidad de tomar sol, por lo cual en las zonas templadas del globo estas vitaminas presentan incrementos notorios en las épocas de verano. Los carotenos comunican a la grasa de la leche su típico color amarillento y dependiendo de la raza de la vaca, cambia su habilidad para transformarlos en vitamina A, antes de ser segregados a la leche. Puesto que la vitamina A, los carotenos y la vitamina D se encuentran en la fase grasa, los contenidos de esas vitaminas en los diferentes derivados lácteos dependerán del contenido final de grasa de cada producto, la tiamina y la vitamina C son sensibles a los tratamientos térmicos, esta termosensibilidad hace que en la pasteurización se presenten pérdidas del orden del 20% y en otros procesos más drásticos, como deshidratación y esterilización, las pérdidas asciendan a valores mucho mayores, la riboflavina, aunque muy poco sensible al calor, es afectada por la acción de la luz, especialmente solar directa; por causa, las pérdidas pueden ascender a niveles del 80%.

ENZIMAS: En la leche cruda están presentes varios grupos de enzimas, que de no ser tratadas adecuadamente en la manipulación del producto, pueden influir en el desarrollo de cambios desfavorables en su aroma. En la leche, la presencia de algunas enzimas, o los contenidos anormalmente altos de otras, son indicio de algunas enfermedades de los animales de donde proceden, en muchos casos de leches procesadas, algunas enzimas son utilizadas como indicadores de tratamientos inadecuados o insuficientes. Entre las enzimas de mayor relevancia en la leche se pueden mencionar.

- La alfa-amilasa: esta enzima presenta valores anormalmente altos cuando la leche procede de animales afectados de mastitis; se inactiva por calentamiento a 45°C-60°C, durante 30 minutos.
- Catalasa: se presentan normalmente en bajas cantidades, pero su contenido se ve incrementado en el calostro y en leches de animales afectados de mastitis. Se inactiva a temperaturas de 65°C
- Lipasa: esta enzima se destruye a la temperatura de pasteurización. Es responsable, bajo ciertas condiciones, de la liberación de los ácidos grasos de la grasa de la leche, cuyo aroma rancio característico, aunque deseable en ciertas variedades de queso, no se admite en la leche y otros de sus derivados; esta acción se hace más sensible en la leche homogenizada, debido al mayor número de glóbulos de grasa presentes y a la mayor superficie expuesta a la acción de la enzima.
- Fosfatasa: En la leche se encuentran dos fosfatasa sobre la superficie de los glóbulos de grasa: una alcalina, que presenta su nivel máximo de actividad a pH 9.65 y en menor cantidad, una fosfatasa ácida, activa a pH 4.0. la presencia de fosfatasa alcalina en leches pasteurizadas se utiliza como evidencia de procesamiento deficiente, ya que los tiempos y temperaturas indicados

para pasteurización, cuyo principal objeto es destruir las bacterias de la tuberculosis, deben inactivar la enzima.

- Peroxidasa: Esta enzima es muy resistente al calor y requiere para su inactivación condiciones más drásticas que las señaladas para pasteurización.

Para efectos de análisis, los constituyentes de la leche se agrupan de la siguiente forma:

G: % de grasa.....	3.6 %
S.N.G.: % de sólidos no grasos: % de proteína + % de lactosa + % de cenizas.....	8.7 %
S.T.: % de sólidos totales: G + S.N.G.....	12.3 %

Adulteraciones

Entre las adulteraciones mas comunes se encuentran la adición de agua, lo que trae como consecuencia la disminución del valor nutritivo o la posible contaminación según el agua utilizada, la sustracción de grasa siendo el fraude más difícil de detectar, se puede predecir por el contenido histórico de la región o utilizando la C.M.S extracto seco y la grasa., la adición de colorantes amarillos para hacer parecer la leche mas rica en grasa, la adición de espesantes para aumentar la consistencia, la adición de sustancias neutralizantes de la acidez, finalmente la adición de agentes antimicrobianos con el objeto de prolongar el tiempo de vida útil del producto o detener procesos de alteración ya iniciados y otras no tan comunes como la adición de leche de otras especies, o contaminación por radioactividad, antibióticos, pesticidas, detergentes, tierra e impurezas, al ser ingeridas, absorbidos por el animal en alimentos o medicamentos o mal manejo de la leche en la planta.

Análisis de la leche

Las determinaciones que se realizan comúnmente en el análisis químico de la leche, permiten comprobar si sus valores corresponden a las características de composición genuina para poner al descubierto alteraciones y adulteraciones o fraudes, tipo de tratamiento térmico a que fue sometida; indicando entre ciertos límites establecidos por normas el estado de conservación y pureza. Los métodos analíticos para el control de la leche se pueden dividir en varios grupos, según el fin que persiguen.

- I. **Investigación del aguado y descremado**, algunas pruebas empleadas para tal fin son (densidad, peso específico, peso específico del lactosuero, índice crioscópico o punto de solidificación,

extracto seco o sólidos totales, estrato desgrasado, materia grasa y constante molecular simplificada (C.M.S) equilibrio osmótico entre la lactosa y los cloruros.)

- II. **Reconocimiento de las condiciones higiénicas y del estado de conservación de la leche**, por medio de pruebas tales como (potencial hidrogeno, acidez, grado de limpieza, prueba del alcohol, prueba de leucocitos de trommsdorff, índice de cloro-lactosa, prueba de la catalasa, reductasa o resazurina. Identificación de conservantes, antisépticos y neutralizantes que son sustancias utilizadas para enmascarar adulteraciones (harinas, almidones, albúmina, etc.) o sustancias antisépticas (ácido bórico, bórax, ácido salicílico, formaldehido, ácido benzoico, hipocloritos, cloraminas, agua oxigenada, etc.) para asegurar su conservación o bien de sales alcalinas (carbonato o bicarbonato de sodio) para retardar o corregir su fermentación, son identificadas cualitativamente por reacciones características ya conocidas.
- III. **Control del tratamiento térmico de la leche** debida a reacciones con enzimas como la reacción del guayacol, según Dupouy, prueba de Benjen y Böhm, reacción de Schern-Gorli, siendo las mas reconocida la prueba de la fosfatasa.
- IV. **Análisis bacteriológico** para microorganismos específicos.

Las características organolépticas normales que deben presentar una buena leche e igualmente, aquellas que indican una alteración de su condición normal, se muestran a continuación:

Color		Olor		Sabor	
Blanco amarillento	Normal	Normal	Variable según especie y raza	Dulce	Normal
Blanco	Leche descremada	Fuerte	Pútrido	Ácido	Leche mal conservada
Amarillento	Calostro o de origen microbiano	Indefinido	Lesiones mamarias	Amargo	. Por alimentación del ganado con centeno maduro, etc. b. De origen bacteriano
Azulada	Aguada o microbiana	Estiércol	Ordeña poco higiénica	Salado	a. Calostro o al final de la lactancia b. Lesiones mamarias
Rosado	Sangre o microbiano				
Gris	Tierra o estiércol				

Índice crioscópico o punto de solidificación

En la leche este índice depende casi exclusivamente de su contenido en sustancias disueltas, o sea, en lactosa y sales, ya que las proteínas y la grasa, por su dispersión coloidal, no tienen influencia. El punto de solidificación de la leche normal varía solo entre límites estrechos, o sea, de 0,53 °C a 0,57°C (promedio 0,55°C). Entre las causas que pueden variar el punto de solidificación estarán solo circunstancias que pueden modificar la concentración de las sustancias disueltas y que son ante todo enfermedades de las ubres o tuberculosis del ganado lechero, que por su mayor producción de cloruro de sodio en la leche hacen que el descenso crioscópico se haga mayor, obteniéndose cifras superiores a 0,57°, el mismo efecto producen sales extrañas (bicarbonato). En cambio, la adición de agua produce menor descenso de 0,53°C a 0°C, por disminuir naturalmente la concentración de las sustancias disueltas.

La determinación se efectúa, disponiendo de un sistema adecuado de refrigeración, ya sea a base de evaporación de éter (crioscópico de Horvet) o de una mezcla de sal y hielo (crioscópico de Gerber), hasta alcanzar -3°C en el baño de enfriamiento en el cual se sumerge un termómetro de precisión en centésimas de grado, de tal forma que el bulbo de mercurio quede bien sumergido y sin tocar las paredes de la probeta, se empieza a mover el agitador de la leche (y también de la mezcla frigorífica o el paso de aire por el éter según el método) en tal forma que el anillo del agitador alcance casi la superficie de la leche, unas 30 veces por minuto. Se observa continuamente la caída de la columna de mercurio y una vez que haya descendido 0,5° C a 1°C por debajo del probable punto de congelación, se inicia la solidificación por adición de un cristalito de leche sólida del tamaño de una arveja para romper el sobre-enfriamiento. Cuando empieza el rápido ascenso del mercurio se deja agitar y solo cuando se aproxima a su punto más alto, se vuelve a mover lentamente el agitador unas 2 a 3 veces. Durante el ascenso del mercurio debe golpearse suavemente la parte superior del termómetro, por lo menos durante un minuto y se hace la lectura.

MATERIALES

Material de vidrio y elementos de laboratorio	Cantidad
Algodón	1
Baño maría	1
Bureta	2
Butirómetro	1
Capsula de porcelana	1

Centrifuga	1
Crisol	1
Equipo para filtrar	1
Erlenmeyer de 250 mL	1
Estufa	1
Goteros	3
Lactodensímetro	1
Matraz aforado de 500 mL	1
Mufla	1
Papel filtro	1
Pinza para bureta	1
Pinza para crisol	1
Pinza para tubo de ensayo	1
Pipeta graduada de 10 mL estéril	2
Pipeta graduada de 1 mL	
Pipeta graduada de 10 mL	2
Pipeta volumétrica de 11 mL	1
Pipeta volumétrica de 1 mL	1
Pipeta volumétrica de 10 mL	1
Pipeta volumétrica de 2 mL	1
Pipeta volumétrica de 20 mL	1
Pipeta volumétrica de 25 mL	1
Pipeta volumétrica de 5 mL	1
Probeta 50 mL	1
Soporte universal	1
Termómetro	1
Tubo de ensayo	5
Tubo de ensayo estéril	1
Varilla de vidrio	2
Vaso de precipitado de 250 mL	2
Vaso de precipitados de 100 mL	1
Vaso de precipitados de 50 mL	1

REACTIVOS

Nombre	Código de color	Riesgos específicos	Consejos de prudencia
Acido nítrico 1N	Blanco	35	23.2-26-36/37/39
Acido sulfúrico para Gerber	Blanco	35	26-30-45
Alcohol al 68% en peso			
Alcohol amílico puro	Rojo	44-10-5	24/25
Alizarina en etanol al 0.05%	Verde		
Almidón	Verde		
Azul de metileno	Verde	22	
Bilis de Buey al 1%			
Dicromato de potasio al 10 %	Amarillo	46-36/37/38-43-50	53-45-60-61
Fehling A			
Fenolftaleína 1%	Verde		
Formol en solución comercial al 30% en peso			
1,4-fenilendiamina	Azul		
Guayacol al 1%	Rojo	22-36/38	26
HCl concentrado	Blanco	34-37	26-45
NaOH 0,1N	Blanco	35	26-37/39-45
NaOH al 2%, 10% y 0.14N	Blanco	35	26-37/39-45
Nitrato de plata 0,1N y 1%	Amarillo	34-50/53	26-45-60-61
Oxalato de potasio al 28%	Blanco	21/22	24/25
p-nitrofenilortofosfato disódico 0,15% w/v	Verde		
Peróxido de hidrogeno al 12%			
Solución saturada de alumbre férrico			
Soluciones buffer de pH 4,0 y 7,0			
Sulfato de cobalto al 5%	Verde	E22-39-42/43-50/53	
Sulfocianuro de amonio 0,1N	Verde	20-21/22-32	13
Yodo 0.05%	Blanco	20/21-50	23.2-25-61
Yoduro de potasio	Verde		

PROCEDIMIENTO

Tratamiento de la muestra: Antes de tomar porciones para el análisis, llevar la muestra aproximadamente a 20^oC y mezclar por trasvase a otro recipiente limpio, repitiendo la operación hasta asegurar una muestra homogénea. Si no han desaparecido los grumos de crema, tibar la muestra en baño de agua hasta casi 38^oC mezclar y luego enfriar a 15-20^oC. Para cualquier determinación debe llevarse la muestra a ésa temperatura antes de pipetear.

a.	Densidad (D)
-----------	---------------------

La determinación de la densidad es de gran importancia porque si no está absolutamente de acuerdo con los valores establecidos por la ley se podría pensar en una posible falsificación o adulteración, valores por debajo de lo establecido indican aguado de la leche y caso contrario indican descremado de la leche. La densidad o más exactamente el peso específico de la leche a 15^oC está entre 1.029 y 1.033 pero varía en relación a la cantidad de grasa y depende de la estación del año, la raza y la edad de la vaca, para leche descremada se tienen valores entre 1,034-1,036 y para el calostro 1,050-1,080.

- Verter suavemente la leche preparada para el análisis en una probeta ancha, evitando la formación de espuma e incorporación de aire.
- Dejar unos minutos hasta que la temperatura se estabilice.
- Tomar el lactodensímetro por el extremo del vástago introduciéndolo de modo que ocupe la parte central del líquido y dando un leve movimiento de rotación (para que no se pegue a las paredes de la probeta, puesto que se tendría una lectura errónea).
- Cuando la temperatura sea estable, se lee la densidad o se espera a que alcance el nivel correspondiente, cuidando de que el visual enrase con la superficie libre de la leche. Si la temperatura se encuentra entre un rango de (10-20) °C, por cada grado sobre 15°C se suma al resultado de la densidad leída, un valor de 0,0002.

b.	Cenizas
-----------	----------------

Se denomina así a la materia inorgánica que forma parte constituyente de los alimentos (sales minerales). Las cenizas permanecen como residuo luego de la calcinación de la materia orgánica

del alimento. La calcinación debe efectuarse a una temperatura adecuada, que sea lo suficientemente alta como para que la materia orgánica se destruya totalmente, pero tenemos que observar que la temperatura no sea excesiva para evitar que los compuestos inorgánicos sufran alteración (fusión, descomposición, volatilización o cambio de estructura).

- Tomar 2 mL de leche con pipeta volumétrica verterlo al crisol y pasarlo a la mufla por 550°C durante 2 horas.
- Enfriar y pesar el crisol.
- Reportar el valor como cenizas o material mineral

$$R1 = (WC1 + R) - WC1$$

Calcular las Cenizas Totales con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{R1 * 100}{WM}$$

Reportar los resultados de las Cenizas Totales (Minerales Totales) en g/100g de muestra

Donde:

WC1	Peso del crisol
WC1+ R	Peso del crisol más residuo.
R1	Residuo
WC1+ WM	Peso del crisol más la muestra
WM	Peso de la muestra.

c.	Extracto Seco o Sólidos Totales (ES)
-----------	---

Lo constituye el residuo remanente de la evaporación de las materias volátiles de la leche a la temperatura de ebullición del agua. El extracto seco comprende materia grasa, azúcar, proteínas, sales minerales y vitaminas, para la leche entera debe ser mínimo 11.3 g% w/w.

- Tarar la cápsula de porcelana
- Agregar 5 mL de leche con una pipeta volumétrica.
- Evaporar en baño de agua hirviendo durante 10-15 minutos, exponiendo a la acción del vapor la máxima superficie posible del fondo del recipiente.
- Colocar luego en estufa a 98-100°C secando hasta que se obtenga peso constante (lo cual podrá requerir 3 o más horas).
- Enfriar en desecador antes de pesar.

-
- Referir el residuo a % en peso de muestra, reportándolo como "Sólidos Totales".

Los sólidos totales también pueden obtenerse a partir de la densidad y el contenido graso aplicando la fórmula de Richmond modificada:

$$ES = 250(D-1) + 1.22G + 0.72$$

ES: Extracto seco

D: Densidad de la leche a 20°C

G: Porcentaje de materia grasa en la leche

d.	Materia Grasa (Método de Gerber)
-----------	---

La materia grasa en leche puede variar de menos de 3% a más de 6%, dependiendo de la raza, la alimentación, etc...

Esta se encuentra emulsificada en forma de glóbulos grasos de un tamaño de 0.1 a 6 micras.

Este método consiste en la separación de la materia grasa por disolución en ácido sulfúrico de todos los otros componentes de la leche, seguido de centrifugación en tubos especialmente calibrados también emplea alcohol amílico que ayuda a romper la emulsión de las grasas y previene la carbonización de las mismas.

- Medir con pipeta 10 mL del H₂SO₄ para Gerber e introducirlos en el butirómetro evitando mojar las paredes internas del cuello. Cuando se trata de butirómetro grande se utilizan 17,5 mL de ácido.
- Agregar 11 mL de leche con la pipeta correspondiente, lentamente por las paredes para evitar reacción con el ácido, agregar 1 mL de alcohol amílico de seguridad. Cuando sea butirómetro grande utilizar 17,6 mL de leche.
- Tapar el butirómetro con el tapón especial correspondiente, y agitar en forma efectiva pero con cuidado (lentamente primero y finalmente más fuerte), teniendo en cuenta que se produce una fuerte elevación de temperatura, es recomendable envolver el butirómetro en una tela.
- Poner el butirómetro en un baño de agua a 65^o – 70^oC por 15 minutos, con el tapón hacia abajo.
- Retirarlo del baño y secarlo exteriormente.
- Centrifugar de 10 minutos.
- Llevarlo al baño maría, por 4-5 minutos hasta que la separación de grasa quede bien nítida y leer inmediatamente el espesor de la capa de grasa acumulada en la parte superior calibrada del butirómetro. Para ajuste adecuado del tapón de cierre, se puede hacer coincidir la base de la columna de grasa con el cero de la escala. Leyendo a la altura del menisco de la columna de

grasa se lee directamente el % (w/v) de la grasa en leche. Si no es posible ajustar la superficie inferior de la columna de grasa a cero, se ajusta a la marca del % completo más próxima y se tiene en cuenta al efectuar la lectura del menisco superior.

Posibles errores en la medición.

Defectos de la columna	Posible causa
Muy oscura y/o contenido de partículas carbonosas	Exceso de ácido o ácido muy fuerte. Temperatura de la leche y/o del ácido muy alto. Adición del ácido violentamente. Mezcla incompleta o retardada.
Muy clara y/o contenido de partículas de cuajada	Cantidad insuficiente de ácido. Ácido débil. Temperaturas bajas de la leche y/o ácido. Agitación insuficiente o inadecuada que produce disolución incompleta de las proteínas.
Con apariencia turbia (lechosa)	Butirómetro sucios. Agua dura.

e.	Extracto Seco No Graso (ESD)
-----------	-------------------------------------

Los sólidos no grasos pueden obtenerse a partir de la siguiente fórmula:

$$ESD = 250(D-1) + 0.2G + 0.1$$

ESD: Extracto seco desengrasado o sólidos no grasos

grasos

D: Densidad de la leche a 20°C

G: Porcentaje de materia grasa en la leche

O restando el porcentaje de grasa al valor de sólidos totales o extracto seco.

f.	Acidez
-----------	---------------

La acidez expresada como ácido láctico debe ser de 0.14-0.19 g/100 mL. La leche fresca, en estado normal, no contiene prácticamente ácido láctico. Se determina la acidez total por titulación con un álcali normalizado, en leche fresca el volumen consumido de álcali es debido prácticamente

al CO₂ disuelto y a los fosfatos ácidos, proteínas (principalmente caseína) y citratos ácidos contenidos en la leche. El ácido láctico producido durante el "agriado", se debe fundamentalmente a la acción de microorganismos del tipo de los estreptococos lácticos.

- Medir con pipeta aforada 20 mL de la muestra (de densidad conocida) o pesar aproximadamente 20 g en un erlenmeyer de 250 mL.
- Añadir aproximadamente 2 mL de solución alcohólica de fenolftaleína.
- Titular con NaOH 0.1N hasta aparición de color rosa débil persistente (debe mantenerse por 1 minuto).
- Expresar los resultados en % de ácido láctico por muestra en peso.
Peso Equivalente del ácido láctico: 90 g/EQ.

$$\% \text{AcidoLactico} = \frac{V_{NaOH} * N_{NaOH} * \text{PesoEquivalente}_{Acidolactico} * 100}{V_{Muestra} * 1000}$$

Para expresar la acidez en grados Dornic (que es la forma corriente en que se expresa en la industria láctea), se multiplica por 100 la cifra correspondiente al ácido láctico % de muestra (peso / volumen).

g.	Valoración de cloruros (Método Cuantitativo)
-----------	---

Sirven también para identificar enfermedades de la glándula mamaria, como la mastitis, debido a que si pierde la capacidad de elaborar los elementos característicos de la leche (Lactosa, caseína), actuara como un simple filtro, dejando pasar la linfa sin transformarla. Es por esto que los cloruros aumentan considerablemente para mantener la isotonía, al disminuir la lactosa y la caseína. O es adicionada cuando al existir una adulteración por aguado se desea enmascarar dicha adulteración si se realiza el método crioscópico.

- Tomar 25 mL de leche y llevar a un matraz aforado de 500 mL. Adicionar 400 mL de agua.
- Agregar 10 mL de Fehling A y 8.8 mL de NaOH al 2 %.
- Enrasar, agitar y dejar sedimentar el precipitado para filtrar.
- A 100 mL de filtrado adicionar NaOH hasta viraje del tornasol, luego acidular con HNO₃
- Agregar 5 mL de AgNO₃ 0.1 N en exceso. Calentar para mejor coagulación del precipitado.

Después de frío agregar 5 mL de solución saturada de alumbre férrico. Titular el exceso del AgNO_3 con sulfocianuro de amonio 0.1 hasta color rosado estable.

Cada mL de AgNO_3 0.1 de exceso equivale a 0.00355 gramos de cloruro.

h.	Ensayo del Azul de Metileno (prueba de la reductasa)
-----------	---

Evalúa la cantidad de bacterias en la leche y por lo tanto la calidad de su conservación. La prueba depende de que la actividad reductora de los microorganismos y de las sustancias reductoras de la leche logre un descenso del potencial redox y este cambio se valora visualmente mediante la reducción del azul de metileno. Es una prueba más rápida que los métodos de conteo de placas y sus resultados son más reproducibles.

- En un tubo de ensayo ancho (aproximadamente 3-4 cm de diámetro y esterilizado), verter 10 mL de leche con pipeta graduada estéril tratando de no mojar el costado de la parte interior del tubo.
- Agregar con pipeta estéril 1 mL de la solución de azul de metileno, evitando que la punta de la pipeta entre en contacto con la leche.
- Con precaución, agitar suavemente hasta conseguir homogeneidad completa, tapan el tubo con un algodón.
- Colocar el tubo en baño de agua a $37-38^{\circ}\text{C}$ cuidando que el nivel del agua del baño exceda al de la leche en el tubo manteniendo uniforme la temperatura tanto como sea posible. Evitar la exposición de los tubos a iluminación excesiva, en especial resguardar de la luz solar.
- Observar el tiempo necesario para que se produzca la decoloración. Se considerará alcanzada la misma cuando todo el contenido del tubo se haya decolorado, o bien, se haya decolorado hasta unos 5 mm de la superficie. Unas trazas de color que suelen producirse en el fondo del tubo de ensayos, pueden ser ignoradas mientras que no se extiendan hacia arriba más de 5 mm.
- Como criterio de comparación que indique cuando puede considerarse completa la decoloración, puede usarse un tubo control que puede prepararse sumergiendo en agua hirviendo durante 5 minutos, un tubo de ensayo similar, conteniendo 10 mL de la muestra (u otra leche de color y contenido graso similar) y 1 mL de agua corriente.
- Con base al tiempo transcurrido hasta la decoloración, se puede concluir sobre el estado de conservación y pureza de la muestra, lo siguiente:

1. Leche muy mala: Si no se conserva el color por más de 20 min.
2. Leche mala: Si conserva el color de 20 min. a 2 horas.
3. Leche calidad mediana: Si conserva el color por 2 a 5 1/2 horas.
4. Leche de primera calidad: Si conserva el color más de 5 1/2 horas.

i.	Prueba de la Fosfatasa (cualitativo)
-----------	---

Las fosfatasas son enzimas que se encuentran en la leche cruda y que se destruyen a la temperatura de pasteurización. La leche se incuba con p-nitrofenol disódico en condiciones alcalinas, el cambio de color a amarillo indica la presencia de fosfatasa.

- Tomar dos tubos de ensayo y colocar en cada uno 1 mL de la solución de p-nitrofenilortofosfato disódico.
- Tapar los tubos y colocarlos al baño maría a 37⁰C durante algunos minutos (5 minutos).
- Agregar al primer tubo 1 mL de muestra y al segundo tubo 1 mL de leche cruda, utilizando para cada uno pipetas diferentes. Este último se destina como testigo.
- Colocar los tubos al baño maría a incubar durante 2 horas a 37⁰C.
- Observar el color desarrollado en el primer tubo:

Si el color se mantiene inalterado (color blanco) la leche fue bien pasteurizada.

Si la leche no fue pasteurizada o lo fue insuficientemente, el primer tubo se coloca de amarillo de intensidad variable que depende de la cantidad de fosfatasa presente en la leche.

En el segundo tubo el color debe ser siempre amarillo. En caso contrario se presume que el reactivo no sirve y debe prepararse nuevamente.

j.	Prueba de Alcohol (cualitativo)
-----------	--

Esta prueba determina la estabilidad de la leche al calor. Si se tiene la formación de grumos al mezclarse el alcohol con la leche, indica que es una leche que no es apta para someterla a altas temperaturas.

- Mezclar en tubo de ensayo 5 mL de alcohol al 68% en peso ó 75% en volumen ° + 5 mL de leche. Agitar durante un minuto fuertemente. Durante 1 o 2 horas no deberá presentarse grumos en las paredes del tubo de ensayo para una leche fresca y bien conservada.

k.	Presencia de Almidón y Harinas (cualitativo)
-----------	---

- Mezclar bien la muestra de leche y tomar 5 mL en un tubo de ensayo.
- Calentar el tubo hasta llevar el líquido a ebullición.
- Enfriar rápidamente en un baño de agua.

-
- Agregar 2 gotas de solución de yodo al 0.05%.

La presencia de almidón o harinas se evidencia por la aparición de una coloración azulada.

L.	Presencia de Azúcar (cualitativo)
-----------	--

Puesto que el glúcido predominante de la leche es la lactosa, la presencia de sacarosa en la muestra analizada será proveniente de adulteración, que al igual que los cloruros, se añade con el fin de enmascarar la adulteración por agua

- Tomar en un tubo de ensayo 4 gotas de leche.
- Adicionar 4 gotas de bilis de buey al 1%.
- Adicionar 3 mL de HCl concentrado.
- Mezclar y llevar el tubo a baño maría a 50°C durante 5 minutos.

Azúcar (+) = color rojo-negro. Prueba positiva

Azúcar (-) = Color rosa débil. Prueba negativa

m.	pH
-----------	-----------

La leche fresca tiene normalmente un pH 6.3 a 6.5 y la leche de consumo de 6.4 a 6.7. esta determinación que se realiza con un potenciómetro, tiene especial interés para el reconocimiento de leche de animales enfermos, observándose en la mastitis infecciosa, por ejemplo, un cambio del pH a 7.3 a 7.5, mientras que una leche francamente ácida presenta un pH de 6.0.

- Calibrar el medidor de pH con los buffer indicados.
- Medir directamente el valor del pH de la muestra de leche. Si el equipo no posee compensación automática de temperatura aclimatar la muestra a 20 C y reportar el valor obtenido.

n.	Identificación de Hipocloritos, cloraminas, dióxido de cloro (cualitativo)
-----------	---

- En un tubo de ensayo colocar 2 mL de leche. Adicionar 1 mL de ácido clorhídrico diluido y 1 mL de solución de yoduro de potasio y 0,5 mL de solución de almidón y agitar.

Una coloración azul indica la presencia de cloro disponible debido a hipocloritos, cloraminas, dióxido de cloro o de agua oxigenada.

o.	Identificación de neutralizantes en leche (cualitativo)
-----------	--

La prueba permite identificar neutralizantes como Carbonatos o Bicarbonato Sódico, Amoníaco, Hidróxido de Sodio, entre otros, que se le añaden a la leche para neutralizar el ácido láctico, cambiando así la composición natural de la leche y por ende su calidad.

- Adicionar a 2 tubos de ensayo 2 mL de leche.
- Adicionar a un tubo 1 gota de hidróxido de sodio al 10% (Este tubo servirá para comparar)
- Añadir 3 ml de solución de alizarina en etanol al 0.05% a ambos tubos, agitar nuevamente y observar el color formado.

La aparición de un color rojo – violeta indica prueba positiva para Hidróxido de sodio.

p.	Análisis de dicromato de potasio en leches (cualitativo)
-----------	---

- Adicionar a 2 tubos de ensayo 1 mL de leche.
- Adicionar a un tubo 1 gota de dicromato de potasio al 10% (Este servirá para comparar)
- Añadir 2 mL de Solución Nitrato de Plata al 1% en ambos tubos, agitar nuevamente.

La aparición de un color amarillo - naranja indica prueba positiva para Dicromato de Potasio.

q.	Presencia de peróxido de hidrogeno en leches (cualitativo)
-----------	---

El Peróxido de Hidrógeno o agua Oxigenada es un agente oxidante, blanqueador y antiséptico que se descompone rápidamente en agua y oxígeno, en presencia de la catalasa.

- Adicionar a 2 tubos de ensayo 10 mL de leche.
- Adicionar a un tubo 1 gota de peróxido de hidrogeno al 12% (Este servirá para comparar)
- Añadir 2 mL de solución de guayaacol al 1% en ambos tubos.

La aparición de un color salmón indica que la prueba es positiva para Peroxido de Hidrogeno.

r.	Prueba de la peróxidasa cualitativo)
-----------	---

La enzima de la peroxidasa descompone el peróxido de hidrogeno. El oxígeno atómico liberado oxida el 1,4-fenilendiamina cambiando el color a púrpura como indofenol. La intensidad del color es proporcional a la concentración de la enzima.

- Adicionar 5 mL de leche a un tubo de ensayo.
- Adicionar 5 mL de una solución 1,4-fenilendiamina.
- Adicionar 2 gotas de solución de peróxido de hidrogeno y agitar bien.
- Observar el color producido por 30 segundos.

Si el color permanece durante 30 segundos indica prueba positiva.

s.	Proteína (Método del formol)
-----------	-------------------------------------

La leche de vaca contiene de 3-3,5 por ciento de proteínas, distribuida en caseínas, proteínas solubles o seroproteínas y sustancias nitrogenadas no protéicas. Son capaces de cubrir las necesidades de aminoácidos del hombre y presentan alta digestibilidad y valor biológico. Además del papel nutricional, se ha descrito su papel potencial como factor y modulador del crecimiento.

El formol fija los grupos NH_2 de las proteínas, liberando así los grupos carboxilos que se titulan con soda.

- Introducir en dos vasos de precipitado de 250 mL, 25 mL de leche y 1 mL de oxalato de potasio.
- Uno de los vasos servirá para preparar el testigo para el color de referencia (**T**), el otro será el ensayo para la dosificación de proteínas (**E**).
- Agregar en **T** 0.5 mL de solución de sulfato de cobalto al 5% (este estándar de referencia se conserva máximo por tres horas).
- Introducir en **E** 0.25 mL de fenolftaleína en solución al 2% en alcohol de 96% y llevar a la coloración rosa estándar para la solución de soda 0.14 N.
- Agregar enseguida 6 mL de formol. Agitar y esperar un minuto.
- Llevar al tinte rosa mediante la soda.
- El contenido de proteínas en 100 mL de leche, está dado directamente por el número de mL de soda necesario para llevar la leche al tinte rosa después de añadir el formol.
- El resultado se expresa en proteínas en un litro de leche.

Composición de la leche:

Tipo de leche	Humedad (g)	Cenizas (g)	Proteína (g)	Calcio (mg)
Leche entera pasteurizada de vaca	89,5	0,7	3,4	120

PREGUNTAS

- a. Investigar los métodos que se utilizan para determinar la materia grasa en derivados lácteos (helados, mantequilla, queso, yogurt)
- b. Explicar claramente el principio en el que se basan la prueba de la reductasa y la fosfatasa.
- c. Cuales son las principales adulteraciones que se pueden presentar en la leche fresca?
- d. Cuales son los preservativos más comunes adicionados a la leche y cual es su finalidad?
- e. Porque se adicionan espesantes a la leche?
- f. Que recomendaciones se podrían dar a los productores lácteos para el manejo y transporte higiénico de la leche?
- g. Elaborar una lista de todas las pruebas de plataforma que se utilizan en la industria para la evaluación del control de calidad lácteo.

BILIOGRAFIA

- **Association of Official Analytical Chemists:** *Official Methods of Analysis of A.O.A.C.* 14th Ed. U.S.A.: Arlinton, 1984.
- **FISCHER H. J. y HART, F. L.** *Análisis Moderno de los Alimentos.* España: Editorial Acribia, 1971. 619 p.
- **GUZMÁN, C.** *Manual de Laboratorio para el curso de Química de Alimentos.* Santiago de Cali: Sección de Alimentos, Facultad de Ingeniería, Universidad del Valle, 1987. 112 p.
- **KIRK, R.S., SAWYER, R. y EGAN, H.** *Composición y Análisis de Alimentos de Pearson.* 2 ed. México: Compañía Editorial Continental S.A. de C.V, 1996. 777p.
- **PEARSON O.** *Técnicas de Laboratorio para el Análisis de Alimentos.* España: Editorial Acribia, 1976.

ANALISIS DE JUGOS DE FRUTA

OBJETIVOS

- Familiarizarse con las técnicas de análisis fisicoquímico utilizadas para evaluar la calidad de los jugos de frutas.
- Investigar las normas del Icontec y del Ministerio de Salud en lo que se refiere a definiciones, composición y aditivos en jugos, concentrados, néctares, pulpas y refrescos de frutas y aplicarla a la interpretación de los valores obtenidos.

INTRODUCCIÓN

Definiciones según la Resolución 7992 de 1991:

- **Un jugo de frutas:** Es el líquido obtenido al exprimir frutas frescas, sanas y limpias, sin diluir, ni concentrar, ni fermentar. También se considera Jugos los productos obtenidos a partir de Jugos concentrados, clarificados, congelados o deshidratados a los cuales se les ha agregado solamente agua, en cantidad tal que restituya la eliminada en su proceso.

- **Néctar de frutas:** Producto elaborado con Jugo, pulpa o concentrado de frutas adicionado de agua, aditivos e ingredientes permitidos en la presente resolución.

- **Pulpa azucarada de frutas:** Es el producto elaborado con pulpas o concentrados de frutas con un contenido mínimo de 60% de fruta y adicionado de azúcar.

- **Pulpa de frutas:** Es el producto pastoso, no diluido, ni concentrado, ni fermentado, obtenido por la desintegración y tamizado de la fracción comestible de frutas frescas, sanas, maduras y limpias.

- **Refresco de frutas:** Es el producto elaborado con jugos o pulpas de frutas frescas o con concentrados de frutas reconstituidos, adicionado con agua, saborizantes y colorantes permitidos en la presente resolución.

Debido a la gran cantidad de agua que contienen las frutas frescas, su valor alimenticio es bajo y por consiguiente el contenido de nutrientes también. Las frutas secas son más nutritivas, ya que su bajo contenido en agua hace que se concentren los demás componentes. Las frutas como manzanas, duraznos, papaya y las anonáceas son ricas en agua e hidratos de carbono, contienen generalmente algo de fibra y proteínas, sin embargo tampoco suministran demasiadas calorías

cuando se consumen frescas; en general son buenas fuentes de vitamina C y en el caso de las amarillas como el mango son ricas en caroteno (pro-vitamina A). Las frutas son estimulantes diuréticos debido a los ácidos orgánicos y algunas de ellas son laxantes, especialmente cuando han madurado completamente.

Entre los derivados de frutas merecen citarse las frutas conservadas en recipientes cerrados y esterilizados, las jaleas y mermeladas, los jugos y néctares, las compotas infantiles y las frutas confitadas. La mayor parte de los jugos que aparecen en el mercado son derivados de frutas cítricas. Después de extraerse por presión, el jugo puede ser pasteurizado y envasado en botellas o en latas, en algunas ocasiones se le añade azúcar; el jugo concentrado se prepara por destilación bajo presión reducida o por congelación. Los jugos muestran una amplia variación en su composición.

Tipo de producto	Composición
Jugo o Pulpa	Producto 100% extraído de la fruta sin adición de otros ingredientes excepto azúcar y vitaminas.
Néctar	Contiene 40% de jugo de naranja o mandarina y 18% (otras frutas) con adición de otros ingredientes. (sin colorantes, ni saborizantes)
Refresco	Contiene mínimo 8% de jugo y adición de ingredientes artificiales.
Citrus	Contiene menos del 3% del jugo o no contiene, adición de ingredientes artificiales (colorantes y saborizantes)

Composición de la fruta:

Vitaminas: Son ricas en vitaminas C (cítricos, melón, fresas y kiwi), betacarotenos y vitamina A – carotenos (albaricoques, melocotón y ciruelas).

Fibra: Aproximadamente el 2%. Pectina y hemicelulosa.

Glúcidos: Entre el 5% y el 18% de la fruta esta formada por carbohidratos. Los carbohidratos son generalmente azúcares simples como fructosa, sacarosa y glucosa, azúcares de fácil digestión y rápida absorción.

Agua: Entre el 80% y 90% de la composición. Por ello y por sus aromas es muy refrescante.

Sales minerales: Al igual que las verduras, las frutas son ricas en potasio, magnesio, hierro y calcio.

Valor calórico: El valor calórico vendrá determinado por su concentración en azúcares, oscilando entre 30-80 Kcal/100g.

Proteínas y grasas: El contenido de grasa puede oscilar entre 0.1% y 0.5%, mientras que las proteínas pueden estar entre 0.1% y 1.5%.

Aromas y pigmentos: La fruta contiene ácidos y otras sustancias aromáticas.

Edulcorantes: Como edulcorantes nutritivos se permite añadir sacarosa, glucosa, fructosa, miel, malta, sorbitol. Entre los no nutritivos esta permitida la adición de la sacarina y sus sales de sodio y potasio y recientemente se ha introducido el aspartamo o Nutra Swett.

MATERIALES

Material de vidrio y elementos de laboratorio	Cantidad
Algodón	1
Baño maría	1
Beaker de 100 mL	1
Beaker de 250 mL	1
Bureta de 25mL	2
Cápsula de porcelana	1
Embudo de separación	1
Erlenmeyer de 250 mL	2
Gotero	2
Lana virgen	1
Matraz aforado de 10 mL	4
Matraz aforado de 100 mL	4
Matraz aforado de 500 mL	1
Medidor de pH	1
Pinza para bureta	2
Pipeta graduada de 10 mL	2
Pipeta volumétrica de 10 mL.	1
Pipeta volumétrica de 5 mL.	2
Probeta de 50 mL	2
Refractómetro	1
Soporte Universal	1

REACTIVOS

Nombre	Código de color	Riesgos específicos	Consejos de prudencia
Acido ascórbico			
Acido oxálico 5%			
Etanol absoluto			
Éter etílico			
Fehling A y B			
Fenofaleína	Verde		
H ₂ SO ₄ (1%)	Blanco	35	26-30-45
H ₂ SO ₄ 85%			
HCl Concentrado	Blanco	34-37	26-45
NaOH 0.1N estandarizado	Blanco //	35	26-37/39-45
NH ₃ concentrado			
Solución de 2,6 diclorofenol-indofenol sodico			
Solución de 2,4 dinitrofenilhidrazina (DNPH)			
Solución de glucosa al 0,5 %	Verde		
Solución de tiourea			

PROCEDIMIENTO

La muestra del jugo procesado debe mezclarse por agitación del recipiente y a menos que se indique lo contrario, se debe filtrar a través de algodón absorbente u otro filtro rápido.

a.	Sólidos Totales
-----------	------------------------

Representa el porcentaje de sólidos totales obtenidos por desecación preferiblemente a 70°C en estufa al vacío, ó a presión atmosférica a 105°C. También es representativo el valor obtenido por evaporación en baño maría.

- En una cápsula de porcelana previamente pesada, añadir 10 gramos de jugo.
- Pesarse nuevamente la cápsula con el jugo. Anotar el peso.

-
- Colocar en la estufa a 105°C hasta sequedad.
 - Enfriar y pesar nuevamente.

b.	Sólidos Solubles
-----------	-------------------------

Se refiere a los sólidos solubles en agua, como azúcares y ácidos orgánicos. Se determinan en un refractómetro con una escala calibrada en grados Brix (% en peso de sacarosa), un grado Brix equivale comercialmente a una concentración en sólidos solubles de 1g/100mL

- Abrir el doble prisma del refractómetro y esparcir una gota de la muestra, sobre la cara inferior.
- Cerrar los prismas firmemente y dejar un minuto para que la temperatura del jugo y del instrumento sea la misma.
- Buscar en el campo del visor la franja que indica reflexión total; ajustar dicha franja en el punto de intersección de la cruz del visor, rotando el tornillo compensador si la línea no fuera nítida y presentara coloración.
- Hacer la lectura del % de sólidos solubles directamente en la escala específica que para dicha medida tiene el refractómetro. Anotar la temperatura de la medición.

c.	Acidez Titulable
-----------	-------------------------

Se determina la acidez total por titulación con un álcali normalizado, con fenoftaleína como indicador. Los resultados se expresan en mililitros de NaOH 0.1N, o como gramos por 100mL del ácido predominante. En los jugos de cítricos y en los de tomate se expresan en términos de ácido cítrico anhidro; en el de uvas como ácido tartárico y en el de piña en gramos de ácido málico por 100 mL de jugo.

Pesos equivalentes:	Acido Cítrico	70
	Acido Málico	67
	Acido Tartárico	75
	Acido Acético	60
	Acido Ascórbico	88

- En un erlenmeyer de 250 mL colocar una alícuota de 10 mL del jugo.
- Adicionar unos 40 mL de agua destilada, mezclar muy bien y agregar dos o tres gotas de fenoftaleína.
- Titular con solución estándar de NaOH 0.1N hasta el viraje de la fenoftaleína a rosado leve.
- Repetir la titulación con otra muestra y promediar los resultados.

-
- En caso de no poderse observar fácilmente el viraje de la fenolftaleína, realizar una titulación potenciométrica.

d. Determinación de Acido ascórbico (Vitamina C) por fotometría.

La Vitamina C es esencial para la formación de sustancia fibrilar, intercelular del tejido conjuntivo, óseo, cartilaginoso y para su mantenimiento.

Su deficiencia en el hombre causa escorbuto, el cual se manifiesta especialmente por hemorragias a nivel de encías, problemas nerviosos, descoordinación de movimientos.

El ácido ascórbico además de sus efectos fisiológicos como vitamina, posee otras propiedades importantes en el ramo de la tecnología alimentaria; por ejemplo es capaz de inactivar el oxígeno del aire que, en primer término, puede ocasionar cambios indeseados en el aspecto, aroma y sabor de los alimentos almacenados.

La acción del ácido ascórbico se basa en sus propiedades fuertemente reductoras. El ácido ascórbico funciona, pues como fijador de oxígeno que sustrae de la reacción. Como regla empírica puede señalarse que para inactivar 1 mg de oxígeno (contenido en 3,6 mL de aire) se necesitan unos 11 mg de ácido ascórbico.

El empleo de ácido ascórbico en la preparación de productos curados y ahumados proporciona un enrojecimiento homogéneo y rápido.

En el tratamiento de harinas acelera la maduración, mejora propiedades de la masa en lo que se refiere a estabilidad y tolerancia de fermentación y además aumenta el volumen del producto.

En frutas y hortalizas troceadas, ralladas o desmenuzadas ayuda a conservar el color suprimiendo el fenómeno de emparedamiento enzimático. También se emplea en conservas de frutas y hortalizas propensas a empardecer.

En el tratamiento en bodega de zumos de frutas, evitando la acción de oxígeno del aire.

Preparación de la muestra:

- Medir o pesar una cantidad de muestra cuya cantidad de vitamina C al final de la determinación este comprendida entre 5 y 50 microgramos en 4 mL.
- Si la muestra es sólida agregar ácido oxálico al 5%, homogenizar con varilla de vidrio y llevar a un matraz de 100 mL. (si se requiere se puede hacer pasar por un papel filtro).
- Si la muestra es líquida llevarla a un matraz de 100 mL.
- Completar el volumen con ácido oxálico 5%.

Oxidación:

- Tomar 50 mL de la solución anterior y llevarla a un embudo de separación.
- Añadir 2,6 diclorofenol indofenol hasta oxidación total (la solución se torna rosada).
- Pasados 2 minutos extraer el exceso de 2,6 diclorofenol indofenol con 50 mL de éter etílico.
- Pasar la fase acuosa a un matraz de 100 mL y lavar la fase etérea (en el embudo) dos veces con 10 y 15 mL de ácido oxálico cada vez.
- Adicionar los mL de ácido oxálico empleados para lavar al matraz de 100 mL.
- Completar el volumen con ácido oxálico, si es necesario filtrar.

Preparación de la solución patrón:

- Pesar 0.05 g de ácido ascórbico y llevarlos a un matraz de 500 mL.
- Completar el volumen con ácido oxálico. Concentración 0.1 mg de ácido ascórbico por mL.
- Tomar 10 mL de esta solución y llevarlos a un matraz de 100 mL.
- Completar el volumen con ácido oxálico. Concentración 0.01 mg de ácido ascórbico por mL.
- Tomar 50 mL de esta solución y proceder a oxidar en igual forma que la muestra.

Condensación:

- En matraces de 10 mL realizar el siguiente procedimiento:

Pasos	Muestra A		Solución patrón	
	Muestra	Blanco Muestra	patrón	Blanco patrón
1.	4 mL	4 mL	4 mL	4 mL
2. Solución tiourea	2 gotas	2 gotas	2 gotas	2 gotas
3. Solución DNPH	1 mL Agitar	NO	1 mL Agitar	NO
4.	Calentar a 37 °C por 3 horas	Temperatura Ambiente por 3 horas	Calentar a 37 °C por 3 horas	Temperatura Ambiente por 3 horas

5.	Enfriar todas en baño de hielo durante 10 minutos			
6. Solución DNPH	NO	1 mL Agitar	NO	1 mL Agitar
7.	Completar el volumen con H ₂ SO ₄ 85%			

- Enfriar a temperatura ambiente y medir la absorbancia de las soluciones en el fotómetro a 520 nm.
- Para determinar los microgramos de vitamina C presentes en el volumen de muestra tomado para la condensación con DNPH aplicar la siguiente formula:

$$\frac{AM - AMBL}{AP - APBL} \times R$$

AP – APBL

Donde:

AM: Absorbancia de la muestra

AMBL: Absorbancia del blanco muestra

AP: Absorbancia del patrón

APBL: Absorbancia del blanco patrón

R: Microgramos de vitamina C en los mL de patrón usados para la condensación.

- Expresar la cantidad de vitamina C de la muestra en mg/100 g o mL.

Preparación de reactivos

- **Solución de tiourea:** Se disuelven 10 g de tiourea en 10 mL de una mezcla de etanol y agua (1:1).
- **Solución de 2,6 diclorofenol indofenol:** 0.25 g de 2,6 diclorofenol indofenol sódico se disuelven en 100 mL de agua.
- **Solución de DNPH:** Se disuelven 2 g de 2,4 dinotrofenilhidrazina en 100 mL de una mezcla de 3 partes (V/V) de agua y una parte de ácido sulfúrico 95-97%. La disolución se realiza cuando la mezcla esta todavía caliente.

e.	Ensayo cualitativo para Colorantes Artificiales
----	--

Los colores naturales de los alimentos, por lo general, pierden fácilmente su tonalidad dependiendo del tratamiento a que se sometan o del tiempo de almacenamiento. Eventualmente se añaden colorantes, naturales o artificiales, por lo que es importante verificar su presencia en los alimentos y su permisividad. La mayoría de los colorantes sintéticos son hidrosolubles.

En el procedimiento a desarrollar los colorantes se adsorben en un hilo de lana y posteriormente se desorben en una disolución amoniacal, finalmente son reabsorbidos en un nuevo hilo de lana, para confirmar su presencia.

- Disolver 5 mL de muestra en 100 mL de ácido sulfúrico al 1%.
- Añadir una mota de lana blanca y dejar en ebullición la solución por 30 minutos.
- Despreparar el líquido, lavar la lana y añadir 200 mL de agua destilada conteniendo unas gotas de NH_3 concentrado y hervir durante 30 minutos.
- Sacar la lana y tirarla.
- Acidificar la solución con HCl concentrado verificar con papel indicador.
- Añadir una nueva mota de lana blanca y nuevamente dejar en ebullición durante 30 minutos.
- Sacar la lana, lavarla bien con agua e inspeccionar su color: si se ha coloreado, la disolución del jugo contiene un colorante artificial hidrosoluble.

Los colorantes se agregan para que los productos de un proceso presenten los colores de las materias primas frescas, o para mejorar la apariencia del producto ya que esta influye decisivamente en su aceptación por parte del consumidor. Sin embargo los colorantes permitidos son principalmente de origen natural, como el achiote o anato, pues son muy pocos los de origen sintético que pueden considerarse como seguros.

f.	pH
----	----

- Calibrar el medidor de pH con los buffer indicados.
- Medir directamente el valor del pH de la muestra de jugo. Si el equipo no posee compensación automática de temperatura aclimatar la muestra a 20 C y reportar el valor obtenido.

g.	Azúcares Reductores
----	----------------------------

Son los responsables del sabor dulce de las frutas maduras y de los vegetales frescos. Abundan principalmente la sacarosa y los azúcares reductores glucosa y fructosa.

- Pesar 10 g de jugo y aforar a 100 mL con agua destilada. Con esta solución llenar una bureta de 25 mL.
- En un erlenmeyer medir 5 mL de Fehling A y 5 mL de Fehling B, adicionar 50 mL de agua destilada y hacer ebullición. Se inicia la titulación con la solución de la bureta hasta que empieza un viraje en el color, se adicionan 3 gotas de azul de metileno y continuar la titulación sin dejar de ebullición hasta que la solución pase a color rojo.

Calculo del titulo de Fehling.

- Llenar la bureta con solución de glucosa al 0.5 % y realizar la titulación en forma similar a la anterior.

Como la solución de glucosa es al 0.5 % = (500 mg de glucosa /100 mL) * Volumen consumido de Fehling. Este cálculo nos da el valor de la glucosa en la solución, que equivale a los mg que son reducidos por Fehling. Por lo tanto el volumen consumido de Fehling en la muestra de jugo corresponde a los mg de azúcares reductores del jugo.

PREGUNTAS

- a. Investigar y definir cuáles son los diferentes productos que se elaboran a partir de las frutas.
- b. Qué información proporciona el valor de sólidos totales y sólidos solubles sobre la calidad de los jugos de frutas?
- c.Cuál es la función de la vitamina C en los vegetales? Dibujar la estructura.
- d. Qué otras vitaminas están presentes en las frutas. Describir su función.

BIBLIOGRAFIA

- **BERNAL DE RAMÍREZ, I.** *Análisis de Alimentos.* Santa fe de Bogotá: Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 1993. 313 p.
- **FISCHER H. J. y HART, F. L.** *Análisis Moderno de los Alimentos.* España: Editorial Acribia, 1971. 619 p.
- **GUZMÁN, C.** *Manual de Laboratorio para el curso de Química de Alimentos.* Santiago de Cali: Sección de Alimentos, Facultad de Ingeniería, Universidad del Valle, 1987. 112 p.
- **KIRK, R.S., SAWYER, R. y EGAN, H.** *Composición y Análisis de Alimentos de Pearson.* 2 ed. México: Compañía Editorial Continental S.A. de C.V, 1996. 777p.
- **MATISSEK, R., SCHNEPEL, F-M. y STEINER, G.** *Análisis de los Alimentos: Fundamentos, Métodos y Aplicaciones.* España: Editorial Acribia, 1992. 416 p.

ANÁLISIS DE CEREALES, LEGUMINOSAS Y OTRAS FARINACEAS

OBJETIVOS

- Aplicar algunas pruebas químicas, para evaluar cualitativamente la presencia de aditivos mejoradores en harinas.
- Investigar, estudiar y comparar las normas y resoluciones que rigen los requisitos que deben cumplir las harinas en lo que se refiere a agentes mejoradores y blanqueadores y concluir sobre la calidad de la muestra analizada.

INTRODUCCIÓN

Con el nombre de cereales se designa a las plantas de la familia de las gramíneas y a sus frutos, que desde tiempos remotos han constituido la base alimenticia de las personas y de los animales. Los principales cereales son el trigo, maíz, la avena, el arroz, el centeno y la cebada. Con excepción del arroz, no es frecuente utilizar como alimento para el hombre los granos enteros de los cereales, por lo que su análisis se efectúa sobre los productos obtenidos de la molienda.

Los diferentes nutrientes están concentrados en determinadas partes del grano, cumpliendo además funciones específicas de la semilla, para conservar la vida de la planta.

La cubierta, corteza o tegumentos externos constan de estructuras fuertes ricas en el grupo llamado fibra cruda y conteniendo algunos compuestos de carácter mineral. En el germen se puede distinguir la plúmula, vástago o epicotilo que al germinar va a proyectarse y la raicilla, que formara la raíz. Estas estructuras que conjuntamente forman el embrión son ricas en proteína, que forma el protoplasma vivo y generalmente esta protegida por una membrana fibrosa llamada escutelo y por tejidos protectores ricos en sustancias grasas. El endosperma que ocupa generalmente la parte mas voluminosa del grano es rico en sustancias comprendidas dentro de lo que se llama comúnmente extracto no nitrogenado, como, almidones y azucares y sustancias de tipo proteico como el gluten que actúan como reserva nutricional del germen para sus primeras etapas de crecimiento. Esta envuelto por una capa también de naturaleza proteica llamada capa de aleurona. Las leguminosas, comestibles aunque en menor proporción que los cereales, constituyen también un grupo muy importante de alimentos, especialmente por su aporte protéico, el cual complementa al de los cereales por contener aminoácidos como lisina, ausente en ellos. A esta familia pertenece el maíz, el garbanzo, el hada, la lenteja, la arveja, los frijoles y la soya o soja.

PRODUCTOS DERIVADOS DE FARINACEAS

Pan común: Según la norma ICONTEC 1363 se define el pan común como el producto poroso obtenido de la cocción de una masa preparada con una mezcla esencialmente compuesta de harina de trigo, levadura, agua potable y sal, la cual puede contener grasa de origen vegetal o animal, aceite hidrogenado, mantequilla, lecitina, margarina, diastasa y clorhidrato de lisina y huevo.

Harina de trigo para panificación: Según la definición propuesta en la norma ICONTEC 267, la harina de trigo para panificación, es el producto alimenticio resultante de la molienda y tamizado del endosperma limpio del trigo. La harina debe presentar color amarillento, una tonalidad gris y la presencia de partículas indican contaminación con afrecho, debida a la alta extracción o a un insuficiente proceso de tamizado. El 98% debe pasar por un tamiz.

Alteraciones y adulteraciones: La harina se altera fácilmente por almacenamiento defectuoso, por invasión de hongos o insectos o por acidificación debida al calor desarrollado en el interior de los empaques, alteraciones que traen como consecuencia una mala calidad del pan. Es común también encontrar harinas adulteradas por mezcla, con harinas de menor calidad o por adición de sustancias minerales que aumentan su peso o mejoran su apariencia como sulfato de calcio, tierra de infusorios o alumbre. Entre los blanqueadores más utilizados se pueden mencionar el cloro, el peróxido de nitrógeno y el peróxido de benzoílo. Se permite la adición de bromatos que son agentes oxidantes que comunican mayor consistencia o fuerza a la harina para panificación y la vitamina C que ejerce una acción reductora, mejora la elasticidad y extensibilidad de la masa. Entre las sustancias que se han utilizado como mejoradores de la harina se encuentra: los fosfatos ácidos, persulfatos (de amonio o potasio).

Pastas alimenticias: El instituto colombiano de normas técnicas las define como los productos preparados mediante el secado apropiado de las figuras formadas del amasado con agua de derivados del trigo u otras farináceas aptas para el consumo humano, o combinación de las mismas. Pueden ser adicionadas con vegetales tales como acelgas, espinacas, tomates, pimentones, etc., en cuyo caso debe declararse la mezcla en la etiqueta y se consideran “pastas alimenticias especiales”. Generalmente se adicionan de huevo en una cantidad mínima de 150 g de huevo fresco por Kg de producto y en la etiqueta se mencionara como “pastas al huevo”.

Requisitos para pastas alimenticias:

Requisitos	Mínimos	Máximos
Humedad (%)	-	13
Cenizas (%)	-	0.8
Proteína (%)	10.5	-
Acidez como ácido láctico (%)	-	0.45
Productos grasos (%)	0.4	-
Colorantes	-	0

MATERIALES

Material de vidrio y elementos de laboratorio	Cantidad
Bureta 50 mL	1
Cápsula de porcelana	3
Crisol	1
Embudo de extracción de 125 mL	1
Embudo de vidrio	1
Equipo para filtrar	1
Equipo para reflujo	1
Erlenmeyer de 250 mL	1
Espátula	1
Goteros	3
Matraz volumétrico 100 mL	2
Mortero	1
Papel filtro	
Pinza para crisol	1
Pipeta graduada de 10 mL	2
Probeta	1
Vaso de precipitados de 100 mL	2
Vaso de precipitados de 250 mL	2
Vidrio reloj	1

REACTIVOS

Nombre	Código de color	Riesgos específicos	Consejos de prudencia
Ácido acético 20%	Rojo	10-35	23-26-45
Acido Nítrico	Blanco	35	23.2-26-36/37/39
Ácido sulfanílico	Verde	36/38-43	24-37
Bencidina al 1% (en alcohol)	Azul	45-22	45-53
Clorhidrato de alfa-naftilamina	Verde	45-E22-51/53	53-37-45-61
Cloruro estañoso dihidratado			
Etanol			
Éter de petróleo			
Fenolftaleina	Verde		
HCl 1:1	Blanco	34-37	26-45
H ₂ SO ₄ concentrado	Blanco	35	26-30-45
Heptamolibdato de amonio tetrahidratado			
KH ₂ PO ₄ anhidro			
NaOH 0,1 N	Blanco //	35	26-37/39-45
Solución 2,6-diclorofenol-Indofenol al 0.1%			
Solución de NaCl al 2%			
Solución de yoduro de potasio al 0.5% en HCl 2N			
Sulfato de diparadiaminofenilamida			

PROCEDIMIENTO

Se comprobará la presencia de sustancias autorizadas y no autorizadas, por medio de pruebas cualitativas. En algunos casos, el análisis se hará directamente sobre una pasta de harina y agua, añadiendo, sin mezclar, unas gotas del respectivo reactivo; en otros casos, será necesario extraer de la harina la sustancia en cuestión y aplicar la prueba.

Preparación de la muestra: La muestra que se va utilizar para el análisis debe ser representativa del lote, para que los resultados obtenidos tengan validez, con este fin se deben tomar porciones de las partes periféricas y centrales de los sacos, mezclar bien y hacer un cuarteo para reducir la muestra a unos 200 gramos. Guardar en un frasco seco y bien tapado. Mezclar 20 gramos de harina con 20 mL de agua destilada hasta formar una pasta suave, la cual se utilizará en los próximos ensayos.

a.	Análisis organoléptico
----	-------------------------------

Primero debe realizarse un examen físico y observar con ayuda de un lente si existen parásitos y observar al microscópico.

- **Color:** La harina puede ser blanca o de un color crema suave. Una coloración ligeramente azulada es anormal y advierte sobre el inicio de una alteración. Numerosas impurezas son producto de un nivel de extracción elevado o de un mal acondicionamiento del trigo.
- **Olor:** Una harina normal tiene un olor propio, ligero y agradable. Las harinas alteradas poseen, por lo general, un olor desagradable.
- **Sabor:** Su gusto tiene que ser a cola fresca. Las harinas alteradas poseen un gusto amargo, agrio y rancio.

b.	Cenizas
----	----------------

Son las materias minerales presentes en la harina, constituidas por sales de potasio, calcio, magnesio y fósforo y se obtienen por incineración

- Pesar 5 g de harina en un crisol previamente tarado.
- Colocar en la mufla y calcinar a 550° C durante dos horas.
- Transferir el crisol directamente al desecador, dejar enfriar y pesar.
- Guardarlas para posterior análisis.

CALCULO

$\% \text{ de cenizas} = \text{perdida de peso} * 100 / \text{peso muestra.}$

c.	Humedad
----	----------------

La humedad es el contenido de agua que tiene la harina. La legislación no autoriza superar el 15%. La humedad es una característica importante, particularmente en relación con la seguridad del

almacenamiento de la harina. La determinación del índice de humedad de una harina se realiza por pérdida de peso.

- Pesar 2 g de harina en una capsula de porcelana previamente tarada.
- Calentar en una estufa a 105° C durante 90 minutos a presión atmosférica.
- Enfriar en desecador y pesar.

CALCULO

$$\% \text{ de humedad} = \text{perdida de peso} * 100 / \text{peso muestra}$$

d.	Agentes Mejorantes
----	---------------------------

Para obtener mejores resultados con los productos finales, se adicionan a la harina mejoradores, los cuales son adicionados en proporción al tipo de harina, y se calcula en partes por millón.

Bromatos

Los bromatos sirven para aumentar el volumen del pan, este aditivo tiene efectos secundarios, por eso en la producción de la harina es regulada y controlada durante todo el proceso.

Colocar una porción de la pasta (preparada anteriormente) en una cápsula de porcelana y añadir unas gotas de solución de yoduro de potasio al 0.5% en HCl 2N.

La aparición de manchas oscuras indica la presencia de bromatos en la muestra.

Persulfatos

Añadir a un poco de harina húmeda unas gotas de solución de bencidina al 1% (en alcohol) y observar.

En presencia de persulfatos aparecen manchas azul oscuras.

Vitamina C

Se detecta por adición de unas gotas de solución 2,6-diclorofenolindofenol al 0.1% a la muestra húmeda.

En presencia de vitamina C se producen manchas rosadas en pocos minutos.

e.	Agentes blanqueadores
----	------------------------------

pH y Cloro

Mezclar 10 gramos de harina con 100 mL de agua destilada, dejar en reposo durante 30 minutos y luego filtrar. Determinar el pH del filtrado (guardar el líquido para el siguiente ensayo).

Las harinas poseen generalmente un pH entre 6 – 6.8; cuando han sido blanqueadas con cloro poseen un pH más bajo.

- Óxidos de nitrógeno

A 50 mL del filtrado agregar 1 mL de cada uno de los reactivos A y B.

La producción de una coloración rosada intensa o roja en pocos minutos, se debe a la presencia de nitrógeno en forma de nitritos.

Preparación de reactivos

Reactivo A: Disolver 0.5 gramos de ácido sulfanílico en 150 mL de ácido acético al 20%.

Reactivo B: Disolver 0.2 gramos de clorhidrato de alfa-naftilamina en 150 mL de ácido acético al 20%, calentando si es necesario.

f.	Peróxido de benzoilo y persulfatos
-----------	---

- Extraer 1 g de harina con 3.5 ml de éter de petróleo
- Dejar sedimentar
- Añadir 1.5 ml del reactivo Rotherfusser.

La aparición de un color verde en el éter de petróleo indica la presencia de peróxido de benzoilo y la existencia de cristales azules en el sedimento es prueba positiva de persulfatos.

Preparación de reactivos

Reactivo de Rotherfusser: Triturar 1 g de sulfato de diparadiaminofenilamida con unos ml de etanol en un mortero. Disolver con este solvente calentando a reflujo si es necesario. Completar a 100 ml con etanol.

g.	Observación del Gluten en la harina de trigo
-----------	---

El gluten se extrae de la harina sometiéndola a una corriente de agua salada que arrastra al almidón presente y a las proteínas solubles, formando el complejo proteínico llamado gluten húmedo con apariencia gomosa de color blanco grisáceo, duro y elástico, el gluten posee dos importantes proteínas llamadas Gliadina (cadenas proteicas sin enlaces, que le dan a la masa la viscosidad) y Glutenina (cadenas proteicas con enlaces, que le dan a la masa la consistencia y resistencia.), estas proteínas se unen durante el amasado formando una malla capaz de retener agua y los gases producidos durante la fermentación. Esta malla se denomina Gluten y tiene

particulares características de elasticidad y tenacidad. La importancia del gluten radica en gran parte en el proceso de panificación y sirve como base para la clasificación de las harinas de acuerdo a sus usos.

Para juzgar la calidad de gluten se deben considerar los siguientes parámetros:

- Nivel bajo de gluten: 18 - 22% contenido de gluten
 - Nivel medio de gluten: 22 - 25% contenido de gluten
 - Nivel alto de gluten: 25 - 32% contenido de gluten
-
- Mezclar unos 20 a 25 gramos de harina con 10 mL de agua o solución de NaCl al 2% en un mortero, formando una pasta homogénea.
 - Dejar en reposo una media hora y colocar la pasta formada sobre un tamiz fino.
 - Lavar la pasta debajo de un chorro delgado de agua hasta que esta sea clara.
 - Recoger los fragmentos que quedan sobre el tamiz y unirlos al gluten.
 - Exprimir con las manos sobre una toalla hasta que no pase más humedad a la mano.
 - Observar el color, olor, elasticidad y tenacidad del gluten con lo cual puede darse cuenta de su calidad.
 - Colocar en una cápsula previamente tarada. Secar a 100⁰C por una hora. Pesarse y determinar el porcentaje de gluten en la harina.

h.	Acidez
-----------	---------------

La acidez de las harinas es debida a la presencia de ácidos grasos provenientes de la transformación de las materias grasas. Un valor de acidez puede modificar la calidad del gluten disminuyendo su elasticidad y su grado de hidratación. La acidez de la harina va aumentando a medida que pasa el tiempo de almacenamiento, de esta forma las harinas viejas dan valores elevados de acidez.

- Pesarse 10 gramos de muestra, añadir 100 mL de agua destilada y dejar en contacto durante una hora agitando 3 veces durante 2 minutos cada 20 minutos.
- Añadir 4 o 5 gotas de solución alcohólica de fenolftaleína.
- Titular con NaOH 0.1N hasta aparición de color rosa débil persistente (debe mantenerse por 1 minuto).

Expresar los resultados en % de ácido láctico por muestra en peso.

i.	Tratamiento de las cenizas
-----------	-----------------------------------

- Agregar 1 mL de ácido nítrico concentrado al crisol de las cenizas.
- Calentar un poco para diluir las cenizas.
- Filtrar la solución ácida recibiendo el filtrado en un frasco volumétrico de 100 mL, lavar el crisol y el embudo recibiendo los filtrados en el mismo frasco. Llevar al enrase con agua destilada.

j.	Determinación de calcio por AA
-----------	---------------------------------------

El calcio es uno de los minerales más importantes y abundantes del organismo y una de las fuentes más conocidas es la harina.

El calcio es muy conocido por nutrir los huesos y prevenir la osteoporosis.

- Llevar la solución anterior de las cenizas al equipo de absorción atómica para medir el calcio.

k.	Fósforo en pastas alimenticias
-----------	---------------------------------------

El fósforo es un mineral que nutre el cerebro, después del Calcio, el fósforo (alimento del cerebro, como se dice) es el segundo mineral que abunda en nuestro cuerpo y en la mayoría de los alimentos. El fósforo (P) es un mineral que desempeña papeles determinantes en la estructura y función del organismo.

El fósforo es el indicador de la cantidad de huevo utilizado en la pasta. A mayor cantidad de fósforo mayor cantidad de huevo.

El ácido molibdomofosfórico es formado y reducido por el cloruro estañoso dando una coloración azul.

- Triturar muy bien la pasta y llevarlas a calcinación (procedimiento de cenizas).
- Agregar 1 mL de HCl 1:1 al crisol de las cenizas.
- Calentar un poco para diluir las cenizas.
- Filtrar la solución ácida recibiendo el filtrado en un frasco volumétrico de 100 mL, lavar el crisol y el embudo recibiendo los filtrados en el mismo frasco. Llevar al enrase con agua destilada.
- Tomar 10 mL de la solución anterior y llevarlos a un matraz de 100 mL.
- Adicionar 4 mL de la solución de molibdato de amonio (Solución 1) y 10 gotas de cloruro estañoso (Solución 2).
- Aforar a 100 mL.
- Medir la absorbancia a 690 nm después de 10 minutos pero antes de 12 minutos.

Curva de calibración:

- Tomar el volumen necesario de la solución intermedia de fósforo (2mg/L) para preparar cada uno de los patrones de acuerdo a la siguiente tabla:

Patrón	Concentración mg/L	Volumen solución estándar a tomar
Blanco	Agua destilada	
1	0.05	2.5
2	0.10	5.0
3	0.15	7.5
4	0.20	10.0
5	0.25	12.5
6	0.30	15.0
7	0.35	17.5
8	0.40	20.0

- Tomar el volumen correspondiente y adicionar 4 mL de la solución de molibdato de amonio (Solución 1) y 10 gotas de la solución de cloruro estañoso (Solución 2).
- Aforar a 100 mL.
- Medir la absorbancia de los patrones y el blanco a 690 nm tras 10 minutos de haber adicionado el reactivo.

Preparación de reactivos

- *Molibdato de amonio (Solución 1)*: Disolver 25 g de Heptamolibdato de amonio tetrahidratado en 175 mL de agua.

Adicionar 280 mL de ácido sulfúrico concentrado a 400 mL de agua.

Enfriar y adicionar la solución de molibdato. Aforar a 1L.

- *Cloruro estañoso (Solución 2)*: Disolver 205 g de cloruro estañoso dihidratado en 100 mL de glicerol. Calentar en baño de agua y agitar.

- *Solución madre de fosfatos (50 mg/L)*: Disolver 0.2195 g de KH_2PO_4 anhidro en un poco de agua y llevar a matraz de 1L.

- *Solución intermedia de fosfatos (2 mg/L)*: Tomar 10 mL de la solución madre de fosfatos y llevar a matraz de 250 mL.

Composición de la harina:

Tipo de alimento	Humedad (g)	Cenizas (g)
Harina de trigo fortificada	14,0	0,7

PREGUNTAS

- a. Qué tipo de alteraciones puede sufrir la harina y porqué?
- b. Cómo puede adulterarse?
- c. Qué es el gluten y porqué es importante su determinación?
- d. Cuáles son los productos comerciales de los cereales? Qué análisis se les realizan para comprobar su calidad?
- e. Qué otros análisis en la harina son de importancia a nivel industrial?

BIBLIOGRAFÍA

- **BERNAL DE RAMÍREZ, I.** *Análisis de Alimentos*. Santa fe de Bogotá: Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 1993. 313 p.
- **FISCHER H. J. y HART, F. L.** *Análisis Moderno de los Alimentos*. España: Editorial Acribia, 1971. 619 p.
- **KIRK, R.S., SAWYER, R. y EGAN, H.** *Composición y Análisis de Alimentos de Pearson*. 2 ed. México: Compañía Editorial Continental S.A. de C.V, 1996

ANÁLISIS DE CARNES Y DERIVADOS CARNICOS

OBJETIVOS

- Cuantificar el contenido de nitritos y almidón, presentes en un producto cárnico procesado.
- Investigar las normas del Icontec y del Ministerio de Salud en lo que se refiere a aditivos en productos cárnicos y sus derivados, y concluir sobre la calidad de la muestra analizada.

INTRODUCCIÓN

Definiciones según el Decreto 1500 de 2007:

- **Canal:** El cuerpo de un animal después de sacrificado, degollado, deshuesado, eviscerado quedando sólo la estructura ósea y la carne adherida a la misma sin extremidades.

- **Carne:** Es la parte muscular y tejidos blandos que rodean al esqueleto de los animales de las diferentes especies, incluyendo su cobertura de grasa, tendones, vasos, nervios, aponeurosis y que ha sido declarada inocua y apta para el consumo humano.

- **Carne fresca:** La carne que no ha sido sometida a procesos de conservación distintos de la refrigeración, incluida la carne envasada al vacío o envasada en atmósferas controladas.

- **Derivados cárnicos:** Son los productos que utilizan en su preparación carne, sangre, vísceras u otros productos comestibles de origen animal, que hayan sido autorizados para el consumo humano, adicionando o no aditivos, especies aprobadas y otros ingredientes. Estos productos se denominarán según su especie.

El examen veterinario y bacteriológico de las carnes y derivados es irremplazable y resulta de fundamental importancia para apreciar el estado higiénico de las mismas, siendo complementado por la realización de algunos exámenes físicos y químicos de apreciación rápida del estado higiénico. Para los embutidos es de gran interés la realización de un análisis próximo y las determinaciones de pH, nitritos y almidón. En algunos casos es necesaria la determinación de materias colorantes, preservativos, etc.

Acondicionamiento y maduración de la carne:

Se deben conservar a temperaturas inferiores a 1.5°C lo cual originan un ablandamiento y desarrollo de un sabor y aroma.

El pH límite de 6.5 es el indicativo entre una carne fresca y una en vía de putrefacción.

Cambios durante el acondicionamiento y maduración:

En las proteínas: Hay desnaturalización seguida de la hidrólisis.

En los lípidos: Inicialmente una hidrólisis seguida del enranciamiento.

En la mioglobina: Se da la desnaturalización seguido de la oxidación del hierro, se hace evidente en el paso de color rojo característico a color carmelita de la carne.

Composición química:

- **Agua**

- **Proteínas:** Las proteínas se clasifican en tres grupos:

- a. Miofibrilares: Formado por miosina y actina.
- b. Sarcoplasma
- c. Tejido Conectivo: Principalmente colágeno y elastina.

La composición de aminoácidos es diferente entre la de los músculos y órganos a la del tejido conectivo.

- **Lípidos:** Según su contenido de grasa se puede clasificar en:

- Carne Magra: Inferior al 14%
- Carne Semi-gorda: Entre 14 y 20%
- Carne Gordas: Entre 20 y 30%
- Carne muy Gordas Superior al 30%

- **Carbohidratos:** Principalmente colágeno, el cual se convierte en ácido láctico.

- **Sustancias solubles no proteicas:** Sustancias nitrogenadas que le dan sabor y aroma a la carne cuando es cocinada, llamadas sustancias extractivas. **Ej.** Creatina, carnosina, monofosfato de inosina.

- **Minerales:** Principalmente el hierro el cual esta contenido en la mioglobina, y otros como el Potasio, Fósforo, Sodio, Magnesio, Calcio, Zinc.

- **Componentes menores:**

a. **Vitaminas:** El Hígado y el Riñón tienen altos contenidos vitamínicos especialmente tiamina, riboflavina y niacina.

b. **Enzimas:** Alrededor de 50, principalmente la ATPasa encargada del ATP en el rigor mortis.

MATERIALES

Material de vidrio y elementos de laboratorio	Cantidad
Beaker 100 mL	3
Beaker 250 mL	4
Crisol Gooch	1
Equipo para filtrar	1
Erlenmeyer 250 mL	2
Espátula	2
Frasco con tapa esmerilada	1
Matraz aforado de 100 mL	3
Matraz aforado de 1000 mL	2
Matraz aforado de 200 mL	1
Pipeta graduada de 10 mL	2
Pipeta volumétrica 10 mL	2
Pipeta volumétrica 2 mL	2
Pipeta volumétrica 5 mL	2
Probeta de 50 mL	2
Tubo de ensayo	3
Varilla de vidrio	2
Vidrio reloj	2

REACTIVOS

Nombre	Código de color	Riesgos específicos	Consejos de prudencia
Acetato de zinc dihidratado	Verde	22	25
Acido acético glacial	Rojo	10-35	23-26-45
Acido sulfanilico	Verde	39/38-43	24-37
Acido sulfúrico 96%	Blanco	35	26-30-45
Brucina			
Clorhidrato de alfa-naftilamina	Verde	45-E22-51/53	53-37-45-61
Etanol 70%			
Etanol 96%			
Éter etílico			
Ferricianuro de potasio trihidratado	Verde		
HCl 37%	Blanco	34-37	26-45
HCl 50%	Blanco	34-37	26-45
HCl concentrado	Blanco	34-37	26-45
NaCl 100g/L			
Nitrato de potasio	Amarillo	8	16-41
Nitrito sodico	Amarillo	8-25-50	45-61
Solución acuosa de acetato de zinc 30%			
Solución acuosa de hexacianoferrato de potasio 15%			
Solución alcohólica de azul de metileno	Verde	22	
Tetraborato disodico decahidratado			

PROCEDIMIENTO

Trabajar con una muestra representativa de 200 g al menos. Conservar la muestra de forma que se evite su deterioro y cualquier cambio en su composición.

Retirar las envolturas artificiales si las tiene, tanto la exterior como la interior, homogenizar la muestra mediante al menos dos pases por la máquina trituradora y mezclarla, introducirla en un frasco de forma que éste quede lleno de la muestra y conservarla de modo que se evite su deterioro y cualquier cambio en su composición (en el refrigerador a una temperatura de 0 a 5^oC). Analizar la muestra lo más rápidamente posible dentro de las 24 horas siguientes, en caso de productos cocidos analizar la muestra inmediatamente después de su homogeneización.

a.	Cenizas
-----------	----------------

Son las materias minerales presentes en la carne, constituidas por sales de potasio, calcio, magnesio y fósforo y se obtienen por incineración

- Pesar 5 g de carne en un crisol previamente tarado.
- Colocar en la mufla y calcinar a 550° C durante dos horas.
- Transferir el crisol directamente al desecador, dejar enfriar y pesar.
- Guardarlas para posterior análisis.

CALCULO

% de cenizas = pérdida de peso * 100/ peso muestra.

b.	Tratamiento de las cenizas
-----------	-----------------------------------

- Agregar 1 mL de ácido nítrico concentrado al crisol de las cenizas.
- Calentar un poco para diluir las cenizas.
- Filtrar la solución ácida recibiendo el filtrado en un frasco volumétrico de 100 mL, lavar el crisol y el embudo recibiendo los filtrados en el mismo frasco. Llevar al enrase con agua destilada.

c.	Determinación de hierro por AA
-----------	---------------------------------------

El hierro contenido en la carne se conoce como hierro *heme*, que es el hierro que se obtiene de la hemoglobina de la sangre de los animales. Este tipo de hierro es de más fácil absorción que el hierro *no heme*, que es el que se puede obtener de los vegetales. Entre las carnes más ricas en hierro se encuentra el hígado, sobre todo el hígado de pollo. Otras fuentes animales ricas en este mineral son el hígado de ternera, la carne de ternera, la de cordero y ciertos mariscos como las

ostras o los mejillones. En menor proporción, la carne de pollo o la carne de cerdo magro son buenas fuentes de hierro de procedencia animal.

Carnes rojas: contienen de 2,5 a 4 mg/100 gramos de hierro.

Carnes blancas: contienen de 1 a 1,5 mg/100 gramos de hierro.

- Llevar la solución anterior de las cenizas al equipo de absorción atómica para medir el hierro.

d.	Determinación de nitritos
----	----------------------------------

El nitrito y/o nitrato sódico se añade a los embutidos como agentes de curado. Se llevará a cabo la determinación de contenido en nitritos de los productos a base de carnes siguiendo el método operatorio descrito a continuación expresándolo en miligramos de nitrito sódico por kilogramo: extracción del nitrito por agua caliente del producto a base de carnes, precipitación de las proteínas y filtración. Adición de ácido sulfanílico y de alfa-naftilamina al filtrado y determinación fotométrica de la intensidad de la coloración rosa así obtenida.

El contenido en nitritos se calcula comparando la densidad óptica obtenida de la muestra problema con las de una serie de soluciones patrón de nitrito sódico tratadas en las mismas condiciones.

- Pesar aproximadamente 10 g de la muestra con una precisión de 0.0001 g.

Precipitación de las proteínas:

- Trasvasar la muestra pesada al erlenmeyer y añadir sucesivamente 5 mL de la solución saturada de bórax y 100 mL de agua a una temperatura de 70°C como mínimo.
- Calentar el erlenmeyer durante 15 minutos al baño maría a ebullición y agitar varias veces.
- Dejar enfriar a temperatura ambiente el erlenmeyer y su contenido.
- Añadir sucesivamente 2 mL del reactivo I y 2 mL del reactivo II, mezclar cuidadosamente después de cada adición.
- Trasvasar a un matraz aforado de 200 mL. Dejar reposar 30 minutos a temperatura ambiente completando con agua a 200 mL.
- Mezclar cuidadosamente el contenido del matraz aforado y filtrar en papel filtro.

Medida del contenido de nitritos:

- Tomar con pipeta volumétrica una alícuota de 10 mL y ponerla en un tubo de ensayo.

-
- Añadir 10 mL del reactivo colorimétrico, mezclar y dejar reposar durante 15 minutos a temperatura ambiente, al abrigo de la luz solar directa.
 - Montar un blanco utilizando para ello 10 mL de agua y 10 mL del reactivo colorimétrico.
 - A partir de 20 minutos, pero dentro de las 4 horas, medir la densidad óptica de la solución en una celda de 1 cm de recorrido óptico, con una longitud de onda aproximada de 529 nm. Si la solución coloreada obtenida a partir de la muestra es superior a la de la solución patrón más concentrada, disminuir la cantidad de filtrado tomado con la pipeta. Efectuar dos determinaciones sobre la muestra preparada.

Elaboración de la curva Patrón:

Preparar una serie de soluciones patrón pasando con pipeta volumétrica volúmenes de 1, 2, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 mL de la solución B a balones volumétricos de 100 mL y adicionar 10 mL del reactivo colorimétrico y enrasar con agua destilada (las soluciones patrón así como la solución de nitrito de que provienen deben ser preparadas el día de su utilización).

Patrón	Concentración mg/L	Volumen solución estándar a tomar
1	0.05	1
2	0.1	2
3	0.25	5
4	0.5	10
5	0.75	15
6	1.0	20
7	1.5	30
8	2.0	40
9	2.5	50
10	3.0	60
11	3.5	70
12	4.0	80

Calcular el contenido en nitritos de la muestra expresado en mg de nitrito sódico por Kg de muestra.

Preparación de reactivos

- Soluciones utilizadas para la precipitación de proteínas:

Reactivo I: Disolver 10.6 g de ferrocianuro de potasio trihidratado, $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$, en agua y diluir a 100 mL

Reactivo II: Disolver 22.0 g de acetato de zinc dihidratado, $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$, y 3.0 mL de ácido acético glacial en agua y diluir a 100 mL

Solución saturada de bórax: Disolver 5.0 g de tetraborato disódico decahidratado, $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$, en 100 mL de agua templada y dejar enfriar a T° ambiente.

- Soluciones patrón de nitrito sódico:

Solución (A): Disolver 1.0 g de nitrito sódico ($NaNO_2$) y enrasar a 1000 mL.

Solución (B): Pasar con pipeta volumétrica 5 mL de la solución (A) a otro matraz aforado de 1000 mL y aforar a este volumen.

- Reactivo colorimétrico:

Solución I: Disolver calentando al baño maría 0.6 g de ácido sulfanílico ($H_2NC_6H_4 \cdot SO_3H$) en 20 mL de ácido acético glacial y 40 mL de agua. Añadir 20 mL de una solución de NaCl de concentración 100 g/L y diluir con agua a 100 mL.

Solución II: Disolver calentando al baño maría 0.03 g de clorhidrato de alfa-naftilamina $C_{10}H_7NH_2 \cdot HCl$ en 10 mL de agua o 0.024 g de alfa-naftilamina. Filtrar si es necesario y añadir 20 mL de ácido acético glacial, diluir con agua a 100 mL (manipular esta solución con precaución por su carácter cancerígeno y conservar estas soluciones en frascos de color topacio oscuro fuerte bien cerrados).

El reactivo colorimétrico se obtiene mezclando volúmenes iguales de las dos soluciones (debe conservarse en refrigerador una semana como máximo).

e.	Determinación Cuantitativa de Almidón
----	--

- Pesar 10 g de muestra y transferirla a un papel filtro.
- Lavar 4 veces con éter etílico y 4 veces con etanol al 70%.
- Dejar drenar y transferir tanto el papel filtro como la muestra a un vaso de precipitados.
- Añadir 5 mL de HCl al 50% (v/v) y desintegrar el papel filtro con una varilla de vidrio.
- Añadir otros 10 mL de HCl en cantidades de 1 mL durante 30 min.
- Diluir a 100 mL con agua destilada en un matraz volumétrico.
- Agitar durante 5 min.

-
- Filtrar a través de un crisol de Gooch y pipetear 50 mL de filtrado a un vaso de precipitados de 250 mL, preferiblemente de forma baja, que contenga 115 mL de etanol al 96%.
 - Agitar durante 1 min. Lavando las paredes con etanol al 70%.
 - Dejar en reposo por 5 minutos.
 - Decantar a través de un crisol de Gooch, previamente pesado, lavando el precipitado con 100 mL de etanol al 70% y 100 mL de etanol al 96%.
 - Secar el crisol de Gooch con el residuo durante 3 h a 105°C
 - Pesar.

f.	Investigación de Amoniac libre
-----------	---------------------------------------

En un tubo de ensayo se colocan 2 o 3 mL del reactivo de Eber. Se suspende un trozo de carne o derivado con un alambre, de modo que quede a 2 cm de la superficie líquida y se observa si se forman humos blancos de cloruro de amonio, lo que indica una prueba positiva.

Preparación de reactivos

Reactivo de Eber: HCl: 1 parte

Etanol: 3 partes

Éter: 1 parte

g.	Reducción del Azul de metileno
-----------	---------------------------------------

Evalúa la cantidad de bacterias en la carne y por lo tanto la calidad de su conservación. La prueba depende de que la actividad reductora de los microorganismos y de las sustancias reductoras de la carne logre un descenso del potencial redox y este cambio se valora visualmente mediante la reducción del azul de metileno.

- Colocar 5 gramos de carne o derivado cárnico homogenizado en un frasco con tapa esmerilada y se agregan 50 mL de agua a 40 °C y 1 mL de solución de azul de metileno. Se calienta la mezcla en un baño termostático a 45 °C. Se mide el tiempo de decoloración. Si esto sucede dentro de una hora, hay alteración manifiesta de la carne.

h.	Determinación de pH
-----------	----------------------------

Preparar una solución al 10 % de carne o derivado cárnico y realizar la medida con el medidor de pH, calibrado previamente. El pH de la carne varía generalmente de 6.1 a 6.2 un pH de 6.5 exige consumo inmediato y una reacción alcalina hace sospechar una putrefacción.

i.	Determinación de Nitratos en derivados cárnicos
----	--

Los nitratos se emplean ampliamente como aditivos en la fabricación de productos cárnicos curados y en menor medida, en la conservación del pescado y en la producción de queso. Los nitratos y también los nitritos, están catalogados como conservantes aceptados oficialmente en la Directiva del Consejo 92/2/EC sobre aditivos alimentarios diferentes de los colorantes y de los edulcorantes. Los límites de concentración para los nitratos, calculados como nitrato de potasio, oscilan entre los 250 mg/kg para los productos cárnicos.

Los nitratos como sustancias de origen natural pueden encontrarse en productos cárnicos frescos, leche y productos lácteos, cereales, frutas, bebidas alcohólicas y verduras, incluyendo las patatas. En la mayoría de estos alimentos se encuentran sólo concentraciones bajas, con la excepción de algunos tipos de verduras.

Al reaccionar en medio sulfúrico los nitratos con la brucina se produce una coloración amarilla marrón, cuya intensidad es proporcional al contenido en nitratos presentes, lo que permite su valoración calorimétrica o espectrofotométrica.

Preparación del extracto:

- Tomar 10g de muestra y llevarlos a un erlenmeyer de 250 mL.
- Adicionar 150 mL de etanol 40%, agitar y calentar suavemente por 1 hora.
- Transvasar a matraz de 250 mL con ayuda de un embudo y una varilla de vidrio y haciendo lavados con etanol 40%.
- Adicionar 5 mL de cada uno de los reactivos de carrez (reactivo I y II) y enrasar con agua destilada.
- Agitar y transvasar a un beaker de 500 mL y dejar 10 minutos en reposo.
- Separar la grasa que sobrenade con espátula.
- Filtrar al vacío recolectando en un matraz de 200 mL hasta el enrase.
- Verterlo en beaker de 500 mL lavando con poco agua y evaporar el líquido hasta 100 mL.
- Dejar enfriar y llevar de nuevo al matraz de 200 mL y enrasar con agua destilada.

Determinación de nitratos por fotometría:

- En matraz de 50 mL adicionar 10 mL del extracto preparado anteriormente.

-
- Adicionar 1 mL de la solución de Brucina-acido sulfanilico.
 - Adicionar 10 mL de la solución de acido sulfúrico.
 - Mezclar lentamente y dejar en reposo por 10 minutos en la oscuridad.
 - Adicionar 20 mL de agua destilada agitando y dejar en reposo por 15 minutos en la oscuridad.
 - Enfriar en baño de hielo hasta temperatura ambiente en la oscuridad.
 - Enrasar con agua destilada.
 - Leer absorbancia a 410 nm.

Curva patrón:

Tomar los diferentes volúmenes de la solución patrón de nitratos y tratar igual que la muestra.

patrón	Concentración en mg/L	Volumen solución patrón a tomar
1	2	1
2	4	2
3	6	3
4	8	4
5	10	5

El cero se ajusta con 20 mL de agua destilada sometida al mismo procedimiento que la muestra.

Preparación de reactivos

- Solución patrón de nitratos: Disolver 0.1629 g de nitrato de potasio en agua y llevar a 1L. (Esta solución contiene 0.1 mg de nitrato)
- Solución de Brucina – acido sulfanilico: Disolver 1 g de Brucina y 0.1 g de acido sulfanilico en 70 mL de agua caliente, adicionar 3 mL de HCl 37%, dejar enfriar y llevar a 100 mL con agua destilada.
- Solución de acido sulfúrico: Adicionar 500 mL de acido sulfúrico a 75 mL de agua destilada. Guardar en un frasco herméticamente cerrado.
- Reactivo de Carrez:
Reactivo I: Solución acuosa de hexacianoferrato de potasio al 15%
Reactivo II: Solución acuosa de acetato de zinc al 30%

Composición de la carne y algunos derivados cárnicos:

Tipo de alimento	Humedad (g)	Cenizas (g)	Proteína (g)	Lípidos Soxlet (g)
Carne de cerdo magra	64,3	1,1	20,1	11,9
Carne de res magra	71,0	0,9	21,5	6,5
Jamón	72,0	1,0	20,4	6,6
Salchichón	29,8	7,1	23,8	38,1
Salchicha	59,9	4,2	12,9	

PREGUNTAS

- a. Cuáles son los aditivos más utilizados en la elaboración de los productos cárnicos procesados? Cómo pueden clasificarse?

BIBLIOGRAFIA

- **COLOMBIA. Ministerio de Salud.** *Manual para el Análisis de Productos Cárnicos.* Santa fe de Bogotá: El ministerio. 1995.
- **FISCHER H. J. y HART, F. L.** *Análisis Moderno de los Alimentos.* España: Editorial Acribia, 1971. 619 p.
- **KIRK, R.S., SAWYER, R. y EGAN, H.** *Composición y Análisis de Alimentos de Pearson.* 2 ed. México: Compañía Editorial Continental S.A. de C.V, 1996. 777p.
- **LEES R.** *Manual de Análisis de Alimentos.* España: Editorial Acribia, 1969. 288 p.
- **RESTREPO, J.** *Manual de Prácticas de Análisis de Alimentos.* Santiago de Cali: Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad del Valle, 1997. 60 p.

ANÁLISIS DE PANELA

OBJETIVOS

- Determinar por medio de un análisis fisicoquímico de una muestra de panela, la calidad de su tratamiento y conservación.
- Investigar las normas del Icontec y del Ministerio de Salud en lo que se refiere a la panela, y aplicarlas a los resultados obtenidos.

INTRODUCCIÓN

Definiciones según La Resolución 000779 de 2006

Panela: Producto natural obtenido de la extracción y evaporación de los jugos de la caña de azúcar, elaborado en los establecimientos denominados trapiches paneleros o en las centrales de acopio de mieles vírgenes, en cualquiera de sus formas y presentaciones.

Panela saborizada: Es la obtenida de la extracción, evaporación y procesamiento de los jugos de la caña de azúcar, elaborada en los establecimientos denominados trapiches paneleros o en las centrales de acopio de mieles vírgenes, con adición de saborizantes permitidos por el Ministerio de la Protección Social, cualquiera que sea su forma y presentación.

LA PANELA se puede utilizar en la preparación de:

- Bebidas refrescantes (con limón y naranja agria).
- Bebidas calientes (café, chocolate, aromáticas y té).
- Teteros.
- Salsa para carnes y repostería.
- Conservas de frutas y verduras.
- Edulcorar jugos.
- Tortas, bizcochos, galletas y postres.
- Mermeladas.
- La cocina de platos típicos.

Otros usos de LA PANELA:

- Cicatrizante.
- Malestares de los resfriados y gripas.

La panela es la base del sustento de miles de familias campesinas, quienes producen en unidades de pequeña escala, con mano de obra familiar y afrontan muchas dificultades para modernizar su producción y expandir sus mercados. Sólo un pequeño segmento de la producción se desarrolla de forma industrial y el resto se realiza en establecimientos pequeños con capacidades de producción inferiores a los 300 kilogramos de panela por hora.

En el ámbito mundial, Colombia es el segundo mayor productor de panela y el mayor consumidor per cápita del mundo. Sin embargo, por su carácter de producto no transable, la producción se orienta casi completamente al mercado interno, lo cual no le permite ampliar su demanda fácilmente.

LA PANELA es un producto alimenticio con excelentes características, estando a la altura de las exigencias para los productos alimenticios en el nuevo milenio. En Colombia la Norma Técnica Colombiana NTC 1311 esta relacionada con la Panela.

COMPOSICION QUIMICA APROXIMADA DE LA PANELA

PARA CADA 100 GRAMOS DE PANELA

Carbohidratos en mg		Vitaminas en mg	
Sacarosa	72 a 78	Provitamina	2.00
Fructosa	1.5 a 7	Vitamina A	3.80
Glucosa	1.5 a 7	Vitamina B1	0.01
Minerales en mg		Vitamina B2	0.06
Calcio	40 a 100	Vitamina B5	0.01
Magnesio	70 a 90	Vitamina B6	0.01
Fósforo	20 a 90	Vitamina C	7.00
Sodio	19 a 30	Vitamina D2	6.50
Hierro	10 a 13	Vitamina E	111.30

Manganeso	0.2 a 0.5	Vitamina PP	7.00
Zinc	0.2 a 0.4	Proteínas	280mg
Flúor	5.3 a 6.0	Agua	1.5 a 7.0 g
Cobre	0.1 a 0.9	Calorías	312

COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE LA PANELA

Los principales componentes nutricionales de la panela son los azúcares (sacarosa, glucosa y fructosa), las vitaminas (A, algunas del complejo B,C,D y E), y los minerales (potasio, calcio, fósforo, magnesio, hierro, cobre, zinc y manganeso, entre otros).

LOS AZÚCARES

Entre los carbohidratos, el azúcar sacarosa es el principal constituyente de la panela, con un contenido que varía entre 75 y 85% del peso seco. Por su parte, los azúcares reductores (entre 6 y 15%), poseen una disponibilidad de uso inmediato para el organismo, lo cual representa una gran ventaja energética, "estos son fácilmente metabolizados por el cuerpo, transformándose en energía necesaria requerida por nuestro cuerpo".

Desde el punto de vista nutricional, el aporte energético de la panela oscila entre 310 y 350 kilocalorías por cada 100 gramos. Adulto que ingiera 70 gramos diarios de panela (que es consumo diario por habitante a nivel nacional), obtendrá un aporte energético equivalente al 9% de sus necesidades.

LAS VITAMINAS

La panela aporta un conjunto de vitaminas esenciales que complementan el balance nutricional de otros alimentos.

LOS MINERALES

Los minerales que necesita el organismo juegan un importante rol en la conformación de la estructura de los huesos, de otros tejidos, etc. Por lo tanto, se trata de compuestos irremplazables durante el crecimiento del cuerpo. Los minerales intervienen en múltiples actividades metabólicas: activan importantes sistemas enzimáticos, controlan el pH, la neutralidad eléctrica, etc. También participan en la conformación bioquímica de algunos compuestos de gran importancia fisiológica: el

cloro del ácido clorhídrico propio de la secreción gástrica, el yodo de las hormonas tiroideas, el hierro de la hemoglobina, entre otros

Requisitos físico/químicos

Determinación	Mínimo	Máximo
Azúcares reductores expresados en glucosa, en %	5.5	-
Azúcares no reductores expresados en sacarosa, en %		83%
Proteína , en % (N × 6.25)	0.2	
Cenizas, en %	0.8	
Humedad, en %		9
Plomo, expresado en Pb en mg/Kg		0.2
Arsénico, expresado como As en mg/Kg		0.1
SO ₂	NEGATIVO	
Colorantes	NEGATIVO	

Características organolépticas de panelas de buena calidad

Aspecto: Sólido, de consistencia densa, sin presentar burbujas en la masa ni hundimiento en sus caras, de superficies lisas, sin rugosidades, ni protuberancias y libre de materias extrañas. No debe presentar ataques de hongos ni de insectos.

Color: Amarillo, pardo o pardo oscuro. De color uniforme, sin manchas, verdeamiento, ni blanqueamientos.

Textura: Característica de la panela debido fundamentalmente a la relación de azúcares reductores y no reductores.

Sabor: Dulce, no debe presentar sabor fermentado, ni sabores extraños.

MATERIALES

Material de vidrio y elementos de laboratorio	Cantidad
Agitador de con varilla metálica	1

Beaker de 100 mL	2
Beaker de 250 mL	2
Beaker de 400 mL	1
Bureta de 25 mL	2
Capsula	1
Crisol	1
Equipo de filtración al vacío	1
Erlenmeyer de 125 mL	2
Erlenmeyer de 500 mL	1
Espátula	1
Lana virgen de oveja desengrasada	1
Matraz de 100 mL	2
Matraz de 1000 mL	1
Matraz de 250 mL	1
Matraz de 500 mL	2
Papel filtro	1
Pipeta aforada de 25 mL	2
Pipeta graduada de 10 mL.	2
Probeta de 50 mL	2
Varilla de vidrio	1
o reloj	1

REACTIVOS

Nombre	Código de color	Riesgos específicos	Consejos de prudencia
Solución de Fehling			
Azul de metileno	Verde	22	
Zinc en granallas	Verde	10-15	7/8-43.3
HCl concentrado	Blanco	34-37	26-45
HCl al 10%	Blanco	34-37	26-45
Amoníaco 5%			
NaOH en lentejas	Blanco //	35	26-37/39-45
NaOH 35%	Blanco //	35	26-37/39-45

Glucosa al 0.5%	Verde		
Sulfato de cobre pentahidratado	Verde	22-36/38-50/53	22-60-61
Tartrato de sodio y potasio tetrahidratado	Verde		
Acetato de plomo	Azul	60-61-33-48/22	53-45

PROCEDIMIENTO

Cortar la panela para obtener aproximadamente cuatro porciones de igual tamaño, raspar las nuevas caras de las cuatro porciones hasta obtener unos 100 g. Mezclar completamente el material raspado y guardarlo en un frasco limpio, seco y con cierre hermético.

a. Cenizas

Son las materias minerales presentes en la panela. Se obtienen por incineración de 3 g de panela a 550° C durante tres horas. Están constituidas principalmente por sales. Expresar el resultado como porcentaje de cenizas.

b. Humedad

- Se ralla o corta finamente una muestra de 2 a 3 gramos y se pesan en una balanza analítica con una precisión de cuatro cifras decimales en una cápsula de porcelana.
- La muestra se llevan a desecación en una estufa a presión atmosférica a 105°C, durante dos a tres horas.
- Se retira el recipiente de la estufa y se coloca inmediatamente en un desecador hasta que alcance la temperatura ambiente.
- Si es posible, se deben repetir las operaciones de secado, enfriada y pesada hasta cuando se obtenga un peso constante, esto es cuando toda el agua de la muestra haya sido eliminada; luego se guarda en el desecador la muestra deshidratada.
- A partir de los pesos obtenidos se calcula el porcentaje de agua o humedad y de materia seca en la panela.

c. Presencia de colorantes artificiales. (Esta determinación solo se realiza si se cuenta con lana virgen blanca)

Preparación de la lana:

- Desengrasar bien la lana con éter y secarla al aire.

-
- Tratarla con amoníaco al 5% durante 1 hora a 80°C.
 - Lavarla con agua destilada y secarla sobre varilla de vidrio.

Determinación:

- En un vaso de precipitado disolver 10 g de panela en 100 mL de agua; agregar 2 mL de ácido clorhídrico al 10%, y la hebra de lana; dejar hervir durante 5 minutos.
- Retirar el vaso del calor, descartar el líquido sin dejar caer la lana.
- Lavar la lana repetidamente con agua destilada fría, desechar los lavados.
 - Adicionar al vaso que contiene la lana, 50 mL de agua destilada y 10 gotas de amoníaco.
 - Dejar en ebullición por 10 minutos a fin de disolver el color artificial fijado por la lana.
- Decantar el líquido alcalino a otro vaso y diluir con un volumen igual de agua destilada.
- Dejar en ebullición hasta que los vapores que se desprendan ya no huelan a amoníaco.
 - Dejar enfriar y agregar ácido clorhídrico gota a gota para acidular ligeramente.
- Introducir otra hebra de lana de 10 - 15cm de longitud, dejar en ebullición por 5 minutos y lavar cuidadosamente la lana con 50 mL de agua destilada fría.
- Si con este tratamiento la lana está teñida de color perceptible, indica la presencia de colorantes artificiales en la muestra de panela. Si la coloración es débil o es incierta, se debe tratar la hebra de lana con 50 mL de agua destilada y 10 gotas de amoníaco.
- Repetir el procedimiento. Fijar el color sobre una nueva hebra de 6 - 8cm de longitud.
- Si también en esta fijación se obtiene coloración, por débil que sea, será indicio seguro de la presencia de colorantes artificiales en la muestra analizada.

d.	Azúcares Reductores
-----------	----------------------------

El método químico de cuantificación de azúcares se basa en la capacidad reductora de los distintos azúcares sobre una disolución salina de cobre. Sin embargo, es un método que requiere un manejo cuidadoso y un cumplimiento riguroso de todos los pasos para que sea reproducible. Inicialmente se cuantifican los azúcares reductores libres presentes en la muestra (glucosa principalmente), después de una hidrólisis ácida de la sacarosa (inversión), se determinan los azúcares reductores totales. Por diferencia entre la cantidad de azúcar presente antes y después de la inversión, se obtiene el contenido en sacarosa.

- Pesar 5 g de panela y aforar a 100 mL con agua destilada. Con esta solución llenar una bureta de 25 mL
- En un erlenmeyer medir 5 mL de Fehling A y 5 mL de Fehling B, adicionar 50 mL de agua destilada y hacer ebullicir. Se inicia la titulación con la solución de la bureta hasta que empiece un viraje en el

color, se adicionan 3 gotas de azul de metileno y continuar la titulación sin dejar de ebullición hasta que la solución pase a color rojo.

Valoración de la solución de Fehling:

- Transferir a un vaso de precipitados, 10 mL de la solución de Fehling (5 mL Fehling A + 5 mL Fehling B).
- Preparar una solución tipo (0,5 % de glucosa previamente secada) de una concentración tal que necesite más de 15 mL, pero menos de 50 mL de la misma, para reducir todo el cobre de la solución de azúcar necesaria para efectuar la reducción completa de cobre, reservando de 0.5 a 1.0 mL de la solución.
- Calentar la solución y mantenerla en ebullición moderada exactamente durante 2 min., agregar dos gotas de la solución de azul de metileno y completar la titulación en un minuto más, de manera que el líquido hierva sin interrupción durante un tiempo total de tres minutos exactamente.

Preparación del papel filtro impregnado con acetato de plomo:

- Cortar el papel filtro en tiras, humedecerlas con la solución de acetato de plomo (se disuelven 5 g de acetato de plomo en 20 mL de agua destilada).
- Colocar luego en estufa de secado a baja temperatura hasta que el papel esté completamente seco.
- Guardar las tiras en frasco limpio y seco.

Calculo del titulo de Fehling:

Llenar la bureta con solución de glucosa al 0.5 % y realizar la titulación en forma similar a la anterior.

$$\text{Masa de glucosa reducida (mg)} = \frac{M_{\text{masa glucosa en solución (mg)}}}{100 \text{ mL de solución}} * V_{\text{volumen de solución de glucosa consumida (mL)}}$$

Masa de glucosa reducida (mg) = _____ mg de glucosa (**Valor del titulo del fehling**)

Significado: La solución de Fehling preparada es capaz de reducirme _____ mg de glucosa.

Cálculos:

Azúcares reductores como glucosa

Masa de Azúcares reductores en panela = _____ mg de glucosa (titulo del Fehling) x 100 mL de solución de panela/ Volumen de solución consumido en la titulación.

% de azúcares reductores = (mg de glucosa o A.R.) / (5 gramos de panela) * 100 %

Preparación de reactivos

- **Solución de sulfato de cobre:** Disolver 34.649 g de sulfato de cobre pentahidratado en agua, diluir a 500 mL y filtrar, guardar la solución en un frasco de color ámbar.
- **Solución de tartrato alcalino:** Disolver en agua 173 g. de sal Rochela, tartrato de sodio y potasio tetrahidratado y 50 g de hidróxido de sodio; completar a 500 mL; dejar en reposo durante dos días y filtrar. Esta solución se deteriora con el tiempo.
- **Solución de Fehling:** Prepararla inmediatamente antes de su empleo, mezclando volúmenes iguales de las soluciones de sulfato de cobre y tartrato alcalino.

e.	Determinación del contenido de azúcares totales - sacarosa
-----------	---

- Para lograr la inversión de la sacarosa colocar en un vaso de precipitados de 250 mL, 5 mL del filtrado obtenido para la determinación de azúcares reductores.
- Agregar 50 mL de agua destilada y 0.5 mL de ácido clorhídrico concentrado, homogenizar perfectamente y calentar a ebullición por tres minutos.
- Enfriar rápidamente y neutralizar con solución de hidróxido de sodio, a pH 7 con el potenciómetro.
- Pasar cuidadosamente la solución, con ayuda de una varilla, a un matraz aforado de 100 mL.
- Realizar la determinación de los azúcares reductores totales invertidos, como se describe para azúcares reductores.

Calculo del porcentaje de sacarosa.

El porcentaje de sacarosa equivale a los azúcares reductores totales – azúcares reductores * 0.95.

$$\% \text{ sacarosa} = (\% \text{ A.R.T.} - \% \text{ A.R.}) * 0.95$$

f.	Determinación de materiales extraños
-----------	---

(Restos de vegetales, insectos, pelos de roedores, arena y tierra)

- Pesar 100 gramos de panela en un vaso de precipitados de 400 mL, agregar agua destilada hasta cubrirla.
- Calentar a ebullición hasta completa disolución, enfriar a temperatura ambiente y pasar la solución a un erlenmeyer de 500 mL, al que previamente se le ha incorporado una barra agitadora.

-
- Lavar el vaso de precipitados con varias porciones de agua destilada, agregar estos lavados al erlenmeyer con agua destilada hasta el cuello.
 - Filtrar al vacío sobre el papel de filtro previamente tarado, colocado en el Buchner, secar y pesar.
 - Observar al estereoscopio el papel de filtro una vez seco y realizar el conteo.
 - Reportar en el resultado el número de pelos, larvas, huevos, fragmentos de insectos, restos vegetales por 100 g del producto.
 - Reportar los resultados por 100 g de producto.

g.	Identificación de blanqueadores derivados del azufre tales como hiposulfito de sodio e hidrosulfito de sodio
-----------	---

- Colocar en un erlenmeyer de 125 mL, 10 g de la muestra preparada.
- Agregar 5 mL de agua destilada y agitar.
- Añadir 1 g de zinc y 5 mL de ácido clorhídrico.
- Tapar la boca del erlenmeyer con papel de filtro humedecido con la solución de acetato de plomo.
- Dejar en reposo por 15 minutos y observar el papel de filtro, si aparece una mancha negra con brillo metálico o pardo oscuro con el mismo brillo, indica la presencia de blanqueadores derivados del azufre en la muestra analizada.

PREGUNTAS

- a. Investigar las normas que establecen los criterios de calidad para la panela.
- b. Cuales son las medidas de carácter sanitario que existen sobre la producción, elaboración y comercialización de la panela?
- c. Elabore un diagrama de flujo sobre el proceso de producción de la panela.
- d. Que es el clarol y cuales son sus sustituyentes?

BIBLIOGRAFÍA

- **BERNAL DE RAMÍREZ, I.** *Análisis de Alimentos*. Santa fe de Bogotá: Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 1993. 313 p.
- **COLOMBIA.** *Ministerio de Salud. Manual para el Análisis de la Panela*. Santa fe de Bogotá: El ministerio. 1995
- **LEES R.** *Manual de Análisis de Alimentos*. España: Editorial Acribia, 1969. 288 p.

-
- **MATISSEK, R., SCHNEPEL, F-M. y STEINER, G.** *Análisis de los Alimentos: Fundamentos, Métodos y Aplicaciones.* España: Editorial Acribia, 1992. 416 p.

ANALISIS DE MIEL DE ABEJAS

OBJETIVOS

- Evaluar la calidad de una muestra de miel, por medio de técnicas de análisis fisicoquímicos oficializadas.
- Adquirir información teórica sobre el producto miel de abejas, e importancia en la alimentación humana.
- Reconocer la legislación vigente referente al producto, sus características fisicoquímicas y los análisis que se le practican.

INTRODUCCIÓN

Definiciones según el decreto 1049 del 2003:

- **Miel:** La miel es la sustancia natural dulce producida por la abeja *Apis mellifera* a partir del néctar de plantas o de secreciones de partes vivas de plantas o de excreciones de insectos chupadores presentes en las partes vivas de plantas, que las abejas recolectan, transforman combinándolas con sustancias específicas propias, depositan, deshidratan, almacenan y dejan en colmenas para que madure.

Las principales variedades de miel son las siguientes:

- **Según su origen:**

Miel de flores o miel de néctar: Es la miel que procede del néctar de las plantas.

Miel de mielada: Es la miel que procede en su mayor parte de excreciones de insectos chupadores de plantas (hemípteros) presentes en las partes vivas de las plantas o de secreciones de las partes vivas de las plantas.

- **Según su elaboración o su presentación:**

Miel en panal: Es la miel depositada por las abejas en los alvéolos operculados de panales recientemente construidos por ellas, o en finas hojas de cera en forma de panal realizadas únicamente con cera de abeja, sin larvas y vendida en panales, enteros o no.

Miel con trozos de panal o panal cortado en miel: Es la miel que contiene uno o más trozos de miel en panal.

Miel escurrida: Es la miel que se obtiene mediante el escurrido de los panales desoperculados, sin larvas.

Miel centrifugada: Es la miel que se obtiene mediante la centrifugación de los panales desoperculados, sin larvas.

Miel prensada: Es la miel obtenida mediante la compresión de los panales, sin larvas, con o sin aplicación de calor moderado, de hasta un máximo de 45 °C.

Miel filtrada: Es la miel que se obtiene eliminando materia orgánica o inorgánica ajena a la miel de manera tal que se genere una importante eliminación de polen.

Miel para uso industrial: Es la miel apropiada para usos industriales o para su utilización como ingrediente de otros productos alimenticios que se elaboran ulteriormente, que puede: presentar un sabor o un olor extraños, o haber comenzado a fermentar o haber fermentado, haberse sobrecalentado.

Composición química:

Glucosa y fructosa

- Para miel de flores de ≥ 60 g/100 g.
- Para miel de mielada, o mezclas de miel de mielada con miel de flores ≥ 45 g/ 100g

Contenido de sacarosa: No más de 5 g/100 g

Contenido de agua: No más del 20%

Contenido de sólidos insolubles en agua

- En general no más de 0,1 g/100 g
- Miel prensada no más de 0,5 g/100

Conductividad eléctrica: No más de 50 miliequivalentes de ácidos por 1000 g de miel.

Índice diastásico, determinados después de la elaboración y mezcla.

1°. En general, excepto miel para uso industrial no menos de 8

2°. Mieles con un bajo contenido natural de enzimas (por ejemplo, mieles de cítricos) y un contenido de HMF no superior a 15 mg/kg, no menos de 3

Hidroximetilfurfural (HMF), determinados después de la elaboración y mezcla.

1°. En general, excepto miel para uso industrial, no más de 40 mg/kg (condicionado a lo dispuesto en el párrafo a). 2°.anterior)

2°. Miel de origen declarado procedente de regiones de clima tropical y mezclas de estas mieles, no más de 80 mg/kg.

Características organolépticas

El color de la miel puede variar mucho; desde amarilla, amarillo verdosa, dorada, ámbar, pardo oscura o pardo rojiza hasta casi negra. Las variaciones se deben casi por completo a la fuente vegetal de la miel, aunque el clima puede modificar algo el color debido a la acción oscurecedora del calor.

Propiedades físicas, características de la miel: Alta viscosidad, consistencia pegajosa, gran dulzura, relativamente alta densidad, tendencia a absorber la humedad del aire, y la inmunidad a cierto tipo de deterioro; todo esto radica en que es naturalmente una solución muy concentrada de varios azúcares.

Para la industria en el eje cafetero, el sector apícola presenta un gran potencial inexplorado, ya que de los productos derivados de la colmena no solo la miel presenta gran interés, se encuentra el polen el cual es el gameto masculino de las flores que la abeja recoleta y lo transporta a la colmena para ser utilizado como única fuente de proteína, este es rico en aminoácidos esenciales y carbohidratos con la gran ventaja de presentar niveles bajos de grasa lo que lo hace ideal como complemento de la alimentación humana; la jalea real es un líquido blanquecino producto de la secreción de las glándulas hipofaríngeas y mandibulares de las abejas con el cual alimentan las larvas durante los primeros días y a la reina permanentemente, es rica en proteína, carbohidratos, vitaminas y minerales como el sodio y el potasio pudiendo utilizarse en humanos como alimento estimulante, para elevar los niveles inmunológicos, y para los tratamientos de la piel.

MATERIALES

Material de vidrio y elementos de laboratorio	Cantidad
Baño termostático	1
Beaker de 100 mL	2
Beaker de 200 mL	1
Beaker de 50 mL	1
Bureta de 25 mL	1
Crisol de porcelana con su tapa	1
Embudo de separación de 50 o 100 mL	1
Equipo de filtración al vacío	1
Erlenmeyer de 100 o 125 mL	1
Matraz de 100 mL	1
Medidor de conductividad	1
Medidor de pH	1

Pipeta de 10 mL	2
Probeta de 50 mL	1
Refractómetro de ABBE	1
Tubo de ensayo	2
Tubo de ensayo tapa rosca	1
Varilla agitadora de vidrio	2
Vidrio de reloj	1

REACTIVOS

Nombre	Código de color	Riesgos específicos	Consejos de prudencia
Alcohol etílico absoluto			
Éter etílico			
HCl concentrado	Blanco	34-37	26-45
Indicador de fenoftaleina al 1% en etanol	Verde		
Solución de almidón al 1%			
Solución de NaOH 0.1N	Blanco //	35	26-37/39-45
Solución de resorcinol al 1% (en HCl concentrado)			
Solución de yodo/yoduro			

PROCEDIMIENTO

Las mieles que presentan cristalización de azúcares (granulación) deben homogenizarse, introduciendo el envase en un baño de agua a 60°C. Agitar hasta disolución de los cristales, enfriar y tomar la porción para el análisis. Si no se observa granulación basta agitar con una varilla.

a. Análisis organoléptico

Consistencia: Puede conocerse el aspecto de la miel según el aspecto de la misma, y también de acuerdo a la sensación que produce en la lengua. Las mieles muy líquidas, las que a temperatura

ambiente no pueden girarse en la cuchara, tienen en general un gran contenido de agua; igualmente las mieles que se depositan, es decir, que forman cristales en el fondo.

Sabor y olor: A estas dos propiedades, por estar estrechamente relacionadas se las trata también conjuntamente. El olor puede percibirse más claramente minutos después de abierto el recipiente. Son reacciones muy sensibles y están influenciados muy subjetivamente.

Color: Al color es una propiedad óptica de la miel, resultado de los diferentes grados de absorción de la luz de diferentes longitudes de onda por parte de los constituyentes de la miel. Su medición se realiza con un graduador de color de Pfund.

Limpieza: Se establece la pureza de la miel y si esta libre de partículas extrañas, cera, insectos. Se hace a simple vista.

b.	Cenizas
-----------	----------------

Se evalúa el contenido de material inorgánico, conocido como las cenizas o el residuo después de calcinar la muestra de miel.

Se pesan 5 gramos de miel en un crisol de porcelana previamente tarado. Se calcina la muestra a 550 °C durante tres horas. Se dejan enfriar las cenizas en el desecador y se pesa el crisol. Por diferencia de peso se calcula el porcentaje de cenizas en la miel.

c.	Determinación de la actividad de la diastasa
-----------	---

El ensayo de amilasas (Diastosas) se utiliza comúnmente como un índice del tratamiento calórico al que ha sido sometido una miel aunque por si solo no constituye un criterio para detectar mieles sobrecalentadas. El contenido de diastosas va disminuyendo gradualmente con el tiempo. El sustrato de almidón tamponado se incuba con la muestra, produciéndose la hidrólisis enzimática, que se determina por el agregado del reactivo yodo, el cual produce coloración con el remanente de almidón no hidrolizado.

Aproximadamente 5 gramos de miel se diluyen con 10 mL de agua destilada recién hervida y enfriada, 10 mL de esta solución se incuban con 1 mL de la solución de almidón al 1% durante una hora a 45°C en un tubo de ensayo tapa rosca. Se deja enfriar y se le agrega 1 mL de yodo/yoduro. Una miel natural conteniendo sus diastosas, no presentara cambios sensibles de color.

El ensayo es negativo para las diastasas si se presenta un color azul o azul negruzco.

d.	Sólidos insolubles en agua a 80 °C
-----------	---

Evalúa el contenido de sólidos insolubles en agua caliente a 80 °C.

Pesar 20 gramos de miel y diluirla en la mínima cantidad de posible de agua caliente a 80 °C. La solución se filtra en un embudo buchner, en caliente a través de un papel de filtro previamente tarado. Se lava varias veces con agua caliente y se coloca en la estufa de secado a 105°C durante una hora. Dejar enfriar y pesar.

Los sólidos insolubles en agua se calculan así:

$$\% \text{ de sólidos insolubles en agua} = \frac{\text{Masaretenida}}{\text{Masatotaldemiel}} * 100$$

e.	Contenido de Hidroximetilfurfural (HMF). Método cualitativo
-----------	--

Esta sustancia química que aparece en la miel es un derivado de la degradación de los azúcares y principalmente de la fructosa. La fructosa es un azúcar "noble" de la miel: Esta es también la más frágil se expone a temperaturas muy elevadas, en un medio naturalmente ácido, se descompone en HMF.

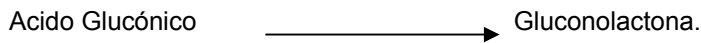
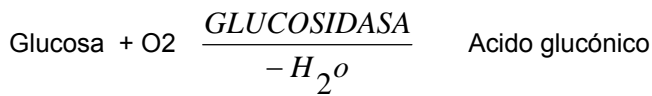
Se señala que la calidad biológica total de una miel: Presencia de enzimas, de vitaminas, está ligada a su nivel de HMF y es un factor inversamente proporcional. En resumen la presencia de HMF en la miel es siempre revelador de las degradaciones térmicas que sufre el producto y es un indicador muy importante de la calidad y de la frescura.

Pesar de (5 a 10) gramos de miel y disolverlos con una cantidad igual de agua para que la relación sea 1:1. Realizar una extracción con 10 mL de éter etílico en un embudo de separación. Separar la capa etérea de la acuosa. Evaporar el solvente en un baño termostático. Al residuo adicionarle 2 mL de solución de resorcinol al 1%. El color cereza intenso que permanezca durante una hora indica positivo para HMF.

El color rosado que desaparece rápidamente es prueba negativa.

f.	Acidez
-----------	---------------

La miel o soluciones de miel neutralizadas tienden a la reversión de su acidez originaria.



Se basa en el proceso de neutralización de un ácido mediante un hidróxido en presencia de un indicador interno, la fenolftaleína.

Se pesan 10 gramos de miel y se disuelven en 75 mL de agua destilada. La solución se titula con hidróxido de sodio 0.1 N, utilizando fenolftaleína como indicador. El color Rosado deberá perdurar durante 10 segundos. Si no se visualiza el punto final se deberá emplear un medidor de pH. El resultado se expresa en mili equivalentes de ácido por kilogramo de miel, y se calcula así:

$$\text{Acidez} = 10 \times v$$

Donde: v = Numero de mL de NaOH 0,1 N utilizados en la neutralización de 10 gramos de miel.

g.	Determinación de la glucosa comercial
----	--

La adulteración de la miel por el agregado de glucosa comercial se pone en evidencia por la presencia de dextrinas, con diferentes métodos. A diferencia de las dextrinas de almidón, los componentes de la miel semejantes a las dextrinas (azucares superiores) no presentan reacción si se acidula la solución de miel con ácido clorhídrico y se les mezcla luego con alcohol.

En un beaker de 50 mL se pesa 1 gramo de miel y se disuelve con 5 mL de agua destilada. En un tubo de ensayo se colocan 1 mL de esta solución y se le agregan dos gotas de ácido clorhídrico concentrado, luego 5 mL de alcohol etílico absoluto. Se tapa el tubo y se agita. Se observa el medio alcohólico.

Expresión de resultados:

Negativa: Mezcla límpida u opalescencia muy débil

Positiva: Turbidez franca, liquido opaco.

Positiva fuerte: Enturbiamiento lechoso, precipitación.

Dudosa: Opalescencia débil

En caso de duda tratar un volumen de la solución problema (5mL), con igual volumen de ácido tricloroacético al 10 % filtrar y repetir la experiencia anterior en un tubo de ensayo. Si es negativo la mezcla se mantendrá límpida; de lo contrario, es presumible la presencia de dextrinas de almidón.

h.	Determinación del valor de pH
-----------	--------------------------------------

Se cuantifica el contenido de hidrogeniones (H^+) en una solución al 10 % de miel.

Se pesan 10 gramos de miel y se disuelven con 75 mL de agua destilada. Se realiza la lectura de la solución sobre el medidor de pH el cual previamente fue calibrado.

i.	Conductividad
-----------	----------------------

Establece la conductividad específica de una solución de miel y es un factor directamente relacionado con la concentración de sales o cenizas del producto.

En un matraz aforado de 100 mL se pesan 20 gramos de miel, se disuelve y se afora con agua destilada. Se lee su valor de conductividad a 20 °C expresando el resultado en mS/cm.

j.	Sólidos solubles. (Grados Brix)
-----------	--

Se emplea un refractómetro de ABBE calibrado. Sobre los prismas se deja suavemente unas gotas de miel y se determina el porcentaje de sólidos solubles o grados brix en la escala.

k.	Humedad / Método indirecto
-----------	-----------------------------------

Contenido de agua

La calidad de la miel, así como su evolución fisicoquímica y biológica, durante la conservación depende muy directamente de este factor. Un contenido de miel con un exceso de humedad (18 % -19 % o cualquier otro superior) sufre con frecuencia una cristalización defectuosa: La miel se endurece o sus cristales se amalgaman; se puede fermentar consecutivamente y de todos modos, su degradación bioquímica natural será acelerada.

Se emplea un refractómetro de ABBE calibrado. Sobre los prismas se deja suavemente unas gotas de miel y se determina el índice de refracción. La lectura debe realizarse a 20°C (**Controlar**

muy bien la temperatura y hacer las correcciones respectivas). El porcentaje de humedad se calcula en la tabla de índice de refracción contra humedad a 20°C.

Tabla # 1 VALORES DE ÍNDICE DE REFRACCIÓN Y % DE HUMEDAD:

INDICE DE REFRACCIÓN A 20°C	% HUMEDAD	INDICE DE REFRACCIÓN A 20°C	% HUMEDAD
1.5041	13	1.494	17
1.5035	13.2	1.4935	17.2
1.503	13.4	1.493	17.4
1.5025	13.6	1.4925	17.6
1.502	13.8	1.492	17.8
1.5015	14	1.4915	18
1.501	14.2	1.491	18.2
1.5005	14.4	1.4905	18.4
1.5	14.6	1.49	18.6
1.4995	14.8	1.4895	18.8
1.499	15	1.489	19
1.4985	15.2	1.4885	19.2
1.498	15.4	1.488	19.4

1.4975	15.6	1.4876	19.6
1.497	15.8	1.4871	19.8
1.4965	16	1.4866	2
1.496	16.2	1.4862	20.2
1.4955	16.4	1.4858	20.4
1.495	16.6	1.4853	20.6
1.4945	16.8	1.4849	20.8

Correcciones de temperatura:

Temperaturas superiores a 20 °C: Añadir 0,00023 por cada °C

Temperaturas inferiores a 20 °C: Restar 0,00023 por cada °C

Composición Proximal de la miel de abejas:

Tipo de alimento	Humedad (g)	Proteína (g)	Lípidos Soxlet (g)	Cenizas (g)
Miel de abejas	19,1	0,6	0,2	0,1

PREGUNTAS

- Cuales son los subproductos del proceso apícola y que importancia tienen?
- Que otra importancia tiene el cultivo de las abejas?
- Cómo se clasifican los miembros de la colmena?

BIBLIOGRAFÍA

AMERINE, M.A. Y OUGH, C.S. *Análisis de Vinos y Mostos*. España: Editorial Acribia. 1976. 158 p.

- **Association of Official Analytical Chemists:** *Official Methods of Analysis of A.O.A.C.* 14th Ed. U.S.A.: Arlinton, 1984.

-
- **BERNAL DE RAMÍREZ, I.** *Análisis de Alimentos*. Santa fe de Bogotá: Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 1993. 313 p.
 - **FISCHER H. J. y HART, F. L.** *Análisis Moderno de los Alimentos*. España: Editorial Acribia, 1971. 619 p.
 - **GUZMÁN, C.** *Manual de Laboratorio para el curso de Química de Alimentos*. Santiago de Cali: Sección de Alimentos, Facultad de Ingeniería, Universidad del Valle, 1987. 112 p.
 - **KIRK, R.S., SAWYER, R. y EGAN, H.** *Composición y Análisis de Alimentos de Pearson*. 2 ed. México: Compañía Editorial Continental S.A. de C.V, 1996. 777p.
 - **LEES R.** *Manual de Análisis de Alimentos*. España: Editorial Acribia, 1969. 288 p

ANÁLISIS DE VINOS

OBJETIVOS

- Evaluar la calidad de una muestra de vino, por medio de técnicas de análisis fisicoquímicos oficializadas.
- Investigar las normas del Icontec y del Ministerio de Salud en lo que se refiere a bebidas alcohólicas y concluir sobre la calidad de la muestra analizada.

INTRODUCCIÓN

Vino es según el ICONTEC

Producto resultante de la fermentación alcohólica normal del mosto de uvas frescas y sanas o del mosto concentrado de uvas sanas, sin adición de otras sustancias y con una graduación mínima de 10° alcoholimétricos.

Composición

Un vino está compuesto por agua (~80%) y alcohol (del 12 al 18% v/v), de este último valor es donde se origina la fuerza del vino. El contenido alcohólico procede casi en su totalidad de la fermentación del jugo de fruta. También contiene glicerina (originada durante la fermentación), aldehídos y ésteres (formados durante el añejamiento natural), azúcares (azúcar de frutas: fructosa), ácidos orgánicos (constituyen la acidez fija y la acidez volátil), taninos (directamente de la semilla de uva), materias colorantes (directamente de la uva), gomas (materias pépticas de origen vegetal), sustancias nitrogenadas (en forma de nitratos) y sustancias minerales (K, Na, Mg, cloruros y sulfatos).

El análisis del vino puede encaminarse a los siguientes fines

- a. Establecer su valor comercial. En este caso tendrá gran importancia el examen de sus caracteres organolépticos y la determinación de algunos de los principales componentes como por ejemplo alcohol, extracto, azucares (para los vinos dulces), acidez, colorantes.

- b. Establecer si el vino es normal o ha sufrido alteraciones por defecto de las materias primas empleadas (uvas malas, no maduras, invadidas de parásitos, etc.) o por prácticas enológicas erróneas, o por conservación defectuosa. En este caso además del examen organoléptico y del examen microscópico se deberá recurrir a la determinación de los componentes normales del vino.
- c. Establecer si el vino ha sido adulterado de modo que no se pueda admitir como genuino. La adulteración puede afectar a los componentes naturales del vino y entonces es necesario reconocer si estos componentes están contenidos en los límites justos y normales y en las proporciones correspondientes al tipo de vino que se examina. En estos casos será necesario recurrir a las determinaciones de glicerina, ácidos orgánicos, taninos, colorantes, fosfatos, cloruros, azúcares y sustancias extrañas, ácidos minerales libres y metales pesados como Ca y Ba.

MATERIALES

Material de vidrio y elementos de laboratorio	Cantidad
Alcoholímetro de Gay Lussac	1
Baño María	1
Beaker de 100 mL	2
Beaker de 250 mL	2
Bureta de 25 mL	1
Crisol de porcelana con su tapa	1
Erlenmeyer de 125 mL	1
Erlenmeyer de 250 mL	1
Picnómetro	1
Pipeta graduada de 10 mL.	2
Pipeta volumétrica de 25 mL	1
Probeta de 50 mL	1

REACTIVOS

Nombre	Código	de	Riesgos	Consejos	de
--------	--------	----	---------	----------	----

	color	específicos	prudencia
Indicador de fenoftaleína al 1% en etanol	Verde		
Indicador de metil naranja	Verde	20/21/22	7-13
Solución de H ₂ SO ₄ 0.1N	Blanco	35	26-30-45
Solución de NaOH 0.05N	Blanco //	35	26-37/39-45
Solución de NaOH 0.1N	Blanco //	35	26-37/39-45

PROCEDIMIENTO

El gas debe ser eliminado en las muestras de vino que lo contengan, transvasándolo a un vaso. Según su apariencia puede ser necesario filtrarlo. Debe determinarse inmediatamente la densidad y aquellas sustancias susceptibles a variación como alcohol, azúcares y ácidos. En vinos tintos los virajes de color en las titulaciones son difíciles de observar, es recomendable entonces, que filtrar rápidamente el vino a través de carbón activo para decolorar (excepto para la prueba de azúcares).

a. Evaluación preliminar

Observar detenidamente la botella, su tapa, sus sellos, etiquetas y demás datos pertinentes. Registrarlos como datos básicos del producto.

Una vez abierta la botella, sacar en una copa un volumen para percibir el olor, el sabor, el aspecto (limpiez), color, etc. Hacer las anotaciones respectivas.

b. Determinación del Grado Alcohólico

Para la realización de este ensayo se requiere realizar una destilación previa. Por ello arme un montaje para la destilación simple de 100 mL de vino. La punta del codo de destilación debe quedar sumergida en el agua destilada para la recolección del destilado. Una vez se hayan destilado aproximadamente 70 mL se suspende la destilación y se afora este volumen a 100 mL con agua destilada.

Método del picnómetro.

-
- Pesar el picnómetro limpio y seco.
 - Llenar el picnómetro con agua destilada, sin llevar al enrase y colocarlo durante varios minutos en un baño de agua a 20°C. Completar hasta el enrase y tapar cuidando de que no queden burbujas. Secar exteriormente y pesar.
 - Vaciar el picnómetro, secarlo e introducir la muestra destilada de vino y efectuar la misma operación que en el paso anterior. Obtener el peso de vino contenido en ese volumen y dividirlo por el peso del agua a 20°C. Con este valor consultar en la respectiva tabla el porcentaje de etanol contenido.

Método del alcoholímetro

El alcoholímetro más usado es el de Gay Lussac graduado a 15°C, el cual da alcohol en volumen (mL de etanol en 100 mL del líquido a 15°C).

- Limpiar y secar cuidadosamente el alcoholímetro.
- Enfriar el vino hasta una temperatura de 15°C.
- Verter suavemente el vino (es preferible utilizar la solución de vino destilada) en una probeta ancha, evitando la formación de espuma e incorporación de aire.
- Tomar el alcoholímetro por el extremo del vástago introduciéndolo de modo que ocupe la parte central del líquido y dando un leve movimiento de rotación (para que no se pegue a las paredes de la probeta, puesto que se tendría una lectura errónea).
- Se deja libre hasta que se sitúe en posición de equilibrio y se lee el punto de emergencia.
- Cuando la lectura no se ha podido hacer a la temperatura normal a que fue graduado el instrumento, sólo se obtiene el grado aparente del alcohol a la temperatura dada.
 - Para dar el grado real se emplean tablas de correlación apropiadas.

En la práctica se expresa en alcohol etílico, aun cuando se mide el conjunto de alcoholes volátiles y ésteres.

c.	Cenizas
-----------	----------------

Las cenizas están constituidas principalmente por sales de potasio, sodio, magnesio, calcio, aluminio e hierro, provenientes de los ácidos carbónico, tartarico, fosfórico, sulfúrico, clorhídrico y silícico.

-
- Añadir 25 mL de vino en un crisol de porcelana con tapa previamente pesado.
 - Pasar a la mufla y calcinar a 500°C por 2 h.
 - Dejar enfriar en desecador y pesar.
 - Expresar el porcentaje por 100 mL de muestra.

d.	Extracto Total
-----------	-----------------------

Análisis cuyo residuo esta constituido por glicerina, taninos, bitartrato de potasio, colorantes y pequeñas cantidades de azúcares; a veces se aplica también en los aguardientes.

- Tomar 25 mL de vino con una pipeta volumétrica.
- Colocar luego en estufa a 70°C secando hasta que se obtenga peso constante.
- Enfriar en desecador antes de pesar.
- La diferencia de peso, da el peso del extracto en la alícuota tomada. Expresar el porcentaje por 100 mL de muestra.

e.	Alcalinidad de las cenizas
-----------	-----------------------------------

La alcalinidad de las cenizas es debida principalmente a los carbonatos formados durante la calcinación de las sales orgánicas del vino, especialmente al bitartrato de potasio.

- Pasar las cenizas a un vaso de precipitados con ayuda de agua caliente.
- Agregar 2 gotas de solución de metil naranja o metil púrpura y 50 mL de H₂SO₄ 0.1N.
 - Hervir suavemente por 5 min., agitando con frecuencia.
 - Dejar enfriar y titular el exceso de ácido con solución 0.1N de NaOH.
- Expresar la alcalinidad en mL de álcali 1N por 100 mL de vino. Puede expresarse también como carbonato de potasio o como mL de H₂SO₄ 0.1N requeridos para neutralizar las cenizas de 100 mL de muestra.

f.	Acidez Total
-----------	---------------------

Esta constituida por ácidos orgánicos fijos (tartárico, málico, láctico y succínico) y ácidos volátiles (acético, butírico, fórmico y propiónico). Es ácido carbónico se debe eliminar antes de efectuar la valoración de la acidez total.

- Pasar unos 50 mL de agua recién hervida y neutralizada a un erlenmeyer de 125 mL.
- Agregar 10 mL de vino blanco o 5 mL de vino oscuro.
- Titular en caliente con solución de NaOH 0.05N en presencia de fenofaleína. Anotar el volumen gastado.
- Calentar la solución de vino hasta cerca del punto de ebullición. Si hay ácido carbónico proveniente del vino, desaparece el color rosado.
 - Continuar la titulación hasta obtener el punto final verdadero.
 - Expresar los resultados en porcentaje de ácido tartárico o láctico.

g.	Acidez Fija y acidez volátil
-----------	-------------------------------------

- Medir 50 mL de vino y pasarlos a un vaso de precipitados, evaporar hasta sequedad en el baño maría.
- Agregar unos 20 mL de agua destilada neutralizada y volver a evaporar.
- Repetir 2 veces más la operación para asegurarse de la eliminación completa de los ácidos volátiles.
- Disolver el residuo en unos 100 mL de agua destilada.
- Titular la acidez fija con solución de NaOH 0.05N en presencia de fenofaleína. Anotar el volumen gastado.
- Expresar los resultados en porcentaje de ácido tartárico o láctico, según sea el caso y obtener por diferencia la acidez volátil. Por cálculo expresar esta en ácido acético.

PREGUNTAS

- a. Qué interpretación tienen cada uno de los análisis realizados sobre la composición y calidad del vino analizado?
- b. En qué se diferencia un mosto de un vino, y por qué es interesante conocer su composición?
- c. Cómo se clasifican los vinos?
- d.Cuál es la diferencia entre un vino seco, semiseco y dulce?

-
- e. Qué adulteraciones pueden encontrarse en vinos?
- f. Qué bebidas se clasifican como alcohólicas?, cómo se obtienen?
- g. Qué bebidas se clasifican como no alcohólicas? definir las y dar por lo menos 5 ejemplos.

BIBLIOGRAFIA

- **AMERINE, M.A. Y OUGH, C.S.** *Análisis de Vinos y Mostos*. España: Editorial Acribia. 1976. 158 p.
- **Association of Official Analytical Chemists:** *Official Methods of Analysis of A.O.A.C.* 14th Ed. U.S.A.: Arlinton, 1984.
- **BERNAL DE RAMÍREZ, I.** *Análisis de Alimentos*. Santa fe de Bogotá: Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 1993. 313 p.
- **FISCHER H. J. y HART, F. L.** *Análisis Moderno de los Alimentos*. España: Editorial Acribia, 1971. 619 p.
- **GUZMÁN, C.** *Manual de Laboratorio para el curso de Química de Alimentos*. Santiago de Cali: Sección de Alimentos, Facultad de Ingeniería, Universidad del Valle, 1987. 112 p.
- **KIRK, R.S., SAWYER, R. y EGAN, H.** *Composición y Análisis de Alimentos de Pearson*. 2 ed. México: Compañía Editorial Continental S.A. de C.V, 1996. 777p.
- **LEES R.** *Manual de Análisis de Alimentos*. España: Editorial Acribia, 1969. 288 p.

ANÁLISIS DE BEBIDAS ESTIMULANTES (CAFÉ, TE O BEBIDAS DE COLA Y CHOCOLATE)

OBJETIVOS

- Cuantificar el contenido de cafeína en una bebida estimulante (café).
- Cuantificar en contenido de plomo en el chocolate.

INTRODUCCIÓN

Café se denomina el alimento consumido frecuentemente como bebida que se obtiene por infusión a partir de los frutos y semillas del cafeto (*Coffea*), que contiene una sustancia estimulante llamada cafeína.

El cultivo del café está muy extendido en numerosos países tropicales, en especial Brasil, que concentra poco más de un tercio de la producción mundial. El café es uno de los principales productos de origen agrícola comercializados en los mercados internacionales, y a menudo supone una gran contribución a las exportaciones de las regiones productoras.

El **chocolate** es el alimento que se obtiene mezclando azúcar con dos productos derivados de la manipulación de las semillas del cacao: una materia sólida (*la pasta de cacao*) y una materia grasa (*la manteca de cacao*). A partir de esta combinación básica, se elaboran los distintos tipos de chocolate, que dependen de la proporción entre estos elementos y de su mezcla o no con otros productos tales como leche y frutos secos.

MATERIALES

Material de vidrio y elementos de laboratorio	Cantidad
Beaker 100 mL	2

Capsula de porcelana	2
Crisol Gooch	1
Embudo	2
Embudo de separación	1
Equipo para filtrar	1
Espátula	2
Matraz aforado de 100 mL	2
Matraz aforado de 50 mL	6
Pipeta graduada de 10 mL	2
Pipeta volumétrica 5 mL	1
Probeta de 50 mL	1
Varilla de vidrio	1
Vidrio reloj	2

REACTIVOS

Nombre	Código de color	Riesgos específicos	Consejos de prudencia
Acido nítrico concentrado	Blanco	35	23.2-26-36/37/39
Cafeína			
H ₃ PO ₄	Blanco	34	36/37/39/45
KMnO ₄ 1,5%	Amarillo	8-22-50/53	60-61
KSCN			
Na ₂ SO ₃	Verde	31-36/37	26
NaOH	Blanco //	35	26-37/39-45

PROCEDIMIENTO

a.	Humedad
-----------	----------------

Tomar el chocolate en barra y rallarlo; el café utilizarlo en polco o granulado.

- Pesar 2 g de café y chocolate en dos capsulas de porcelana previamente taradas.
- Calentar en una estufa a 105° C durante 90 minutos a presión atmosférica.
- Enfriar en desecador y pesar.

CALCULO

$$\% \text{ de humedad} = \text{perdida de peso} * 100 / \text{peso muestra}$$

b.	Cenizas
-----------	----------------

- Tomar el chocolate en barra y rallarlo con un cuchillo.
- Pesar 5 g del chocolate rallado en un crisol previamente tarado.
- Colocar en la mufla y calcinar a 550° C durante dos horas.
- Transferir el crisol directamente al desecador, dejar enfriar y pesar.
- Guardarlas para posterior análisis.

CALCULO

$$\% \text{ de cenizas} = \text{perdida de peso} * 100 / \text{peso muestra.}$$

c.	Tratamiento de las cenizas
-----------	-----------------------------------

- Agregar 1 mL de ácido nítrico concentrado al crisol de las cenizas.
- Calentar un poco para diluir las cenizas.
- Filtrar la solución ácida recibiendo el filtrado en un frasco volumétrico de 100 mL, lavar el crisol y el embudo recibiendo los filtrados en el mismo frasco. Llevar al enrase con agua destilada.

d.	Determinación de plomo por AA
-----------	--------------------------------------

El chocolate tiene una de las concentraciones más altas de plomo entre los productos que componen la típica dieta occidental con el potencial de causar intoxicación leve. Estudios recientes han mostrado que si bien los granos absorben poco el plomo, este tiende a unirse a la corteza del cacao y la contaminación puede ocurrir durante el proceso de fabricación. Una publicación reciente encontró cantidades significantes de plomo en el chocolate. En un estudio USDA en 2004, los niveles medios de plomo en muestras testeadas variaron desde 0.0010 a 0.0965 µg de plomo por gramo de chocolate pero otro estudio de un equipo de investigación suizo en 2002 encontró que algunos chocolates contenían hasta 0.769 µg por gramo, cerca a los límites internacionales (voluntarios) estándar para plomo en polvo de cacao o granos que es 1 µg de plomo por gramo. En el 2006, la FDA (administración de drogas y alimentos, la autoridad estadounidense que regula estos productos) bajó por un quinto la cantidad de plomo permitido en caramelos pero el cumplimiento es solo voluntario. Mientras que estudios muestran que el plomo consumido en el chocolate puede no ser absorbido por el cuerpo humano, no hay ningún umbral para el efecto de plomo en el funcionamiento cerebral de los niños e incluso pequeñas cantidades de plomo pueden causar déficit en el desarrollo neurológico

- Llevar la solución anterior de las cenizas al equipo de absorción atómica para medir el calcio.

e.	Determinación de cafeína en el café
-----------	--

La **cafeína** es un alcaloide del grupo de las xantinas, sólido cristalino, blanco y de sabor amargo, que actúa como una droga psicoactiva y estimulante.

La cafeína puede encontrarse en cantidades variables en las semillas, las hojas y los frutos de algunas plantas, donde actúa como un pesticida natural que paraliza y mata ciertos insectos que se alimentan de las plantas. Es consumida por los humanos principalmente en infusiones extraídas del fruto de la planta del café y de las hojas del arbusto del té, así como también en varias bebidas y alimentos que contienen productos derivados de la nuez de cola.

En los humanos, la cafeína es un estimulante del sistema nervioso central que produce un efecto temporáneo de restauración del nivel de alerta y eliminación de la somnolencia. Las bebidas que contienen cafeína, tales como el café, el té, algunas bebidas no alcohólicas (especialmente los refrescos de Cola) y las bebidas energéticas gozan una gran popularidad. La cafeína es la sustancia psicoactiva más ampliamente consumida en el mundo.

La cafeína tiene propiedades diuréticas, al menos cuando se administra en dosis suficientes a individuos que no tienen tolerancia a ella. Los consumidores regulares, sin embargo, desarrollan

una fuerte tolerancia a este efecto, y los estudios generalmente han fallado en darle respaldo a la creencia general de que el consumo regular de bebidas cafeinadas contribuye significativamente a la deshidratación.

- Pesar 1 g de café y diluirlo en un poco de agua llevando a ebullición por 15 minutos.
- Filtrar al vacío.
- Llevar a matraz de 100 mL y completar el volumen con agua destilada.
- Tomar 5 mL de la solución anterior y llevarlos a un embudo de separación.
- Adicionar 2,5 mL de KMnO_4 1.5% y mezclar.
- Dejar en reposo por 5 minutos.
- Adicionar 5 mL de la solución reductora y mezclar.
- Adicionar 0,5 mL de la solución de H_3PO_4 y mezclar.
- Adicionar 0,5 mL de la solución de NaOH y mezclar.
- Extraer con 20 mL de cloroformo y agitar por 1 minuto.
- Esperar a que se separen las dos fases.
- Pasar la capa de cloroformo por papel filtro y recibir en matraz de 50 mL.
- Adicionar otros 20 mL de cloroformo y pasarlos al matraz.
- Aforar con cloroformo.
- Medir absorbancia a 276,5 nm.

Curva: Tomar la determinada cantidad de la solución estándar de cafeína para los patrones según la concentración deseada y llevarlos a matraces de 50 mL completando el volumen con cloroformo. Utilizar cloroformo como blanco.

Preparación de reactivos

- Solución reductora: Pesar 2,5 g de Na_2SO_3 y 2,5 g de KSCN , llevar a matraz de 50 mL.
- Solución diluida de H_3PO_4 : Tomar 15 mL de H_3PO_4 y llevarlos a 100 mL.
- Solución de NaOH : Pesar 5 g de NaOH y llevarlos a 20 mL.
- Solución estándar de cafeína: Pesar 0,05 g de cafeína y llevarlos a 200 mL con cloroformo. (0,25 mg/mL).

Composición proximal del café y el chocolate:

Tipo de alimento	Humedad (g)	Proteína (g)	Lípidos Soxlet (g)	Cenizas (g)
Café	1,2	14,2	12,3	3,9
Café descafeinado	1,7	13,4		4,3

Chocolate amargo	1,0	11,3	53,0	1.8
Chocolate sin azúcar	0,0		52,9	3,6

PREGUNTAS

- a. Cual es la estructura de la cafeína?
- b. Que efectos ocasionan las bebidas estimulantes en organismo humano?

BIBLIOGRAFIA

- AOAC Methods (1980). Análisis de cafeína por el método espectrofotométrico.

6. RECOMENDACIONES

ANTES DE ENTAR AL LABORATORIO

- Al momento de realizar la práctica se hace necesario conocer con anterioridad el procedimiento a seguir en el laboratorio para el desarrollo de las pruebas, con el fin de aclarar dudas, realizar las pruebas conociendo su fundamento y finalidad, además de conocer cuales son los valores esperados.
- Esterilizar adecuadamente los tubos de ensayo y pipetas para las pruebas de azul de metileno.
- Recuerde llevar elementos personales para el laboratorio como bata, guantes, gafas de seguridad, candela, un trapo para limpiar, marcador para rotular, pipeteador.

DURANTE EL LABORATORIO

- El orden de las pruebas en cada práctica se puede seguir como indica el manual para hacer un uso eficaz del tiempo disponible para los análisis.
- No se debe ingerir el analito que no se utilizo en los análisis ni dentro ni fuera del laboratorio por lo que se recomienda llevar la cantidad necesaria para elaborar la prueba y luego desechar la que no se utilizo y que posiblemente puede haberse contaminado en el laboratorio.
- Tener en cuenta las normas de seguridad en el laboratorio, las cuales se pueden recordar al principio del manual o en los carteles dentro de los laboratorios
- Al momento de pesar las muestras, se debe tener en cuenta no mover el mesón donde se encuentra la balanza, si por algún motivo la muestra se derrama, se debe limpiar inmediatamente el área.
- Se puede emplear una sola pipeta que este ubicado al lado derecho de cada reactivo ubicado en las cabinas para todos los estudiantes.
- Para establecer un orden en el laboratorio es recomendable que el monitor, deje el material en cada mesón, y que los estudiantes al momento de necesitar cualquier elemento se lo pidan primero al monitor, para no congestionar el almacén.
- Calibrar el pH-metro antes de cada practica, si se hace necesario se debe consultar el manual de calibración, y utilizar soluciones buffer en buen estado.
- No meter a la estufa a secar material volumétrico.

DESPUES DEL LABORATORIO

- Las pocetas y mesones deben quedar en perfecto orden y limpieza, cada grupo se hace responsable por su área de trabajo.

CON RESPECTO A LOS CRISOLES Y CAPSULAS

- No tocar los crisoles y capsulas con las manos, ya que se puede transmitir la grasa de las manos y dar un peso erróneo.
- Tener en cuenta que los crisoles y capsulas llevan un proceso anterior de calentamiento para eliminar la humedad y residuos.
- Tener en cuenta que algunos grupos alimenticios tienen diferente tiempo de calcinación.
- No meter las capsulas y crisoles muy calientes al desecador ya que se puede levantar la tapa del mismo.

7. CONCLUSIONES

- A partir de la recolección bibliografía, normas técnicas colombianas, legislación sobre alimentos en Colombia y otros documentos se conoció la importancia y enfoque para los análisis y los grupos de alimentos de mayor impacto en la industria alimentaria.
- Al efectuar los ensayos en el laboratorio de las pruebas propuestas para cada grupo de alimentos, se fijaron las cantidades de reactivos justamente necesarias para las pruebas, además del material de vidrio.
- Se Implementaron algunas de las técnicas de análisis instrumental modernas, tales como Absorción Atómica, Ultravioleta Visible, Equipo de Nitrógeno y de Grasas en el análisis de los alimentos, para dar un mayor aprovechamiento de los recursos de la facultad para el aprendizaje de los mas recientes métodos de análisis.
- Se estructuro el contenido del manual de laboratorio especificando el manejo de datos, composición e interpretación frente a la legislación vigente, y el manejo frente a los reactivos.
- Se actualizo el Manual de Laboratorio de Análisis de Alimentos del Programa de Tecnología Química de la Universidad Tecnológica de Pereira.

BIBLIOGRAFIA

- Artículo tomado de Internet:

<http://es.wikipedia.org/wiki/Alimentaci%C3%B3n> (Consulta Diciembre 15 de 2009)

- Inés Bernal de Ramírez. Análisis de Alimentos. Tercera Edición. Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y naturales. Colección julio Carrizosa Valenzuela No. 2
- Doctor Luis Enrique Gaviria Salazar y Doctor Carlos Eduardo Calderón Gómez. Manual de Métodos Analíticos para el Control de Calidad en La Industria Alimentaria. Instituto Colombiano de Normas Técnicas
- Ministerio de Protección Social Decreto 3075 de 1997
- Ministerio de la Protección Social Decreto 1500 de 2007
- Ministerio de Salud Resolución numero 19304 de 1985
- Ministerio de Salud Publica Decreto 1944 de 1196
- Ministerio de Protección Social Resolución 0002546
- Manual de Carnes PANREAC QUIMICA, S.A.
- Manual de Cereales, derivados de Cereales y Cerveza PANREAC QUIMICA, S.A.
- Manual de Leches y productos Lácteos PANREAC QUIMICA, S.A.

ANEXOS

- **ANEXO A** IDENTIFICACION DE NEUTRALIZANTES EN LECHE 21
- **ANEXO B** ANALISIS DE DICROMATO DE POTASIO EN LECHE 22
- **ANEXO C** PRESENCIA DE PEROXIDO DE HIDROGENO EN LECHE 23
- **ANEXO D** DETERMINACION DE PROTEINA EN LECHE (METODO DEL FORMOL) 24
- **ANEXO E** DETERMINACION DE FOSFORO DE PASTAS ALIMENTICIAS 25
- **ANEXO F** DETERMINACION DE NITRATOS EN DERIVADOS CARNICOS 27
- **ANEXO G** DETERMINACION DE CAFEINA EN CAFÉ INSTANTANEO 29
- **ANEXO H** DETERMINACION DE VITAMINA C EN JUGO DE NARANJA 31

ANEXO A

IDENTIFICACION DE NEUTRALIZANTES EN LECHE (CUALITATIVO)

Para este ensayo se utilizo LECHE (UHT) LARGA VIDA COLANTA adicionada con vitaminas A y D3. Contenido neto 200 mL. Proteínas 6 g.

Se realizaron varios ensayos, adicionando intencionalmente el neutralizante a la muestra a analizar.

Escogimos NaOH como neutralizante y ensayamos con varias concentraciones, siendo la mejor NaOH al 10% porque el color era mas intenso y se podía apreciar mejor.

Ensayo # 1:

Neutralizante	Blanco	Muestra	Alizarina en etanol al 0.05 %	Resultado
NaOH 1%	-----	1 gota	Se adicionan 3 mL al blanco y a la muestra	No se observo ningún cambio
NaOH 1%	-----	1 gota	Se adicionan 3 mL al blanco y a la muestra	No se observo ningún cambio
NaOH 1%	-----	1 gota	Se adicionan 3 mL al blanco y a la muestra	No se observo ningún cambio

Ensayo # 2:

Neutralizante	Blanco	Muestra	Alizarina en etanol al 0.05 %	Resultado
NaOH 10%	-----	1 gota	Se adicionan 3 mL al blanco y a la muestra	Se observa un color rojo violeta
NaOH 10%	-----	1 gota	Se adicionan 3 mL al blanco y a la muestra	Se observa un color rojo violeta
NaOH 10%	-----	1 gota	Se adicionan 3 mL al blanco y a la muestra	Se observa un color rojo violeta

Escogimos el NaOH al 10% porque al adicionar 1 gota la aparición del color rojo violeta se observaba inmediatamente; lo cual no sucedió con el NaOH al 1%, ya que había que adicionar varias gotas para que el color se observara y sin embargo éste era muy leve y formaba precipitado.

ANEXO B

ANALISIS DE DICROMATO DE POTASIO EN LECHE (CUALITATIVO)

Para este ensayo se utilizo LECHE (UHT) LARGA VIDA COLANTA adicionada con vitaminas A y D3. Contenido neto 200 mL. Proteínas 6 g.

Se realizaron varios ensayos, adicionando intencionalmente el dicromato de potasio a la muestra a analizar.

Ensayo # 1:

Reactivo	Blanco	Muestra	Nitrato de plata al 1%	Resultado
Dicromato de potasio al 1%	-----	1 gota	Se adicionan 2 mL al blanco y a la muestra	No se observo ningún cambio
Dicromato de potasio al 1%	-----	1 gota	Se adicionan 2 mL al blanco y a la muestra	No se observo ningún cambio
Dicromato de potasio al 1%	-----	1 gota	Se adicionan 2 mL al blanco y a la muestra	No se observo ningún cambio

Ensayo # 2:

Reactivo	Blanco	Muestra	Nitrato de plata al 1%	Resultado
Dicromato de potasio al 10%	-----	1 gota	Se adicionan 2 mL al blanco y a la muestra	Se observa un color amarillo naranja
Dicromato de potasio al 10%	-----	1 gota	Se adicionan 2 mL al blanco y a la muestra	Se observa un color amarillo naranja
Dicromato de potasio al 10%	-----	1 gota	Se adicionan 2 mL al blanco y a la muestra	Se observa un color amarillo naranja

Escogimos el dicromato de potasio al 10% porque al adicionar 1 gota la aparición del color amarillo naranja se observaba inmediatamente; lo cual no sucedió con el dicromato de potasio al 1%, ya que había que adicionar varias gotas para que el color se observara y sin embargo éste era muy leve.

ANEXO C

PRESENCIA DE PEROXIDO DE HIDROGENO EN LECHE (CUALITATIVO)

Para este ensayo se utilizo LECHE (UHT) LARGA VIDA COLANTA adicionada con vitaminas A y D3. Contenido neto 200 mL. Proteínas 6 g.

Se realizaron varios ensayos, adicionando intencionalmente el peroxido de hidrogeno a la muestra a analizar.

Ensayo # 1:

Reactivo	Blanco	Muestra	Solución de guayacol al 1%	Resultado
Peroxido de hidrogeno al 10%	-----	1 gota	Se adicionan 2 mL al blanco y a la muestra	No se observo ningún cambio
Peroxido de hidrogeno al 10%	-----	1 gota	Se adicionan 2 mL al blanco y a la muestra	No se observo ningún cambio
Peroxido de hidrogeno al 10%	-----	1 gota	Se adicionan 2 mL al blanco y a la muestra	No se observo ningún cambio

Ensayo # 2:

Reactivo	Blanco	Muestra	Solución de guayacol al 1%	Resultado
Peroxido de hidrogeno al 12%	-----	1 gota	Se adicionan 2 mL al blanco y a la muestra	Se observa un color salmón
Peroxido de hidrogeno al 12%	-----	1 gota	Se adicionan 2 mL al blanco y a la muestra	Se observa un color salmón
Peroxido de hidrogeno al 12%	-----	1 gota	Se adicionan 2 mL al blanco y a la muestra	Se observa un color salmón

Escogimos el peroxido de hidrogeno al 12% porque al adicionar 1 gota la aparición del color amarillo naranja se observaba inmediatamente; lo cual no sucedió con el peroxido de hidrogeno al 10%, ya que había que adicionar varias gotas para que el color se observara y sin embargo éste era muy leve.

ANEXO D

DETERMINACION DE PROTEINA EN LECHE (METODO DEL FORMOL)

Para este ensayo se utilizo LECHE ENTERA PASTEURIZADA adicionada con vitaminas A y D3. Contenido neto 200 mL. Proteínas 6 g.

E: Ensayo para la dosificación de proteínas

Ensayo	mL de NaOH 0.14 N después de añadir los mL de formol
E1	3.2 mL
E2	2.9 mL
E3	3.0 mL

El contenido de proteínas en 100 mL de leche, esta dado directamente por el número de mL de soda necesario para llevar la leche al tinte rosa después de añadir el formol.

Resultado: 3.03 g de proteínas en 100 mL de leche.

El resultado obtenido esta dentro de los parámetros establecidos para la proteína en leche según el Decreto Numero 616 de 2006, el cual reporta que la leche líquida proveniente de los animales bovinos debe tener mínimo 2,9 g en 100 mL de leche.

ANEXO E

DETERMINACION DE FOSFORO EN PASTAS ALIMENTICIAS (METODO FOTOMETRICO)

Para este análisis se utilizo ESPAGUETTI DORIA adicionada con huevo.

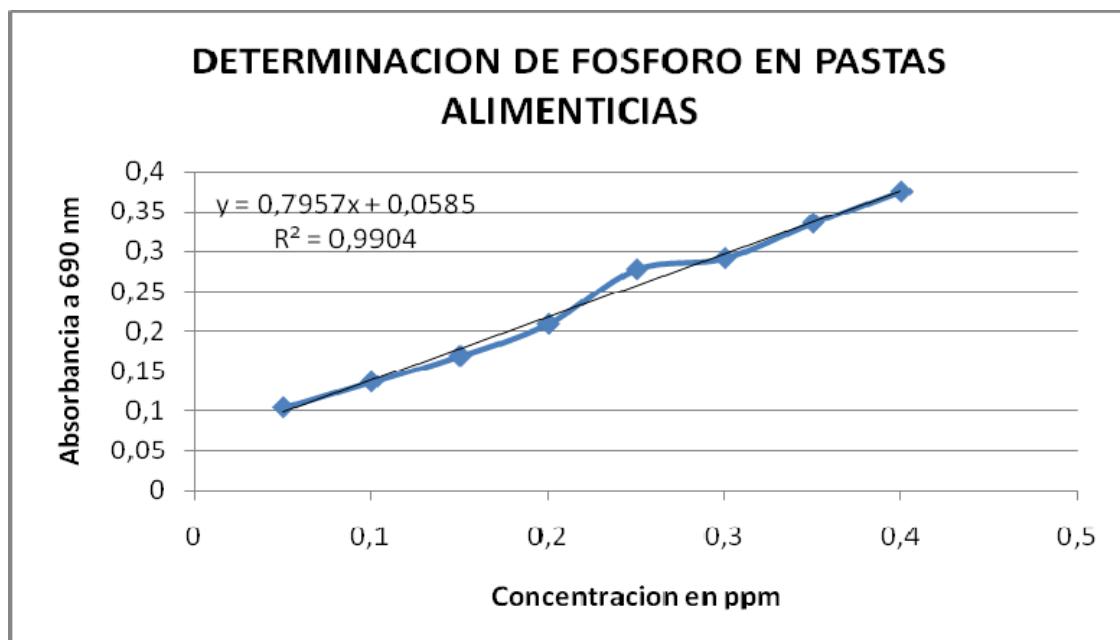
PATRONES ABSORBANCIA A 690 nm	CONCENTRACION en ppm
0.104	0.05
0.136	0.10
0.169	0.15
0.209	0.20
0.278	0.25
0.292	0.30
0.336	0.35
0.376	0.40

Muestra 1 → 0.365

Muestra 2 → 0.366

Muestra 3 → 0.365

Promedio → 0.3603



Ecuación → $A = 0.7957 C + 0.0585$
 $0.3603 = 0.7957 C + 0.0585$
 $C = 0.3793 \text{ ppm}$

Resultado: 0.07586 g/Kg

Límite de detección = 0,01602297 mg/L
 Límite de cuantificación = 0,16022966 mg/L

La gráfica arroja un índice de correlación de 0,9904 indicando que las dos variables tienen un buen comportamiento lineal.

El método es confiable y sensible a concentraciones muy bajas como se puede apreciar en el valor del límite de detección, el cual es la concentración mínima de sustancia que puede detectar el método con confiabilidad.

El resultado obtenido está dentro del límite permitido de huevo en pastas alimenticias, según la Resolución Número 4393 de 1991 la cantidad que se le puede adicionar a las pastas es de 150 g/Kg y se denominan pastas alimenticias al huevo.

ANEXO F

DETERMINACION DE NITRATOS EN DERIVADOS CARNICOS (METODO FOTOMETRICO)

Para este análisis se utilizo SALCHICHA RICA.

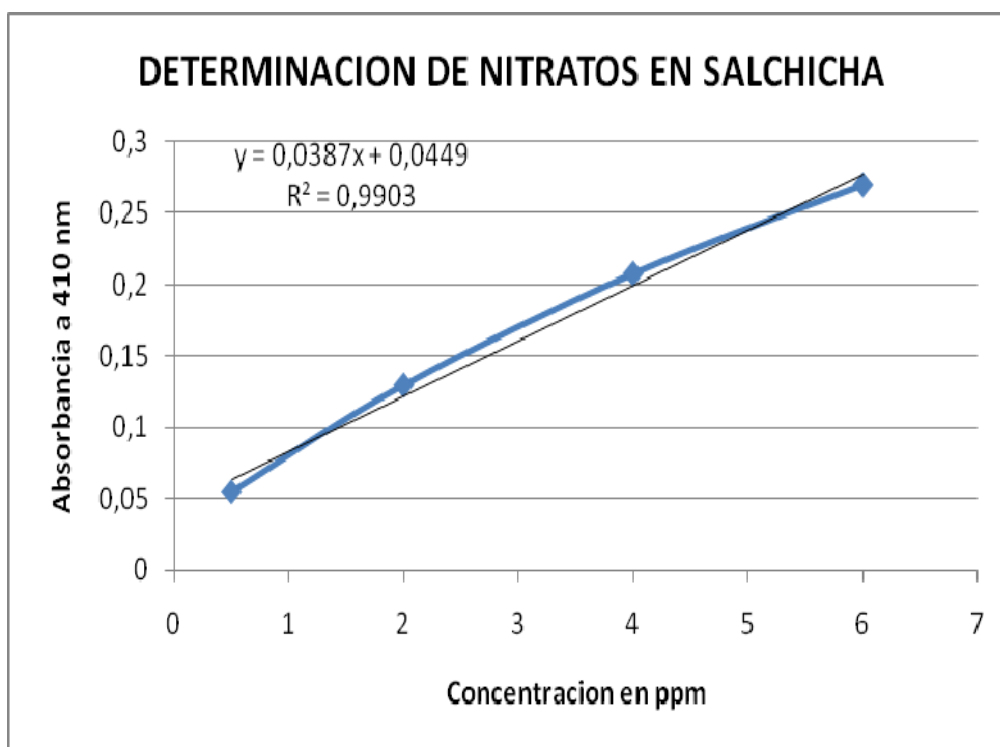
PATRONES ABSORBANCIA	CONCENTRACION en ppm
0.0557	0.5
0.130	2
0.208	4
0.270	6

Muestra 1 → 0.0955

Muestra 2 → 0.0945

Muestra 3 → 0.0945

Promedio → 0.0948



Ecuación → $A = 0.0387 C + 0.0449$
 $0.0948 = 0.0484 C + 0.0078$
 $C = 1.2894 \text{ ppm}$

Resultado: 128.94 mg/Kg

Limite de detección = 0.8695286 mg/L

Limite de cuantificación = 8.695286 mg/L

La grafica arrojo un índice de correlación de 0,9903 indicando que las dos variables tienen un comportamiento lineal.

El método es confiable y sensible a concentraciones muy bajas como se puede apreciar en el valor del límite de detección, el cual es la concentración mínima de sustancia que puede detectar el método con confiabilidad.

El límite máximo de adición para nitratos en derivados cárnicos es 250 mg/Kg.

ANEXO G

DETERMINACION DE CAFEINA EN CAFÉ INSTANTANEO (METODO FOTOMETRICO)

Para este análisis se utilizo CAFÉ INSTANTANEO NESCAFE.

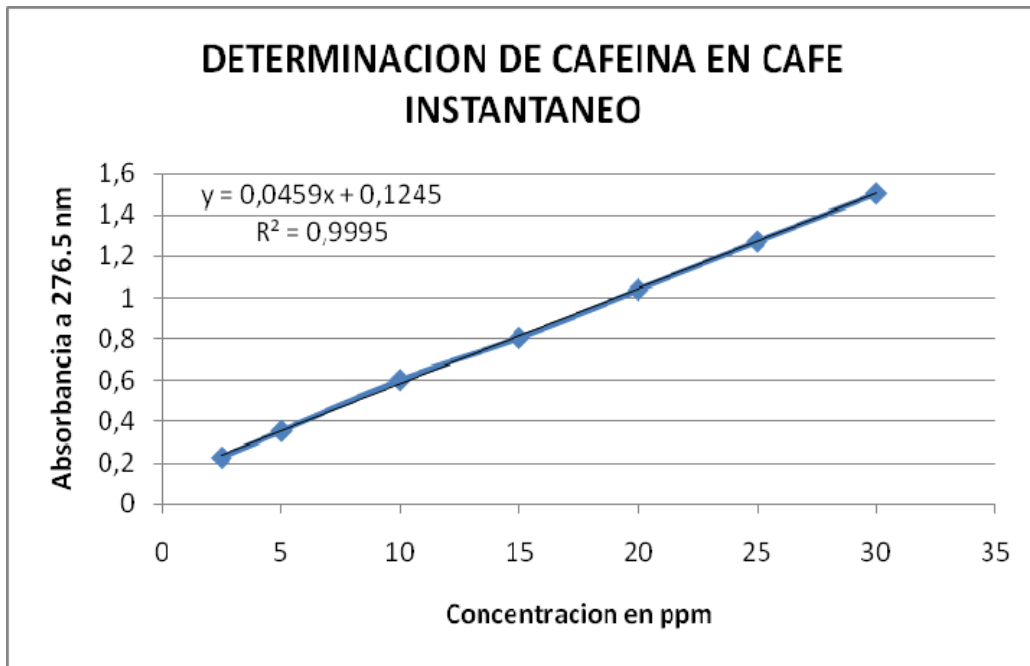
PATRONES ABSORBANCIA	CONCENTRACION EN ppm
0.229	2.5
0.355	5
0.604	10
0.805	15
1.039	20
1.2721	25
1.5016	30

Muestra 1 → 1.455

Muestra 2 → 1.445

Muestra 3 → 1.455

Promedio → 1.452



Ecuación → $A = 0.0459 C + 0.1245$
 $1.452 = 0.0459 C + 0.1245$
 $C = 28.921 \text{ ppm}$

Resultado: 2.8921%

Limite de detección = 0,6456318 mg/L
 Limite de cuantificación = 6,456318 mg/L

La grafica arrojo un índice de correlación de 0,9995 indicando que las dos variables tienen un comportamiento lineal.

El método es confiable y sensible a concentraciones muy bajas como se puede apreciar en el valor del límite de detección, el cual es la concentración mínima de sustancia que puede detectar el método con confiabilidad.

El café instantáneo contiene cafeína en una cantidad superior al 2.5%.

ANEXO H

DETERMINACION DE VITAMINA C EN JUGO DE NARANJA (METODO FOTOMETRICO)

Para este análisis se utilizó JUGO DE NARANJA NATURAL.

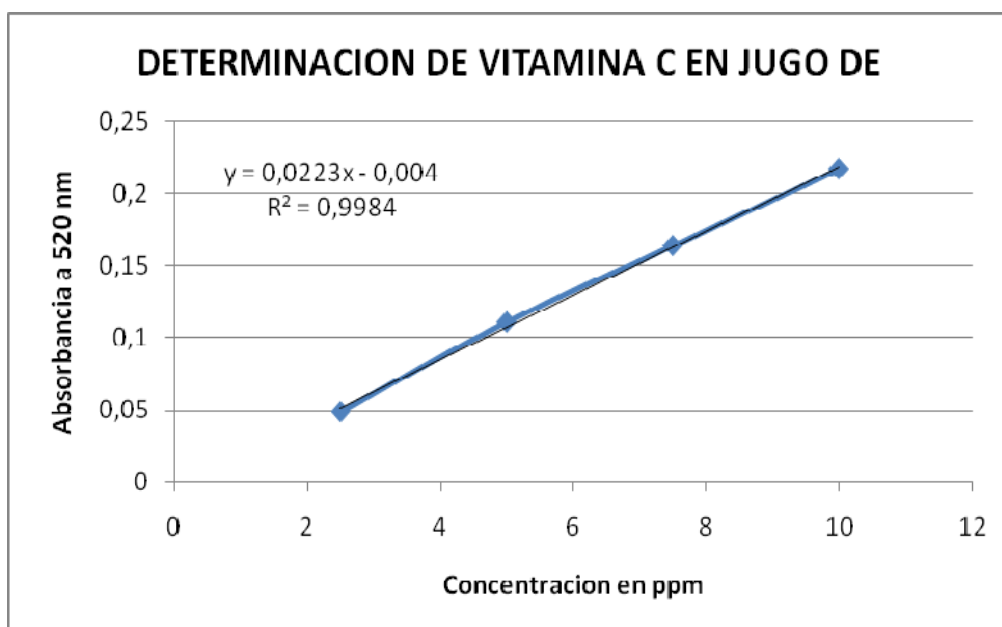
PATRONES ABSORBANCIA	CONCENTRACION EN ppm
0.049	2.5
0.111	5
0.164	7.5
0.217	10

Muestra 1 → 0.051

Muestra 2 → 0.050

Muestra 3 → 0.051

Promedio → 0.0506



Ecuación → $A = 0.0223 C - 0.004$
 $0.0506 = 0.0223 C - 0.004$
 $C = 2.4484 \text{ ppm}$

Resultado: 24.484 mg/100 mL

Limite de detección = 0,18582925 mg/L
Limite de cuantificación = 1,85829252 mg/L

La grafica arrojó un índice de correlación de 0,9984 indicando que las dos variables tienen un comportamiento lineal.

El método es confiable y sensible a concentraciones muy bajas como se puede apreciar en el valor del límite de detección, el cual es la concentración mínima de sustancia que puede detectar el método con confiabilidad.

El jugo de naranja contiene 60 mg/100mL de vitamina C.