

En la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, el día 14 de agosto de 2025 se expone en cartelera digital el tema para la prueba de oposición del **Concurso para proveer 6 ayudantes de segunda DP área QMA**, Departamento de Química Orgánica (Res. CD N° 880/25)

Las/os postulantes deberán exponer en pizarrón (con marcador), eligiendo entre los siguientes temas (durante 10 minutos, más 10 minutos adicionales de preguntas) el siguiente tema:

**“Determinación de hidroximetilfurfural (HMF) en miel por HPLC”**

de la guía de laboratorio de la materia Química de Alimentos (LCTA) o de la materia Bromatología (Lic. Cs. Químicas).

**CRONOGRAMA DE EXPOSICIÓN ESTIMADO – DÍA 21/8/25  
(PRESENTARSE 30 MINUTOS ANTES)**

Orden	Apellido y Nombres	Documento	HORARIO
1	ANDRADA, Alejo	41391817	9:20
2	BERNHARDT, Marianne Jazmín	42102261	9:40
3	CIRIGLIANO, Camila	41234227	10:00
4	DI MASSO, Candida Maria	43994322	10:20
5	FOLS, Julián Andrés	44795614	10:40
6	MARCOVECCHIO DUMON, Martina	43570673	11:00
7	MARTÍNEZ, Victoria Rocío	43323634	11:20
8	ORTELLADO, Facundo Guillermo	43314440	11:40
9	SARABIA, Fiorella Noelí	43506772	12:00

IMPORTANTE

Las exposiciones son PRESENCIALES en el AULA SEMINARIO del Departamento de Química Orgánica, excepto quienes hayan enviado constancia de su estadía a más de 500 km (\*) ó situación evaluada por el Jurado previamente.

El postulante que realice su prueba de oposición virtual, deberá proveerse de una pizarra de escritura manual, de forma tal que en el zoom pueda simular su prueba en un pizarrón de aula con marcador. La exposición será de forma oral y sincrónica a través de la plataforma Zoom. Se requerirá tener la **cámara y micrófono encendidos** durante toda la presentación y preguntas según el siguiente procedimiento:

1. El postulante deberá unirse con los siguientes datos:

DATOS DE ACCESO	DATOS DE ACCESO ALTERNATIVO
<a href="https://exactas-uba.zoom.us/my/go.aula02">https://exactas-uba.zoom.us/my/go.aula02</a> ID reunión qo.aula02 Password: exactas20	<a href="https://exactas-uba.zoom.us/my/go.aula02">https://exactas-uba.zoom.us/my/go.aula02</a> ID de reunión: 7055974618 Código de acceso: exactas20

2. Deberán nombrarse con APELLIDO, Nombre/s.

Una vez que el jurado lo incorpore a la sala exhibir su DNI y luego comenzar su exposición. Una vez finalizada la prueba/preguntas deberá salir de la sala.

- **En caso de necesitar justificadamente un cambio de franja horaria**, deberá comunicarlo a los Jurados (**antes del 18/8/25**) vía e-mail: [concursos.si@go.fcen.uba.ar](mailto:concursos.si@go.fcen.uba.ar) con el comprobante que lo certifique.

- **En caso de NO PRESENTARSE** a la prueba de oposición deberá informar (**antes del 18/8/25**), vía e-mail a [concursos.si@go.fcen.uba.ar](mailto:concursos.si@go.fcen.uba.ar) su renuncia.



DOS SANTOS, CRISTINA ISABEL  
JURADO TITULAR



GLIEMMO, MARÍA FERNANDA  
JURADO TITULAR



CAGNONI, ALEJANDRO JAVIER  
JURADO TITULAR

# **Química de Alimentos**

## **TRABAJOS PRÁCTICOS LABORATORIO**

**LICENCIATURA EN CIENCIA  
Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES**

**Primer cuatrimestre  
2025**

## CONTENIDO

<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>3</b>
<b>REGIMEN DE APROBACION DE LA MATERIA .....</b>	<b>5</b>
<b>INTERROGATORIOS INICIALES .....</b>	<b>6</b>
<b>REGLAS BÁSICAS DE HIGIENE Y SEGURIDAD EN LABORATORIOS .....</b>	<b>7</b>
<b>INTRODUCCION.....</b>	<b>15</b>
<b>DETERMINACIÓN DE MACROCOMPONENTES.....</b>	<b>16</b>
MODELO DE INFORME .....	17
HUMEDAD Y SÓLIDOS TOTALES.....	18
CENIZAS .....	21
NITROGENO TOTAL Y PROTEINA BRUTA .....	22
GRASA.....	24
FIBRA DIETARIA.....	28
AZÚCARES .....	30
<b>PROPIEDADES FUNCIONALES DEL ALMIDON .....</b>	<b>33</b>
<b>PROPIEDADES EMULSIONANTES DE LAS PROTEINAS.....</b>	<b>35</b>
<b>ALTERACIONES Y ADULTERACIONES .....</b>	<b>37</b>
ALTERACIONES DE LÍPIDOS.....	37
<i>Índice de ácidos grasos libres .....</i>	<i>37</i>
<i>Índice de peróxido .....</i>	<i>38</i>
ALTERACION Y ADULTERACION EN MIEL .....	40
<i>Hidroximetilfurfural (HMF).....</i>	<i>40</i>
<i>Determinación de presencia de dextrinas .....</i>	<i>42</i>
<i>Actividad Diastásica.....</i>	<i>42</i>
<i>Acidez Libre.....</i>	<i>44</i>
PARDEAMIENTO ENZIMATICO.....	40

## BIBLIOGRAFIA

- Association of Official Analytical Chemists, **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**, 16th ed., 1995.
- Belitz, H.D. y Grosch, W., **Química de los alimentos**, 2ª ed., Acribia, Zaragoza, 2012.
- Cheftel, J.C., Cuq, J.L. y Lorient, D., **Proteínas alimentarias: Bioquímica. Propiedades funcionales. Valor nutritivo. Modificaciones químicas.**, Acribia, Zaragoza, 1989.
- Coultate, T.P., **Manual de química y bioquímica de los alimentos**, Acribia, Zaragoza, 1998.
- Damodaran, S. y Paraf, A., **Food proteins and their applications**. Marcel Dekker, New York, 1997.
- Egan, H., Kirk, R.S. y Sawyer, R., **Análisis químico de los alimentos de Pearson**, Ed. Continental, México, 1987.
- Eliasson, A.C., **Carbohydrates in foods**, Marcel Dekker, New York, 1996.
- Fennema, O., **Food Chemistry**, 3<sup>rd</sup>. ed., CRC Press, New York., 2017.
- Fennema, O., **Química de los alimentos**, Acribia, Zaragoza, 2012.
- Gómez, R.G., , Malec L.S. Vigo M.S. y Buera M. P. **Fundamentos de Métodos para el Análisis de Alimentos**, Ed. CCC Educando, Buenos Aires, 2001.
- Gunstone, F., **Fatty acid and lipid chemistry**, Chapman & Hall, London, 1996.
- Hart, F.L. y Fisher, H.J., **Análisis moderno de los alimentos**, 2ª reimpresión, Acribia, Zaragoza, 1991.
- Leach, H.W., MacCowan, L.D., Schoch, T.J., Structure of starch granule. **Cereal Chem.** 36:534-544, 1959.
- Pearson, D., **Técnicas de laboratorio para el análisis de alimentos**, 2ª reimpresión, Acribia, Zaragoza, 1986.
- Pilosof, A.M.R. y Bartolomai, G.B., **Caracterización Funcional y Estructural de proteínas**, Eudeba, Argentina, 2000.
- Pomeranz, Y y Meloan, C.E., **Food Analysis: Theory and Practice**, 3<sup>rd</sup> ed., Chapman & Hall, New York., 1994.
- Potter, N.W. y Hotchkiss, J.H., **Ciencia de los alimentos**, Acribia, Zaragoza, 1998.
- Sanderson, G.R.. Polysaccharides in food. **Food Technology**. Julio 1981, pag.50.
- Sathe, S.K. y Salunke, D.K. Isolation, partial characterization and modification of Great Nother Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) starch. **Journal of Food Science**. 46:617-621, 1981.

- Schwartzberg, H.G. & Hartel, R.W., **Physical chemistry of foods**, Marcel Dekker, New York, 1992.
- Willard, H.H., Merrit, L.L. y Dean, J.A., **Métodos instrumentales de análisis**, Compañía Editorial Continental, 1985.
- Wilson, L.A.; Birmingham, V.A.; Moon, D.P. y Snyder, H.E. Isolation and characterization of starch from mature soybeans. **Cereal Chem.** 55(5):661-670,1978.
- Wong, D.W.S., **Química de los alimentos: mecanismos y teoría**, Acribia, Zaragoza, 1995.
- Pomeranz, Y., **Functional Properties of Food Components**, Academic Press, Inc. , Orlando, 1985.

#### Páginas web de interés

- Código Alimentario Argentino actualizado. <http://www.anmat.gov.ar/codigoa/caa1.htm>
- Ministerio de Agricultura, ganadería y pesca. <http://www.minagri.gob.ar/site/index.php>
- Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. <http://www.senasa.gov.ar/indexhtml.php>
- Instituto Nacional de Tecnología Argopecuaria. <http://inta.gob.ar/>
- Food and Drug Adminsitration. <http://www.fda.gov/Food/default.htm>
- Joint Expert Committe on Food Additives. <http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-additives/search.html?lang=es>
- Organización de la Naciones Unidas para La Alimentación y La Agricultura. [http://www.fao.org/index\\_es.htm](http://www.fao.org/index_es.htm)
- Unión Europea, legislación sobre alimentos. [http://ec.europa.eu/food/food/foodlaw/index\\_es.htm](http://ec.europa.eu/food/food/foodlaw/index_es.htm)
- Normas internacionales sobre alimentos. <http://www.codexalimentarius.org/codex-home/es/>

## REGIMEN DE APROBACION DE LA MATERIA

- La cursada de los trabajos prácticos incluye problemas y explicaciones de métodos de análisis y trabajos de laboratorio. Requieren la asistencia obligatoria.
- Se permitirá un máximo de 2 (dos) ausentes a las clases prácticas durante todo el cuatrimestre. La asistencia se tomará a los 15 minutos del horario del inicio del turno; en caso de llegar más tarde el alumno podrá asistir a la clase, pero será considerado como ausente.
- La cursada se aprobará con 2 exámenes parciales. Los mismos se aprueban con un mínimo de 6 (seis) puntos cada uno. Si el estudiante no alcanzara el puntaje mínimo para aprobar o si hubiese estado ausente, podrá recuperar el o los parciales en cuestión. Cada parcial práctico podrá ser recuperado solo una vez.

**PROMOCIÓN:** Para promocionar la materia, se debe obtener un puntaje mínimo de 7 puntos en los exámenes y el promedio de ambos debe ser de 8 puntos.

**FINAL:** Se deberá rendir un final teórico, con carácter obligatorio. Es condición para rendir el final, tener aprobados los trabajos prácticos.

**NOTA:** La nota final de la materia tendrá en cuenta el desempeño global del alumno durante los trabajos prácticos.

## INTERROGATORIOS INICIALES

En los interrogatorios iniciales se deberán conocer los siguientes temas:

- **Preparación y toma de muestra.**
- **Determinación de componentes en los alimentos:**
  - Humedad y sólidos totales
  - Cenizas
  - Nitrógeno y proteína bruta
  - Grasa
  - Fibra dietaria
  - Azúcares

Fundamentos de todos los métodos analíticos incluidos en la guía de Trabajos Prácticos. Expresión de los resultados. Criterios de selección de métodos. Necesidad de normalización de las técnicas. Ejercicios de aplicación.

- **Alteraciones de lípidos:** Concepto de rancidez hidrolítica y oxidativa. Fundamentos de los métodos de medición de índices de acidez y de peróxido. Ejercicios de aplicación.

- **Propiedades funcionales del almidón:** Estructura química y tipos de almidón. Gelatinización. Definición de gel. Gelificación. Retrogradación. Concepto de propiedad funcional. Ejercicios de aplicación.

- **Productos azucarados:** Miel. Características generales. Composición. Métodos de valoración químicos de hidratos de carbono (Munson y Walker, iodometría) y físicos (polarimetría y refractometría). Fundamento de las técnicas incluidas en la guía de T.P. Normas de higiene y seguridad a tener en cuenta durante la práctica. Legislación argentina.

- **Capacidad emulsionante de proteínas.** Concepto de propiedad funcional. Definición de emulsión. Acción de las proteínas como emulsionantes. Fundamento del método de medición de la capacidad emulsionante. Ejercicios de aplicación.

## **REGLAS BÁSICAS DE HIGIENE Y SEGURIDAD EN LABORATORIOS**

Las prácticas que se realizan en los laboratorios presentan riesgos propios de cada actividad. Estas reglas básicas son un conjunto de normas destinadas a proteger la salud de los estudiantes y a evitar accidentes y contaminaciones tanto dentro del ámbito de trabajo, como hacia el exterior.

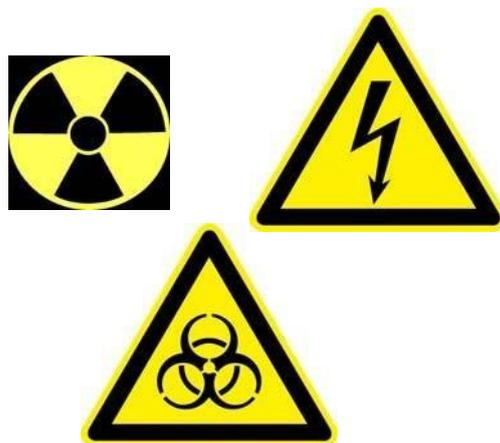
**La información**, es un elemento clave en la seguridad, que permite reconocer y minimizar o evitar los riesgos presentes en el laboratorio. Es fundamental respetar la metodología de cada técnica, y trabajar con cuidado y en forma ordenada.

### **MEDIDAS GENERALES**

1. Se debe conocer la ubicación de los elementos de seguridad en el lugar de trabajo, tales como: matafuegos, salidas de emergencia, mantas ignífugas, lavajojos, gabinete para contener derrames, accionamiento de alarmas, etc.
2. No se debe comer, beber ó maquillarse en el laboratorio.
3. No se deben guardar alimentos en heladeras que contengan drogas o soluciones preparadas.
4. Se debe utilizar vestimenta apropiada para realizar trabajos de laboratorio, guardapolvo abrochado (preferentemente de algodón y de mangas largas) y zapatos cerrados. Evitar el uso de accesorios colgantes (aros, pulseras, collares, etc.) y cabello recogido.
5. Las mesadas de trabajo, deben estar despejadas, sin libros, ni abrigo ni objetos personales. Es imprescindible mantener el orden y la limpieza. Cada persona es responsable directa de la zona que le ha sido asignada y de todos los lugares comunes.
6. Las manos deben lavarse cuidadosamente después de cualquier manipulación de laboratorio y antes de retirarse del mismo.
7. Se deben utilizar guantes apropiados para evitar el contacto con sustancias química o material biológico. Toda persona cuyos guantes se encuentren contaminados no deberá tocar objetos, ni superficies, tales como: teléfono, lapiceras, manijas de cajones o puertas, cuadernos, etc.
8. No se permite correr en los laboratorios.
9. No se deben bloquear las rutas de escape o pasillos con bancos, sillas, equipos, máquinas u otros elementos que entorpezcan la correcta circulación.
10. De aviso inmediato al docente responsable si encuentra instalaciones eléctricas y de gas precarias o provisionarias.
11. No utilice equipos (Ej. Rotavap, columnas de destilación, sonicadores, estufas, etc.) sin haber recibido entrenamiento previo y sin supervisión durante su uso.
12. Toda herida o abrasión, aún los pequeños cortes que puedan producirse

durante el trabajo práctico deben ser informados al Docente. Los laboratorios cuentan con un botiquín de primeros auxilios con los elementos indispensables para atender casos de emergencia.

13. Respete las señales de advertencia. (ej.: radiaciones, riesgo eléctrico, riesgo biológico, etc.)



### **LABORATORIOS DE QUÍMICA**

- No se permite pipetear con la boca.
- Siempre que sea necesario proteger los ojos y la cara de salpicaduras o impactos se utilizarán anteojos de seguridad, pantallas faciales u otros dispositivos de protección.
- Cuando se manipulen productos químicos que generen vapores o puedan provocar proyecciones, se evitará el uso de lentes de contacto.
- No utilice el contenido de un recipiente que no esté identificado. Los envases que contengan agentes químicos deben adecuadamente etiquetados con la denominación del compuesto y el tipo de riesgo (Ej.: corrosivo, tóxico, inflamable, oxidante, radiactivo, explosivo o nocivo. Buscar información sobre el Sistema Globalmente Armonizado (SGA) sobre rotulado.



- Al almacenar sustancias químicas se debe considerar las incompatibilidades que dan lugar a reacciones peligrosas. Consultar con el Docente.
- No almacenar en estantes sobre mesadas sustancias corrosivas y en caso de ácidos o álcalis concentrados (mayor de 2N) deben ser mantenidos en bandejas de material adecuado.
- Las prácticas que produzcan gases, vapores, humos o partículas, y que puedan ser riesgosas por inhalación deben llevarse a cabo bajo campana.
- Se debe verificar la ausencia de vapores inflamables antes de encender una fuente de ignición.
- No se debe trabajar con materiales inflamables o solventes sobre llama directa o cerca de las mismas. Para calentamiento, sólo se utilizarán resistencias eléctricas o planchas calefactoras blindadas. Se prestará especial atención al punto de inflamación y de autoignición de la sustancia.
- Está prohibido descartar líquidos inflamables o tóxicos o corrosivos por los desagües de las piletas, sanitarios o recipientes comunes para residuos. Se deben seguir las pautas para la gestión de residuos.
- Los cilindros de gases comprimidos y licuados deben estar en posición vertical sujetos con correas o cadenas a la pared en sitios de poca circulación, de ser posible fuera del lugar de trabajo, protegidos de la humedad y fuentes de calor.
- El material de vidrio roto no se depositará con los residuos comunes. Será conveniente envolverlo en papel y ubicarlo en cajas resistentes.
- Todo recipiente que hubiera contenido agentes químicos puede ser descartado junto a los residuos comunes vaciado totalmente, enjuagado apropiadamente y sin etiquetas.
- Está terminantemente prohibido hacer experimentos no autorizados por el Docente. No substituya nunca, un producto químico por otro en una práctica.
- Se debe utilizar respiradores N95 cuando exista riesgos de generación de

polvos durante operaciones como por ejemplo pesadas de sustancias tóxicas

- Antes de utilizar unas sustancias químicas, debe informarse adecuadamente leyendo las hojas de seguridad. Preguntar al docente toda duda.
- Ante un derrame de productos químicos preguntar al docente como se debe proceder.

### **PAUTAS PARA LA GESTIÓN DE RESIDUOS PELIGROSOS Y PATOGENICOS**

***Peligrosos*** (ácidos, álcalis, oxidantes, corrosivos, guantes, trapos, etc.):

- Los residuos líquidos se deberán acumular en Bidones provistos por el Servicio de Higiene y Seguridad. Mantenerlos tapado. No mezclar sin consultar al Docente.
- Los residuos sólidos se deberán acumular en bolsas amarillas dentro de cajas provistas por el Servicio de Higiene y Seguridad. No tirar residuos domésticos.

***Patogénicos*** (tips, guantes, cajas de petri, etc.):

- Los residuos biológicos (sangre, tejidos animales o humanos y todo el material que haya estado en contacto con ellos) se deberán acumular en bolsas rojas dentro de cestos con tapa provistos por el Servicio de Higiene y Seguridad. Quedan exceptuados los elementos corto-punzantes (agujas, hojas de bisturíes), que se recogerán en contenedores especiales.

***La seguridad la disfrutamos todos. Actuemos  
responsablemente***

**ANTE CUALQUIER DUDA CONSULTE CON EL  
DOCENTE**

## **PAUTAS DE ACTUACIÓN EN CASO DE EMERGENCIAS**

**En caso de accidente, avisar inmediatamente al Docente. El Docente es quien lo guiara en la Emergencia. Siga sus instrucciones.**

### **Emergencias Médicas**

- Si ocurre una emergencia tal como cortes o abrasiones, quemaduras o ingestión accidental de algún producto químico, tóxico o peligroso, se deberá proceder en la siguiente forma:
- A los accidentados se les proveerá los primeros auxilios
- Se da aviso al Departamento de Seguridad y Control (Int. 58311 Emergencias), NO traslade al accidentado hasta el Servicio Médico, desde Seguridad y Control se dará aviso al Servicio Médico o en su defecto a la ambulancia.
- El Docente responsable del turno o una autoridad del Departamento, deberá completar el Formulario de Incidentes y enviarlo al Servicio de Higiene y Seguridad para su conocimiento y evaluación.

### **Quemaduras**

Las pequeñas quemaduras producidas por material caliente, baños, placas o mantas calefactoras, etc., se tratarán lavando la zona afectada con agua fría durante 10-15 minutos. Las quemaduras más graves requieren atención médica inmediata. No utilices cremas o gasa furasina en las quemaduras graves.

### **Cortes**

Los cortes se tienen que lavar bien, con abundante agua corriente, durante 10 minutos como mínimo. Si son pequeños y dejan de sangrar en poco tiempo, lávalos con agua y jabón y tápalos con una venda o apósito adecuados. Si son grandes y no paran de sangrar, requiere asistencia médica inmediata.

### **Derrames de productos químicos sobre la piel**

Los productos químicos que se hayan vertido sobre la piel han de ser lavados inmediatamente con agua corriente abundante, como mínimo durante 15 minutos. Es necesario sacarle toda la ropa contaminada a la persona afectada lo antes posible. El lavado es muy importante para reducir la gravedad y la extensión de la herida. Requiere asistencia médica.

### **Actuación en caso de producirse corrosiones en la piel**

Por ácidos: Sacar o cortar lo más rápidamente posible la ropa. Lavar con abundante agua la zona afectada, usar el duchador. Esperar la asistencia médica.

Por álcalis :Lavar la zona afectada con agua corriente abundante Secar y esperar la asistencia médica.

### **Fuego en el cuerpo:**

Si se te incendia la ropa, pide ayuda. No se debe correr, tiene que tirarse en el suelo y rodar sobre si mismo para apagar las llamas. Es tu responsabilidad ayudar a alguien que se esté quemando. Cúbrirlo con una manta ignifuga, conducirlo hasta la ducha de seguridad, si está cerca. No utilices nunca un extintor sobre una persona. Una vez apagado el fuego, mantener a la persona tendida, retirar la manta, hasta que llegue la asistencia médica.

### **Actuación en caso de producirse corrosiones en los ojos:**

En este caso el tiempo es esencial (menos de 10 segundos). Cuanto antes se lave el ojo, menos grave será el daño producido. Lavar los dos ojos con agua corriente abundante durante 15 minutos como mínimo en el lavaojos, o con solución fisiológica. Es necesario mantener los ojos abiertos con la ayuda de los dedos para facilitar el lavado debajo de los párpados. Es necesario recibir asistencia médica, por pequeña que parezca la lesión.

### **Actuación en caso de ingestión de productos químicos:**

Antes de cualquier actuación concreta pide asistencia médica. Si el paciente está inconsciente, ponerlo en posición inclinada, con la cabeza de lado. Si está consciente, mantenerlo apoyado. No dejarlo sólo. No provocar el vómito si el producto ingerido es corrosivo.

### **Actuación en caso de inhalación de productos químicos:**

Identificar el vapor tóxico. Si se trata de un gas, utilizar el tipo adecuado de máscara para gases durante el tiempo que dure el rescate del accidentado. No arriesgarse. Conducir inmediatamente la persona afectada a un sitio con aire fresco. Requiere asistencia médica lo antes posible. Ante el primer síntoma de dificultad respiratoria, iniciar la respiración artificial boca a boca.

## **INCENDIOS**

### **Fuego en el laboratorio**

- Mantenga la calma
- Informe al docente responsable.
- Se dará aviso inmediatamente al Dpto. de Seguridad y Control (Interno 58311) informando el lugar y las características del siniestro

## **Fuego pequeños**

- Si el fuego es pequeño y localizado trate de apagarlo utilizando un extintor adecuado, o cubriendo el fuego con un recipiente de tamaño adecuado o una manta ignífuga, para ahogarlo.
- Retirar los productos químicos inflamables que estén cerca del fuego.
- No utilices nunca agua para extinguir un fuego provocado por la inflamación de un solvente.

## **Fuegos grandes**

- Si el fuego es de consideración, no se arriesgue y manteniendo la calma ponga en marcha el plan de evacuación. Apague los equipos eléctricos y cierre las llaves de gas y ventanas.
- Acate las indicaciones de los brigadistas. Evacue la zona por la ruta asignada.
- No corra, camine rápido, cerrando a su paso la mayor cantidad de puertas. No utilice ascensores. Descienda siempre que sea posible.
- No lleve consigo objetos, pueden entorpecer su salida.
- Si pudo salir por ninguna causa vuelva a entrar. Deje que los equipos especializados se encarguen.

## **Derrames mayores de productos químicos**

- Avise al Departamento de Seguridad y Control (5825-8311 o Int. 58311 Emergencias)
- Atender a cualquier persona que pueda haber sido afectada
- Notificar a las personas que se encuentren en las áreas cercanas acerca del Buscar los elementos en el Gabinete para contener derrames.
- Coloque la cinta de demarcación para advertir la zona afectada
- Evacuar a toda persona no esencial del área del derrame
- Si el derrame es de material inflamable, apagar las fuentes de ignición, y las fuentes de calor.
- Evite respirar los vapores del material derramado, si es necesario utilizar una máscara respiratoria con filtros apropiados al tipo de derrame
- Ventilar la zona
- Utilizar los elementos de protección personal tales como equipos de ropa resistente a ácidos, bases y solventes orgánicos y
- Confinar o contener el derrame, evitando que se Para ello extender los cordones en el contorno del derrame.
- Luego absorber con los paños sobre el derrame. ( no arrastrar)
- Deje actuar y luego recoger con pala y colocar el residuo en la bolsa roja (patogénicos) o amarilla (peligrosos) y ciérrela.
- Si el derrame es de algún elemento muy volátil deje dentro de la campana hasta que lo retire para su disposición.
- Disponer la bolsa con los residuos (consultar al Servicio de Higiene y Seguridad, 58174)

- Lave el área del derrame con agua y jabón. Seque bien
- Cuidadosamente retire y limpie todos los elementos que puedan haber sido salpicados por el derrame
- Lave los guantes, la máscara y ropa

**Talón para entregar al docente:**

**Fecha:** .....

**Declaro haber leído las REGLAS BÁSICAS DE HIGIENE Y SEGURIDAD EN LABORATORIOS DE QUÍMICA Y BIOLOGÍA – PROCEDIMIENTOS ANTE EMERGENCIAS que aparecen en la guía de Trabajos Prácticos de la Materia**

.....

**Turno de Laboratorio:** .....

**En caso de que cambie mi estado de salud o en caso de embarazo me comprometo a dar aviso al docente que se encuentra a cargo de la materia.**

**Firma:** .....

**Aclaración:** .....

**L.U. N°:** .....

## **INTRODUCCION**

Los trabajos prácticos comprenden la realización de algunos métodos de uso general para la determinación del contenido de los componentes básicos de los alimentos: agua, minerales, proteína, lípidos, hidratos de carbono y fibra.

Con la finalidad de poder determinar alteraciones y adulteraciones que pueden sufrir los alimentos, se incluyen dos prácticas en la que se determinan índices de alteración en lípidos y de alteración y adulteración en miel.

Es importante estudiar además las características fisicoquímicas de los componentes de los alimentos. Con este fin se presentan dos prácticas que abarcan el estudio de algunas propiedades funcionales de almidón y proteínas.

El número de análisis que es necesario efectuar en cada determinación para lograr resultados confiables depende de la muestra que se somete al análisis y de la precisión del método aplicado.

La muestra debe ser representativa del alimento analizado. Dado que en general los alimentos son heterogéneos, es difícil obtener una sola muestra absolutamente representativa para el análisis de laboratorio. La muestra de laboratorio debe ser tan homogénea como sea posible. El método de homogeneización dependerá del tipo de alimento que se está analizando. Por lo tanto, es de fundamental importancia la toma de muestra, el manipuleo, la preparación y la forma de conservación a fin de evitar alteraciones, antes de someterla al análisis.

La elección del método de análisis depende de su finalidad; a veces interesa más la rapidez en obtener un resultado que la exactitud.

## DETERMINACIÓN DE MACROCOMPONENTES

### Métodos de análisis de macrocomponentes que se emplearán en el laboratorio:

1. Grasas: Soxhlet, Rosse-Gottlieb
2. Proteínas: Kjeldahl
3. Hidratos de Carbono: Azúcares por métodos enzimáticos  
     Fibra insoluble en detergente neutro
4. Agua / Humedad: por secado en estufa.
5. Cenizas

### Esquema de trabajo:

	<u>Leche en polvo</u>	<u>Dulce de Leche</u>	<u>Galletitas integrales</u>	<u>Miel</u>
<u>Grasas (Soxhlet)</u>	-	-	x	-
<u>Grasas (Rosse-Gottlieb modificado)</u>	x	x	-	-
<u>Proteínas</u>	x	x	-	-
<u>Fibra</u>	-	-	Alimento entregado por la cátedra	-
<u>Agua / humedad</u>	x	x	x	x
<u>Cenizas</u>	-	-	x	-
<u>Azúcares</u>	-	-	-	x

## MODELO DE INFORME

Informe N° ...

Nombre y apellido:.....

### 1.- MUESTRA ANALIZADA

Identificación (marca, lote):.....

Características:.....

#### Determinaciones realizadas:

a) Nombre de la determinación (Referencia de la metodología)  
Resultado obtenido

b) Nombre de la determinación (Referencia de la metodología)  
Resultado obtenido

#### Conclusiones

a) Código Alimentario Argentino  
Registrar las especificaciones de esta norma respecto de determinaciones físicoquímicas para este tipo de alimento (o el más parecido). Comparar con los resultados obtenidos.

b) Rotulado  
Copiar los valores dados en el rotulado nutricional y comparar con los resultados obtenidos.

### 2.- DATOS DE LABORATORIO

#### Determinaciones realizadas:

a) Nombre de la determinación (Referencia de la metodología)  
Resultado obtenido  
Datos de laboratorio (masa de muestra, pesadas, diluciones, etc.)

b) Nombre de la determinación (Referencia de la metodología)  
Resultado obtenido  
Datos de laboratorio (masa de muestra, pesadas, diluciones, etc.)

### 3.- OBSERVACIONES

En este apartado puede volcar las observaciones que considere oportunas. Por ejemplo, explicar por qué tuvo que repetir alguna determinación, interpretar algún resultado anómalo.

## HUMEDAD Y SÓLIDOS TOTALES

La determinación de humedad es una de las más importantes y ampliamente usada en el control y procesamiento de alimentos. Influye en la estructura, apariencia y gusto de los productos, determina su susceptibilidad al deterioro (físico, químico o microbiológico) y permite detectar adulteraciones.

A veces, es difícil la determinación exacta del contenido total de agua. En la práctica es adecuado el método que proporcione una buena repetibilidad con resultados comparables, siempre que ese mismo procedimiento se siga estrictamente en cada ocasión y el alimento no contenga sustancias que puedan interferir en el método.

### **Determinación del contenido de agua**

Los métodos habitualmente usados implican la deshidratación de la muestra hasta peso constante o en forma estandarizada a determinadas temperaturas y presiones. Otros métodos se basan en la destilación directa o azeotrópica con un solvente inmiscible.

### **Método indirecto por secado en estufa a 100°C (CAA; 13.21, 1989)**

Pesar suficiente cantidad de muestra en un recipiente adecuado<sup>(1)</sup>, previamente secado en estufa a 100°C durante media hora, enfriado en desecador y tarado.

Colocar en estufa durante 2 - 3 horas a 98 - 100°C. Enfriar luego en desecador y pesar tan pronto como se equilibre con la temperatura ambiente (25 - 30 minutos). Para llevar hasta peso constante, se vuelve a colocar en la estufa por intervalos de una hora.

Expresar el peso perdido por la muestra cómo % de humedad (o agua).

### **Notas:**

En algunos casos de muestras con elevado contenido de agua, puede añadirse arena calcinada, para conseguir una mayor superficie de secado, de manera que quede una capa delgada en el fondo del cristizador, y tarar el conjunto. En el caso de muestras sólidas o semisólidas se aconseja colocar una varilla corta para poder mezclar bien la muestra con la arena.

(1) *Galletitas Integrales*: pesar en un pesafiltro con tapa exactamente 3-3,5 g de muestra.

### **Método indirecto de secado en estufa de vacío.**

Los productos con elevado contenido en azúcares, deben secarse en estufa de vacío a temperaturas que no excedan los 70°C, ya que a esta temperatura algunos azúcares como la fructosa, se deshidratan.

Pesar suficiente cantidad de muestra en un recipiente adecuado <sup>(2)</sup> previamente secado en estufa a 100°C durante media hora, enfriado en desecador y tarado.

Introducir en estufa de vacío, según la temperatura correspondiente de acuerdo al alimento, y secar hasta llevar a peso constante. Al retirar de la estufa, enfriar en desecador y pesar rápidamente. Expresar el peso perdido de la muestra como % de humedad.

### **Determinación de sólidos por refractometría. (A.O.A.C., 969.38 B, 1990).**

#### **Procedimiento:**

1. Encender el instrumento (refractómetro AR200, Reichert) presionando la tecla “CAL”.
2. Colocar agua destilada y presionar “CAL”.
3. Una vez finalizada la calibración el equipo presenta el mensaje “Set point cal successful”.
4. Colocar una pequeña cantidad de muestra <sup>(3)</sup> en el refractómetro, permitir que se establezca la temperatura durante un minuto y presionar la tecla “READ”. Realizar la medición utilizando el modo “nd-TC” que entrega los resultados como índice de refracción compensado por temperatura (20°C). Hacer 2 o 3 lecturas y promediarlas.
5. Calcular el % de agua a partir de la siguiente tabla (A.O.A.C., 940.39, 1990):

(2) *Leche en polvo:* pesar en un pesafiltro con tapa exactamente 3-4 g de muestra.

*Dulce de Leche:* colocar una varilla de vidrio corta y arena calcinada en un cristizador de diámetro no menor de 5 cm. Pesar en el cristizador tarado exactamente 2-3 g de muestra. Mezclar bien la muestra con la arena.

(3) *La determinación se realizará sobre una muestra de miel. Si la misma presenta cristalización de azúcares (granulación) debe homogeneizarse previamente introduciendo el envase en un baño de agua a una temperatura no mayor de 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.*

**Table 969.38 Relationship Between Refractive Index and Water Contents of Honeys<sup>a</sup>**

Water Content, %	Refractive Index			Water Content, %	Refractive Index		
	20° C <sup>b</sup>	60° F <sup>c</sup>	40° C		20° C <sup>b</sup>	60° F <sup>c</sup>	40° C
13.0	1.5044	1.5053	1.4998	19.0	1.4890	1.4900	1.4845
13.2	1.5038	1.5048	1.4993	19.2	1.4885	1.4895	1.4840
13.4	1.5033	1.5043	1.4988	19.4	1.4880	1.4890	1.4835
13.6	1.5028	1.5038	1.4983	19.6	1.4875	1.4885	1.4829
13.8	1.5023	1.5033	1.4978	19.8	1.4870	1.4880	1.4824
14.0	1.5018	1.5027	1.4973	20.0	1.4865	1.4875	1.4819
14.2	1.5012	1.5022	1.4968	20.2	1.4860	1.4870	1.4814
14.4	1.5007	1.5017	1.4962	20.4	1.4855	1.4865	1.4809
14.6	1.5002	1.5012	1.4957	20.6	1.4850	1.4860	1.4804
14.8	1.4997	1.5007	1.4952	20.8	1.4845	1.4855	1.4799
15.0	1.4992	1.5002	1.4947	21.0	1.4840	1.4850	1.4794
15.2	1.4987	1.4997	1.4942	21.2	1.4835	1.4845	1.4789
15.4	1.4982	1.4992	1.4937	21.4	1.4830	1.4840	1.4783
15.6	1.4976	1.4986	1.4932	21.6	1.4825	1.4835	1.4778
15.8	1.4971	1.4981	1.4927	21.8	1.4820	1.4830	1.4773
16.0	1.4966	1.4976	1.4922	22.0	1.4815	1.4825	1.4768
16.2	1.4961	1.4971	1.4916	22.2	1.4810		
16.4	1.4956	1.4966	1.4911	22.4	1.4805		
16.6	1.4951	1.4961	1.4906	22.6	1.4800		
16.8	1.4946	1.4956	1.4901	22.8	1.4795		
17.0	1.4940	1.4951	1.4896	23.0	1.4790		
17.2	1.4935	1.4946	1.4891	23.2	1.4785		
17.4	1.4930	1.4940	1.4886	23.4	1.4780		
17.6	1.4925	1.4935	1.4881	23.6	1.4775		
17.8	1.4920	1.4930	1.4876	23.8	1.4770		
18.0	1.4915	1.4925	1.4870	24.0	1.4765		
18.2	1.4910	1.4920	1.4865	24.2	1.4760		
18.4	1.4905	1.4915	1.4860	24.4	1.4755		
18.6	1.4900	1.4910	1.4855	24.6	1.4750		
18.8	1.4895	1.4905	1.4850	24.8	1.4745		
				25.0	1.4740		

<sup>a</sup> Values for 20°C and 60°F are Wedmore's calculations (Bee World 36, 197(1955)); 40°C values are calculated from Auerbach and Borries equation (Z. Nahr. Genussm. 22, 353-358(1924)). Values >22.0% were extended by FAO/WHO Codex Committee on Methods of Analysis and Sampling (1968).

<sup>b</sup> If refractive index is measured at temperature above (below) 20°C, add (subtract) 0.00023°C above (below) 20°C before using table.

<sup>c</sup> If refractive index is measured at temperature above (below) 60°F, add (subtract) 0.00013°F above (below) 60°F before using table.

## CENIZAS

Se consideran como tal el residuo inorgánico que queda después de incinerar la materia orgánica, generalmente a 500-550°C. Su composición rara vez corresponde a la de las materias minerales del producto debido a pérdidas por volatilización, descomposición e interacción entre constituyentes.

El valor principal de la determinación de cenizas es que supone un método sencillo para determinar la calidad de ciertos alimentos, determinar su pureza y detectar adulterantes inorgánicos.

### **Determinación de cenizas totales – Método directo (A.O.A.C., 923.03, 1990).**

Pesar la cantidad de alimento adecuada <sup>(4)</sup> en una cápsula de porcelana de unos 6 cm de diámetro, previamente tarada <sup>(5)</sup>. Incinerar con mechero sobre tela de amianto hasta carbonización y luego en mufla a 500°-550°C hasta obtener cenizas gris claro o cuando se llega a peso constante. Enfriar en desecador y pesar tan pronto alcance la temperatura ambiente (aproximadamente 45 minutos).

El resultado se expresa en % de muestra.

#### **Notas:**

1. Esta determinación debe realizarse por duplicado.
2. Si las cenizas quedan con trazas de carbón, humedecerlas con un poco de agua, romper las partículas de carbón con una varilla de punta chata, enjuagarla y evaporar cuidadosamente a sequedad sobre un triángulo colocado sobre la tela metálica, antes de volver a calcinar. Repetir el tratamiento tantas veces como sea necesario.
3. Los productos que contienen mucha agua se secan primero sobre una plancha eléctrica caliente, a baño María o en un baño de arena.
4. Cuando se determinan cenizas en harina de trigo (para su tipificación), se calcina a 900° ± 20°C. Como en este producto la concentración de cloruros es baja, las pérdidas por volatilización no son significativas.

(4) *Galletitas Integrales*: 3-5 g

(5) *Calcinar la cápsula vacía en mufla a 500° - 550°C, enfriada en desecador y pesar hasta constancia de peso.*

## NITROGENO TOTAL Y PROTEINA BRUTA

En los análisis de rutina se suele determinar el contenido de nitrógeno total y expresar el conjunto de sustancias nitrogenadas como "porcentaje de nitrógeno total" o como "porcentaje de proteínas". La estimación del contenido de proteínas de los alimentos a partir de la determinación del contenido de nitrógeno total no siempre es correcta. Pero en general, el contenido de compuestos nitrogenados no proteicos es pequeño comparado al de proteínas en la mayoría de los alimentos.

En el análisis de alimentos el método de Kjeldahl es el que ha alcanzado la mayor importancia. Desde la primera publicación por Kjeldahl el método para determinar nitrógeno orgánico ha sufrido muchos cambios.

### **Método de Kjeldahl-Arnold-Gunning (A.O.A.C., 928.08, 1990).**

#### **Reactivos:**

- Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> p.a.
- CuSO<sub>4</sub> p.a. (puede usarse CuSO<sub>4</sub> · 5 H<sub>2</sub>O)
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado
- Solución concentrada de NaOH (40 o 45 %)
- Solución saturada de ácido bórico
- Solución HCl 0,1 N valorado
- Indicador Combinado: 0,016% de rojo de metilo y 0,083% de verde de bromocresol em alcohol

#### Etapa de digestión

Pesar la cantidad de muestra adecuada (de acuerdo al contenido estimado de nitrógeno) <sup>(6)</sup> en un pequeño trozo de papel satinado. Envolverla y dejarla caer en un tubo de digestión de Kjeldahl. Agregar 6 g de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,3 g de CuSO<sub>4</sub> (aprox. 0,8 g de CuSO<sub>4</sub> · 5 H<sub>2</sub>O) y 12 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado. Seguir las instrucciones del equipo para la digestión de la muestra, utilizando las siguientes condiciones:

1° paso: 125°C – 15 minutos

2° paso: 300°C – 15 minutos

3° Paso 400°C – 90 minutos

(6) *Leche en polvo*: 0,3 g; *Dulce de Leche*: 1 g

### Etapa de destilación

Colocar 50 ml de solución saturada de ácido bórico en un Erlenmeyer de 500 ml y agregar unas gotitas de indicador combinado (aprox. 0,15 ml).

Realizar la destilación de acuerdo a las indicaciones del equipo.

### Etapa de titulación

El destilado se titula con HCl 0,1 N valorado.

Expresar el resultado como % proteína según las siguientes expresiones:

$$\% N = \frac{(V.N.f) \text{ ácido} \cdot \text{Peq}_N \cdot 100}{1000 \cdot m_M}$$

y

$$\% \text{ proteína} = \% N \cdot f_P$$

Donde: V: volumen  
N: normalidad  
f: factor de corrección  
Peq<sub>N</sub>: Peso equivalente de nitrógeno  
f<sub>P</sub>: factor de conversión de nitrógeno a proteína  
m<sub>M</sub>: masa de muestra (g)

Factores para la conversión de N a proteína:

- Carne: 6,25 (es el más empleado si se desconoce la procedencia de la proteína)
- Leche: 6,38
- Gelatina: 5,55
- Trigo y vegetales en general: 5,70
- Arroz: 5,85
- Huevos: 6,68

## GRASA

La grasa se determina normalmente o bien por extracción directa con un solvente, o luego de un tratamiento previo para separar lípidos emulsionados o combinados con otros componentes del alimento.

La grasa libre se puede determinar por extracción del material seco y reducido a polvo con un solvente orgánico, generalmente éter etílico, hexano o cloruro de metileno en un aparato de extracción continua. En la práctica se utilizará el tipo Soxhlet en el que se realiza una extracción intermitente con un exceso de solvente recientemente condensado.

En aquellos alimentos en los que los lípidos formen emulsiones muy estables, el contenido graso se determinará por el método de Gerber o el de Rose-Gottlieb.

### **Método directo por extracción con solvente orgánico (grasa bruta) (AOAC, 960.39, 1990)**

Reactivos:

- Cloruro de metileno
- Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro

Pesar una cantidad adecuada de muestra en un cristizador y secarla, preferiblemente en una estufa de vacío a 70°C (o utilizar el residuo de la determinación del contenido de agua si se realizó por el método de secado en estufa). Pesar exactamente una cantidad adecuada de la muestra deshidratada <sup>(7)</sup> en un cartucho de celulosa. Cubrir con un poco de algodón y colocar en el cuerpo del extractor Soxhlet.

En el balón de extracción colocar 2 o 3 piedras pómez chicas y cargar el cuerpo del extractor una vez y media con éter etílico anhidro (ver esquema adjunto). Extraer durante 4 h como mínimo, calentando con una intensidad tal que se logre una velocidad de condensación de 5 ó 6 gotas por segundo.

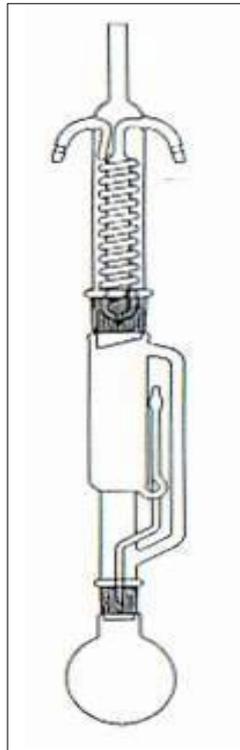
Una vez finalizada la extracción destilar la mayor parte del solvente a baño María, recuperándolo. Pasar luego el extracto a un Erlenmeyer chico tarado, con la ayuda de un poco de solvente. Evaporar a baño María y secar a 100°C durante 30 min. Enfriar y pesar.

(7) Galletitas Integrales: 2 g. NO SERÁ NECESARIO SECAR ESTA MUESTRA (consultar con los docentes)

El resultado se expresa como % en la muestra.

**Nota:**

En el caso de alimentos de difícil trasvasamiento cuantitativo, es conveniente secar la muestra en un cristizador forrado con papel de aluminio. Una vez secada la muestra, se la encierra en el papel de aluminio y se trasvasa el paquete así obtenido al cartucho de celulosa. Es conveniente perforar el papel de aluminio con una varilla de manera tal que iniciada la extracción, haya en el cartucho de celulosa una circulación y drenaje continuo del solvente.



Extractor Soxhlet

**Método de Rose-Gottlieb (A.O.A.C., 989.05, 1990)**

La determinación de materia grasa se realizará en base a una **modificación del método de Rose Gottlieb** utilizado en leche. Por razones de organización en el laboratorio de TP esta

determinación deberá realizarse A PRIMERA HORA (su realización exige una decantación de 24 h pero se disminuirá ese tiempo a 4 horas).

En la práctica se va a pesar la muestra <sup>(8)</sup> en un papel satinado previamente tarado (lo más pequeño posible). Encerrarla parcialmente en el papel para que tome contacto con los reactivos, e introducirla hasta el fondo de una probeta de 50 ml con tapa. Agregar 5 ml de agua y agitar hasta que la muestra se disuelva (si es necesario, calentar en baño María a 60°C).

Enfriar y adicionar 1 ml de NH<sub>4</sub>OH cc, agitar y agregar 5 ml de etanol. Agitar y agregar con pipeta aforada 10 ml de éter etílico. Agitar 30 segundos y agregar, también con pipeta aforada, 10 ml de éter de petróleo Volver a agitar y leer bien el volumen total de la mezcla. Dejar reposar 4 horas en la heladera (hay que evitar la evaporación de solventes; si esto ocurriera se notará una disminución en el volumen leído). Con pipeta aforada tomar 10 ml de la fase superior etérea y evaporarlos en un pequeño cristizador tarado. Deja enfriar en desecador, pesar y expresar % de grasas teniendo en cuenta la alícuota que se pipeteó.

### **Reactivos**

- NH<sub>4</sub>OH concentrado
- Etanol
- Éter etílico
- Éter de petróleo

El método original es el que se detalla a continuación:

Pesar una cantidad adecuada de muestra en el Mojonnier previamente tarado. En el caso de muestras sólidas o semisólidas diluir con agua a 10 ml aproximadamente para disolver la muestra. Si es necesario, calentar en baño María a 60°C.

Enfriar, adicionar 1,5 ml de NH<sub>4</sub>OH y agitar. Adicionar 3 gotas de fenolftaleína para facilitar la visualización de la interfase entre el éter y el agua durante la extracción. Adicionar 10 ml de etanol, tapar y agitar durante 15 segundos.

Para la primera extracción agregar 25 ml de éter etílico, tapar el recipiente y agitar vigorosamente durante 1 minuto destapando para liberar la presión si fuera necesario. Agregar

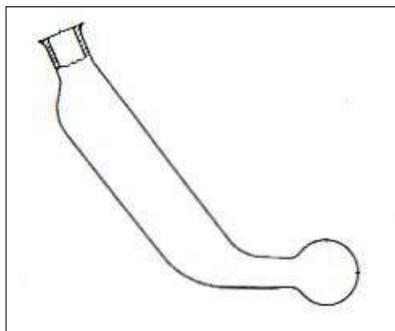
*(8) Dulce de Leche: 1 g*

*Leche en polvo: 0,5 g*

25 ml de éter de petróleo, tapar y repetir la agitación 1 minuto. Centrifugar a 600 rpm. Trasvasar la solución etérea, cuidando de no volcar parte de la fase acuosa, a un Erlenmeyer esmerilado de 250 ml previamente pesado.

Para la segunda extracción adicionar 5 ml de etanol, tapar y agitar 15 segundos. Agregar 15 ml de éter etílico y agitar 1 minuto. Agregar 15 ml de éter de petróleo y agitar 1 minuto nuevamente. Centrifugar a 600 rpm y volcar la solución etérea al Erlenmeyer junto con el primer extracto.

Repetir una tercera extracción omitiendo el agregado de etanol. Evaporar el solvente en evaporador rotatorio. Colocar luego en estufa a 100°C durante 30 minutos. Dejar enfriar en desecador y pesar.



Tubo de extracción Mojonnier

## **FIBRA DIETARIA**

### **Introducción:**

La fibra dietaria se define como el conjunto de todos los polisacáridos no digeribles por las enzimas digestivas humanas y la lignina. La mayor parte de los componentes de la fibra dietaria de los alimentos están en o asociados a la pared celular vegetal. A ellos se suman otras sustancias, componentes naturales o agregados, de los alimentos. Los principales componentes de la fibra son celulosa, hemicelulosa, pectinas y lignina.

La diversidad de estos componentes dificulta la valoración de la “fibra dietaria fisiológica”, a la que se intenta acercarse por diferentes vías. Sin embargo para el rotulado de alimentos se requiere de métodos rápidos y confiables para la determinación cuantitativa de la fibra total.

### **Método de Fibra Insoluble en Detergente Neutro (NDF) (A.O.A.C., 50(1): 50-55 (1967))**

Reactivos:

- Antiespumante
- Sulfito de sodio anhidro
- Solución de detergente neutro (dodecil sulfato de sodio, ácido etilendiamitetraacético (EDTA), trietilenglicol, buffer de pH 6,9-7,1)
- Acetona
- $\alpha$ -amilasa estable al calor
- Agua destilada en ebullición

Pesar exactamente 0,5-1,0 g de muestra perfectamente molida y transferirla a un Erlenmeyer de 250 ml esmerilado. Agregar en el siguiente orden, 100 ml de solución de detergente neutro, 0,2 ml de amilasa, 10 gotas de antiespumante y 0,5 g de sulfito de sodio. Conectar al condensador y calentar de manera tal que entre en ebullición en 5-10 min.. Cuando la solución entró en ebullición, reducir el calentamiento para evitar la formación de espuma. Hervir exactamente 60 min. (contar el tiempo a partir del momento

en que comenzó la ebullición), agitando periódicamente para suspender los sólidos adheridos a las paredes.

Filtrar inmediatamente a través de un crisol de vidrio de poro grueso previamente tarado, aplicando vacío en forma suave. Lavar el Erlenmeyer con un mínimo de agua caliente (80-90°C), volcar en el crisol y succionar hasta casi sequedad. Repetir el lavado con agua caliente dos veces más. Luego lavar dos veces con acetona (aproximadamente 5 ml por vez) y succionar hasta sequedad. Secar el crisol en estufa a 100°C durante 8 horas o toda la noche.

Calcinar durante 3 horas a 500-550°C, enfriar en desecador y pesar. La diferencia de peso obtenida se refiere a porcentaje de muestra y se consigna como fibra insoluble en detergente neutro.

**Notas:**

1. No se realizará en la práctica el agregado de amilasa debido a que la cátedra no dispone de esta enzima termo-resistente.
2. Debido a inconvenientes de orden práctico, en el laboratorio no se realizará la etapa de calcinación. El resultado se informará como el peso obtenido, referido a 100, luego del secado a 100°C.
3. Para reutilizarlos, los crisoles se deben dejar en solución sulfonítrica (1:1), preferentemente durante 1 noche; luego enjuagar abundantemente con agua destilada y, posteriormente, secar a 100°C.

## AZÚCARES

Los **azúcares** son nutrientes proveedores de energía y junto a otros hidratos de carbono superiores constituyen, en general, más del 50 % de la dieta humana. Los principales son: *sacarosa* (obtenida por ej. de caña de azúcar o remolacha azucarera); *glucosa* (proveniente de hidrólisis de almidones, principalmente de maíz); y otros como fructosa, lactosa, maltosa, etc.

Aunque los azúcares pueden determinarse por métodos químicos (métodos de reducción del cobre –A.O.A.C., 920.183, 1990, iodometría de aldosas), estos en su mayoría carecen de especificidad y no pueden distinguir la glucosa de otros monosacáridos. La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), con detector de índice de refracción, es un método de elección para el análisis cuali y cuantitativo de hidratos de carbono.

Existen además métodos enzimáticos, sensibles y específicos, para cuantificar azúcares. Se encuentran disponibles comercialmente una serie de paquetes de reactivos especialmente preparados en composición y concentración adecuadas para ser empleados en el análisis de determinados componentes de alimentos. Estos conjuntos de reactivos (o "kits") son ampliamente empleados en el área de análisis clínicos y de aguas, y se introdujeron con éxito en los laboratorios de análisis de alimentos.

### **Determinación de glucosa en una muestra de miel**

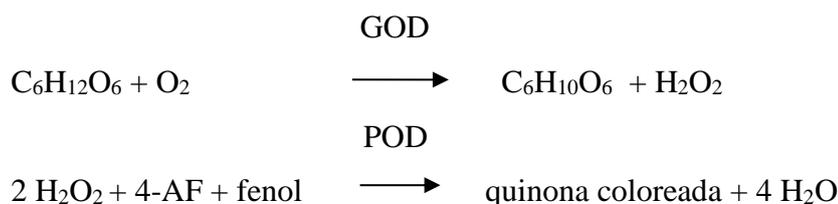
**Toma de muestra.** (A.O.A.C., 969.38 B, 1990).

Las mieles que presentan cristalización de azúcares (granulación) deben homogeneizarse introduciendo el envase en un baño de agua a una temperatura no mayor de 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.

### **Método de la glucosa oxidasa-peroxidasa (Trinder, 1972)**

La determinación de la glucosa se realizará mediante un método enzimático colorimétrico.

**Fundamento:** se basa en la oxidación de glucosa a ácido glucónico por acción de la enzima glucosa oxidasa (GOD) (E.C.1.1.3.4)<sup>1</sup> con formación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. El peróxido de hidrógeno formado, en presencia de la enzima peroxidasa (POD) (EC .11.1.7)<sup>1</sup>, produce una oxidación en la que se une el fenol con la 4-aminofenazona (4-AF) para dar una quinonaimina coloreada. La intensidad del color, medido por la absorbancia, es proporcional a la concentración de glucosa presente en la muestra.



### Materiales:

1 matraz de 100 ml  
1 vaso de 50 ml.  
1 embudo, papel de filtro.  
Tubos de ensayo corto  
Micropipeta automática (50 µl)  
Espectrofotómetro UV-visible con cubetas de 1 cm de paso de luz.

### Reactivos:

agua destilada  
solución de Carrez I: disolver 15 g de K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>·3H<sub>2</sub>O en agua y llevar a 100 ml.  
solución de Carrez II disolver 30 g de Zn(CH<sub>3</sub>.COO)<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O y llevar a 100 ml  
Kit enzimático para medición de glucosa

**Preparación de la muestra:** Pesar y diluir convenientemente la muestra tal para que la concentración de glucosa sea alrededor de 100 - 200 mg %, (considere que la muestra contiene aproximadamente 30 %). Pesar a la décima de mg y trasvasar cuantitativamente a un matraz aforado de 100 ml mediante lavados con agua destilada. Disolver mezclando y sin calentar. Añadir 0,05 ml de la solución de Carrez I (con pipeta automática) y mezclar, luego agregar 0,05 ml de solución de Carrez II, mezclar bien y

---

<sup>1</sup>Las enzimas se nombran según un código de cuatro números (EC.a.b.c.d) que hacen referencia al tipo de reacción que catalizan, al grupo catalítico y al sustrato sobre el que actúan

llevar a volumen (pueden agregarse unas gotas de etanol para prevenir la formación de espuma). Filtrar a través de papel de filtro, desechando los primeros 10 ml. Mantener la solución filtrada a 20°C. Si la solución está perfectamente límpida, no filtrar. En caso de duda, consultar a un docente.

**Procedimiento:**

1. Colocar 50 µl de muestra en un tubo de ensayo
2. Agregar 5 ml del reactivo de trabajo preparado.
3. Incubar en baño de agua a 37°C durante 10 minutos.
4. Realizar el mismo procedimiento con una solución standard de glucosa 0,1% y un blanco con agua.
5. Medir la absorbancia de las muestras a 505 nm en cubetas de vidrio o plástico.

**Cálculos:**

$$\% \text{ glucosa} = \frac{\text{Abs muestra} \times \text{Conc. Standard (g/100 ml)}}{\text{Abs standard} \times \text{Conc. Muestra (g/100 ml)}} \times 100$$

Rango del método: 50-500 mg/dl.

## **PROPIEDADES FUNCIONALES DEL ALMIDON**

### **Introducción:**

El almidón es el hidrocoloide más ampliamente usado en la tecnología de alimentos. Esto es debido a su gran versatilidad funcional, ya sea en sus formas natural o modificada, y además por su costo relativamente bajo.

Los cambios de viscosidad que ocurren cuando el almidón se calienta en medio acuoso, así como la capacidad de gelificar y la estabilidad de las pastas y geles formados son de fundamental importancia en tecnología de alimentos.

Como resultado de su estructura y composición particulares, cada almidón tiene un comportamiento distinto en cuanto a la viscosidad de sus pastas, al tipo de gel formado y a su tendencia a la gelificación y a la retrogradación. De esta manera, eligiendo el almidón correcto se pueden controlar las características de un producto.

**Finalidad del análisis:** Observar las propiedades funcionales de almidones de distintas fuentes, analizando las diferencias.

### **Determinación de la temperatura inicial de gelatinización.**

Suspender en un erlenmeyer o vaso de ppdo de 50 mL, 3 g de almidón en 30 mL de agua destilada. Agregar un buzo y calentar en plancha calefactora agitando constantemente. Tomar la temperatura cada 10 segundos utilizando un termómetro digital tipo pinche (\*). La temperatura aumentará de forma continua hasta el punto en que los gránulos de almidón alcancen la temperatura de gelatinización, momento en que se mantendrá constante (cambio de fase).

(\*) con cuidado de no golpear la punta de la sonda, que es donde se encuentra el sensor

### **Determinación de la concentración aproximada necesaria para gelificar.**

Preparar 40 ml de solución al 10 % de almidón en agua destilada. A partir de esta solución preparar soluciones de concentración 8, 6, 4 y 2 % de almidón.

Transferir 10 ml de solución 10 % a un tubo de ensayos grande y colocar en un baño de agua a ebullición. Agitar con varilla constantemente hasta ebullición. Continuar el calentamiento con agitación durante 5 minutos. Enfriar en baño de agua fría.

Repetir este procedimiento para las restantes diluciones.

Informar la concentración mínima necesaria para gelificar.

### **Tendencia a la retrogradación**

En un tubo de centrifuga, suspender 4 g de almidón en 40 ml de agua destilada. Colocar el tubo con la suspensión en baño de agua en ebullición. Agitar constantemente hasta ebullición para evitar la formación de grumos. Continuar el calentamiento con agitación por 5 minutos. Enfriar en agua fría y observar las características del gel formado (por ejemplo transparente, opaco, gomoso, elástico, etc.).

La tendencia a la retrogradación se estima a partir del volumen de agua separado luego de su almacenamiento a 4°C durante un tiempo estipulado. Colocar a 4°C durante 24 h como mínimo. Centrifugar durante 20 minutos y luego extraer por succión (usar pipeta Pasteur) el agua separada. Informar el volumen de líquido separado.

Informar las características del gel formado y el volumen desplazado por retrogradación para cada almidón estudiado.

Confeccionar una tabla, tal como se muestra a continuación, para presentar los datos correspondientes a tres almidones diferentes. Comparar sus propiedades y comentar las posibilidades de emplear uno u otro para diferentes tipos de productos alimenticios.

Tipo de almidón	Características del gel	Tendencia a retrogradar

## **PROPIEDADES EMULSIONANTES DE LAS PROTEINAS**

### **Introducción:**

Una emulsión es una dispersión de dos líquidos inmiscibles. Uno de ellos formando una fase dispersa en forma de gotas o glóbulos en otra fase continua. Es un sistema termodinámicamente inestable debido al aumento del área interfacial, lo que produce un aumento de la energía libre del sistema.

Las dos fases líquidas inmiscibles en los alimentos son la acuosa y la lipídica. En la mayoría de los alimentos la fase lipídica es la dispersa.

La inversión de fases ocurre cuando una emulsión aceite/agua se transforma en una agua/aceite, o a la inversa. Esto sucede generalmente en emulsiones en las que la relación fase dispersa/fase continua es elevada o cuando la emulsión es sometida a un trabajo mecánico intenso.

Algunas proteínas, debido a su naturaleza anfifílica, tienen acción tensioactiva, y por su tendencia a desnaturalizarse y a agregarse en interfases, forman películas de rigidez y elasticidad variables, motivos por los cuales son buenos agentes emulsificantes y estabilizantes de emulsiones. Para evaluar las propiedades emulsionantes de las proteínas se utilizan métodos estandarizados, debido a la diversidad de factores que afectan tanto la formación como la estabilidad de las emulsiones.

La capacidad emulsionante es la cantidad de aceite que puede emulsionar una solución de proteína a una determinada concentración.

### **Objetivo:**

El objetivo del TP es evaluar la capacidad emulsificante de tres muestras proteicas diferentes (huevo en polvo, clara en polvo y un concentrado proteico de suero de leche). Se formularán emulsiones aceite en agua con agitación. Luego las emulsiones serán sometidas a centrifugación y se determinara la separación de fases.

### **Parte experimental:**

#### Reactivos:

- Concentrado proteico de suero lácteo (Lacprodan 80)
- Huevo entero en polvo

- Clara de huevo en polvo
- Aceite de girasol
- Agua destilada

**Procedimiento:**

Se obtendrán 3 emulsiones diferentes una con cada muestra proteica.

Para obtener las emulsiones se utilizará una minipimer en la cual primero se deberán dispersar las proteínas (7 g) en agua destilada (63 g) mediante agitación. Una vez formada la dispersión se agregarán 30 g de aceite y se volverá a agitar durante 1 minuto (con la cuchilla cortante a velocidad máxima, manteniéndola en el fondo del vaso).

**Análisis comparativo de las muestras**

Una vez formuladas todas las emulsiones O/W, realizar un análisis sensorial evaluando los siguientes atributos:

- Aspecto general (estabilidad recién preparadas las muestras)
- Color
- Aroma
- Consistencia

Una vez realizado el análisis organoléptico colocar cada formulación por duplicado (igualando los pesos) en una centrífuga durante 5 minutos. Al finalizar el tiempo comparar la estabilidad de todas las muestras.

De ser necesario volver a centrifugar durante otros 5 minutos las muestras que siguieron siendo estables luego del primer centrifugado.

Describir las diferencias que se observen y justificar teniendo en cuenta la fuente proteica utilizada en la formulación.

## **ALTERACIONES Y ADULTERACIONES**

### **ALTERACIONES DE LÍPIDOS**

#### **Índice de ácidos grasos libres**

**(IUPAC, II.D.1, modificado)**

Los aceites y grasas, debido a la acción de las lipasas, contienen ácidos grasos libres en mayor o menor cantidad según sean las condiciones de manufactura y tiempo de almacenamiento del producto. El Código Alimentario Argentino menciona el máximo valor de acidez libre permitido en aceites comestibles (Art. 525).

Se expresa en mg de KOH requeridos para neutralizar los ácidos grasos libres presentes en 1 g de grasa.

#### **Reactivos:**

- Sol. de etanol: éter etílico (1:1 v/v) neutralizada = 60 ml.
- NaOH 0,05 N valorado.
- Sol. de fenolftaleína al 1 %

Pesar exactamente 1-2 g de muestra en un Erlenmeyer tarado de 125 ml, y disolverla en 60 ml de la mezcla de solventes previamente neutralizada a la fenolftaleína con NaOH diluído. Agitar y titular con NaOH 0,05 N valorado, utilizando una pipeta de 2 o 5 ml graduadas al 0,1 ml (No introducir la pipeta mojada en el frasco del NaOH 0,05 N, sino sacar 10 ml en un vasito y pipetear de allí).

Calcular e informar la acidez libre en mg de KOH por g de aceite y en g de ácido oleico por 100 g de aceite, que es otra forma común de expresarla. (PM ácido oleico = 282,4).

#### Nota:

Punto final: que la coloración rosa del indicador permanezca 15-30 s.

### Cálculo de resultados:

$$IA \text{ (mg KOH / 1 g grasa)} = (V \times N \times f)_{\text{NaOH}} M_{\text{KOH}} / m_M$$

$$IA \text{ (g ácido oleico / 100 g aceite)} = (V \times N \times f)_{\text{NaOH}} M_{\text{ACIDO OLEICO}} \times 100 / (1000 \times m_M)$$

Donde: IA: índice de acidez  $V_{\text{NaOH}}$ : ml de NaOH gastados en la titulación

$N_{\text{NaOH}}$ : normalidad del NaOH  $f_{\text{NaOH}}$ : factor del NaOH

$m_M$ : masa de muestra (g)

### Índice de peróxido

(A.O.A.C., 965.33, 1990; A.O.C.S., Cd 8-53, 1963)

Las grasas y aceites, por acción de diversos factores físicos o biológicos (disponibilidad de oxígeno, presencia de ciertas enzimas y metales, acción de la luz, el calor y la humedad, etc.) sufren procesos de rancidez oxidativa.

Este método determina todas las sustancias que bajo las condiciones del test, oxidan al yoduro de potasio, y las expresa en términos de miliequivalentes de peróxido por 1000 g de muestra. Se asume generalmente que todas las sustancias son peróxidos u otros productos similares de la oxidación de grasa. Es aplicable a todas las grasas y aceites típicos, incluidas las margarinas. El método es altamente empírico y cualquier cambio en el procedimiento puede provocar variación de los resultados.

### Reactivos:

- Mezcla ácido acético-cloroformo (3:2)
- Solución saturada de KI (se prepara en el momento)
- Solución de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,1 N (valorada).
- Solución de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,01 N (valorada).
- Solución de almidón 1 %.

Pesar  $5,00 \pm 0,05$  g de muestra en un Erlenmeyer de 250 ml de capacidad, con tapa esmerilada. Agregar 30 ml de la mezcla de solventes. Agitar hasta disolución total de la muestra. Agregar 0,5 ml de la solución saturada de KI, usando pipeta (preferiblemente de tipo Mohr). Dejar la solución exactamente 1 min., con ocasional agitación, y agregar después 30 ml de agua destilada.

Titular con solución de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,1 N, agregándole gradualmente y con agitación constante y vigorosa. Continuar la titulación hasta que el color amarillo haya casi desaparecido. Agregar aproximadamente 0,5 ml de solución indicadora de almidón. Continuar la titulación agitando vigorosamente el Erlenmeyer cerca del punto final, para liberar todo el  $\text{I}_2$  de la capa clorofórmica. Agregar la solución de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  gota a gota hasta desaparición del color azul. Si el gasto de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,1 N es muy pequeño ( $< 0,5$  ml), repetir la determinación y titular con solución de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,01 N. Conducir paralelamente un blanco (el volumen gastado debe ser  $< 0,1$  ml de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,1 N).

**Cálculo de resultados:**

$$\text{IPO (meq. de peróxido / 1000 muestra)} = (\text{M} - \text{B}) \times \text{N} \times \text{f} \times 1000 / \text{m}_\text{M}$$

Donde:

M = ml de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  gastados en la titulación de la muestra.

B = ml de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  gastados en la titulación del blanco.

N = normalidad de la solución de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ .

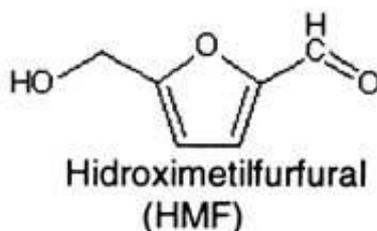
f = factor de la solución de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

$\text{m}_\text{M}$  = masa de muestra (g)

## ALTERACION Y ADULTERACION EN MIEL

### Hidroxiacetilfurfural (HMF)

El 5-hidroxiacetil-2-furaldehído o hidroxiacetilfurfural (HMF) es un producto generado por la deshidratación -catalizada por ácidos- de azúcares y/o por reacción de Maillard a partir de azúcares reductores.



La miel recién extraída contiene muy poca cantidad de HMF, sin embargo su contenido aumenta durante su procesamiento y posterior almacenamiento. Este producto suele ser sometido a tratamiento térmico con el fin de reducir la viscosidad y prevenir la cristalización y/o la fermentación. Con respecto al almacenamiento, si la miel se mantiene por largos períodos a temperaturas promedio entre 12 y 15°C, la formación del HMF será mínima, pero a temperaturas superiores se verá favorecida, debido principalmente al valor de acidez propio de la miel.

Por otra parte, la miel, compuesta principalmente por azúcares, ha sido tradicionalmente objeto de adulteraciones con jarabes. Éstos se obtienen de manera muy económica a partir de la hidrólisis ácida del almidón. Durante este tratamiento se forma HMF en cantidades importantes, con lo cual, la presencia de altos niveles de este compuesto en miel sugieren la posibilidad de que el alimento haya sido adulterado con este tipo de productos.

Por lo anteriormente expuesto, el contenido de HMF constituye un parámetro de genuinidad de importancia en miel. El Código Alimentario Argentino (CAA) fija una cantidad máxima permitida de HMF en miel.

## **Determinación de hidroximetilfurfural por H.P.L.C.**

**Principio:** El hidroximetilfurfural será determinado en una solución acuosa de miel, clara y filtrada, utilizando cromatografía líquida de alta performance en fase reversa, equipada con un detector UV-visible. Se cuantificará utilizando una curva de calibración construida a partir de las señales de estándares conocidos.

### **Reactivos**

- a. Agua bidestilada o Millipore necesaria para preparar todas las soluciones a utilizar.
- b. Fase móvil: agua-metanol (70:30), ambos calidad HPLC.
- c. Solución acuosa estándar de HMF (aproximadamente 400 mg/L).
- d. Solución de Carrez I: disolver 15 g de  $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$  en agua y llevar a 100 ml.
- e. Solución de Carrez II: disolver 30 g de  $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$  y llevar a 100 ml.

### **Equipamiento**

Equipo para HPLC marca Spectra System P2000, Thermo Separation Products, equipado con una válvula inyectora Reodyne provista de un loop de inyección de 10  $\mu$ l, detector UV-visible Spectra 100, Thermo Separation Products, y un integrador Data Jet Integrator, Thermo Separation Products. La columna a utilizar será Phenomenex Spherclone s u ODS (2); 250 mm x 4,6 mm id x 5  $\mu$ m. La detección se realizará a  $\lambda = 272$  nm.

### **Procedimiento**

#### **Curva de calibración:**

Preparar, a partir de la solución madre entregada por el docente, soluciones estándar de HMF de concentraciones 1, 2, 5 y 10 mg/L (consultar).

Inyectar por triplicado 20  $\mu$ l de cada una de las soluciones estándar de HMF. Las corridas se realizarán en modo isocrático, a temperatura ambiente, con un flujo de 1

ml/min. A partir de los resultados obtenidos, grafique la curva de calibración correspondiente (Área vs. concentración estándar de HMF).

### **Muestra:**

Pesar exactamente 5 g de miel en un vaso de precipitados de 50 ml. Disolver la muestra en aproximadamente 25 ml de agua (bidestilada o millipore) y transferir cuantitativamente a un matraz de 50 ml. Agregar 0,5 ml de la solución de Carrez I y mezclar. Agregar 0,5 ml de solución de Carrez II, mezclar y llevar a volumen con agua (pueden agregarse unas gotas de etanol para prevenir la formación de espuma). Filtrar en papel, descartando los primeros 10 ml del filtrado. Posteriormente, filtrar a través de un filtro de membrana de 0,45 µm.

Injectar la muestra por duplicado. A partir de las áreas obtenidas y utilizando la curva de calibración, calcule el valor, en mg/kg, del contenido de HMF del producto analizado.

### **Determinación de presencia de dextrinas**

#### **Procedimiento**

Colocar aproximadamente 1 g de miel en un vaso de precipitado de 50 ml. Agregar 4 ml de agua destilada y disolver completamente la miel. Tomar 2 ml de la solución anterior, colocarlos en un tubo de ensayos y agregar 1 ml de etanol.

Observar el resultado:

- a) Líquido limpio: miel no adulterada.
- b) Líquido blanco-lechoso: miel adulterada.

#### **Actividad Diastásica**

Las enzimas son componentes minoritarios de la miel, pero su actividad enzimática es fundamental para la transformación del néctar en miel, ya que modifica azúcares complejos en simples, de fácil asimilación. El Código Alimentario Argentino contempla la determinación de la actividad diastásica (una de las enzimas de la miel)

como una forma de valorar calidad, no por su importancia dietaria, sino por su sensibilidad al calor e inactivación por sobrecalentamiento o envejecimiento de la miel.

**Principio del método:** El sustrato de almidón tamponado, se incuba con la muestra, produciéndose la hidrólisis enzimática, que se determina por el agregado de reactivo de yodo, el cual produce coloración con el remanente del almidón no hidrolizado.

## Materiales

### Buffer acetato – pH: 5.3 (1,59 M)

Acetato de sodio – 3 H <sub>2</sub> O	87 g
Ácido acético glacial	10,5 ml
Agua destilada c.s.p.	500 ml

Disolver el acetato de sodio en 400 ml de agua, añadir el ácido acético disuelto en 50 ml de agua y completar hasta 500 ml. Ajustar a pH: 5,3 con acetato de sodio o ácido acético, según el caso.

### Solución de cloruro de sodio 1 %

Cloruro de sodio	1 g
Agua destilada c.s.p.	100 ml

### Solución de almidón (0,05 %)

Almidón soluble	0,050 g
Agua destilada csp	100 ml

Disolver el almidón en 80 ml de agua y llevar a ebullición 3 min, luego llevar a 100 ml. Conservar en frasco color caramelo en la heladera.

### Solución de Iodo 0.1 N

Ioduro de potasio	20,0 g
Iodo	12,7 g
Agua destilada csp	1000 ml

Disolver el IK en 100 ml de agua, luego agregar el I<sub>2</sub> sublimado y completar a 1,0 litro. La solución de trabajo se prepara por dilución de la solución de Iodo 0,1 N (1:10) con una solución de NaF (2 %). Conservar en frasco color caramelo en la heladera.

## Preparación de la muestra

Pesar 10,00 g de muestra de miel en un vaso de precipitado de 50 ml y añadir 10 ml de buffer pH: 5,3.

## Procedimiento

1. Colocar en una gradilla 10 tubos de ensayo y agregarle 1 ml de solución de cloruro de sodio al 1 %.

2. Agregar al primer tubo 1 ml de la muestra y mezclar.
  3. Pasar luego 1 ml del primer tubo al segundo, mezclar y continuar así hasta el noveno tubo, desechando el último ml (las diluciones serán: 1/2; 1/4; 1/8; hasta 1/512).
  4. El tubo décimo sirve de testigo
  5. Colocar a cada tubo 1 ml de solución de almidón 0,050 % e incubar por 30 min a 37 °C.
  6. Retirar, enfriar rápidamente y colocar una gota de solución de trabajo de yodo a cada tubo y agitar.
- Observar la coloración.

### Expresión de los resultados

U.D = (inversa de la dilución mayor que permanece incolora) x 2

Valor normal de miel: no menos de 32 U.D.

Cantidades menores de 32 U.D. corresponden a una miel vieja, calentada, mal procesada o adulterada. Existen mieles de bajo contenido de diastasa, por ejemplo, mieles de citrus.

Tabla de equivalencias del método de Bianchi y el I.D que corresponde al número de la escala de Gothe.

U.D. Bianchi	ID (Gothé)	
	Mínimo	Máximo
0	0,99	2,88
4	2,93	4,16
8	4,32	5,70
16	7,28	8,08
32	9,01	14,68
64	15,22	27,25
128	33,48	67,87

### Acidez Libre

La acidez libre se mide en función de los ácidos orgánicos que naturalmente contiene la miel. Los valores normales de acidez se incrementan si la miel ha fermentado y esto sucede en mieles con elevados porcentaje de humedad donde se han desarrollado mohos y levaduras. El CAA establece un valor máximo permitido.

### **Reactivos**

Solución de NaOH (0,05 N)

### **Determinación**

Pesar aproximadamente 10 g de muestra en un vaso de precipitados de 250 ml y agregarle 75 ml de agua destilada. Agitar y disolver completamente. Colocar el electrodo del pH metro en la solución, registrar el pH inicial y luego agregar NaOH 0,05 N con un flujo aproximado de 5 ml/min hasta alcanzar un pH de 8,50. Expresar los resultados como miliequivalentes de NaOH 0,05 N/Kg de muestra.

## **PARDEAMIENTO ENZIMÁTICO**

El pardeamiento enzimático es un proceso bioquímico que resulta en la producción de pigmentos pardos debido a la acción inicial de la enzima polifenoloxidasas (PFO). Esta metaloenzima, que tiene al cobre como cofactor, cataliza la oxidación de fenoles a quinonas en presencia de oxígeno. Estas quinonas son compuestos muy reactivos que se polimerizan químicamente formando los pigmentos pardos.

Las quinonas pueden interactuar con proteínas y aminoácidos, afectando no solo al color sino al valor nutricional, aroma y sabor de los alimentos. El pardeamiento enzimático es una de las principales causas de deterioro de vegetales, algunos productos marinos y frutas frescas. Ocasionalmente, es deseado en alimentos tales como el cacao, té y pasas de uva.

La PFO y los sustratos (fenoles) están presentes en las células en compartimentos diferentes. Por ello, la descompartimentalización provocada por daños físicos o microbiológicos, madurez, o el manejo incorrecto pre y postcosecha de frutas y vegetales acelera las reacciones de pardeamiento.

La actividad de la enzima puede verse afectada por cambios de temperatura, pH, agregado de inhibidores y agentes químicos o aumento/disminución en la concentración de fenoles y oxígeno.

Analizar el efecto de estos factores puede resultar importante para la prevención del pardeamiento enzimático en frutas y vegetales mínimamente procesados.

### **Objetivos:**

1. Conocer los cambios que se producen en tejidos vegetales debido al pardeamiento enzimático, bajo distintas condiciones ambientales.
2. Evidenciar el efecto de métodos físicos y químicos en la inhibición del pardeamiento.

Se puede trabajar diferentes frutas u hortalizas: manzana, banana, pera, papa.

### **1. Efecto del tamaño del corte**

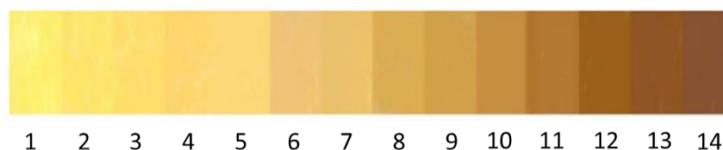
Cortar las frutas u hortalizas en 2 tamaños distintos:

- Triturar, pisar o rallar, dependiendo del tipo de fruta u hortaliza.
- Cortar en cubos de aproximadamente 1 cm de lado.

Colocar cada corte en un vidrio de reloj o cristizador y dejar reposar en la mesada a temperatura ambiente. Observar la coloración cada 30 minutos, por un total de 3 h. En cada observación tomar una imagen y puntuar el pardeamiento mediante la escala que se encuentra en la figura y en el código QR. Para la adquisición de las imágenes colocar un fondo blanco debajo de las muestras. Las imágenes de deben adquirirse siempre con el mismo dispositivo, a la misma distancia de la muestra y con la misma fuente de luz.

**Tabla 1.** Efecto del área superficial y el tiempo sobre el pardeamiento enzimático.

<b>Alimento:</b>							
<b>Muestra</b>	<b>0 min</b>	<b>30 min</b>	<b>60 min</b>	<b>90 min</b>	<b>120 min</b>	<b>150 min</b>	<b>180 min</b>
<b>Triturada</b>							
<b>Cubos</b>							
<b>Observaciones</b>							



## 2. Efecto de la temperatura sobre el pardeamiento

Cortar los vegetales en cubos de 1 cm de lado y separar en tres fracciones. Dejar una porción de los cubos en mesada, otra en estufa a 37°C y la tercera fracción se va a dejar reposar en heladera. Esperar que transcurran 3 h de reposo y medir colora través de imágenes (punto 5) en todas las muestras.

## 3. Efecto del tratamiento térmico sobre el pardeamiento

Cortar los vegetales en cubos de 1 cm de lado. Colocar los cubos en agua hirviendo durante 3 minutos para llevar a cabo un proceso de escaldado. Luego, escurrir y llevar esta misma porción a estufa a 37°C, junto con una segunda porción que no haya sufrido

el proceso de escaldado (la misma del punto 2). Esperar que transcurran 3 h de reposo y medir color a través de imágenes (punto 5) en todas las muestras.

#### **4. Efecto del pH sobre la actividad enzimática**

Cortar los vegetales en cubos de 1 cm de lado y separar en dos fracciones. Colocar una fracción de los cubos en una solución al 1% de ácido cítrico y otra porción en solución al 1% de ácido ascórbico durante 5 minutos. Retirar los cubos de la solución, escurrir y llevar a estufa a 37°C, junto con una tercera porción que no haya sufrido el proceso de inmersión en solución ácida (la misma del punto 2). Esperar que transcurran 3 h de reposo y medir color a través de imágenes (punto 5).

#### **5. Medición de color**

El color se puede definir como la sensación que experimenta el observador cuando la energía radiante del espectro visible alcanza la retina del ojo. Dentro de los métodos instrumentales de medición de color se halla el colorímetro, con el cual se puede medir cuánto se desvían parámetros del color de una muestra frente a un estándar, o cambios de entre lotes de producción, cambios durante el almacenamiento, etc. Las diferencias de color son calculadas como la diferencia de  $L^*a^*b^*$  entre muestras. Otra manera de evaluar color es a través de análisis de imágenes obtenidas en condiciones estandarizadas de luz, distancia a la cámara y color de fondo.

##### Procedimiento:

Colocar las muestras sobre un fondo blanco y tomarles una foto con cámara digital para la obtención de la imagen. Utilizar el software libre de procesamiento de imágenes, ImageJ, para obtener los parámetros de color según el siguiente instructivo:

1. Abrir la imagen (opción File > Open)
2. Con alguna de las herramientas de selección, seleccionar la zona de la imagen donde se encuentra la muestra (evitar seleccionar sombras, es conveniente agarrar la imagen de un único trozo de muestra).
3. Ir a la opción Analyze > Histogram

4. En la ventana que se abre presionar el botón RGB para ir cambiando el histograma de rojo a verde, a azul. Registrar los valores promedio (Mean) que arroja en el programa.
5. Una vez registrados los valores RGB, para pasar a la escala CIELAB utilizar el conversor web Colormine ([www.colormine.org](http://www.colormine.org)). Registrar los valores de L\*a\*b\*.

**Comparación entre muestras:**

6. Relacionar los valores de los parámetros L\*, a\* y b\* obtenidos con el cambio de color de las muestras. Ver la tendencia a los colores pardos y los cambios en la luminosidad.
7. Calcular el índice de blancura según la siguiente ecuación:

$$IB = 100 - \sqrt{(100 - L)^2 + a^2 + b^2}$$

**Tabla 2.** Efecto de la temperatura, el escaldado y el tratamiento ácido sobre el índice de blancura de las muestras.

<b>Alimento:</b>							
	<b>Temperatura</b>			<b>Tratamiento térmico</b>		<b>Tratamiento ácido</b>	
<b>Condición</b>	<b>4°C</b>	<b>T amb.</b>	<b>37°C</b>	<b>Si</b>	<b>No</b>	<b>Cítrico</b>	<b>Ascórbico</b>
<b>IB</b>							

# **BROMATOLOGÍA**

## **GUÍA DE TRABAJOS PRÁCTICOS**

### **LICENCIATURA EN CIENCIAS QUÍMICAS**

**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES**  
**UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES**

**2025**

## **PROGRAMA DE BROMATOLOGÍA**

### **UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES LICENCIATURA EN CIENCIAS QUIMICAS**

**FACULTAD:** Ciencias Exactas y Naturales

**DEPARTAMENTO:** Química Orgánica - Área Bromatología

**MATERIA:** Bromatología

**CARACTER:** Obligatorio

1 Alimento: calidad y nutrición. Atributos de calidad y seguridad. Legislación alimentaria. Funciones específicas que cumplen los distintos tipos de nutrientes en el organismo. Requerimientos de energía. Balance energético. Nutrientes esenciales. Fibra dietaria. Concepto de calidad nutricional de proteínas.

2 Agua. Propiedades físicas del agua. Importancia en la manifestación de las propiedades funcionales de los componentes alimentarios. Interacciones agua-soluto. Presión de vapor relativa, movilidad molecular y estabilidad de alimentos.

3 Hidratos de carbono. Azúcares de importancia en alimentos. Polisacáridos. Almidones: Gelatinización, retrogradación. Almidones modificados. Sustancias pécticas. Gomas. Aplicaciones en alimentos. Propiedades físicas y funcionales de azúcares y polisacáridos.

4 Proteínas. Reacciones de importancia en alimentos. Cambios físicos, químicos y nutricionales que ocurren durante el procesado. Propiedades funcionales: espumante, emulsificante, gelificante, espesante, formadora de masa panificable y otras. Enzimas en los alimentos: ejemplos de actividad enzimática en tejidos vegetales y animales. Pardeo enzimático.

5 Lípidos. Ácidos grasos esenciales. Propiedades físicas, y funcionales. Cristalización. Polimorfismo. Propiedades funcionales de los lípidos: rol en la percepción del flavor, plasticidad y otras.

6 Propiedades sensoriales de los alimentos. Componentes que imparten color, aroma, gusto. Pigmentos naturales: ejemplos y ocurrencia, características, solubilidad, estabilidad. .

7 Métodos analíticos de uso general en Bromatología. Necesidad de normalización de las técnicas. Preparación y toma de muestra. Determinaciones físicas. Fundamento de los métodos para determinar hidratos de carbono, sustancias nitrogenadas, minerales, vitaminas y lípidos. Criterios de selección de métodos, causas de error e interferencia. Expresión de los resultados y su interpretación.

9 Aditivos alimentarios. Definición. Clasificación general y usos. Requisitos para su utilización en alimentos: inocuidad, justificación de su uso, aceptación por la legislación vigente. Estimación de los niveles probablemente seguros para el ser humano: ingesta diaria admisible. Beneficios y riesgos de su utilización.

10 Leche. Definición. Composición química. Propiedades físicas. Estabilidad. Características físicas y fisicoquímicas relacionadas con el estado higiénico y la genuinidad. Valor nutritivo. Legislación.

11 Carnes. Estructura y composición del músculo. Cambios bioquímicos post-mortem. Maduración de la carne. Características de las carnes frescas. Factores que influyen en la calidad. Alteraciones.

12 Alteraciones físicas, químicas y biológicas de materias primas y productos alimenticios. Clasificación de alteraciones: físicas, químicas y biológicas. Ejemplos y discusión de cada una. Reacciones de pardeo no enzimático. Reacciones de hidrólisis y oxidación de lípidos. Factores que influyen en las alteraciones. Alteraciones consecutivas, ejemplos.

## **BIBLIOGRAFIA**

### **Libros generales**

- Badui Dergal, Salvador. Química de los alimentos. Pearson Educación, 4a. ed. 2006
- Baltes, Werner. Química de los alimentos. Acribia, Zaragoza, 2007
- Belitz, H.D. y Grosch, W., Food Chemistry, 4ª ed., Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2009.
- Belitz, H.D. y Grosch, W., Química de los alimentos, 2ª ed., Acribia, Zaragoza, 1997.
- Coultate, T.P., Alimentos: Química de sus componentes, Acribia, Zaragoza, 1986.
- Fennema, O (Ed.), Food Chemistry, 3ª ed., Marcel Dekker Inc., New York., 1996.
- Fennema, O. (Ed.), Química de los alimentos, Acribia, Zaragoza, 1993.
- Otlés, S., Handbook of Food Analysis Instruments. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, Estados Unidos, 2009.
- Potter, N.W. y Hotchkiss, J.H., Ciencia de los alimentos, Acribia, Zaragoza, 1998.
- Schwartzberg, H.G. & Hartel, R.W., Physical chemistry of foods, Marcel Dekker, New York, 1992.
- Wong, D.W.S., Química de los alimentos: mecanismos y teoría, Acribia, Zaragoza, 1995.
- Yildiz, Fatih.; Advances in food biochemistry, CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, 2010.

### **Libros de temas específicos**

- Alais, C., Ciencia de la leche, Reverté, Barcelona, 1985.
- Association of Official Analytical Chemists, Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 17th ed., 2000.
- Belton, Peter S. The chemical physics of food. Blackwell Pub, Oxford, 2007.
- Boekennoogen, H.A., Analysis and Characterization of Oils, Fats and Fat Products, Vol.1 y 2, Interscience Pub., 1964.
- Branen, A.L., Davidson, P.M. y Salminen, S., eds., Food additives, Marcel Dekker, New York, 1990.
- Cui, Steve W. (ed.) Food carbohydrates: chemistry, physical properties, and applications. Taylor and Francis, Boca Raton, 2005.
- Damodaran, S. y Paraf, A., Food proteins and their applications. Marcel Dekker, New York, 1997.
- Derache, R., Toxicología y seguridad de los alimentos, Omega, Barcelona, 1990.
- Egan, H., Kirk, R.S. y Sawyer, R., Análisis químico de los alimentos de Pearson, Ed.Continental, México, 1987.
- Eliasson, A.C., Carbohydrates in foods, Marcel Dekker, New York, 1996.
- Fisher, C, Scott, T.R. Flavores de los alimentos: Biología y química, 1a. ed. Anaya Multimedia, Madrid, 2000.
- Forrest, J.C.; Aberle, E.D.; Hedrick, H.B.; Judge, M.D.; Merkel, R.A., Fundamentos de la ciencia de la carne, Acribia, Zaragoza, 1979.
- Gunstone, F. y Padley, F.B., Lipid technologies and applications, Marcel Dekker, New York, 1997.
- Gunstone, F., Fatty acid and lipids chemistry, Blackie Academic & Professional, London, 1996.
- Hart, F.L. y Fisher, H.J., Análisis moderno de los alimentos, 2ª reimposición, Acribia, Zaragoza, 1991.

- Hosney, R.C., Principios de ciencia y tecnología de los cereales, Acribia, Zaragoza, 1991.
- Hui, Yiu H. (ed.). Handbook of food science, technology and engineering. CRC Press, Boca Raton, 2006.
- Kent, N.L., Tecnología de los cereales, 2a. ed., Acribia, Zaragoza, 1987.
- Multon, J.L., Aditivos y auxiliares de fabricación en las industrias agroalimentarias, 2ª ed., Acribia, Zaragoza, 1998.
- Nielsen, S. Suzanne. Análisis de los alimentos. Acribia, Zaragoza: 2009.
- Ötles, Semih. Handbook of food analysis instruments. CRC Press, Boca Raton, FL: 2009.
- Pearson, D., Técnicas de laboratorio para el análisis de alimentos, 2ª reimpression, Acribia, Zaragoza, 1986.
- Pomeranz, Y y Meloan, C.E., Food Analysis: Theory and Practice, 3rd ed., Chapman & Hall, New York., 1994.
- Pomeranz, Y., Modern cereal science and technology, VCH Pub., New York, 1987.
- Prandl, O.; Fischer, A.; Schimdhoffer, T. y Sinell, H.J., Tecnología e higiene de las carnes, Acribia, Zaragoza, 1994.
- Walstra, P. y Jennes, R., Química y física lactológica, Acribia, Zaragoza, 1987.
- Willard, H.H., Merrit, L.L. y Dean, J.A., Métodos instrumentales de análisis, Compañía Editorial Continental, 1985.

#### **Páginas web de interés**

- Código Alimentario Argentino actualizado. <http://www.anmat.gov.ar/codigoa/caa1.htm>
- Ministerio de Agricultura, ganadería y pesca. <http://www.minagri.gob.ar/site/index.php>
- Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. <http://www.senasa.gov.ar/indexhtml.php>
- Instituto Nacional de Tecnología Argopecuaria. <http://inta.gob.ar/>
- Food and Drug Administration. <http://www.fda.gov/Food/default.htm>
- Joint Expert Committee on Food Additives. <http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-additives/search.html?lang=es>
- Organización de la Naciones Unidas para La Alimentación y La Agricultura. [http://www.fao.org/index\\_es.htm](http://www.fao.org/index_es.htm)
- Unión Europea, legislación sobre alimentos. [http://ec.europa.eu/food/food/foodlaw/index\\_es.htm](http://ec.europa.eu/food/food/foodlaw/index_es.htm)
- Normas internacionales sobre alimentos. <http://www.codexalimentarius.org/codex-home/es/>

**REGLAS BÁSICAS DE HIGIENE Y SEGURIDAD PARA ALUMNOS DE LABORATORIOS DE QUÍMICA Y BIOLOGÍA - PAUTAS DE ACTUACION EN CASOS DE EMERGENCIAS**  
**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES - SERVICIO DE HIGIENE Y SEGURIDAD**

## **Ver archivo en el campus**

### **Lista de materiales personales para el trabajo en el laboratorio de Bromatología:**

- Guardapolvos
- Libreta de laboratorio
- Anteojos de seguridad
- Espátula metálica
- Pera de goma
- Algodón
- Alcohol
- Marcador de vidrio
- Detergente
- Repasador o trapo rejilla
- Pañuelos de papel

## REGIMEN DE APROBACION DE TRABAJOS PRACTICOS

- Se permitirá un máximo de **2 (dos) ausentes** a las clases (teóricas y prácticas) durante todo el cuatrimestre. La asistencia se tomará a los 15 minutos del horario de inicio de la clase; en caso de llegar más tarde, el alumno podrá realizar trabajos en el laboratorio, pero se lo considerará como ausente.
- La aprobación de los trabajos prácticos incluye la realización de las prácticas de laboratorio y los exámenes parciales. Asimismo, deberá devolverse tanto el material de uso común como la totalidad del material de uso individual entregado a principios de cuatrimestre.

### PRÁCTICAS DE LABORATORIO

- La aprobación de las prácticas de laboratorio requiere:
  - a) la aprobación de un interrogatorio inicial,
  - b) la realización del trabajo experimental y,
  - c) la aprobación de un informe final escrito.
- En caso de desaprobación del interrogatorio inicial deberá rendirse nuevamente y no podrá continuar con la práctica hasta su aprobación.
- El interrogatorio inicial se rendirá previamente a la realización del trabajo práctico en forma oral. En caso de desaprobación, deberá rendirse nuevamente.
- Los análisis mal informados podrán repetirse una única vez. No se podrá exceder en todo el cuatrimestre en 2 (dos) el número de resultados mal informados luego de su repetición.
- No podrá iniciarse una práctica hasta tanto no haya sido aprobada la práctica anterior

### PARCIALES

- Para rendir el parcial deben estar aprobadas las prácticas correspondientes al mismo.
- Se tomarán 2 (dos) parciales con temas de los trabajos prácticos, que serán aprobados con un mínimo de 6 (seis) puntos cada uno. Si el alumno no alcanzara el puntaje mínimo para aprobar o si hubiese estado ausente, podrá recuperar él o los parciales en cuestión en la fecha de recuperatorio. Cada parcial podrá ser recuperado sólo una vez.

PROMOCIÓN OPCIONAL: en la misma fecha de los parciales prácticos, se podrán rendir los parciales teóricos. Para poder promocionar la materia, los parciales deberán ser aprobados con más de 7 (siete) puntos y con un promedio de 8 (ocho) puntos.

## INTERROGATORIOS INICIALES

### PARTE 1

#### **Determinación de componentes mayoritarios de alimentos**

Fundamento de todas las determinaciones realizadas en TPs. Normas de higiene y seguridad a tener en cuenta durante las prácticas. Legislación argentina. Composición global de los alimentos. Contenido de agua. Contenido de grasa. Nitrógeno total y proteína bruta.

#### **Leche.**

Definición. Composición química, propiedades físicas, evaluación del estado higiénico y del tratamiento térmico.

#### **Productos cárneos.**

Definición de carne. Nociones sobre composición de carne fresca y chacinados.

Evaluación de resultados y conclusiones sobre genuinidad y estado higiénico. Evidencias o conjeturas sobre adulteraciones.

---

### PARTE 2

#### **Productos azucarados**

Miel. Definición del CAA. Características generales. Composición. Parámetros de calidad fijados por el CAA relacionados con la genuinidad y el estado higiénico. Fundamento de las técnicas incluidas en la guía de TP. Normas de higiene y seguridad a tener en cuenta durante la práctica. Legislación argentina.

Muestra: la provee la cátedra.

#### **Lípidos**

Generalidades de composición, propiedades funcionales y reacciones de oxidación de lípidos. Técnicas para medir la oxidación de lípidos. Fundamentos de las determinaciones incluidas en la guía de TP. Normas de higiene y seguridad a tener en cuenta durante la práctica. Legislación argentina. Muestra: la provee la cátedra.

## MODELO DE INFORME

Informe N°  
Fecha de entrega:  
Nombre y apellido:

## NOMBRE DE LA PRÁCTICA

Muestra analizada.....  
Características:.....

### DETERMINACIONES REALIZADAS:

- a) Nombre de la determinación (referencia de la metodología)  
Resultado obtenido
- b) Nombre de la determinación (referencia de la metodología)  
Resultado obtenido

### CONCLUSIONES

- a) Código Alimentario Argentino  
Registrar las especificaciones de esta norma respecto de determinaciones físico químicas para este tipo de alimento (o el más parecido). Comparar con los resultados obtenidos.
- b) En caso de contar con el rotulado,  
Copiar los valores dados en el rotulado nutricional y comparar con los resultados obtenidos.

---

## ANEXO DE DATOS DE LABORATORIO

### DETERMINACIONES REALIZADAS

- a) Nombre de la determinación  
Datos de laboratorio (masa de muestra, pesadas, diluciones, etc.)  
Resultado obtenido
- b) Nombre de la determinación  
Datos de laboratorio (masa de muestra, pesadas, diluciones, etc.)  
Resultado obtenido

### OBSERVACIONES

## **PARTE 1**

### **LECHE**

#### **Leche fluida**

##### **Finalidad del análisis**

Las determinaciones que se realizan comúnmente en el análisis físico-químico de la leche, permiten comprobar si sus valores responden a los característicos de composición genuina, poner al descubierto alteraciones y adulteraciones o fraudes e indicar (entre ciertos límites) el estado de conservación.

Un examen rutinario incluye frecuentemente las determinaciones de densidad, grasa, sólidos totales, acidez, descenso crioscópico, estimación del estado higiénico (ensayos de azul de metileno o resazurina).

##### **Preparación de la muestra de leche fluida (AOAC 925.21, 2000)**

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, entibiar la muestra en baño de agua hasta casi 38°C, mezclar y luego enfriar a 15-20°C. En caso de tener que medir un volumen para alguna determinación, llevar la muestra a esa temperatura antes de pipetear.

##### **Densidad**

Puede determinarse con balanza hidrostática, picnómetro o lactodensímetro, a la temperatura de 15°C.

##### **Determinación de densidad con lactodensímetro (AOAC 925.22, 2000)**

Se vierte la leche preparada para el análisis, en un recipiente cilíndrico, evitando formación de espuma e incorporación de aire. Introducir el lactodensímetro de modo que ocupe la parte central del líquido, se espera a que alcance el nivel correspondiente y luego se lee la densidad cuidando que el visual enrase con la superficie libre de la leche. Leer la temperatura.

Un tipo difundido de lactodensímetro, es el Quevenne, cuyo vástago con escala graduada comprende valores entre 15 y 40 que corresponden a las milésimas de densidad por encima de la unidad, es decir, que el número 32 del lactodensímetro indica la densidad 1,032.

El instrumento está calibrado a 15°C y a esa temperatura, por lo tanto, el número leído representa la densidad de la leche. A temperaturas diferentes, debe recurrirse a tablas especiales de corrección.

Cuando la discrepancia con respecto a los 15°C no es mucha (no más de  $\pm 5^\circ\text{C}$ ), se puede obtener la corrección sumando o restando 0,0002 a la densidad hallada, o bien 0,2 a los grados leídos en el lactodensímetro, por cada grado de temperatura respectivamente superior o inferior a 15°C.

##### **Extracto seco (Sólidos totales) (AOAC, 925.23, 2000)**

Lo constituye el residuo remanente de la evaporación de las materias volátiles de la leche a la temperatura de ebullición del agua.

A un cristizador de diámetro no menor de 5 cm se agrega arena calcinada de manera que quede una capa delgada en el fondo del mismo. El conjunto se seca en estufa a 100°C durante 1 hora, se enfría y tara, luego se agregan al cristizador 5,0 mL de leche, exactamente medidos, y se pesa nuevamente. Evaporar en baño de agua hirviendo durante 10-15 min., exponiendo a la acción del vapor la máxima superficie posible del fondo del recipiente. Colocar luego en estufa de 98-100°C, secando hasta constancia de peso. En todos los casos enfriar en desecador y pesar rápidamente. Referir el residuo a % en volumen de muestra, informándolo como "sólidos totales".

## **Materia grasa**

### **Método de Gerber** (CAA, Tomo II, 13-8, 1989)

Este método volumétrico, muy difundido en el control de rutina de leche, en especial, y de productos lácteos en general, consiste en la separación de la materia grasa por disolución en ácido sulfúrico de todos los componentes, seguida por centrifugación en tubos especialmente calibrados.

El método emplea también alcohol amílico, que ayuda a romper la emulsión de las grasas y previene la carbonización de las mismas.

Reactivos:

- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> para Gerber (dens. 1,813-1,817 a 20 - aprox. 90 %)
- Alcohol amílico puro (dens. 0,809-0,813 a 20°C), libre de grasa, comprobado por un ensayo en blanco.

Medir con pipeta 10 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> para Gerber e introducirlos en el butirómetro evitando mojar las paredes internas del cuello. Luego, agregar con rapidez 11,0 mL de leche con pipeta aforada, cuidando que forme un estrato encima del ácido y no se mezcle con él, e inmediatamente agregar 1 mL de alcohol amílico. Se tapa el butirómetro con el tapón especial correspondiente y se agita en forma efectiva, pero con cuidado (\*), teniendo en cuenta que se produce una fuerte elevación de la temperatura. Se coloca el butirómetro en un baño de agua a 65-70°C por 5-10 min. (con el tapón hacia abajo). Retirado del baño, se seca exteriormente y se centrifuga 3-5 min. La centrífuga consiste en un plato chato en el cual, mediante tubos metálicos, se adaptan los butirómetros dispuestos de forma tal que los tapones de cierre queden dirigidos hacia afuera y la porción graduada hacia el eje de la centrífuga. Se vuelve al baño de agua por 4-5 min., se lee inmediatamente el espesor de la capa de grasa acumulada en la parte superior calibrada del butirómetro. Por 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 obtiene directamente el % de grasa de leche. Si no es posible ajustar la superficie inferior de la columna de grasa a cero, se ajusta a la marca de % completo más próxima, y se tiene en cuenta al efectuar la lectura del menisco superior.

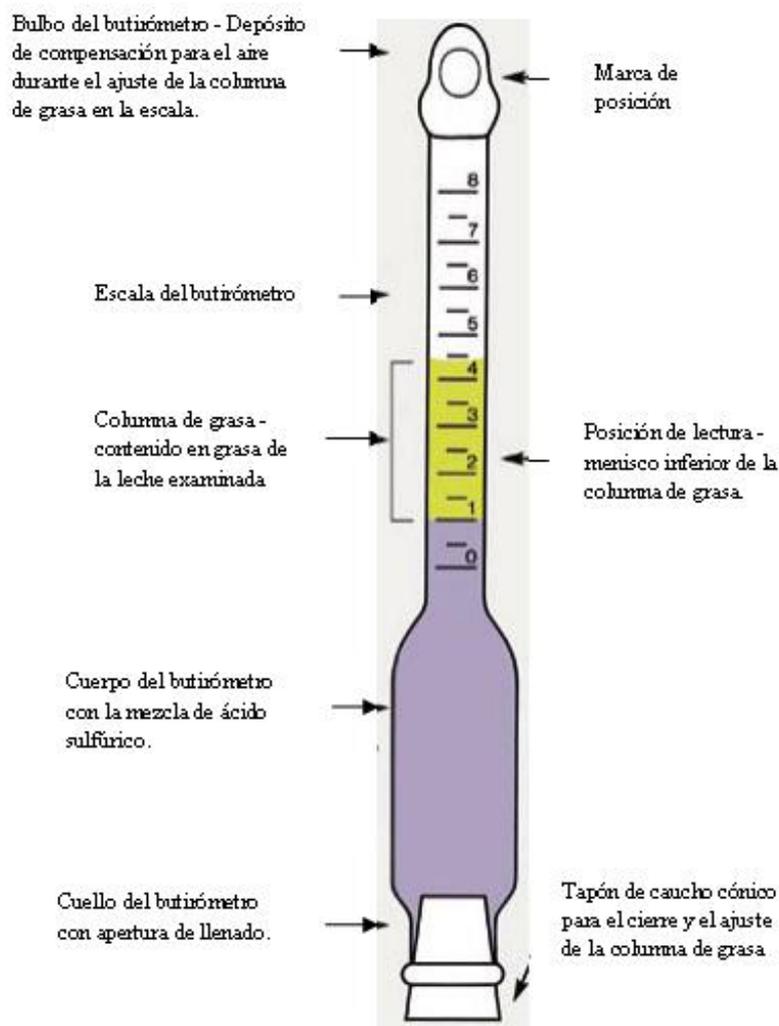
La lectura del butirómetro corresponde a % g de grasa por 100 cm<sup>3</sup> de leche.

Si se verificara aguado en la leche analizada, deberá recalcularse el % de grasa para determinar si existe desgrasado respecto del tenor graso especificado en el CAA para la leche analizada.

(\*) Para proteger la mano del calor que se desprende, conviene tomar el butirómetro con un trapo, sujetando con el dedo pulgar el tapón de goma, con firme presión. Los tres líquidos del interior se mezclan volteando varias veces el butirómetro. En algunos casos, se forman coágulos albuminoides que persisten; los mismos se eliminan agitando (siempre con precaución) fuertemente, después de un tiempo prudencial.

Nota 1: Siendo dificultosa la separación de los glóbulos pequeños de grasa en leches "homogeneizadas", se recomienda volver a centrifugar después de calentar en baño de 65-70°C, procediendo así hasta que la lectura alcance un máximo.

Nota 2: Se recomienda la realización de este ensayo por duplicado simultáneo, sirviendo cada butirómetro como mutuo contrapeso para el equilibrio de la centrifuga.



*Esquema de Butirómetro de Gerber*

### **Extracto seco no graso (CAA, Tomo II, 13.9, 1989)**

Se determina por diferencia de los valores porcentuales de extracto seco y de grasa, obtenidos anteriormente (a la hora de calcular esta diferencia tener en cuenta que las unidades del extracto seco y de grasa sean coherentes).

El valor del extracto seco no graso (ESNG) constituye un valor bastante constante para todas las leches, debido a que dentro del conjunto de sustancias que forman el extracto seco total, el tenor graso es el más variable.

Si el valor de % ESNG hallado resultara inferior al especificado en el CAA, deberá calcularse el % de aguado como:

$$\% \text{ de aguado} = 100 * \frac{(\% \text{ESNG}_{\text{CAA}} - \% \text{ESNG})}{\% \text{ESNG}_{\text{CAA}}}$$

### **Acidez (AOAC, 947.05, 2000)**

La leche fresca, en estado normal, no contiene prácticamente ácido láctico. Al determinarse la acidez total, el gasto de álcali es debido al CO<sub>2</sub> disuelto, 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, sobre la lactosa.

Reactivos:

- Solución de NaOH 0,05 N valorada.
- Solución de fenolftaleína 0,5 % en etanol 95 %.

Medir con pipeta aforada, 10,0 mL de muestra y colocarlos un Erlenmeyer pequeño (utilizar para titular un fondo blanco detrás) Añadir 4 gotas de fenolftaleína. Titular con bureta de 10,0 mL con NaOH 0,1 N hasta aparición de color rosa débil persistente (utilizar como contraste un fondo blanco).

Los resultados se expresan en ácido láctico % de muestra (p/v).

Para expresar la acidez en grados Dornic (forma corriente en la industria láctea), se multiplica por 100 el resultado anterior.

Si se verificara aguado en la leche analizada, deberá recalcularse la acidez para comparar con la especificación del CAA para este parámetro.

### **Determinación de pH (CAA, Tomo II, 13.10, 1989)**

Se medirá el pH con pH-metro. Se realiza la calibración del equipo por medio de buffers adecuados (pH 4,00 - 7,00), y luego se procede directamente a la medición del valor de pH correspondiente a la muestra en estudio. (Consultar al personal docente para el uso del equipo).

### **Análisis de la Fosfatasa Alcalina**

La determinación de fosfatasa alcalina está destinada a decidir si un producto lácteo ha sido pasteurizado en condiciones de tiempo y temperatura adecuadas. El CAA y las Normas Mercosur exigen que la prueba de fosfatasa alcalina en productos lácteos dé negativa.

#### **• Fundamento del método:**

La determinación de actividad fosfatasa se basa en la hidrólisis enzimática, en medio alcalino, del fenilfosfato disódico (NaFF) a fenol y posterior determinación colorimétrica del fenol liberado con 4-aminoantipirina (4-aminofenazona) y ferricianuro como agente oxidante.

Reactivos

- solución sustrato: NaFF (1,4 mM) en buffer de pH 10 de aminometilpropanol (3 M) y 4-aminoantipirina (29 mM). Conservar en heladera durante no más de 5 meses.

- reactivo de color: ferricianuro de K (10 mM). Estable durante 5 meses a temperatura ambiente y al abrigo de la luz.

Procedimiento:

Preincubar 0,5 mL de solución de sustrato unos minutos a 37 °C. Luego, agregar 50 µl de muestra, mezclar e incubar exactamente 10 min. Agregar 2,5 mL de reactivo de color y retirar los tubos del baño.

El producto final se detecta por una reacción colorimétrica cualitativa. Debe hacerse un ensayo en blanco en las mismas condiciones con la misma leche previamente hervida y enfriada.

### **Leche en polvo**

#### **Determinación de materia grasa. Método de Rose-Gottlieb (A.O.A.C., 989.05, 2000)**

La determinación de materia grasa se realizará en base a una modificación del método de Rose Gottlieb utilizado en leche. Por razones de organización en el laboratorio de T.P. esta determinación deberá realizarse A PRIMERA HORA.

Se pesan 0,5 g de muestra en un papel satinado previamente tarado (lo más pequeño posible). Encerrarla parcialmente en el papel para que tome contacto con los reactivos, e introducirla hasta el fondo de una probeta de 50 mL con tapa. Agregar 5 mL de agua y agitar hasta que la muestra se disuelva (si es necesario, calentar en baño María a 60°C).

Enfriar y adicionar 1 mL de NH<sub>4</sub>OH conc. Agitar y agregar 5 mL de etanol. Agitar y agregar con pipeta aforada 10 mL de éter etílico. Agitar 30 segundos y agregar, también con pipeta aforada, 10 mL de éter de petróleo. Volver a agitar y leer bien el volumen total de la mezcla. Dejar reposar en heladera por lo menos dos horas para que se separen las fases (hay que evitar la evaporación de solventes; si esto ocurriera se notará una disminución en el volumen leído). Con pipeta aforada tomar 10 mL de la fase superior etérea y evaporarlos en un pequeño cristizador tarado. Dejar enfriar en desecador, pesar y expresar % de grasas teniendo en cuenta la alícuota que se pipeteó.

#### **Reactivos**

- NH<sub>4</sub>OH concentrado
- Etanol
- Éter etílico
- Éter de petróleo

El método original es el que se detalla a continuación:

Pesar una cantidad adecuada de muestra en el Mojonnier previamente tarado. En el caso de muestras sólidas o semisólidas diluir con agua a 10 mL aproximadamente para disolver la muestra. Si es necesario, calentar en baño María a 60°C

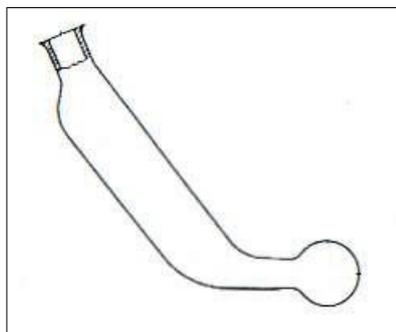
Enfriar, adicionar 1,5 mL de NH<sub>4</sub>OH y agitar. Adicionar 3 gotas de fenolftaleína para facilitar la visualización de la interfase entre el éter y el agua durante la extracción. Adicionar 10 mL de etanol, tapar y agitar durante 15 segundos.

Para la primera extracción agregar 25 ml de éter etílico, tapar el recipiente y agitar vigorosamente durante 1 minuto destapando para liberar la presión si fuera necesario. Agregar

25 mL de éter de petróleo, tapar y repetir la agitación 1 minuto. Centrifugar a 600 rpm. Trasvasar la solución etérea, cuidando de no volcar parte de la fase acuosa, a un Erlenmeyer esmerilado de 250 mL previamente pesado.

Para la segunda extracción adicionar 5 mL de etanol, tapar y agitar 15 segundos. Agregar 15 mL de éter etílico y agitar 1 minuto. Agregar 15 mL de éter de petróleo y agitar 1 minuto nuevamente. Centrifugar a 600 rpm y volcar la solución etérea al Erlenmeyer junto con el primer extracto.

Repetir una tercera extracción omitiendo el agregado de etanol. Evaporar el solvente en evaporador rotatorio. Colocar luego en estufa a 100°C durante 30 minutos. Dejar enfriar en desecador y pesar.



Tubo de extracción Mojonnier

### Acidez

Reactivos:

- Solución de NaOH 0,1 N valorada.
- Solución de fenolftaleína 0,5 % en etanol 95 %.

Se pesan 5 g de la muestra y se colocan en un matraz Erlenmeyer, se llevan a 100 mL con agua destilada (hervida y enfriada) y se agitan vigorosamente (utilizar para titular un fondo blanco detrás). Añadir 4 gotas de fenolftaleína. Titular con bureta de 10,0 mL con NaOH 0,1 N hasta aparición de color rosa débil persistente (utilizar como contraste un fondo blanco).

Los resultados se expresan como mL NaOH 0,1 N/ 10 g sólidos no grasos.

### Contenido de agua. Método de Karl Fischer.

La determinación de humedad es importante porque está relacionada con la estabilidad del polvo durante el almacenamiento. Se determinará por titulación automática empleando un equipo titulador Karl Fisher TIM980 Titration Manager.

Es un método volumétrico de aplicación general, esto es, para cualquier tipo de alimento, y en particular para los que presentan un bajo contenido en agua, tales como margarina, leche en polvo o aceite. Además, permite determinar el agua tanto libre (solvente) como aquella que interactúa fuertemente con los sólidos.

El método se basa en la reacción estequiométrica entre el SO<sub>2</sub> y el I<sub>2</sub> en presencia de agua:



### **Dispersabilidad y Humectabilidad**

La instantaneidad de la leche en polvo, que se define como la capacidad de transformarse en un producto líquido cuando se le agrega agua, depende de propiedades tales como la humectabilidad (tiempo de humectación), solubilidad y dispersabilidad.

### **Dispersabilidad – Adaptación de la norma FIL 89:1979**

Es la cantidad (masa) de muestra que puede ser dispersada en agua, expresada como % (m/m). Una porción de muestra de leche en polvo de humedad conocida se esparce uniformemente sobre una superficie de agua a 25 °C, luego de agitar manualmente durante un tiempo determinado se filtra en tamiz, determinándose el contenido de sólidos totales del líquido filtrado. El cálculo de la dispersabilidad se realiza a partir de la masa pesada para el ensayo, el valor de la humedad de la muestra y el contenido de sólidos totales del líquido filtrado.

#### **Toma de muestra:**

La muestra debe ser acondicionada a 25 °C.

-Leche en polvo entera:  $34 \pm 0,1$  g

-Leche en polvo descremada:  $26 \pm 0,1$  g

Pesar exactamente, según sea la porción indicada para cada tipo de muestra en un cristalizador de 8 mm de diámetro sin pico vertedor (consultar con docente). Tapar con placa de vidrio.

Pesar  $250 \text{ g} \pm 0,1$  g de agua en vaso de precipitado de 600 mL limpio y seco. Colocar sobre el vaso la placa de vidrio con el cristalizador y la muestra. Ubicar la muestra en el centro del vaso de precipitado, retirar cuidadosamente la placa de vidrio de manera tal que la leche en polvo caiga paulatinamente sobre la superficie del agua. Agitar suavemente con movimientos completos, adelante y atrás (un movimiento por segundo) durante 20 segundos con espátula, rotando (360°) el vaso de precipitado de forma tal que se evite la acumulación de polvo en las paredes del mismo (ayudarse con la espátula). Luego de pasados los 20 segundos dejar reposar durante 30 segundos más y filtrar en tamiz. Mezclar el líquido filtrado y tomar 10 mL del mismo y colocarlo en una caja de Petri previamente tarada. Secar en una estufa a 105°C por 2 h. La dispersabilidad (% m/m) se calcula por diferencia de peso (el peso de la muestra en base seca, según humedad determinada por Karl Fischer)

### **Humectabilidad – Adaptación de la norma FIL 89:1979**

Es el tiempo en segundos que se requiere para que una porción de muestra de leche en polvo se humedezca totalmente cuando se coloca en una superficie de agua. Una porción de muestra de leche en polvo de humedad conocida se esparce uniformemente sobre la superficie del agua del mismo modo que se realizó en el ensayo de dispersabilidad. Se mide el tiempo que se requiere para que todas las partículas de la muestra se humedezcan.

Proceder de la misma manera que se realizó en dispersabilidad pero pesar 10 g de muestra. El cronómetro comienza a funcionar una vez que la muestra esté sobre la placa de vidrio, luego de

60 segundos se retira la placa, detener el cronómetro una vez que toda la muestra se encuentre húmeda. Se informa en unidades de tiempo (segundos).

### Isoterma de sorción de agua

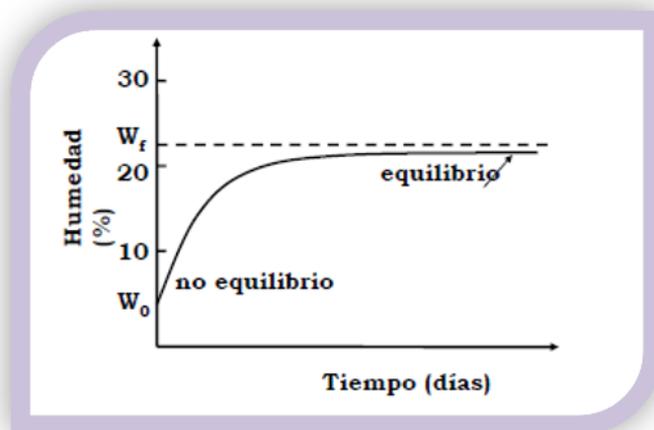
Se construirán isotermas de sorción de agua a 20°C de leche en polvo entera y descremada por el método isopiético. Los valores se obtendrán a partir de muestras equilibradas a distintas humedades relativas (En el trabajo práctico se trabajará con las muestras ya equilibradas, o sea a partir del punto 3 mencionado más abajo).

Procedimiento para construir una isoterma:

1. Se coloca una porción de leche en polvo en distintos de secadores en presencia de soluciones saturadas de sales proveyendo diferentes humedades relativas (HR):

Sal	HR, % (a 20°C)
Acetato de Potasio	22
Cloruro de Magnesio	33
Carbonato de Potasio	43
Nitrato de Magnesio	53
Cloruro de Sodio	75

2. Se almacenan las muestras durante 15 días hasta llegar al equilibrio:



3. Se determina el contenido de agua por el método de Karl Fischer previamente descrito.

4. Se grafican las isotermas de ambos tipos de leche y se comparan los resultados.

## **PRODUCTOS CÁRNEOS**

### **Finalidad del análisis**

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 completado por la realización de algunos exámenes físico y químicos.

Para carnes, el análisis de su composición química tiene interés desde el punto de vista nutricional. En el caso de productos cárneos tales como los chacinados, el análisis químico permite, además, controlar el cumplimiento de las disposiciones alimentarias vigentes y, por otra parte, poner al descubierto determinados fraudes o adulteraciones.

Para los chacinados frescos resultan de interés las determinaciones del contenido en agua, grasas, nitrógeno total, cenizas, sal y almidón; pudiendo necesitarse llevar a cabo, también, test para otros posibles ingredientes como colorantes, conservadores, etc.

### **Preparación de la muestra (AOAC, 983.18, 2000)**

En el caso de salchichas y otros embutidos se analiza el contenido sin la piel (para ello se retira el material que interesa con una cuchara, tratando de no tocarlo con las manos). La masa del embutido se debe moler y mezclar muy bien en un mortero. Si el producto ya es una pasta mezclar bien en un mortero o recipiente apropiado (se pueden utilizar homogeneizadores rotatorios como los "starmix", "multimix" y tipos parecidos. En estos casos evitar que a causa de la gran velocidad se origine el calentamiento de la muestra). Será necesario disponer de una cantidad de muestra preparada, igual al total necesario para efectuar todas las determinaciones por duplicado. Normalmente con 100-150 g es suficiente para los ensayos, pero la composición de algunos productos cárneos no es homogénea, y aún esa cantidad puede no garantizar un buen resultado medio. Resulta obvia la importancia de una homogeneización lo más completa posible para evitar errores analíticos. La muestra preparada se guarda en envases herméticos y en lugar fresco; o bien se separa una parte para determinar la humedad y el resto se deseca, se muele y se guarda para otras determinaciones.

### **Determinación de agua (AOAC, 934.01, 2000)**

Preparar un cristizador de paredes altas y de 5-6 cm de diámetro, forrándolo interiormente con papel "aluminio". Agregar arena calcinada de manera que quede una capa delgada cubriendo el fondo del mismo y una varilla de vidrio corta. Tarar el conjunto. Pesar 3-4 g de muestra preparada, añadir 5 mL de alcohol etílico 95°, mezclando totalmente y extendiendo sobre la base del cristizador en forma de capa fina. Realizar un presecado en baño María hasta evaporación del etanol (demanda aprox. 20 min.). Llevar a estufa de vacío a 100-105°C durante 2 hs. Enfriar en desecador y pesar, continuando luego el secado por períodos de 30 min. hasta peso constante.

### **Determinación de grasas (AOAC, 985.15, 2000)**

Transferir cuantitativamente el contenido del cristizador utilizado en la determinación de agua, a un cartucho de celulosa. Al realizar esta operación es conveniente perforar con la varilla el papel "aluminio" o instalarlo en el cartucho de tal manera que permita la circulación y drenaje continuo del solvente en el cartucho de celulosa. Cubrir con un poco de algodón y colocar en el cuerpo del extractor Soxhlet.

En el balón de extracción colocar 2 o 3 piedras pómez chicas y cargar el cuerpo del extractor una vez y media con cloruro de metileno (ver esquema adjunto). Extraer durante 4 hs. como mínimo, calentando con una intensidad tal que se logre una condensación de 5-6 gotas por minuto.

Una vez finalizada la extracción, evaporar en Rotavap (en campana) recuperando el solvente. Pasar luego el extracto a un Erlenmeyer chico tarado, con la ayuda de un poco de solvente y secar a 100°C durante 30 min. Enfriar y pesar. Referir el dato a % p/p de muestra.



**Extractor Soxhlet**

**Proteínas totales** (Método de Kjeldahl-Arnold-Gunning, A.O.A.C., 928.08, 2000).

Reactivos:

- $K_2SO_4$  p.a. ó  $Na_2SO_4$  p.a.
- $CuSO_4$  p.a. (puede usarse  $CuSO_4 \cdot 5 H_2O$ )
- $H_2SO_4$  concentrado.
- Solución  $H_2SO_4$  0,1 N valorado.
- Solución concentrada de NaOH (40 o 45 %).
- Solución NaOH 0,1 N valorada.
- Solución de rojo de metilo en etanol (0,5 % p/v).

### **Etapa de digestión:**

Pesar exactamente 0,5-0,75 g de muestra (de acuerdo al contenido estimado de nitrógeno) en un pequeño trozo de papel satinado. Envolverla y dejarla caer en un tubo de digestión de Kjeldahl. Agregar 6 g de  $Na_2SO_4$  y 0,8 g  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  y 12 mL de  $H_2SO_4$  concentrado. Consulte con un docente y siga las instrucciones del equipo para digerir la muestra, utilizando las siguientes condiciones:

1° paso: 125°C – 30 minutos  
2° paso: 270°C – 30 minutos  
3° paso: 400°C – 120 minutos

**Etapas de destilación:**

Dejar enfriar el tubo de digestión a temperatura ambiente y agregar aproximadamente 20 mL de agua (¡cuidado con la violencia de la reacción!). Colocar 50,0 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 N en un erlenmeyer de 500 mL y agregar 4 ó 5 gotas del indicador rojo de metilo. Realizar la destilación de acuerdo con las instrucciones del equipo.

El destilado se titula con solución de NaOH 0,1 N valorado.

Factores para la conversión de N a proteína:

- Carne: 6,25 (es el más empleado si se desconoce la procedencia de la proteína)
- Leche: 6,38
- Gelatina: 5,55
- Soja: 5,71
- Arroz: 5,95
- Huevos: 6,68

## PARTE 2

### PRODUCTOS AZUCARADOS

Como ejemplo de producto azucarado se encarará el análisis de miel. Ésta, como cualquier producto alimenticio, debe cumplir con normas de calidad organolépticas fisicoquímicas, y microbiológicas.

#### MIEL

Se entiende por miel el producto alimenticio producido por las abejas melíferas a partir del néctar de las flores (miel de néctar de flores) o de las secreciones procedentes de partes vivas de las plantas o de excreciones de insectos succionadores de plantas que quedan sobre partes vivas de plantas (miel de mielada), que las abejas recogen, transforman, combinan con sustancias específicas propias y almacenan y dejan madurar en los panales de la colmena.

La miel constituye el único material endulzante que puede ser almacenado y usado tal cual es producido en la naturaleza. Para apreciar sus propiedades particulares, no requiere procesamiento o purificación alguna.

El Reglamento Técnico Mercosur de Identidad y Calidad de Miel establece:

#### a) COMPOSICIÓN

La miel es una solución concentrada de azúcares, mayoritariamente glucosa y fructosa. Contiene además una mezcla compleja de otros hidratos de carbono, enzimas, aminoácidos, ácidos orgánicos, minerales, sustancias aromáticas, pigmentos, cera y granos de polen.

#### b) REQUISITOS

##### i) CARACTERÍSTICAS SENSORIALES:

- Color: Será variable desde casi incolora hasta pardo oscuro, pero siendo uniforme en todo el volumen del envase que la contenga.
- Sabor y aroma: Deberá tener sabor y aroma característicos y estar libre de sabores y aromas objetables.
- Consistencia: Podrá ser fluida, viscosa o cristalizada total o parcialmente.

##### ii) CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS

- Madurez: Azúcares reductores (calculados como azúcar invertido): Miel de flores: mínimo 65%. Miel de mielada y su mezcla con miel de flores: mínimo 60%.
- Humedad: máximo 18% (CAA), 20% para Mercosur.
- Sacarosa aparente: Miel de flores: máximo 5%. Miel de mielada y sus mezclas: máximo 10%.
- Limpieza: Sólidos insolubles en agua: máximo 0,1 %, excepto en miel prensada que se tolera hasta el 0,5%.
- Minerales (cenizas): máximo 0,6%. En miel de mielada y sus mezclas con mieles de flores se tolera hasta 1%.

##### iii) DETERIORO

El deterioro se refiere a la alteración de las características propias de la miel, consecuencia del sobrecalentamiento, el almacenamiento prolongado y la fermentación. Esto se mide a través de la acidez libre, la actividad enzimática y la cuantificación del hidroximetilfurfural (HMF).

También se tiene en cuenta el contenido de polen, el cual no debe ser eliminado en el procesamiento de la miel.

#### **iv) ACONDICIONAMIENTO**

Las mieles podrán presentarse "a granel" (tambores de 300 kg.) o fraccionadas. Deberán acondicionarse en envases bromatológicamente aptos, adecuados para las condiciones previstas de almacenamiento y que confieran una protección adecuada contra la contaminación. La miel en panales y la miel con trozos de panal sólo estarán acondicionadas en envases destinados al consumidor final (fraccionada).

#### **Toma de muestra (A.O.A.C., 969.38 B, 2000).**

Las mieles que presentan cristalización de azúcares (granulación) deben homogeneizarse introduciendo el envase en un baño de agua a una temperatura no mayor de 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.

#### **Humedad, método refractométrico (A.O.A.C., 969.38 B, 2000):**

La miel es un alimento de humedad intermedia. Su contenido de agua suele oscilar entre 14 a 20 %, dependiendo de las condiciones climáticas, periodo del año, humedad inicial del néctar y grado de maduración alcanzado en la colmena, así como de su origen biogeográfico. La variación de la humedad interviene en los fenómenos de granulación y marca la estabilidad del producto desde el punto de vista microbiológico. El índice de refracción, la humedad y el contenido de sólidos solubles totales, son parámetros correlacionados. El porcentaje máximo de humedad permitido es del 18 % según la legislación vigente.

Se determina por refractometría a 20 °C o por secado en estufa de vacío a 60-70 °C. En el Laboratorio se determinará por refractometría

#### **Procedimiento:**

1. Encender el instrumento (refractómetro AR200, Reichert) presionando la tecla "CAL".
2. Colocar agua destilada y presionar "CAL".
3. Una vez finalizada la calibración el equipo presenta el mensaje "Set point cal successful".
4. Colocar una pequeña cantidad de miel en el refractómetro y permitir que se establezca la temperatura durante un minuto y presionar la tecla "READ". Realizar la medición utilizando el modo "nd-TC" que entrega los resultados como índice de refracción compensado por temperatura (20°C). Hacer 2 o 3 lecturas y promediarlas.
5. Calcular el % de agua a partir de la siguiente tabla (A.O.A.C., 940.39, 2000):

Table 969.38 Relationship between refractive index and water contents of honeys<sup>a</sup>

Water content, %	Refractive index			Water content, %	Refractive index		
	20°C <sup>b</sup>	60°F <sup>c</sup>	40°C		20°C <sup>b</sup>	60°F <sup>c</sup>	40°C
13.0	1.5044	1.5053	1.4998	19.0	1.4890	1.4900	1.4845
13.2	1.5038	1.5048	1.4993	19.2	1.4885	1.4895	1.4840
13.4	1.5033	1.5043	1.4988	19.4	1.4880	1.4890	1.4835
13.6	1.5028	1.5038	1.4983	19.6	1.4875	1.4885	1.4829
13.8	1.5023	1.5033	1.4978	19.8	1.4870	1.4880	1.4824
14.0	1.5018	1.5027	1.4973	20.0	1.4865	1.4875	1.4819
14.2	1.5012	1.5022	1.4968	20.2	1.4860	1.4870	1.4814
14.4	1.5007	1.5017	1.4962	20.4	1.4855	1.4865	1.4809
14.6	1.5002	1.5012	1.4957	20.6	1.4850	1.4860	1.4804
14.8	1.4997	1.5007	1.4952	20.8	1.4845	1.4855	1.4799
15.0	1.4992	1.5002	1.4947	21.0	1.4840	1.4850	1.4794
15.2	1.4987	1.4997	1.4942	21.2	1.4835	1.4845	1.4788
15.4	1.4982	1.4992	1.4937	21.4	1.4830	1.4840	1.4783
15.6	1.4976	1.4986	1.4932	21.6	1.4825	1.4835	1.4778
15.8	1.4971	1.4981	1.4927	21.8	1.4820	1.4830	1.4773
16.0	1.4966	1.4976	1.4922	22.0	1.4815	1.4825	1.4768
16.2	1.4961	1.4971	1.4916	22.2	1.4810		
16.4	1.4956	1.4966	1.4911	22.4	1.4805		
16.6	1.4951	1.4961	1.4906	22.6	1.4800		
16.8	1.4946	1.4956	1.4901	22.8	1.4795		
17.0	1.4940	1.4951	1.4896	23.0	1.4790		
17.2	1.4935	1.4946	1.4891	23.2	1.4785		
17.4	1.4930	1.4940	1.4886	23.4	1.4780		
17.6	1.4925	1.4935	1.4881	23.6	1.4775		
17.8	1.4920	1.4930	1.4876	23.8	1.4770		
18.0	1.4915	1.4925	1.4870	24.0	1.4765		
18.2	1.4910	1.4920	1.4865	24.2	1.4760		
18.4	1.4905	1.4915	1.4860	24.4	1.4755		
18.6	1.4900	1.4910	1.4855	24.6	1.4750		
18.8	1.4895	1.4905	1.4850	24.8	1.4745		
				25.0	1.4740		

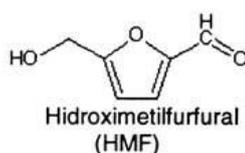
<sup>a</sup> Values for 20°C and 60°F are Wedmore's calculations [*Bee World* 36, 197(1955)]; 40°C values are calculated from Auerbach and Borries equation [*Z. Naturforsch.* 22, 353-358(1924)]. Values >22.0% were extended by FAO/WHO Codex Committee on Methods of Analysis and Sampling (1968).

<sup>b</sup> If refractive index is measured at temperature above (below) 20°C, add (subtract) 0.00023/°C above (below) 20°C before using table.

<sup>c</sup> If refractive index is measured at temperature above (below) 60°F, add (subtract) 0.00013/°F above (below) 60°F before using table.

## Hidroximetilfurfural (HMF) y posible presencia de Dextrinas

El 5-hidroximetil-2-furaldehído o hidroximetilfurfural (HMF) es un producto generado por la deshidratación -catalizada por ácidos- de azúcares y/o por reacción de Maillard a partir de azúcares reductores.



La miel recién extraída contiene muy poca cantidad de HMF, sin embargo, su contenido puede aumentar por sobrecalentamiento y también durante su procesamiento y posterior almacenamiento. Este producto suele ser sometido a tratamiento térmico con el fin de reducir la viscosidad y prevenir la cristalización y/o la fermentación. Con respecto al almacenamiento, si la miel se mantiene por largos períodos a temperaturas promedio entre 12 y 15 °C, la formación del HMF será mínima, pero a temperaturas superiores se verá favorecida, debido principalmente al valor de acidez propio de la miel.

Por otra parte, la miel, compuesta principalmente por azúcares, ha sido tradicionalmente objeto de adulteraciones con jarabes. Éstos se obtienen de manera muy económica a partir de la hidrólisis ácida del almidón. Durante este tratamiento se forman dextrinas y HMF en cantidades importantes, con lo cual, la presencia de altos niveles de estos compuestos en miel sugiere la posibilidad de que el alimento haya sido adulterado con este tipo de productos.

Por lo que la presencia de HMF puede ser indicio de cualquiera de los dos fraudes, del calentamiento excesivo y de la adición de jarabes de azúcares. Por lo anteriormente expuesto, el contenido de HMF constituye un parámetro de genuinidad de importancia en miel. Según el Código Alimentario Argentino (C.A.A.) la cantidad máxima permitida de HMF en la miel es de 40 mg/kg.

### **Determinación de hidroximetilfurfural por H.P.L.C.**

Principio: El hidroximetilfurfural será determinado en una solución acuosa de miel, clara y filtrada, utilizando cromatografía líquida de alta performance en fase reversa, equipada con un detector UV-visible. Se cuantificará utilizando una curva de calibración construida a partir de las señales de estándares conocidos.

### **Reactivos**

- Agua bidestilada o Millipore necesaria para preparar todas las soluciones a utilizar.
- Fase móvil: agua-metanol (70:30), ambos calidad HPLC.
- Solución acuosa estándar de HMF (aproximadamente 400 mg/L).
- Solución de Carrez I: disolver 15 g de  $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$  en agua y llevar a 100 mL.
- Solución de Carrez II: disolver 30 g de  $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$  y llevar a 100 mL.

### **Equipamiento**

Equipo para HPLC marca Spectra System P2000, Thermo Separation Products, equipado con una válvula inyectora Reodyne provista de un loop de inyección de 10  $\mu$ L, detector UV-visible Spectra 100, Thermo Separation Products, y un integrador Data Jet Integrator, Thermo Separation Products. La columna a utilizar será Phenomenex Sphereclone s u ODS (2); 250 mm x 4,6 mm id x 5  $\mu$ m. La detección se realizará a  $\lambda = 272$  nm.

### **Curva de calibración:**

Preparar, a partir de la solución madre entregada por el docente, soluciones estándar de HMF de concentraciones 1, 2, 5 y 10 mg/L (consultar).

Inyectar por triplicado 20  $\mu$ L de cada una de las soluciones estándar de HMF. Las corridas se realizarán en modo isocrático, a temperatura ambiente, con un flujo de 1 mL/min. A partir de los resultados obtenidos, grafique la curva de calibración correspondiente (Área vs. concentración estándar de HMF).

### **Muestra:**

Pesar exactamente 5 g de miel en un vaso de precipitados de 50 mL. Disolver la muestra en aproximadamente 25 mL de agua (bidestilada o millipore) y transferir cuantitativamente a un matraz de 50 mL. Agregar 0,5 mL de la solución de Carrez I y mezclar. Agregar 0,5 mL de solución de Carrez II, mezclar y llevar a volumen con agua (pueden agregarse unas gotas de etanol para prevenir la formación de espuma). Filtrar en papel, descartando los primeros 10 mL del filtrado. Posteriormente, filtrar a través de un filtro de membrana de 0,45  $\mu$ m.

Inyectar la muestra por triplicado. A partir de las áreas obtenidas y utilizando la curva de calibración, calcule el valor, en mg/kg, del contenido de HMF del producto analizado.

### **Determinación de presencia de dextrinas**

La concentración de dextrinas es naturalmente muy baja o despreciable en la miel, sin embargo, cuando se adultera la miel con el agregado de jarabes se puede detectar su presencia.

Procedimiento: Colocar aproximadamente 1 g de miel en un vaso de precipitado de 50 mL. Agregar 4 mL de agua destilada y disolver completamente la miel. Tomar 2 mL de la solución anterior, colocarlos en un tubo de ensayos y agregar 1 mL de etanol.

Observar el resultado:

- a) Líquido limpio: miel no adulterada.
- b) Líquido blanco-lechoso: miel adulterada.

### **Acidez Libre (A.O.A.C., 962.19, 2000)**

La acidez libre se mide en función de los ácidos orgánicos que naturalmente contiene la miel. Los valores normales de acidez se incrementan si la miel ha fermentado y esto sucede en mieles con elevados porcentajes de humedad donde se han desarrollado mohos y levaduras. El CAA establece un valor máximo permitido.

Reactivos

Solución de NaOH (0,05 N)

Procedimiento: Disolver 5 g de muestra en un vaso de precipitados de 250 ml y agregarle 75 mL de agua destilada. Agitar y disolver completamente. Colocar el electrodo del pHímetro en la solución, registrar el pH inicial y luego agregar NaOH 0,05 N con un flujo aproximado de 5 mL/min hasta alcanzar un pH de 8,50. Expresar los resultados como meq /Kg de muestra.

### **Actividad Diastásica**

Las enzimas son componentes minoritarios de la miel, pero su actividad enzimática es fundamental para la transformación del néctar en miel, ya que modifica azúcares complejos en simples, de fácil asimilación. El Código Alimentario Argentino contempla la determinación de la actividad diastásica (una de las enzimas de la miel) como una forma de valorar calidad, no por su importancia dietaria, sino por su sensibilidad al calor e inactivación por sobrecalentamiento o envejecimiento de la miel.

Principio del método: El sustrato de almidón tamponado, se incuba con la muestra, produciéndose la hidrólisis enzimática, que se determina por el agregado de reactivo de iodo, el cual produce coloración con el remanente del almidón no hidrolizado.

### **Materiales**

Buffer acetato – pH: 5,3 (1,59 M)

Solución de cloruro de sodio 1 %

Solución de almidón (0,05 %)

Solución de Iodo 0,1 N

### **Preparación de la muestra**

Pesar 10,00 g de muestra de miel en un vaso de precipitado de 50 mL y añadir 10 mL de buffer pH: 5,3.

### Procedimiento

Colocar en una gradilla 10 tubos de ensayo y agregarle 1 mL de solución de cloruro de sodio al 1 %. Agregar al primer tubo 1 mL de la muestra y mezclar. Pasar luego 1 mL del primer tubo al segundo, mezclar y continuar así hasta el noveno tubo, desechando el último mL (las diluciones serán: 1/2; 1/4; 1/8; hasta 1/512). El tubo décimo sirve de testigo. Colocar a cada tubo 1 mL de solución de almidón 0,050 % e incubar por 30 minutos a 37 °C. Retirar, enfriar rápidamente y colocar una gota de solución de trabajo de iodo a cada tubo y agitar. Observar la coloración.

### Expresión de los resultados

$$U.D = (\text{dilución mayor que permanece incolora}) \times 2$$

Valor normal de miel: Escala de Gothe: mínimo 8.

Cantidades menores a 8 (escala Gothe) corresponden a una miel vieja, calentada, mal procesada o adulterada. Existen mieles de bajo contenido de diastasa, por ejemplo, mieles de citrus.

Tabla de equivalencias del método de Bianchi y el I.D que corresponde al número de de la escala de Gothe.

U.D. Bianchi	ID (Gothé)	
	Mínimo	Máximo
0	0,99	2,88
4	2,93	4,16
8	4,32	5,70
16	7,28	8,08
32	9,01	14,68
64	15,22	27,25
128	33,48	67,87

## GRASAS Y ACEITES

Las sustancias grasas están constituidas fundamentalmente por ésteres de ácidos grasos con glicerol y por una pequeña proporción de materia insaponificable.

El CAA considera aceites alimenticios o aceites comestibles a los obtenidos de semillas y frutos oleaginosos y que son admitidos como aptos para la alimentación. Las grasas animales son los productos obtenidos por la fusión de tejidos grasos de músculos y huesos conexos de animales bovinos, ovinos o porcinos.

En la presente práctica se llevarán a cabo algunas de las técnicas utilizadas en el análisis de productos grasos, con el objetivo de realizar una caracterización general de los mismos, su tendencia a la oxidación y sus propiedades funcionales.

### Muestras:

Se utilizarán diferentes aceites y grasas disponibles en el mercado.

### Preparación de la muestra. (A.O.A.C., 981.11, 1990)

Antes de proceder al examen de una sustancia grasa es necesario eliminar las impurezas groseras y el agua que pueda contener; por lo tanto, si la muestra no está completamente límpida, se la deja en reposo durante un tiempo en la 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 (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 retardar la rancidez.

## CARACTERIZACIÓN GENERAL

### Índice de refracción. (A.O.A.C., 921.08, 2000).

Se informa a la temperatura de 25°C para los aceites y 40°C para las grasas. El instrumento puede chequearse con agua destilada a 20°C (I. refracción = 1,3330).

### Procedimiento:

- Encender el instrumento (refractómetro AR200, Reichert) presionando la tecla "CAL".
- Colocar agua destilada y presionar "CAL".
- Una vez finalizada la calibración el equipo presenta el mensaje "Set point cal succesful".
- Colocar una pequeña cantidad de la muestra en el refractómetro y permitir que se establezca la temperatura durante un minuto y presionar la tecla "READ". Realizar la medición utilizando el modo "nd-TC" que entrega los resultados como índice de refracción compensado por temperatura (20 °C). Hacer 2 o 3 lecturas y promediarlas.
- Leer el índice de refracción directamente, hacer 2 o 3 lecturas, expresarlas a 25 °C o 40 °C por medio de la siguiente fórmula y promediarlas:

$$n = n' + K (T' - T)$$

donde K = 0.00038; n' = índice leído a T'; n = índice a T standard. El índice de refracción decrece con el aumento de temperatura.

## Índice de iodo

Se define como el número de gramos de iodo absorbidos por 100 g de grasa. Es la constante más usada en la determinación del grado de insaturación.

Como el iodo posee baja velocidad de adición, se emplean reactivos halogenantes de grado intermedio que reaccionan más fácilmente con los dobles enlaces no conjugados. Las dos técnicas empleadas comúnmente para estimar este índice son la de Hanus y la de Wijs que usan respectivamente monobromuro de iodo y monocloruro de iodo como agentes halogenantes. Se basan en los principios de la titulación diferencial, o sea en el agregado de un exceso del reactivo el cual es medido luego que se completa la reacción, por medio de una iodometría.

**Método de Hanus. (A.O.A.C., 920.158, 2000).**

### Reactivos

- Solución iodada (13,2 g de iodo puro en 1 L de AcOH (99,5 %) y posterior agregado de bromo hasta duplicar exactamente el contenido en halógeno).
- $\text{Cl}_3\text{CH}$
- Solución de KI al 15 %
- Solución de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,1 N valorada.
- Solución de almidón al 1 %

Pesar en un recipiente adecuado limpio y seco (dedal de vidrio) la cantidad de muestra indicada en la tabla según el índice de yodo esperado de acuerdo a la composición acídica del aceite o grasa a analizar. Luego se transfiere, usando una pinza, a un frasco de 500 mL limpio y seco, con tapa esmerilada; disolver el aceite en 10 mL de  $\text{Cl}_3\text{CH}$ . Conducir simultáneamente el duplicado y un blanco (título del reactivo), teniendo en cuenta los tiempos de análisis de cada muestra (largar con 10 min de diferencia cada uno).

Cargar el reactivo de Hanus en pipeta aforada de 25,0 mL con ayuda de una pera de goma y agregarlo rápidamente sobre la muestra, dejando drenar la pipeta un tiempo definido. En todos los recipientes debe agregarse exactamente la misma cantidad de reactivo sacado de una misma botella; tanto ésta como los frascos de reacción deben taparse inmediatamente para que la concentración de bromuro de iodo no varíe sensiblemente. El exceso de reactivo debe ser por lo menos el 60 % de la cantidad agregada.

Dejar durante 30 minutos exactos en oscuridad agitando ocasionalmente. Luego adicionar (tan ligero como se pueda y en el orden que se consigna) 10 mL de IK 15 % y 100 mL de agua, arrastrando cualquier resto de  $\text{I}_2$  libre que existe en el cuello y tapón del frasco. Titular, agitando continuamente, con  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,1 N agregándolo gradualmente y con cierta rapidez para evitar la pérdida de iodo. Cuando el color amarillo de la solución se atenúa colocar algunas gotas del indicador (aprox. 1 mL) y continuar titulando gota a gota hasta que el tono azul negruzco casi desaparece. Cerrar bien el frasco, agitar violentamente para que el iodo remanente en la capa orgánica (inferior) pase a la capa acuosa y completar la titulación.

$$II = \frac{(B - M) \times N \times f}{1000} \times \frac{PM(I_2)}{2} \times \frac{100}{g_{muestra}}$$

M = mL de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  gastados en la titulación de la muestra.

B = mL de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  gastados en la titulación del blanco.

N = normalidad de la solución de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ .

f = factor de la solución de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

g = masa de muestra (g)

Peso molecular del  $\text{I}_2 = 253.8$

Importante: esta determinación exige extremo cuidado en cada uno de sus pasos. Los duplicados que se informen en el laboratorio de T.P. no deben diferir en más de 2 unidades.

Tabla

Índice de Iodo esperado	Masa de muestra, g
3	10,58-8,46
10	3,17-2,54
20	1,59-1,27
40	0,79-0,63
80	0,40-0,32
120	0,26-0,21
160	0,20-0,16
200	0,16-0,13

## PROPIEDADES FUNCIONALES

La determinación del perfil de grasa sólida en función de la temperatura es esencial para establecer los parámetros de formulación y control de proceso en la industria de grasas y aceites. Tradicionalmente se realizó por dilatometría pero en la actualidad existe un método oficial que emplea una técnica más rápida y precisa basada en la resonancia magnética nuclear (RMN) resuelta en el tiempo.

En este trabajo práctico se determinará el contenido de grasa sólida por RMN de baja resolución resuelta en el tiempo, usando el método oficial de la AOCS Cd 16b-93. En este método, el contenido de grasa sólida (SFC) está definido como una relación, expresada en porcentaje, entre la respuesta de los núcleos de hidrógeno de las fases sólida y líquida de la muestra.

### Procedimiento

- 1) Calibrar el instrumento con los estándares provistos por el fabricante.
- 2) Colocar 4 mL de aceite en tubos estandarizados para RMN.
- 3) Proceso de estabilización y templado
  - a) Fundir la muestra a  $100^\circ\text{C}$  y almacenarla durante 15 minutos a  $100^\circ\text{C}$
  - b) Almacenar la muestra al menos 5 minutos a  $60^\circ\text{C}$
  - c) Almacenar la muestra durante  $60 \pm 2$  minutos a  $0^\circ\text{C}$

- d) Almacenar la muestra durante 30 – 35 minutos entre 5 y 50°C
- 4) Medir las muestras a cada temperatura empleando el método para SFC. Obtener los valores de SFC a cada temperatura.
- 5) Graficar SFC de las muestras en función de la temperatura y concluir sobre posibles aplicaciones de las mismas.

El equipo calcula directamente el valor de SFC empleando la siguiente fórmula:

$$SFC = \frac{(E11 - E70) \times F}{E70 + ((E11 - E70) \times F) + D}$$

E11= Señal de RMN medida a los 11 µseg después del pulso.

E70= Señal de RMN medida a los 70 µseg después del pulso.

F y D= Factor empírico de corrección.

## PARAMETROS DE DETERIORO

La autooxidación de los lípidos es una de las causas principales del deterioro de los alimentos, la cual da lugar a la aparición de olores y sabores desagradables, por lo que constituye un gran problema en la industria alimentaria. Esta reacción ocurre fundamentalmente con los ácidos grasos insaturados a través de una serie de reacciones en cadena de radicales libres. En los alimentos con alto contenido de lípidos, la formación y descomposición de los hidroperóxidos genera una serie de compuestos oxidados como cetonas, aldehídos, alcanos y alquenos de bajo peso molecular y de alta volatilidad. Este fenómeno que afecta el valor sensorial del alimento se denomina rancidez.

Otra reacción de deterioro que ocurre también es la lipólisis que se produce a partir de la hidrólisis de enlaces éster de los lípidos (enzimático por acción de las lipasas o por calor en presencia de agua). En las grasas animales la lipólisis libera ácidos grasos, algunos (los de cadena corta) son responsables de sabores y olores extraños. Ocurre también durante el almacenamiento o manipulación de semillas de oleaginosas, eliminándose en la refinación de los aceites vegetales.

Algunos de los índices químicos más frecuentemente usados para medir el desarrollo de oxidación son el índice peróxido (IP), que mide la cantidad de peróxidos formados y las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), que cuantifican los productos secundarios de la oxidación lipídica, los que al reaccionar con este ácido forman productos coloreados.

En el presente trabajo práctico se empleará para la evaluación de la estabilidad oxidativa el método de Schaal Oven en el cual las muestras se almacenan en envases abiertos a una temperatura constante de 62,5 °C en una estufa. Luego de intervalos regulares de tiempo las muestras se retiran y se analiza su estabilidad oxidativa mediante diferentes parámetros de deterioro. Cada alumno recibirá dos muestras correspondientes a distintos tiempos de tratamiento, siendo una de ellas la muestra control (sin calentamiento).

### Índice de peróxido (IP) (A.O.A.C., 965.33, 2000; A.O.C.S., Cd 8-53, 1963)

Este método determina todas las sustancias que, bajo las condiciones del test, oxidan al ioduro de potasio, y las expresa en términos de miliequivalentes de peróxido por 1000 g de muestra. Se asume generalmente que todas las sustancias son peróxidos u otros productos similares de la

oxidación de grasa. Es aplicable a todas las grasas y aceites típicos, incluidas las margarinas. El método es altamente empírico y cualquier cambio en el procedimiento puede provocar variación de los resultados. Realizar por duplicado.

Reactivos:

- Mezcla ácido acético-cloroformo (3:2)
- Solución saturada de KI (se prepara en el momento- consultar docentes)
- Solución de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,1 N (valorada).
- Solución de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,01 N (valorada).
- Solución de almidón 1%.

Pesar  $2,50 \pm 0,02$  g de muestra en un Erlenmeyer de 250 mL de capacidad, con tapa esmerilada. Agregar 15 mL de la mezcla de solventes. Agitar hasta disolución total de la muestra. Agregar 0,5 mL de la solución saturada de KI. Dejar la solución exactamente 1 min., con ocasional agitación, y agregar después 30 mL de agua destilada.

Titular con solución de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,01 N, agregándole gradualmente y con agitación constante y vigorosa. Continuar la titulación hasta que el color amarillo haya casi desaparecido. Agregar aproximadamente 0,5 ml de solución indicadora de almidón. Continuar la titulación agitando vigorosamente el Erlenmeyer cerca del punto final, para liberar todo el  $\text{I}_2$  de la capa clorofórmica. Agregar la solución de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  gota a gota hasta desaparición del color azul. Conducir paralelamente un blanco (el volumen gastado debe ser  $< 0,1$  ml de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,01 N).

**Cálculo de resultados:**

$$\text{IP (meq. de peróxido / 1000g muestra)} = (\text{M} - \text{B}) \times \text{N} \times \text{f} \times 1000 / \text{mM}$$

Donde:

M = mL de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  gastados en la titulación de la muestra.

B = mL de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  gastados en la titulación del blanco.

N = normalidad de la solución de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ .

f = factor de la solución de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

mM = masa de muestra (g)

### **Índice de acidez. (IUPAC, II.D.1, modificado)**

Los aceites y grasas, debido a la acción de las lipasas, contienen ácidos grasos libres en mayor o menor cantidad según sean las condiciones de manufactura y tiempo de almacenamiento del producto. El Código Alimentario Argentino menciona el máximo valor de acidez libre permitido en aceites comestibles (Art. 525).

Se expresa en mg de KOH requeridos para neutralizar los ácidos grasos libres presentes en 1 g de grasa.

Reactivos:

- Sol. de etanol: éter etílico (1:1 v/v) neutralizada = 60 mL.
- NaOH 0,05 N valorado.
- Sol. de fenolftaleína al 1 %

Realizar por duplicado. Pesar exactamente 6 g de muestra en un Erlenmeyer tarado de 125 mL, y disolverla en 60 mL de la mezcla de solventes previamente neutralizada a la fenolftaleína con NaOH diluido. Agitar y titular con NaOH 0,05 N valorado.

Calcular e informar la acidez libre en mg de KOH por g de aceite y en g de ácido oleico por 100 g de aceite, que es otra forma común de expresarla. (PM ácido oleico = 282,4).

Nota: Punto final: que la coloración rosa del indicador permanezca 15-30 seg.

Cálculo de resultados:

$$IA \text{ (mg KOH / 1 g grasa)} = (V \times N \times f)_{NaOH} M_{KOH} / m_M$$

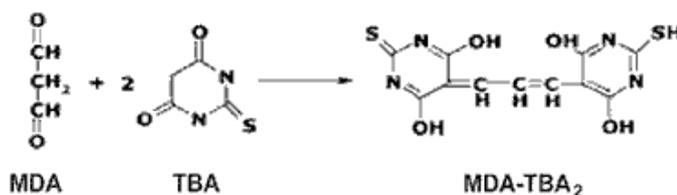
$$IA \text{ (g ácido oleico / 100 g aceite)} = (V \times N \times f)_{NaOH} M_{ACIDO\ OLEICO} \times 100 / (1000 \times m_M)$$

Donde: IA: índice de acidez  
 $N_{NaOH}$ : normalidad del NaOH  
 $m_M$ : masa de muestra (g)

$V_{NaOH}$ : mL de NaOH gastados en la titulación  
 $f_{NaOH}$ : factor del NaOH

### Determinación de sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS).

Junto con el índice de peróxido, el método del ácido tiobarbitúrico (TBARS) es uno de los más empleados para determinar el desarrollo de la oxidación de lípidos en alimentos. Su principio se basa en la reacción de condensación entre dos moléculas de TBA con una de malonaldehído en la que se produce un compuesto cromógeno de color rojo cuya concentración se determina espectrofotométricamente a 532 nm.



### Procedimiento:

Determinación de los compuestos reactivos al ácido tiobarbitúrico (TBARS):

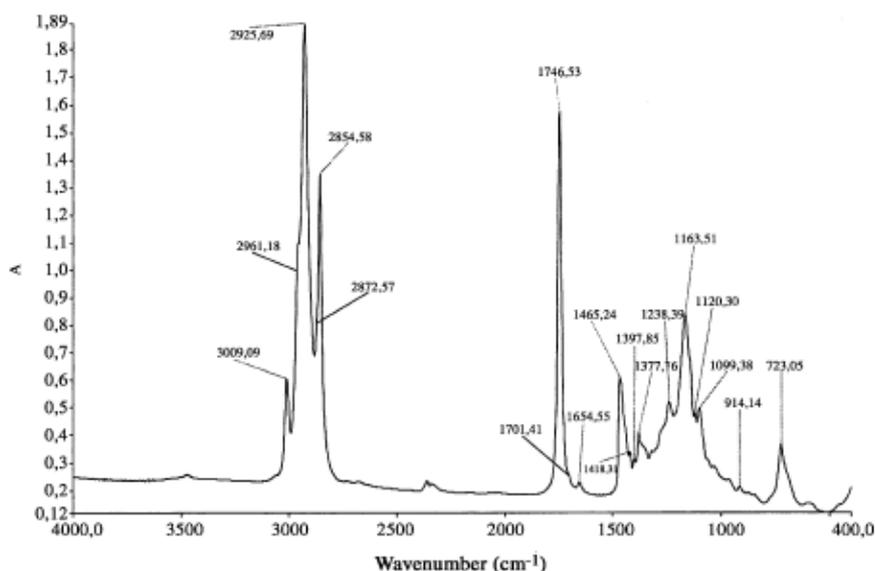
- Realizar por duplicado. Pesar exactamente la muestra (ver tabla abajo) en tubos tipo Falcon de 15 mL, previamente tarados (Verificar que el cierre sea correcto). Agregar 2,5 mL del reactivo de trabajo (0,02M ácido tiobarbitúrico en ácido acético glacial al 90%).
- Tapar muy bien los frascos con la tapa a rosca. Colocar en baño de agua a 80 °C durante 45 minutos.
- Enfriar a temperatura ambiente durante 10 minutos.
- Centrifugar las muestras a 3000 rpm durante 10 minutos.
- Tomar cuidadosamente con pipeta 2 mL del fondo del tubo y medir la absorbancia a 532 nm.
- Convertir los valores de absorbancia a mg de malonaldehído por 100g de aceite/grasa empleando una curva de calibración (ver datos en anexo).

Masa de muestra ensayo de TBARs		
Muestra	Tiempo Cero	Tiempos 20 / 30 días
Grasa	0,2 g	0,2 g
aceites	0,2 g	0,05 g

### Aplicación de la espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo por transformada de Fourier para analizar la oxidación de aceites comestibles.

La espectroscopía en la región del infrarrojo medio (MIR) es una de las técnicas analíticas disponibles más importantes para obtener información sobre aspectos cualitativos y cuantitativos de analitos en los procesos de elaboración de alimentos. Los cambios en los espectros de los aceites ocurridos luego del calentamiento se pueden observar principalmente en las regiones espectrales 3050-2800 y 1745  $\text{cm}^{-1}$  y se atribuyen a modificaciones debidas a la oxidación.

Ejemplo de un espectro de un aceite de maíz fresco:



Muestras: muestras de aceites comestibles frescos y almacenados a 62.5°C.

Metodología: Se trabajará con un equipo de espectroscopía infrarroja FTIR Spectrum SP 400 (Perkin Elmer).

#### Procedimiento:

- Seleccionar el menú "Setup"
  - o Seleccionar la opción "Instrument"
    - En el menú "Beam" seleccionar la opción MIR ATR
    - En el menú "Instrument" seleccionar la la resolución espectral "4" y el número de scan: 32.
    - En el menú "Scan" seleccionar la variable "Absorbancia" y elegir "Background" (y luego de haber hecho el background cambiar la opción a "Sample").
    - En el menú "Sample" realizar el background, luego medir las muestras y comparar los espectros obtenidos.
    - Colocar una gota de muestra sobre el cristal y realizar la medición.

## - PROPIEDADES FUNCIONALES PROPIEDADES FUNCIONALES DEL ALMIDON

### - **Introducción:**

El almidón es el hidrocoloide más ampliamente usado en la tecnología de alimentos. Esto es debido a su gran versatilidad funcional, ya sea en sus formas natural o modificada, y además por su costo relativamente bajo.

Los cambios de viscosidad que ocurren cuando el almidón se calienta en medio acuoso, así como la capacidad de gelificar y la estabilidad de las pastas y geles formados son de fundamental importancia en tecnología de alimentos.

Como resultado de su estructura y composición particulares, cada almidón tiene un comportamiento distinto en cuanto a la viscosidad de sus pastas, al tipo de gel formado y a su tendencia a la gelificación y a la retrogradación. De esta manera, eligiendo el almidón correcto se pueden controlar las características de un producto.

- **Finalidad del análisis:** Observar las propiedades funcionales de almidones de distintas fuentes, analizando las diferencias.

### - **Determinación de la temperatura inicial de gelatinización.**

Suspender en un erlenmeyer o vaso de ppdo de 50 mL, 3 g de almidón en 30 mL de agua destilada. Agregar un buzo y calentar en plancha calefactora agitando constantemente. Tomar la temperatura cada 10 segundos utilizando un termómetro digital tipo pinche (\*). La temperatura aumentará de forma continua hasta el punto en que los gránulos de almidón alcancen la temperatura de gelatinización, momento en que se mantendrá constante (cambio de fase).

(\*) con cuidado de no golpear la punta de la sonda, que es donde se encuentra el sensor

### - **Determinación de la concentración aproximada necesaria para gelificar.**

Preparar 40 ml de solución al 10% de almidón en agua destilada. A partir de esta solución preparar soluciones de concentración 8%; 6%, 4% y 2 % de almidón.

Transferir 10 ml de solución 10% a un tubo de ensayos grande y colocar en un baño de agua a ebullición. Agitar con varilla constantemente hasta ebullición. Continuar el calentamiento con agitación durante 5 minutos. Enfriar en baño de agua fría.

Repetir este procedimiento para las restantes diluciones. Informar la concentración mínima necesaria para gelificar.

### - **Tendencia a la retrogradación**

En un tubo de centrífuga, suspender 4 g de almidón en 40 ml de agua destilada. Colocar el tubo con la suspensión en baño de agua en ebullición. Agitar constantemente hasta ebullición para evitar la formación de grumos. Continuar el calentamiento con agitación por 5 minutos. Enfriar en agua fría y observar las características del gel formado (por ejemplo transparente, opaco, gomoso, elástico, etc.).

La tendencia a la retrogradación se estima a partir del volumen de agua separado luego de su almacenamiento a 4°C durante un tiempo estipulado. Colocar a 4°C durante 24h como mínimo. Centrifugar durante 20 minutos y luego extraer por succión (usar pipeta Pasteur) el agua separada. Informar el volumen de líquido separado.

Informar las características del gel formado y el volumen desplazado por retrogradación para cada almidón estudiado.

Confeccionar una tabla, tal como se muestra a continuación, para presentar los datos correspondientes a tres almidones diferentes. Comparar sus propiedades y comentar las posibilidades de emplear uno u otro para diferentes tipos de productos alimenticios.

### **ANEXO - Instrucciones uso HPLC**

- 1) Colocar la columna de fase reversa.
- 2) Utilizar los solventes sonicados
- 3) Ubicar el solvente a utilizar en el equipo. Verificar que la manguera quede bien sumergida en el solvente ANTES DE APRETAR RUN (entrará aire al equipo).
- 4) Encender el registrador y la computadora
- 5) Conectar bomba, detector y registrador.
- 6) Seleccionar la longitud de onda en el detector (cuidado con la perilla).
- 7) En la bomba, STATUS muestra las condiciones del equipo. Si la manguera A es la sumergida en el solvente a utilizar, entonces debe decir %A 100. (El tapón que engancha en la botella muestra si la manguera es A o B).
- 8) Purgar:
  - a- Abrir purga (perilla negra ubicada a la izquierda del inyector).
  - b- Colocar flujo a 5,0 mL/min. Para modificar el flujo: Presionar STATUS. Moverse hacia abajo con la flecha. Modificar flow con + y -. Presionar ENTER.
  - c- Presionar RUN.
  - d- Verificar que sale solvente. Revisar que no se vean burbujas en la manguera.
  - e- Presionar STOP.
  - f- Cerrar purga.
- 9) Colocar flow entre 0,75 y 1,00 mL/min y presionar RUN (no operar a flujos más altos porque se estropea la columna). De este modo empezará a circular el solvente. Observar que no haya pérdidas en la columna (si se produjeran pérdidas, apretar STOP para que cese el flujo de solvente, desconectar y volver a conectar la columna, y presionar RUN nuevamente, verificando que las pérdidas hayan cesado definitivamente. Si esto no sucede, consultar antes de seguir utilizando). Dejar estabilizar con la fase móvil antes de comenzar a inyectar (15 a 20 minutos).
- 10) Presionar ZERO en el detector.
- 11) Setear el registrador.
  - a) Abrir el programa del registrador
  - b) En Edit, clicar en channel: elegir channel 2 y fijarse que no haya otra opción
  - c) Aceptar
- 12) Inyección: asegurarse de usar una jeringa para HPLC (50 µl, con punta roma).
  - a- Verificar que la perilla del inyector esté en posición de carga (LOAD).
  - b- Inyectar 50 µl.
  - c- Girar la perilla a la posición de inyección (INJECT). En la computadora clicar RUN
  - d- Sacar la jeringa del inyector y volver la perilla a la posición de carga.
- 13) Al finalizar la corrida poner Stop en la computadora y Seleccionar en View, luego Results: Recognizer: 2. Integration: anotar el area de los picos.
- 14) Al finalizar todas las mediciones, poner STOP en la bomba. Colocar metanol grado HPLC previamente sonicado y repetir los pasos 7 y 8 para lavar el equipo. Dejar correr metanol por la columna con flow 1 ml/min durante 15 minutos.

- 15) Apagar bomba, detector y registrador.
- 16) Retirar la columna de la cátedra (no dejar al equipo sin una columna alternativa o los tapones correspondientes).