

Licenciatura en Nutrición y Ciencia de los Alimentos



## MANUAL DE PRÁCTICAS DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS

Elaborado por:

**Mtra. Susana Hernández Pérez**

Responsable del Laboratorio:

**Dra. Elsa Patricia Hernández Ojeda**

Veracruz, Veracruz

Julio, 2024

## Tabla de contenido

<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>OBJETIVO .....</b>	<b>2</b>
<b>SUSTENTO TEÓRICO.....</b>	<b>2</b>
<b>Práctica 1. Análisis microbiológico de aguas .....</b>	<b>3</b>
<b>Práctica 2. Análisis proximal .....</b>	<b>6</b>
<i>Práctica 2.1. Determinación de humedad.....</i>	<i>7</i>
<i>Práctica 2.2. Determinación de grasa .....</i>	<i>10</i>
<i>Práctica 2.3. Determinación de proteína por Kendajhl .....</i>	<i>12</i>
<i>Práctica 2.4. Determinación de cenizas .....</i>	<i>17</i>
<i>Práctica 2.5. Determinación de fibra total.....</i>	<i>19</i>
<i>Práctica 2.6. Determinación de hidratos de carbono.....</i>	<i>21</i>
<b>Práctica 3. Determinación de nitritos en productos cárnicos .....</b>	<b>21</b>
<b>Práctica 4. Determinación de pH en carne .....</b>	<b>24</b>
<b>Práctica 5. Adulteración de cárnicos por almidón .....</b>	<b>26</b>
<b>Práctica 6. Identificación de almidón resistente.....</b>	<b>28</b>
<b>Práctica 7. Evaluación de productos lácteos.....</b>	<b>29</b>
<i>Práctica 7.1. Determinación de acidez de la leche.....</i>	<i>30</i>
<i>Práctica 7.2. Determinación de la densidad de la leche.....</i>	<i>32</i>
<i>Practica 7.3 Análisis de productos lacteos .....</i>	<i>34</i>
<b>Práctica 8. Análisis de frutos .....</b>	<b>36</b>
<i>Práctica 8.1. Determinación de la madurez de frutas mediante °Brix .....</i>	<i>38</i>
<i>Practica 8.2. Determinación de la acidez titulable.....</i>	<i>40</i>
<b>Práctica 9. Extracción y cuantificación de compuestos antioxidantes .....</b>	<b>43</b>

## INTRODUCCIÓN

El análisis de los alimentos es una disciplina muy amplia que se basa en los principios de la Fisicoquímica, Química Orgánica, Biología y Química Analítica. Los avances en estas ciencias realizados en los siglos XIX y XX, tuvieron un efecto importante en la comprensión de muchos aspectos de la ciencia y tecnología de alimentos, y han sido decisivos en el mejoramiento de la cantidad, calidad y disponibilidad del suministro de alimentos a nivel mundial.

El Análisis de Alimentos es la disciplina que se ocupa del desarrollo, uso y estudio de los procedimientos analíticos para evaluar las características de alimentos y sus componentes. Esta información es crítica para el entendimiento de los factores que determinan las propiedades de los alimentos, así como la habilidad para producir alimentos que sean consistentemente seguros, nutritivos y deseables para el consumidor. Existe un número considerable de técnicas analíticas para determinar una propiedad particular del alimento. De ahí la necesidad de seleccionar la más apropiada para la aplicación específica. La técnica seleccionada dependerá de la propiedad que se desea medir, del tipo de alimento a analizar y el propósito de llevar a cabo el análisis.

Las determinaciones que se realizan con más frecuencia para conocer la composición de los alimentos incluyen la determinación de humedad, cenizas, extracto etéreo (grasa cruda), proteína total, fibra y carbohidratos asimilables, en un protocolo conocido como Análisis Proximal. Asimismo, de acuerdo con el objetivo del análisis, resultan importantes las determinaciones relacionadas con la caracterización de algún grupo de nutrientes en particular, tal es el caso del análisis de carbohidratos, en el que se podría considerar la diferenciación de los que presentan poder reductor, del contenido total. En el mismo sentido, se podrían analizar las proteínas solubles o considerar la caracterización de los lípidos extraídos de un alimento.

## **OBJETIVO**

Identificar, describir y analizar los elementos más significativos que llevan a establecer la composición química, asociada a la cantidad de nutrimentos que posee, su calidad e inocuidad, así como, sustancias nocivas o potencialmente tóxicas, de tal manera que el educando pueda desarrollar, de acuerdo a las técnicas didácticas que se emplearán durante el curso, actitudes propositivas y habilidades que le permitan analizar e inferir hipótesis que expliquen no solo las reacciones de cambio y deterioro de alimentos sino también la aplicación de los conocimientos adquiridos en la resolución de problemas en el área de los alimentos y sobretodo que los impulsen en la búsqueda de nuevas fuentes de alimentación no convencionales.

## **SUSTENTO TEÓRICO**

La composición química de los alimentos constituye el punto de partida para su estudio, así como, la formulación de los mismos con propiedades cada vez más enfocadas en el mantenimiento óptimo del estado de salud, considerando procesos sustentables, sostenibles y de residuo cero.

El alumno relaciona la estructura molecular con la funcionalidad tanto tecnológica como el mantenimiento de la homeostasis, implementa métodos químicos cualitativos y cuantitativos mediante un aprendizaje autónomo, comprensión de un pensamiento lógico y crítico; comunicando ideas oralmente, reportes académicos por escrito basados en la metodología de la investigación en un marco de responsabilidad, disciplina y autocritica; con una actitud participativa de compromiso, responsabilidad, respeto y tolerancia; fomentando el trabajo individual y en equipo, para la solución de problemas y un desempeño profesional en las diversas áreas de operación, control, diseño e innovación tecnológica del campo profesional.

El presente manual fomenta la integración del conocimiento a través de la redacción de las prácticas, proyectos integradores por equipo, revisión, análisis, discusión de bitácoras y de los resultados experimentales obtenidos, habilidades de búsqueda, selección, consulta de fuentes de información documental, científica de forma presencial y/o electrónica, resolución de cuestionarios, imitación de modelos, realización de prácticas de laboratorio, elaboración de reportes escritos y de manuales o compendios.

## Práctica 1. Análisis microbiológico de aguas

### Fundamento teórico:

El agua potable no debe contener microorganismos patogénicos y debe estar libre de bacterias indicadoras de contaminación fecal. Como indicadores de contaminación fecal, las bacterias de referencia elegidas son las del grupo coliforme. El principal representante de ese grupo de bacterias es llamado *Escherichia coli*.

Ese grupo de bacterias ha sido elegido como indicador de contaminación del agua debido a los siguientes factores:

- Están presentes en el excremento de animales de sangre caliente, incluso de los seres humanos;
- Son de fácil detección y cuantificación por medio de técnicas sencillas y económicamente viables, en cualquier tipo de agua;
- Su concentración en el agua contaminada está directamente relacionada al gradiente de contaminación fecal;
- El tiempo de sobrevivencia en el agua es mayor que las bacterias patogénicas intestinales, por ser menos exigentes en términos nutricionales, además de ser incapaces de multiplicarse en ambiente acuático o multiplicarse menos que las bacterias entéricas; Son más resistentes a los agentes tensoactivos y agentes desinfectantes que a las bacterias patogénicas.

La Portaria no 2.914/2011 del Ministerio de Salud (Resolución de Potabilidad) establece que se verifique en el agua para consumo humano a fin de asegurar su potabilidad, la ausencia de coliformes totales y *Escherichia coli* y determinado el recuento de bacterias heterotróficas.

La misma Resolución establece que el recuento de bacterias heterotróficas deba ser llevado a cabo como uno de los parámetros para evaluar la integridad del sistema de distribución (reservatorio y red), y se debe hacerse en 20% de las muestras mensuales de coliformes totales en el sistema de distribución, recomendando que no debe exceder a 500 Unidades Formadoras de Colonias por 1 mililitro de muestra (500 UFC/ml).

Para la conformidad del patrón microbiológico de potabilidad es obligatoria la ausencia de coliformes totales en 100 ml de muestra en la salida del tratamiento. Sin embargo, de acuerdo al Anexo I de la Portaria MS no 2.914/2011, se admite la presencia de coliformes totales en tan solo 1 muestra mensual para sistemas o soluciones colectivas que abastecen menos de 20.000 habitantes y en 5% de las muestras mensuales en sistemas o soluciones colectivas que abastecen más de 20.000 habitantes. Se recalca que en ambas las situaciones no se permite la presencia de *Escherichia coli* en el agua para consumo humano.

**Objetivo:**

Proveer subsidio acerca de su potabilidad, es decir, ausencia de riesgo de ingestión de microorganismos causadores de enfermedades, mayormente provenientes de la contaminación por excrementos humanos y de otros animales de sangre caliente.

**Material y equipo:**

- Autoclave
- Incubadora
- Balanza analítica
- Baño maría
- Asa de platina
- Tubo de ensayo
- Medios de cultivo
  - Caldo lactosa
  - Caldo lactosa verde brillante al 2%
  - Caldo EC
  - Plate Count Agar
- Placas petri
- Lámpara de alcohol
- Campana de flujo laminar
- Alcohol al 70%
- Parrilla de calentamiento
- Frascos recolectores

**Desarrollo de la práctica:**

1. Preparar el medio de cultivo conforme a las especificaciones del fabricante.
2. Pasar la mezcla a un recipiente apto para esterilizar, teniendo cuidado de no cerrar al tope para evitar accidentes.
3. Esterilizar en autoclave a 121°C (1kg/cm<sup>2</sup> de presión) durante 15 minutos.
4. Dejar enfriar hasta que se pueda tomar y vaciar 20 mL aproximadamente en las placas petri en una zona esteril, ya sea en campana de flujo laminar o en una zona de calor, puede ser cerca de mecheros bunsen para evitar la contaminación del medio.

5. Dejar enfriar las placas petri y guardar en la incubadora a 36 °C por 48 h con el fin de evaluar si se contaminó en el proceso.
6. Al término no deben presentar crecimiento microbiano.

La recolección de muestra es uno de los pasos más importantes para la evaluación de la calidad del agua. Por lo tanto, es esencial que se lleve a cabo el muestreo con precaución y técnica para evitar todas las fuentes de posible contaminación.

Las muestras deben ser recolectadas en frascos de vidrio blanco, boca ancha, con tapón de vidrio esmerilado, bien ajustado, con capacidad de 125 ml, previamente esterilizados o bolsa de plástico estéril, desechable, conteniendo pastilla de tiosulfato de sodio.

Los frascos para la recolección de aguas cloradas deben recibir, antes de ser esterilizados, 0,1 ml (2 gotas) de bisulfato de sodio a 10%.

#### Procedimientos para recolección en casa

1. Lavar las manos con agua y jabón;
2. Limpiar el grifo del usuario con un trozo de algodón en alcohol, 70% y/o hipoclorito de sodio 100mg/l;
3. Abrir el grifo y dejar correr el agua durante 1 o 2 minutos;
4. Recolectar muestra de agua;
5. Llenar al menos 3/4 de su volumen;
6. Tapar el frasco, identificarlo, apuntando dirección, hora y nombre del colector, etc.
7. Marcar el frasco con el número de la muestra, correspondiente al punto de recolección;
8. Rellenar la ficha de identificación de la muestra de agua;
9. Poner el frasco de la muestra en la caja de poliestireno con hielo;
10. Lacrar, identificar y enviar la caja para el laboratorio.
11. El tiempo entre la recolección y la prueba no debe exceder a 24 horas.

**Nota:** Además de las casas, las muestras pueden ser recolectadas en hospitales, escuelas, grifos públicos y locales considerados vulnerables. En caso de utilización del hipoclorito de sodio para desinfección del grifo, se debe removerlo completamente antes de la recolección.

## Práctica 2. Análisis proximal

La valoración de la composición química de un alimento, en especial de sus macrocomponentes, es esencial como primera tarea para conocer el valor nutritivo de los alimentos. El procesado tecnológico puede hacer cambiar la composición de los alimentos y éste debe ser una información que los consumidores puedan obtener de modo claro en los etiquetados de los alimentos en el momento de su adquisición. El etiquetado nutricional tiene como fin que el consumidor conozca las cualidades alimenticias del producto, es decir, qué nutrientes tiene -proteínas, hidratos de carbono, etc.- y en qué cantidad. En general, se trata de una información opcional, ya que sólo están obligados a darla aquellos fabricantes que atribuyan al producto en su etiquetado propiedades nutritivas. Este sería el supuesto, por ejemplo, de los alimentos que se anuncian "bajo en colesterol" o "ricos en...". En los demás casos, por tanto, no es necesario que la marca incluya este etiquetado en sus productos, algo que, sin embargo, están haciendo ya muchos fabricantes. Y es de agradecer. No hay que olvidar que todo lo que contribuya a que el consumidor esté más informado al hacer sus compras y pueda, por tanto, elegir mejor, es bueno y máxime cuando estamos hablando de productos de primera necesidad como son los alimenticios.

La fundamentación de estas sesiones prácticas radica en el conocimiento de las técnicas más comunes utilizadas en la valoración de macronutrientes (y algunos micronutrientes) en los alimentos destinados al consumo humano.

### Objetivos

- Conocer los métodos utilizados para realizar la valoración de los macro y micronutrientes de un alimento.
- Aplicar los métodos analíticos para la determinación de la composición química de un alimento.
- Realizar un etiquetado nutricional con las aportaciones de nutrientes en la dieta.

## Práctica 2.1. Determinación de humedad

### Objetivo:

El alumno de forma analítica y responsable determina el porcentaje de humedad en las muestras de alimento seleccionadas por el método de secado en estufa y aprende a realizar los calculos respectivos.

### Material y equipo:

- 3 crisoles de porcelana o charolas de aluminio pequeñas
- 1 pinza para crisol
- 1 espátula
- 1 g de muestra
- Balanza analítica
- Estufa de secado
- Desecador (revisar que la silica se encuentra seca)

### Desarrollo de la práctica:

#### Crisoles a peso constante o charolas pequeñas

1. Marcar las charolas o los crisoles en la parte inferior con lápiz.
2. Pesarlos en la balanza analítica y anotar el peso.
3. Colocarlos por 2 h a 105 °C dentro de la estufa.
4. Sacarlos con las pinzas y colocar en el desecador, esperar de 10 a 15 a que se encuentren a temperatura ambiente.
5. Pesarlos y anotar su peso.
6. Colocarlos de nuevo en la estufa por una hora.
7. Repetir los pasos 4 y 5. Sí los pesos varían repetir hasta que no se presente cambio en el peso de la charola.
8. Si ya no presenta cambio en el peso se dejan en el desecador hasta el momento de la practica.

### Determinación de humedad (realizar por triplicado)

1. Tomar un crisol a peso constante (de los tratados anteriormente), pesar y tomar su peso.
2. Con ayuda del mortero y el pistilo, disminuir el tamaño de la muestra a analizar.
3. Colocar en la charola o crisol de 1 a 2 g de muestra triturada y anotar el peso total de la muestra y el crisol.
4. Colocar la charola en la estufa a 105 °C por 4 h.
5. Sacar las charolas con las pinzas y colocarlas en el desecador hasta que se enfrien. Pesar y anotar.
6. Introducir la charola a la estufa a 105 °C por 1 h. Posteriormente sacarlo con las pinzas y colocar en el desecador hasta que se enfrien. Pesar y anotar.
7. Sí el peso varía colocar otra hora. Sí no varía, pesar y anotar.
8. Realizar los calculos necesarios para la determinación de humedad.

$$\% \text{ humedad} = W_1 - W_2 \left( \frac{100}{W} \right)$$

$$\% \text{ sólidos totales} = 100 - \% \text{ humedad}$$

Donde:

W1: Peso en g del crisol muestra húmeda

W2: Peso en g del criol + muestra seca

W: Peso de la muestra inicial en gramos

**Normas:**

Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-211-SSA1-2002, Productos y servicios. Métodos de prueba fisicoquímicos. Determinación de humedad y sólidos totales en alimentos por secado en estufa. Determinación de arsénico, cadmio, cobre, cromo, estaño, hierro, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio y zinc en alimentos, agua y hielo aptos para consumo humano, bebidas y aditivos alimentarios por espectrofotometría de absorción atómica.

**Preguntas:**

1. ¿Cuál es la importancia de poner a peso constante el material utilizado en la determinación de humedad?
2. ¿En qué se basa la selección de un método para la determinación de humedad?
3. ¿Cuál es el papel del agua en los alimentos?

## Práctica 2.2. Determinación de grasa

### Fundamento teórico:

La determinación de extracto etéreo se basa en la extracción de la grasa en forma directa con un solvente como el éter o el hexano. La insolubilidad de los lípidos en agua es una propiedad analítica esencial usada como base para separar lípidos de las proteínas, agua y carbohidratos en alimentos. La exactitud de este método depende en gran parte de la solubilidad de los lípidos en el solvente usado.

Para realizar el análisis es indispensable primero secar la muestra a peso constante.

### Material y equipo:

- 3 crisoles a peso constante puestos el día anterior
- 1 equipo soxhlet (matraz redondo de fondo plano, cámara de extracción soxhlet y condensador)
- 1 soporte universal y pinzas para montar el equipo soxhlet
- 1 parrilla de calentamiento
- 3 cartuchos de celulosa a peso constante, preparados con un tapón de algodón
- Balanza analítica
- Estufa de secado
- 1 bomba
- Hielo
- Tina

### Desarrollo de la práctica:

1. Pesar el cartucho preparado.
2. Pesar de 3 a 4 g de muestra seca (de la determinación de humedad)
3. Colocar el cartucho con un amuestra en el extractor y montar al apartado soxhlet
- 4.- gregar éter por el refrigerante sobre el cartucho (cantidad suficiente para que el extractor haga sifon dos veces)
5. Calentar el matraz con la parilla a baja temperatura hasta que la extracción de grasa completa (aproximadamente de 4 a 8 h dependiendo de la cantidad de lípido que

contenga la muestra), teniendo cuidado de ir agregando más éter conforme este vaya disminuyendo su volumen.

6. Retirar la fuente de calor, colocar el cartucho en un vaso y ponerlo en baño maría hasta que ya no se perciba el olor a éter.

7. Colocar el cartucho en el vaso de precipitado dentro de la estufa a 80 °C y secar hasta peso constante.

8. Realizar los cálculos pertinentes de acuerdo con la ecuación.

Nota: Se recomienda usar la muestra proveniente de la determinación de humedad.

$$\% \text{ grasa} = \left( \frac{\text{Peso de la grasa}}{\text{Peso de la muestra}} \right) * 100$$

$$\text{Peso de la grasa} = P1 - P2$$

Donde:

P1: Peso del cartucho con muestra

P2: Peso del cartucho con muestra desengrasada

#### Preguntas:

1. Valores esperados para la muestra analizada
2. Métodos propuestos por las normas oficiales
3. ¿Qué preparación se debe dar a la muestra antes de llevar a cabo la determinación de grasas?
4. Partes que conforman el equipo soxhlet
5. Al menos tres ventajas y desventajas de la extracción de grasas por soxhlet, mezcla de disolventes y la extracción por solubilización.

## Práctica 2.3. Determinación de proteína por Kendajhl

### Fundamento teórico:

Este método se basa en la descomposición de los compuestos de nitrógeno orgánico por digestión al punto de ebullición con ácido sulfúrico. El hidrógeno y el carbono de la materia orgánica se oxidan para formar agua y dióxido de carbono. El ácido sulfúrico se transforma en sulfato, el cual reduce el material nitrogenado a sulfato de amonio.

El amoniaco se libera después de la adición del hidróxido de sodio y se destila en una solución de ácido bórico al 2%. El nitrógeno amoniacal se titula con una solución valorada de ácido clorhídrico, cuya normalidad depende de la cantidad de nitrógeno que contenga la muestra. Las sales de digestión, en este caso el sulfato de cobre y el sulfato de potasio sirven como catalizadores de la digestión, aumentando la temperatura y acelerando el proceso en menor tiempo requerido.

### Material y equipo:

- Balones de digestión Kjeldahl de 100ml;
- Espátula;
- Papel de pesaje libre de nitrógeno;
- Matraces o Vasos de precipitado de diferentes volúmenes;
- Varilla de cristal;
- Pipeta volumétrica de 10ml;
- Pipeta Pasteur;
- Bureta.
- Balanza analítica;
- Campana de extracción;
- Equipo de digestión micro Kjeldahl con temperatura ajustable;
- Unidad de destilación.
- Ácido sulfúrico concentrado al 98%;
- Hidróxido de sodio al 40% (NaOH);
- Sales de digestión (12 partes de sulfato de potasio y 1 parte de sulfato de cobre pentahidratado);
- Ácido bórico al 2%;
- Solución de ácido clorhídrico 0.1N (HCl);

- Indicador rojo de metilo y verde de bromocresol.

#### DESARROLLO DE LA PRÁCTICA:

##### Preparación de la muestra.

1. Pesar en balanza analítica 0.1g de muestra (máximo 0.5g) previamente homogenizada sobre un pedazo de papel de pesaje libre de nitrógeno, tarar y pesar 1g de sales de digestión (12 partes de sulfato de potasio y 1 parte de sulfato de cobre pentahidratado).

**NOTA:** Para el control negativo solo debe pesarse 1g de las sales de digestión. Es necesario el lavado de la espátula con Etanol al 70% entre cada pesada para evitar contaminaciones.

2. Colocar las muestras y el blanco junto con su papel de pesaje dentro de sus respectivos balones de digestión. Puede apoyarse con una varilla de cristal para ingresar la muestra hasta el fondo del balón.
3. Previo al proceso de digestión, se debe precalentar las resistencias de los sitios a emplear en el equipo, encendiendo y ajustando la temperatura en el nivel 4; En cada balón que contenga blanco y muestra se agregaran 5ml de ácido sulfúrica (máx. 10ml) con ayuda de una pipeta volumétrica y unas gotas de peróxido de hidrógeno al 30% con pipeta Pasteur.

##### Digestión.

4. Una vez calientes las resistencias se colocarán los balones dentro del equipo de digestión en los sitios correspondientes dentro de la campana de extracción. Esto generará una reacción que tornará el color de las muestras a un café oscuro y se dejarán digiriendo por aproximadamente 30 minutos o hasta que se formen vapores blancos.

**NOTA:** Dichos vapores son altamente tóxicos por lo que se recomienda digerir con el cristal de la campana de extracción lo más cerrada posible, y abrir únicamente para girar los balones.

5. Pasados los 30 minutos, incrementar la temperatura del digestor al máximo y digerir girando los balones con ayuda de unas pinzas cada determinado tiempo hasta que

la solución se aclare a un color azul-verde transparente. Es normal que el blanco se torne a su coloración clara mucho antes que las muestras. En caso de trabajar con muestras de leche, el aumento de la temperatura puede ser de forma gradual para evitar que se forme espuma dentro del balón.

6. El proceso de digestión puede durar entre 1.5 a 2.5 h. Una vez alcanzada la coloración esperada y que no se vean restos de materia por digerir en ninguno de los balones se deja enfriar por aproximadamente 25 min. a temperatura ambiente.

#### **Destilación.**

7. Una vez montado el equipo de destilación como lo indica el diagrama anterior, llenar el matraz de bola con agua destilada hasta 3/4 partes de su capacidad (Aproximadamente debajo del logo grabado en el mismo) y colocar la resistencia dentro del matraz cuidando que nunca se ponga en contacto con el cristal y verificar que todas las válvulas se encuentren cerradas. Encender el equipo y dirigir el control de temperatura al máximo nivel (Nivel 9), y al mismo tiempo se debe abrir la llave que alimenta la manguera de entrada de agua (Water Inlet). Esperar unos minutos hasta hervor.

**NOTA:** Es importante regular el flujo de agua, de tal forma que sea el mínimo, para evitar que la presión pueda zafar las mangueras, y constante, para enfriar adecuadamente el tubo de condensación. De igual forma se recomienda apretar con abrazaderas las mangueras conectadas a la llave de agua y a la de entrada.

8. Colocar un vaso de precipitado o una probeta debajo de la boquilla de salida del tubo condensador y regular la temperatura hasta que se observe una salida de 5ml por minuto por la boquilla (Aproximadamente entre el nivel 2 y nivel 4). Colocar la muestra previamente digerida y a temperatura ambiente en el depósito de muestra del equipo de destilación, abrir la válvula y cerrar una vez que caiga la totalidad de la muestra. Lavar el balón con 5 ml de agua destilada y repetir el paso anterior para evitar que quede algún remanente de la muestra en el balón Kjeldahl. Posteriormente agregar 5 ml de NaOH al 40% en el depósito y abrir la válvula muy lentamente. En este punto la reacción exotérmica dentro del equipo es muy violenta y se debe tener sumo cuidado al agregar el NaOH.
9. Es normal que las muestras se tornen en color café oscuro a excepción del blanco. Una vez que el NaOH entra en contacto con la muestra digerida se debe colocar un

vaso de precipitado con 50ml de una solución de ácido bórico con unas gotas de indicador de Rojo de metilo-Verde de bromocresol en la boquilla de salida, verificando que ésta se encuentre dentro del ácido bórico en todo momento del proceso de destilación. Esperar durante 5 minutos con cronómetro en mano.

10. Pasados los 5 minutos se debe retirar el vaso de precipitado con ácido bórico para realizar el proceso de titulación.
11. Previo a desechar la muestra dentro del equipo, se debe aumentar la presión del flujo de agua y verificar que la manguera de salida (Water Outlet) no se encuentre obstruida, de lo contrario la muestra regresará al matraz de balón contaminando el agua destilada. Abrir la válvula de salida hasta evacuar la muestra por completo y volver a cerrar.
12. Realizar dos lavados con 5 ml de agua destilada entre cada muestra y al final del proceso, colocándolos en el depósito de muestra, abriendo y cerrando la válvula del depósito y abriendo la válvula de salida hasta que se vacíe el agua.
13. Una vez vacío el depósito de agua por dentro del equipo apagar regresando el nivel de la temperatura a 0 y apagando el interruptor.

#### Titulación.

Valorar el blanco y cada una de las muestras mediante titulación con HCl 0.1N hasta observar un viraje en el vaso de precipitado que contiene el ácido bórico y la muestra.

#### Cálculos y Resultados.

El nitrógeno presente en la muestra expresado en porcentaje se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de nitrógeno} = (V_m - V_b) \times N \times 1.4 M$$

Donde:

$V_m$ : es el volumen en ml de HCl empleado en la titulación de la muestra;

$V_b$ : es el volumen en ml de HCl empleado en la titulación del blanco;

$N$ : es la normalidad del HCl;

---

M: es la masa de la muestra en gramos;

1.4 son los miliequivalentes del nitrógeno en porcentaje (0.014 x 100).

El porcentaje de proteínas se obtiene multiplicando el % de nitrógeno obtenido, expresado en peso/peso, por el factor de conversión 6.25 (para muestras animales y proteínas vegetales), 6.38 (productos lácteos) o 5.7 (para trigo).

$$\% \text{ de proteínas} = \% \text{ de nitrógeno} * Fc$$

Fc= Factor de conversión general: 6.25.

## Práctica 2.4. Determinación de cenizas

### Fundamento teórico:

Las cenizas de un alimento son un término analítico equivalente al residuo inorgánico que queda después de calcinar la materia orgánica. Las cenizas normalmente, no son las mismas sustancias inorgánicas presentes en el alimento original, debido a las pérdidas por volatilización o a las interacciones químicas entre los constituyentes.

El valor principal de la determinación de cenizas (y también de las cenizas solubles en agua, la alcalinidad de las cenizas y las cenizas insolubles en ácido) es que supone un método sencillo para determinar la calidad de ciertos alimentos, por ejemplo, en las especias y en la gelatina es un inconveniente un alto contenido en cenizas. Las cenizas de los alimentos deberán estar comprendidas entre ciertos valores, lo cual facilitará en parte su identificación.

En los vegetales predominan los derivados de potasio y en las cenizas 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.

Cuando hay un alto contenido de cenizas se sugiere la presencia de un adulterante inorgánico, a menudo es aconsejable, además, la determinación de cenizas insolubles en ácidos.

### Objetivo:

Determinar el contenido de cenizas de un alimento a través del método de cenizas en seco, para identificar sus características.

### Material y equipo:

- Mufla de laboratorio
- Crisol de porcelana
- Estufa de calentamiento

- Pinzas metálicas
- Desecador
- Balanza analítica
- Alimentos a evaluar

**Desarrollo de práctica:**

1. Poner a masa constante un crisol de porcelana, perfectamente limpio, introduciéndolo a la mufla a  $550^{\circ}\text{C} \pm 25^{\circ}\text{C}$  aproximadamente, durante una hora; extraer el crisol de la mufla e introducirlo a una estufa a  $125^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ , durante al menos 15 minutos. Pasar el crisol al desecador y dejar enfriar hasta temperatura ambiente.
2. Determinar la masa del crisol en balanza analítica con aproximación de miligramos.
3. Tomar una muestra representativa de un gramo previamente secada y determinar la masa del crisol con la muestra en balanza analítica con aproximación a miligramos.
4. Incinere la muestra utilizando un mechero hasta que no emita humo y las paredes del crisol estén blancas.
5. Introducir el crisol, con la muestra calcinada, a la mufla a  $550^{\circ}\text{C} \pm 25^{\circ}\text{C}$
6. aproximadamente, durante una hora; extraer el crisol de la mufla e introducirlo a una estufa a  $125^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ , durante al menos 15 minutos. Pasar el crisol al desecador y dejar enfriar hasta temperatura ambiente.
7. Determinar el peso del crisol y del espécimen calcinado en balanza analítica con aproximación de miligramos. Registrar el valor.
8. Realice el cálculo de % cenizas con la siguiente fórmula.
9. Investigue si el valor obtenido para su alimento corresponde a los valores esperados. (Márquez, 2014).

$$\% \text{ Cenizas} = \left( \frac{C_c - C_v}{C_m - C_v} \right) * 100$$

Cc: Peso del crisol con cenizas (g)

Cv: Peso del crisol vacío (g)

Cm: Peso del crisol con la muestra (g)

## Práctica 2.5. Determinación de fibra total

### Fundamento teórico:

El AOAC define la palabra cruda como "el material que se pierde en la incineración del residuo seco obtenido tras la digestión de las muestras con ácido sulfúrico al 1.2 % e hidróxido de sodio al 1.25 % bajo condiciones específicas". Su fundamento se basa en las hidrólisis sucesivas ácida y alcalina.

### Materiales y equipo:

Analizador de fibra cruda.

Molino para uso en laboratorio (muestra).

Tamiz: apertura 1mm (muestra).

Balanza analítica: resolución 0.0001g

Horno de secado eléctrico termostático: se pueda controlar la temperatura hasta 130°C.

Horno de alta temperatura: ajustable 200°C a 800°C

Secador: utilice sílica gel de color variable como secador.

### Preparación de los reactivos

Solución H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: 0.128 ± 0.005 mol/L, calibrado con solución estándar de NaOH (GB601)

Solución NaOH: 0.313 ± 0.005 mol/L, calibrado con el método ácido de ftalato de potasio.

Alcohol 95%

Éter

Alcohol caprílico (antiespumante)

Tiras reactivas para pH

### Desarrollo de la práctica:

1. Triturar la muestra en el molino y tamizarlo y reservarlo.

Nota: Si el contenido de grasa de la muestra es superior al 10%, esta debe de ser desengrasada, caso contrario no es necesario desengrasar.

2. Poner 1-2 g de muestra en el crisol y coloque el anillo de sellado.
3. Encender el equipo bajo la supervisión del encargado de laboratorio
4. Sacar el anillo de sellado del crisol. Meta el crisol en el horno y seque durante 2 h por debajo de 130 °C ± 2 °C, luego se enfría a temperatura ambiente, se pesa el peso del anillo y el crisol como "m1", secar el crisol tarado durante 1 h a 500 ± 25 °C en el horno de alta temperatura, colocarlo en el secador para que se enfríe a temperatura ambiente, se pesa y registrar el peso como "m", el resultado del análisis de fibra cruda se calcula por la siguiente fórmula:

$$\text{Contenido de fibra cruda \%} = \frac{M_1 - M_2}{M}$$

Donde:

M1: Es el peso del crisol más el residuo de la muestra después de secarlo a 130 °C

M2: Es el peso del crisol más el residuo de la muestra después quemado en 500 °C

M: Es el peso de la muestra (no desengrasado)

**Preguntas:**

¿Qué valores se esperan en el alimento analizado

¿Para qué se llevan a cabo dos hidrólisis en este método?

## Práctica 2.6. Determinación de hidratos de carbono

La determinación de hidratos de carbono se realiza por diferencia según las recomendaciones de la FAO y la OMS (1982), a partir de los resultados obtenidos en las determinaciones de grasa (G), cenizas (C), proteína (P), humedad (H) y fibra dietética (FD) de forma que:

$$\% \text{Hidratos de carbono} = 100 - (G + C + P + H + FD)$$

## Práctica 3. Determinación de nitritos en productos cárnicos

### Fundamento teórico:

Al reaccionar el nitrito presente en el extracto del producto cárnico con el reactivo de ácido sulfanílico a-naftilamina se produce una reacción colorimétrica con la formación de un compuesto de color rosado, de tal modo que la intensidad de color es proporcional a la cantidad de nitrito presente en la muestra. La concentración se determina tras medir la absorbancia mediante colorimetría o espectrofotometría y comparar con una recta patrón.

### Material y equipo:

- Matraces aforados de 100 y 1000 ml de capacidad.
- Probetas de 100 o 200 ml de capacidad.
- Baño María.
- Papel de filtro plegado de 15 dm de diámetro.
- Tubos de ensayo de 150x25 mm.
- Matraces Erlenmeyer de 300 ml de capacidad.
- Espectrofotómetro capaz de leer a 520 nm.
- Cubetas de 1 cm de paso específicas para luz visible.

**Reactivos:**

Solución patrón de nitrito sódico: Pesar, con aproximación de 1 mg, 1 g de nitrito sódico, disolver en agua y completar hasta 1000 ml. Tomar con la pipeta 5 ml de esta solución e introducirla en otro matraz aforado de 1000 ml. Enrasar.

**Reactivo colorimétrico:**

Solución I: Disolver calentando al baño María 6 g de ácido sulfanílico en 200 ml de ácido acético glacial y 400 ml de agua destilada. Añadir 200 ml de una solución de cloruro sódico que contiene 100 g/l de cloruro sódico. Diluir con agua hasta 1000 ml.

Solución II: Disolver calentando al baño María 0.3 g de cloruro de a naftilamina en 100 ml de agua destilada. Filtrar si es necesario y añadir 200 ml de acético glacial. Diluir hasta 1000 ml con agua destilada. Manipular con precaución esta disolución por su carácter cancerígeno.

Ambas soluciones deben conservarse en frascos topacios (opacos) bien cerrados. El reactivo colorimétrico se obtiene mezclando volúmenes iguales de ambas soluciones.

**Procedimiento:**

**Preparación del extracto**

1. Pesar con precisión de 1 mg un peso de 10 g de la muestra homogenizada previamente, introduciéndola en un Erlenmeyer de 250 ml. Añadir 200 ml de agua destilada y adicionar consecutivamente 5 ml de cada uno de los reactivos de Carrez. Agitar durante 2 horas y dejar 10 min en reposo y filtrar.

**Valoración de la muestra**

2. Del extracto obtenido, tomar 25 ml y añadir 1 g aproximadamente, de carbón activo si es necesario decolorar. Filtrar hasta que el filtrado sea transparente. Del filtrado tomar una alícuota de 10 ml y ponerla en un tubo de ensayo. Si se toman menos de 10 ml, completar hasta 10 ml con agua destilada. Añadir 10 ml del reactivo colorimétrico, mezclar y dejar reposar la solución 15 minutos a temperatura ambiente al abrigo de la luz (oscuridad).

3. A partir de 20 min. y antes de 4 horas, medir la densidad óptica de la solución en una cubeta de 1 cm de paso de luz a 520 nm de longitud de onda. Si la solución coloreada problema presenta una coloración superior a la de la solución patrón más concentrada, tomar una alícuota menor de 10 ml. Efectuar dos determinaciones de la misma muestra.
4. Preparación de la curva patrón: Tomar de la solución patrón, alícuotas de 5, 10 y 20 ml y llevar a 100 ml con agua. El contenido de estas soluciones es respectivamente, de 0.25, 0.50 y 1ppm de nitrito sódico.
5. Transferir 10 ml de cada una de estas soluciones a un tubo de ensayo y añadir 10 ml del reactivo colorimétrico y proceder a su valoración colorimétrica a 520 nm, llevando absorbancias frente a concentraciones expresadas en ppm de nitrito sódico.

### Cálculos

Calcular el contenido en nitritos de la muestra expresado en ppm por medio de la fórmula:

$$ppm NO_2N_a = \frac{C * 2500}{M * V}$$

Siendo:

M= peso de la muestra de la que se ha obtenido el extracto (g).

V= volumen, en ml tomado del extracto decolorado

C= concentración en nitrito sódico expresada en ppm determinada sobre la curva patrón.

Tomar como resultado la media de los valores obtenidos en dos determinaciones paralelas.

## Práctica 4. Determinación de pH en carne

### Fundamento teórico:

El pH es una medida de la concentración de protones o iones hidrógeno, es decir, de la acidez del medio. En numerosos alimentos el pH constituye un factor importante para su estabilidad ya que determina el crecimiento de grupos de microorganismos específicos.

En el caso de la carne, el pH del músculo vivo está próximo a la neutralidad; cuando se produce la muerte del animal, el aporte de oxígeno a los tejidos cesa, y predominan los procesos anaeróbicos (glucólisis anaeróbica) que generan la formación de ácido láctico a partir de glucógeno muscular. La formación de ácido láctico provoca el descenso del pH en el músculo de modo que dicho valor es índice del desarrollo de las modificaciones bioquímicas post-mortem. Cuando se ha completado el proceso de maduración de la carne la misma debe tener un pH comprendido entre 5.4 y 5.6 como pH idóneo de la carne, que permite una buena vida comercial, al inhibir el crecimiento de microorganismos, y le proporciona las características físico-química adecuadas. Sin embargo, ante determinadas situación el pH de la carne se ve alterado debido a que los procesos de glucólisis anaerobia no se desarrollan adecuadamente. En este caso podemos encontrar dos situaciones:

Si el pH disminuye rápidamente tras la muerte del animal debido a una glucólisis acelerada el pH final queda por debajo de 5.4, y da lugar a **carnes PSE** (pálida, blanda y exudativa). Este tipo de carne tiene una menor capacidad de retención de agua y exuda agua al exterior que favorece la proliferación microbiana. Este tipo de carne se da principalmente en ganado porcino.

Si por el contrario el animal llega cansado al sacrificio tras realizar un ejercicio intenso en el que se ha agotado el glucógeno muscular, la glucólisis anaerobia finaliza antes de alcanzar el pH final debido a que no hay sustrato, quedando el pH muscular por encima de 5.6. En este caso se producen **carnes DFD** (oscura, firme y dura) que se caracterizan por tener una alta capacidad de retención de agua y un pH elevado que favorece la proliferación microbiana. Este tipo de carnes es típica de la carne de lidia y de caza.

Estas carnes tienen alterada sus propiedades tecnológicas por lo que hay que tener mucho cuidado a la hora de elaborar embutidos y determinar el destino final que se le da. Sin embargo, durante el almacenamiento de la carne se produce un incremento del pH en las

etapas finales cuando el crecimiento de microorganismos proteolíticos produce una degradación de las proteínas y la consecuente liberación de compuestos nitrogenados.

En cuanto al pH de los productos cárnicos, en los embutidos crudos picados se añaden azúcares como sustrato para que determinados microorganismos acidófilos produzcan un deseable descenso del pH, adecuado para la estabilidad del producto frente a otros microorganismos de carácter patógeno o alterativo.

#### Material y equipo:

- Balanza
- pHmetro
- Varilla de vidrio
- Soluciones de calibración
- Vasos de precipitado de 50 mL

#### Desarrollo de la práctica:

La medida del pH se realiza sobre muestras homogeneizadas al 10% en agua destilada utilizando un pH-metro.

Se pesan 5 gramos de muestra (carne) previamente picada y se homogenizan con 45 ml de agua destilada utilizando la varilla de vidrio. Se deja reposar media hora antes de efectuar la medida en el pH-metro, previamente ajustado con las soluciones de calibración. También se puede medir el pH directamente sobre el extracto de la carne utilizando un papel indicador.

#### Calculos:

La interpretación de los resultados se realizará en función de los valores reflejados en la siguiente tabla del pH en carnes normales y alteradas.

Valores de pH	Tipo de carne
5.4 – 5.6	Normal
< 5.4	PSE (pálida, blanda y exudativa)
> 5.6	DFD (oscura, firme y dura)

## Práctica 5. Adulteración de cárnicos por almidón

**Objetivo:** Identificar almidones en productos cárnicos , así como, proteínas por el método de biuret.

### Material y equipo:

- Embutido de pavo o puerco (salchicha)
- Agua de garrafón
- Parrilla de calentamiento
- Filtro para cafetera (3)
- Lugol
- Reactivo de biuret

### DESARROLLO DE LA PRÁCTICA:

1. Moler 1/4 de salchicha en el mortero con 20 mL de agua de garrafón
2. Esta muestra se dividirá en dos, 10 mL se filtrarán y se colocaran un tubo de ensaye para agregar el reactivo de biuret, este vira a color violeta-morado en presencia de proteínas
3. Los otros 10 mL no se filtraran se pasaran a un tubo de ensaye el cual se pondrá a baño maría en la parrilla de calentamiento durante 5min. Se dejara enfriar y se tomara el líquido exento de la parte grasa y se agregara lugol el cual vira a azul-negro en presencia de almidón
4. Para ambos casos la intensidad de color significa mayor concentración.

### PREGUNTAS:

1. ¿Qué compone el reactivo de biuret, y cómo es posible determinar proteínas por dicho método?
2. En caso de detectar almidón en los productos cárnicos, como diferencia el metabolismo de este contra el de la proteína de la carne.

**BIBLIOGRAFÍA :**

Emilio Fernández Reyes y Aurora Galván Cejudo. Campus Universitario de Rabanales. Métodos para la cuantificación de proteínas.

## Práctica 6. Identificación de almidón resistente

**OBJETIVO:** Identificar alimentos que contienen almidón resistente que son utilizados en nuestra vida cotidiana.

### MATERIAL Y EQUIPO:

- Harinas diversas (trigo, avena, arroz etc)
- Pastas diversas marcas (moderna etc)
- Leguminosas: frijol, garbanzo, lenteja, alubias
- Agua destilada
- 12 tubos de ensayo
- Lugol
- Varilla de vidrio

### DESARROLLO DE LA PRÁCTICA:

1. Colocar 0.5 g de muestra
2. Adicionar 3mL de agua  
Agitar con varilla de vidrio reposar 5min
3. Agregar 2 gotas de lugol observar el color
4. Agitar y observar el color nuevamente

### PREGUNTAS:

1. Explique por grupo de alimentos ¿cuáles poseen almidón resistente y por qué?
2. Ejemplifique como incluiría su consumo en un menú de 5 tiempos

### BIBLIOGRAFÍA:

Martín-Sánchez, Manuela, Martín-Sánchez, María Teresa, & Pinto, Gabriel. (2013). Reactivo de Lugol: Historia de su descubrimiento y aplicaciones didácticas. Educación química, 24(1), 31-36.

## Práctica 7. Evaluación de productos lácteos

### Fundamento teórico:

La leche constituye la secreción de la glándula mamaria y químicamente es un alimento líquido con grasa emulsionada, dentro de la estructura del glóbulo graso y proteínas en forma micelar. Por ello podemos decir que la leche es una emulsión de materia grasa en forma globular, en un líquido con unas características similares al plasma sanguíneo. Este líquido es a su vez, una suspensión de materias proteicas en un suero constituido principalmente por lactosa, sales minerales, vitaminas y ácidos orgánicos. La composición química de la leche nos determina la autenticidad de la leche natural y de las leches procesadas industrialmente, como la higienizada o pasteurizada y las tratadas térmicamente (esterilizada y UHT). Además, determinadas situaciones fisiológicas y patológicas de los animales, así como contaminación primaria y secundaria de la leche, producen modificaciones en su composición química, dando lugar a leches anormales con alteraciones en el contenido de proteínas, cloruro sódico y ácido láctico. Por lo que la determinación de variaciones en los parámetros químicos de la leche pueden estar también relacionados con alteraciones en la calidad sanitaria de la leche.

Las características químicas, expresadas en porcentaje de peso, que debe cumplir la leche clasificada de acuerdo a su contenido en materia grasa se resumen en la tabla que se muestra a continuación:

Tipo de leche	Grasa	Lactosa	Proteína	Ceniza	ESM	Acidez
Natural y Entera	3.5	4.2	3.2	0.64	8.2	0.2
Desnatada	< 0.3	4.2	3.2	0.64	-	0.19
Semidesnatada	1.5	4.2	3.2	0.64	-	0.19

Esta composición química característica determina la distintas constantes físico-químicas de la leche como son: la densidad, pH, punto crioscópico, punto de ebullición y conductividad eléctrica, las cuales son de interés para determinar la calidad y autenticidad de la misma, ya que por factores dependientes del animal o bien por factores derivados del manejo y acciones fraudulentas (p.e. el aguado, adición de suero lácteos, modificación de

la grasa, etc...), provocan alteraciones de la leche que conllevan a una modificación de estas constantes.

Los valores de las principales propiedades fisico-químicas de la leche natural se muestran en el siguiente cuadro:

Densidad	1.028 – 1.035
pH	6.4 – 6.8
Punto crioscopico	-0.52 / -0.54 °C
Punto de ebullición	100.5 °C
Conductividad eléctrica	0.005 Ohm -1

### Práctica 7.1. Determinación de ácidos de la leche

Los valores normales de acidez titulable en leche están comprendidos entre 16°D y 19°D (grados Dornic) que expresado en porcentaje del ácido mayoritario serían 0.16-0.19% de ácido láctico. Las alteraciones en la leche durante la síntesis o almacenamiento pueden originar cambios en la acidez. Además, determinadas adulteraciones hacen variar estos valores: el aguado la rebaja, el desnatado y adición de suero no la modifican y la neutralización la rebaja considerablemente. Aunque existen diferentes modos de expresar la acidez la forma más habitual de expresión son los grados Dornic (°D) y el porcentaje de ácido láctico.

La leche fresca tiene normalmente de 16-19°Dornic. Una acidez inferior a 16°D son sospechosas de aguado, neutralización, o de proceder de vacas con mamitis. Valores de acidez superior a 19°D son imputables a leches de más de 10 horas (ordeño de la noche) y valores superiores a 23°D corresponden a leches muy ácidas que han perdido la estabilidad térmica por lo que no podrían pasteurizarse y/o esterilizarse, ya que se produciría una coagulación.

Si a la muestra de leche se le ha adicionado dicromato potásico, es preciso tener en cuenta la acidez debida a dicho conservador. En el caso de leches no alteradas se puede considerar que 1 g de dicromato potásico aumenta la acidez en las mismas proporciones que 0.6 g de ácido láctico.

---

**Material y equipo:**

- Vaso de precipitado
- Bureta graduada
- Pipetas graduadas

**Reactivos:**

- Solución de hidróxido sódico (0.1 N): disolver 4 g de hidróxido sódico en 500 g de agua destilada y agitar hasta la disolución total. Completar hasta 1000 mL con más agua.
- Solución alcohólica de fenofaleína al 1-2%.

**Desarrollo de práctica:**

- Poner en vaso de precipitados 10 mL de leche.
- Adicionar de 4-5 gotas de fenofaleína.
- Con ayuda de una bureta añadir gota a gota la solución de NaOH 0.1N hasta que el contenido del vaso quede de color rosado de forma permanente o el pH de la solución sea de 8.1.

**Cálculos:**

Los mL gastados de NaOH 0.1N se multiplican por 9 y se divide por 10; y el cociente expresa la acidez titulable de la leche en °Dornic.

$$^{\circ}\text{Dornic} = 9 \times \text{mL de NaOH gastados} / 10$$

La relación entre los °Dornic y el contenido de ácido láctico es la siguiente:

$$^{\circ}\text{D} = 1 \text{ mg de ácido láctico} / 10 \text{ mL}$$

$$^{\circ}\text{D} = 0.01\% \text{ de ácido láctico}$$

## Práctica 7.2. Determinación de la densidad de la leche

### Fundamento teórico:

La densidad es una propiedad física utilizada para comparar las masas de diferentes sustancias o de una misma bajo diferentes condiciones. En la densidad de la leche influyen todos los constituyentes normales, así como todas aquellas sustancias extrañas que se adicionan de forma fraudulenta, tanto sólidos como líquidos. Existen muchas causas que actúan variando la densidad de la leche, como son la composición química, la temperatura de medición, la temperatura de almacenamiento, el tiempo transcurrido desde el ordeño, el ordeño fraccionado, la centrifugación y otras operaciones tecnológicas. Así, la densidad depende no sólo, de la temperatura del momento de la determinación, sino también de las temperaturas anteriores, y además este parámetro adquiere su valor más bajo poco después del ordeño, aumentando después lentamente. Generalmente, el tiempo que tarda en estabilizarse el valor de densidad de la leche depende de la temperatura anterior de almacenamiento. A 15°C tarda de 1 a 2 días, mientras que a 50°C lo suele hacer en seis horas. Este comportamiento recibe el nombre de Fenómeno de Recknagel, y depende de la lenta solidificación de la grasa y de la disminución de la cantidad de agua libre. Por ello la temperatura a que ha estado sometida la muestra de leche influye muy ligeramente en el resultado final.

Para la determinación de la densidad de la leche vamos a utilizar la técnica de lactodensimetría. Los lactodensímetros son aerómetros, cuerpos flotadores de vidrio lastrados en su parte inferior con varilla graduada, y que en ocasiones pueden llevar incorporado un termómetro, permitiendo la lectura paralela de la densidad. Y la temperatura. Cuando el aerómetro se introduce en la leche sufre un impulso hacia arriba igual al peso del líquido desaloja (principio de Arquímedes), quedando el valor de densidad reflejado en la varilla graduada. La determinación puede realizarse en leche completa o en suero lácteo

En la siguiente tabla se muestra el efecto del ajuste de la temperatura en el valor de densidad de la leche:

Tratamiento	Densidad
Leche mantenida 24 horas a 2°C, calentada a 15°C	1.03236
Leche mantenida 24 horas a 2°C, calentada a 15°C	1.03134
Leche mantenida 24 horas a 2°C, calentada a 15°C	1.03008
Leche mantenida 24 horas a 2°C, calentada a 15°C	1.02998

---

**Material y método:**

- Lactodensímetro
- Termometro
- Probeta de 250 mL
- Estufa o baño termostatico a 15°C a 20°C

**Desarrollo de práctica:**

- Calentar la muestra a la temperatura de 37-40°C y homogeneizarla mediante un agitador en caso de que sea necesario.
- Verter la leche en la probeta e introducir con cuidado el lactodensímetro en la leche manteniendo el aparato en el eje de la probeta y provocar un ligero movimiento de rotación.
- Esperar a que se estabilice y realizar la lectura de la densidad.

**Nota:** Efectuar la lectura en la graduación del lactodensímetro. Las cifras descritas se corresponden con las dos últimas cifras de la densidad. Para interpretar los resultados, comprobar la temperatura de la leche, ya que el valor de la densidad que proporciona el lactodensímetro es para una leche con una temperatura de 20°C. Si la temperatura de la leche es diferente, tendremos que aplicar la siguiente corrección. Por cada grado que pase de los 20°C, se suma 0.2 al valor de densidad obtenido, y se resta 0.2 por cada grado que falte para los 20°C.

La densidad varía según el tipo de leche. Para la leche de vaca oscila entre 1.028 y 1.042, siendo el valor medio de 1.031, mientras que el suero de vaca presenta unos valores comprendidos entre 1.027 y 1.030. Para la leche de cabra la densidad es de 1.030-1.034, mientras que en la leche de oveja oscila entre 1.037 y 1.040. Las adulteraciones influyen sobre el valor de la densidad. Así el aguado la rebaja, el desnatado y la adición de leche desnatada la aumentan. Sin embargo la densidad de la leche permanece invariable si la leche es aguada con soluciones preparadas que tengan la misma densidad o es aguada y desnatada al mismo tiempo.

## Practica 7.3 Análisis de productos lácteos

**Objetivo:** Aplicar los métodos de análisis para la determinación de los principales parámetros químicos y físicos de calidad de la leche y/o yogurt.

### Material y equipo:

- Tubos de ensayo con tapón o rosca
- Baño maría ó estufa a 37°C
- Pipetas graduada
- Solución de azul de metileno: Preparar una solución madre diluyendo 0.1g de azul de metileno en 50mL de etanol 96%.
- Para preparar la solución de trabajo tomar 2.5 mL de la solución madre y adicionar 97.5 mL de agua destilada estéril.
- Soluciones porcentuales de etanol al 96, 75 y 60%

### Desarrollo de la práctica:

1. Homogenizar la muestra, tomar una alícuota de 10 mL de leche y/o yogur , transferir a un tubo de ensayo.
2. Añadir 0.5 mL azul de metileno (solución de trabajo), evitar el contacto de la pipeta con la leche.
3. Introducir los tubos en baño maría a 37°C. Nota: Realizar la serie de tubos por duplicado.
4. Cada 10 min verificar el cambio de color, hasta el minuto 60 (1 hora)
5. Rotular una serie nueva de tres tubos a los cuales se añadirá 2 mL de leche y/o yogurt a cada uno
6. Posteriormente al tubo 1 de tres añadir 2mL de etanol al 60%, al tubo 2 de tres añadir 2mL de etanol al 75% y al tubo 3 de tres añadir 2mL de etanol al 96%, agitar en vortex colocar la rosca/tapón e inclinar. Esta serie también se realiza por duplicado.

---

**Normas:** NORMA Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010, Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.

**Preguntas:**

1. ¿Por qué hay tubos de ensayo que permanecen azules y otros que cambian de color? Fundamente su respuesta en base a la calidad microbiana y/o composición físico-química
2. En la prueba de alcohol ¿la aparición de coagulación es indicativo de calidad aceptable? Fundamente su respuesta en base a los métodos de conservación de productos lácteos

**Bibliografía:**

Informe de la Tercera Reunión del Comité del Codex sobre la Leche y los Productos Lácteos/  
<https://www.fao.org/3/W9503S/w9503s00.htm#Contents>

## Práctica 8. Análisis de frutos

Las frutas y hortalizas desempeñan un papel muy importante en una alimentación equilibrada en cualquier etapa de la vida y son cruciales para lo que entendemos como una dieta saludable. En la actualidad, el consumidor tiene un alto grado de concienciación sobre la seguridad alimentaria y los aspectos relativos a la calidad de los productos que compra. Por ello, es muy importante que la industria alimentaria realice los necesarios análisis de frutas y hortalizas para su comercialización y consumo seguros.

La calidad en frutas se refiere a un conjunto de características que determinan su aptitud para satisfacer las necesidades del consumidor, incluyendo aspectos como apariencia, sabor, textura, valor nutricional y seguridad. La calidad no solo depende de la fruta en sí, sino también de factores como el manejo en la cosecha, el transporte, el almacenamiento y la presentación.

Aspectos clave de la calidad de la fruta:

- **Apariencia:** Incluye el tamaño, forma, color, brillo y la ausencia de defectos como magulladuras, manchas o deformaciones.
- **Sabor y textura:** La madurez adecuada es crucial para un buen sabor (dulzura, acidez, etc.) y una textura agradable (firmeza, jugosidad).
- **Valor nutricional:** Las frutas deben ser ricas en vitaminas, minerales y antioxidantes, y su contenido puede variar según la variedad y el grado de madurez.
- **Seguridad:** La fruta debe estar libre de microorganismos patógenos, residuos de plaguicidas y metales pesados, garantizando su inocuidad para el consumo.
- **Madurez:** La fruta debe estar en el punto óptimo de maduración para su consumo, ni demasiado verde ni demasiado madura.
- **Homogeneidad:** Dentro de un lote de fruta, es deseable que haya una cierta uniformidad en cuanto a tamaño, forma y color.
- **Condiciones de almacenamiento y transporte:** Un manejo adecuado durante la postcosecha puede preservar la calidad de la fruta y evitar pérdidas.

Factores que influyen en la calidad de la fruta:

- **Variedad:** Algunas variedades son naturalmente más sabrosas, nutritivas o resistentes a enfermedades.
- **Clima y suelo:** Las condiciones climáticas y del suelo pueden afectar el crecimiento y la calidad de la fruta.

- **Técnicas de cultivo:** El uso de prácticas agrícolas adecuadas, como la fertilización y el control de plagas, puede mejorar la calidad.
- **Manejo postcosecha:** La forma en que se cosecha, transporta, almacena y procesa la fruta puede afectar significativamente su calidad.

Herramientas para evaluar la calidad de la fruta:

- **Medición de grados Brix:** Determina el contenido de azúcar y ayuda a evaluar la madurez.
- **Medición de la firmeza:** Se utiliza para evaluar la textura y la madurez de la fruta.
- **Análisis visual y sensorial:** Se evalúan el color, la forma, el tamaño y el sabor de la fruta.
- **Análisis de laboratorio:** Se pueden realizar pruebas para determinar el contenido de nutrientes, la presencia de contaminantes y otros parámetros.

La calidad de la fruta es un aspecto fundamental tanto para los productores como para los consumidores. Un buen manejo de la calidad garantiza la satisfacción del consumidor, reduce las pérdidas por desperdicio y contribuye a una alimentación más saludable.

## Práctica 8.1. Determinación de la madurez de frutas mediante °Brix

**Fundamento teórico:** La agricultura moderna no solo se enfoca en producir grandes volúmenes de alimentos, sino también en garantizar su calidad. Una de las métricas más importantes para evaluar la calidad de frutas, verduras y otros cultivos es el contenido de azúcar soluble, conocido como grados Brix. Este indicador no solo mide la dulzura, sino que también está relacionado con la madurez, el sabor y la calidad nutricional de los productos agrícolas. En este artículo, exploraremos el papel de los grados Brix en la agricultura y cómo los agricultores los utilizan para optimizar su producción.

En la agricultura, los grados Brix se utilizan como una herramienta para medir la madurez y calidad de los cultivos. Sin embargo, esta métrica también puede incluir otros sólidos solubles, como minerales, ácidos y aminoácidos, que contribuyen al sabor y valor nutricional del producto.

En términos simples, los grados Brix (°Bx) indican el porcentaje de sólidos solubles presentes en una solución líquida, siendo el azúcar el componente principal en frutas y verduras. Por ejemplo, si una fruta tiene 10 °Bx, esto significa que el 10 % de su peso está compuesto por azúcares solubles.

¿Por qué son importantes los grados Brix en la agricultura?

- Determinar el momento óptimo de cosecha

La medición de estos grados ayuda a los agricultores a identificar el momento ideal para cosechar. Una fruta cosechada en su punto óptimo de madurez tendrá el equilibrio perfecto entre dulzura, acidez y aroma, lo que mejora su sabor y aceptación en el mercado.

- Indicador de calidad nutricional

Aunque son conocidos por medir la dulzura, también se utilizan como un indicador indirecto de la densidad nutricional. Los cultivos con alta graduación suelen tener un mejor perfil nutricional, incluyendo mayores concentraciones de minerales y antioxidantes.

El "índice de madurez" se refiere a un parámetro o conjunto de parámetros utilizados para determinar el estado de madurez de un producto, generalmente frutas y verduras, pero también puede aplicarse a otros contextos como la madurez institucional o digital. Este

índice ayuda a determinar el momento óptimo para la cosecha o para evaluar la calidad de un producto.

En el contexto de frutas y verduras:

El índice de madurez de cosecha (HMI) indica el punto en el que una fruta ha alcanzado su madurez fisiológica, es decir, está completamente madura pero no sobremadura. Estos índices pueden incluir características visuales (color, forma), físicas (firmeza, tamaño), químicas (sólidos solubles, acidez) y fisiológicas. Se utilizan para asegurar una calidad mínima aceptable para el consumidor y una larga vida útil de almacenamiento.

La elección del índice de madurez adecuado depende del tipo de producto y su destino final (consumo inmediato o almacenamiento).

**Objetivo:** Determinar el estado de maduración de frutas.

**Material y equipo:**

- Refractómetro
- Fruta con diferente grado de maduración
- Pipeta de transferencia
- Agua destilada
- Vaso de precipitado

**Desarrollo de la práctica:**

1. Obtener el jugo de la fruta cuidando de que se encuentre a 25°C.
2. Tomar una gota del jugo y ponerla sobre el cuarzo del refractómetro cuidando de que no se generen burbujas.
3. Observar el valor arrojado en la escala del refractómetro, se toma hasta donde llegue el color blanco.
4. Limpiar el cuarzo con papel y un poco de agua evitando dejar residuos.
5. Realizar los pasos del 1 al 3 con cada muestra.

## Practica 8.2. Determinación de la acidez titulable

**Fundamento teórico:** La acidez titulable es un parámetro importante para determinar la madurez de la fruta y el sabor amargo de los cítricos. La madurez de la fruta es uno de los factores más importantes para determinar qué tan bien se almacenará la fruta y qué sabor tendrá. Para algunas frutas, existen estándares de calidad gubernamentales (basados en la acidez titulable o la proporción de sólidos solubles totales (° Brix) a acidez titulable) para proteger a los consumidores. La fruta inmadura normalmente tendrá una proporción baja de azúcar a ácido en comparación con la fruta madura que tendrá una proporción alta de azúcar a ácido.

Este método se basa en la neutralización de los iones  $H^+$  con solución valorada de hidróxido de sodio (NaOH), en presencia de una sustancia indicadora (Fenolftaleína).

### Material y equipo:

- Solución valorada de hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 N.
- Solución de fenolftaleína al 1%, en etanol al 80%.
- Bureta.
- Pipetas volumétricas de capacidad apropiada.
- Vasos de precipitados de capacidad apropiada.
- Extractor de jugo ó mortero.
- "Rayador".
- Malla.
- Matraces Erlenmeyer de 250 cm<sup>3</sup>.

### Desarrollo de la práctica:

1. Lavar y secar la muestra.
2. Extraer el jugo. En frutas jugosas, se obtiene por expresión de éstas después de haberlas partido.
3. En frutas pulposas, es necesario realizar un "rayado" de la pulpa para obtener porciones pequeñas, las cuales se exprimen con la ayuda de una malla.
4. En ambos casos efectuar la operación tan rápidamente como sea posible para evitar pérdida de humedad y recibir el jugo en un recipiente limpio.

5. Transferir por medio de una pipeta volumétrica de 1 a 10 mL de jugo obtenido a un matraz Erlenmeyer.
6. Diluir con 50 mL de agua aproximadamente.
7. Adicionar 2 ó 3 gotas de solución de fenolftaleína.
8. Adicionar la solución de NaOH poco a poco hasta obtener un color rosado que permanezca 30 segundos aproximadamente y anotar el volumen de la solución de NaOH gastado.
9. Realizar por lo menos dos determinaciones de la misma muestra.

**NOTA:** Es posible también tomar la muestra por masa pesando exactamente entre 1 y 10 g.

#### Resultados:

Se puede expresar como miliequivalentes (meq) por 100 cm<sup>3</sup> de producto; meq por 100 g de producto; gramos por 100 gramos ó gramos por 100 cm<sup>3</sup> de producto.

- Expresión del resultado en meq por 100 cm<sup>3</sup>:

Se expresa de esta manera cuando la muestra se toma en centímetros cúbicos, usando la siguiente ecuación.

$$Acidez = \frac{100 * N * V_1}{V_0}$$

- Expresión del resultado en meq por 100 g:

Se expresa de esta manera cuando la muestra se toma en gramos, usando la siguiente ecuación:

$$Acidez = \frac{100 * N * V_1}{m}$$

Donde:

V<sub>0</sub> = Volumen en centímetros cúbicos de la muestra.

V<sub>1</sub> = Volumen en centímetros cúbicos de la solución de NaOH gastada en la determinación.

N = Normalidad (concentración) de la solución de NaOH. m = masa en gramos de la muestra.

- Expresión del resultado en gramos por 100 g (por ciento M/M) ó en gramos por 100 cm<sup>3</sup> (por ciento M/V):

Para este caso multiplicar las fórmulas anteriores por un factor apropiado al ácido predominante en la muestra (véase Tabla 1).

TABLA 1

ACIDO	FACTOR
Acido Málico	0.067
Acido Orsílico	0.045
Acido cítrico anhidro	0.064
Acido Tartárico	0.075
Acido acético	0.060
Acido Láctico	0.090

## Práctica 9. Extracción y cuantificación de compuestos antioxidantes

**Fundamento teórico:** Para la cuantificación se empleó el método de Folin-Ciocalteu el cual consiste en una mezcla de ácido fosfomolibdico-fosfotúngstico que en presencia de un compuesto antioxidante son reducidos a óxidos de tungsteno y molibdeno emitiendo un cambio de coloración de amarillo a azul, la intensidad del color dependerá de la concentración de compuestos antioxidantes en la muestra.

1. Pesar 1 g de muestra seca y pulverizada y agregar 15 mL del solvente de extracción (metanol, etanol a diferentes concentraciones según sea el caso) y cubrir con aluminio evitando el contacto con la luz.
2. Posteriormente dejar una hora en agitación y al termino dejar dos horas en reposo
3. Centrifugar a 13,000 rpm por 10 min a 4 °C. o en su caso filtrar con papel filtro en oscuridad.
4. Recolectar el sobrenadante y guardarlo en un frasco ámbar en refrigeración.

### Realizar curva de calibración con ácido gálico

#### Reactivos

- 0.0025 g de ácido gálico en 25 mL (aforar con el solvente que se usó para extraer los compuestos antioxidantes).
- 1.5 g de carbonato de sodio en agua y aforar a 25 mL (60 g/L)
- 1:10 Reactivo de Folin-Ciocalteu (1 ml de Folin y 9 ml de agua destilada)

Tabla 3. Curva de calibración con ácido gálico

Concentración (mg/dl)	Sol. Ácido gálico ( $\mu$ l)	Solvente ( $\mu$ l)	Lectura a 750 nm
Blanco	0	1000	

0.1	1000	0	
0.09	900	100	
0.08	800	200	
0.07	700	300	
0.06	600	400	
0.05	500	500	
0.04	400	600	
0.03	300	700	
0.02	200	800	
0.01	100	900	

Con los valores obtenidos graficar la concentración vs absorbancia para obtener la ecuación de la recta y una  $r^2$  mayor a 0.97.

Nota: Para las muestras se recomienda hacer diluciones antes de usar el reactivo de Folin, estas diluciones pueden variar desde 1:10 hasta 50:50 según sea el caso de la muestra a analizar.

#### Determinación de muestras

1. Se toman 100  $\mu\text{l}$  de la muestra (dilución) y se agregan 500  $\mu\text{l}$  del reactivo de Folin-Ciocalteu (1:10) preparado previamente, se agita y se deja reposar 5 min.
2. Pasados los 5 min se agrega 500  $\mu\text{l}$  de carbonato de sodio (60 g/L) y se agita.
3. Se deja reposar 90 min en oscuridad y lee en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 750 nm
4. Al término se obtiene la concentración de antioxidantes despejando  $x$  de la ecuación de la curva obtenida de la curva de calibración y al valor obtenido se multiplica por el volumen del extracto \* dilución.