

BIOQUÍMICA DE ALIMENTOS

GUÍA DE TRABAJOS **PRÁCTICOS**

ESCUELA TÉCNICA ORT

6° QUÍMICA – 2009

Profesor: Lautaro Kremenchuzky

Trabajo Práctico Nº 1

DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE AGUA

Introducción:

El contenido de agua en muchos alimentos como por ejemplo los cereales es de fundamental importancia para su conservación, además del factor económico ya que se comercializan por peso. En estos productos en general se establecen niveles MÁXIMOS permitidos. Se expresa como "Humedad".

En otros casos, porcentajes de agua superiores a los normales, implica adulteración por aguado, por ejemplo en leche, bebidas y jugos. En estos productos se establecen en general valores MÍNIMOS de sustancias sólidas remanentes luego de la eliminación de agua y se expresa como "Extracto Seco".

A. Determinación del contenido de agua por calor (método indirecto):

Son métodos por desecación. El peso del residuo por estos métodos corresponde a los sólidos totales y la pérdida de peso al agua evaporada. La cantidad de agua determinada por estos métodos dependerá de la temperatura y de la presión utilizada. Por ello puede recurrirse al uso de calor solamente o calentamiento a presión reducida.

Técnica:

- Tomar un cristalizador limpio y seco.
- Pesarlo y registrar el peso.
- Pesar exactamente aprox. 2g de la muestra (si no es homogénea mezclarla bien). Registrar el peso.
- Calentar en estufa regulada a 100 – 105°C durante 1 hora. Enfriar en desecador y pesar. Repetir el calentamiento hasta peso constante. Registrar el peso.
- Calcular el % de humedad de la muestra.

Alimentos en que se emplea:

Harinas, fideos, productos de panadería, bebidas, leches, productos cárnicos.

B. Determinación del contenido de agua por destilación (método directo):

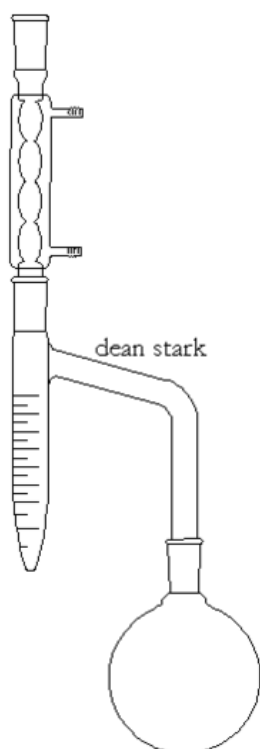
Consiste en realizar una destilación a reflujo con solventes no miscibles con el agua y de similar punto de ebullición y menor densidad que ésta (tolueno, heptano, benceno, xileno). El método más comúnmente utilizado utiliza tolueno, cuyo punto de ebullición es ligeramente superior al del agua, de modo que a esa temperatura ambos destilan, se condensan y son recolectados en un tubo graduado. Como la densidad del tolueno es menor, el agua se reúne en la parte inferior de dicho tubo, permitiendo la medida directa de la cantidad de agua presente al final de la destilación, mientras que el tolueno vuelve al balón de destilación.

Técnica:

- Pesar en un balón de 300 mL exactamente aprox. 10g de muestra.
- Agregar tolueno saturado en agua de modo de cubrir la muestra completamente.
- Agregar unos trocitos de plato poroso.
- Conectar el balón al brazo lateral de la trampa de Dean-Stark llena del mismo solvente.
- Calentar para llevar a ebullición suave hasta que haya destilado toda el agua.
- Calcular el % de agua en el alimento.

Alimentos en que se emplea:

Manteca y margarinas, vegetales deshidratados, especias.

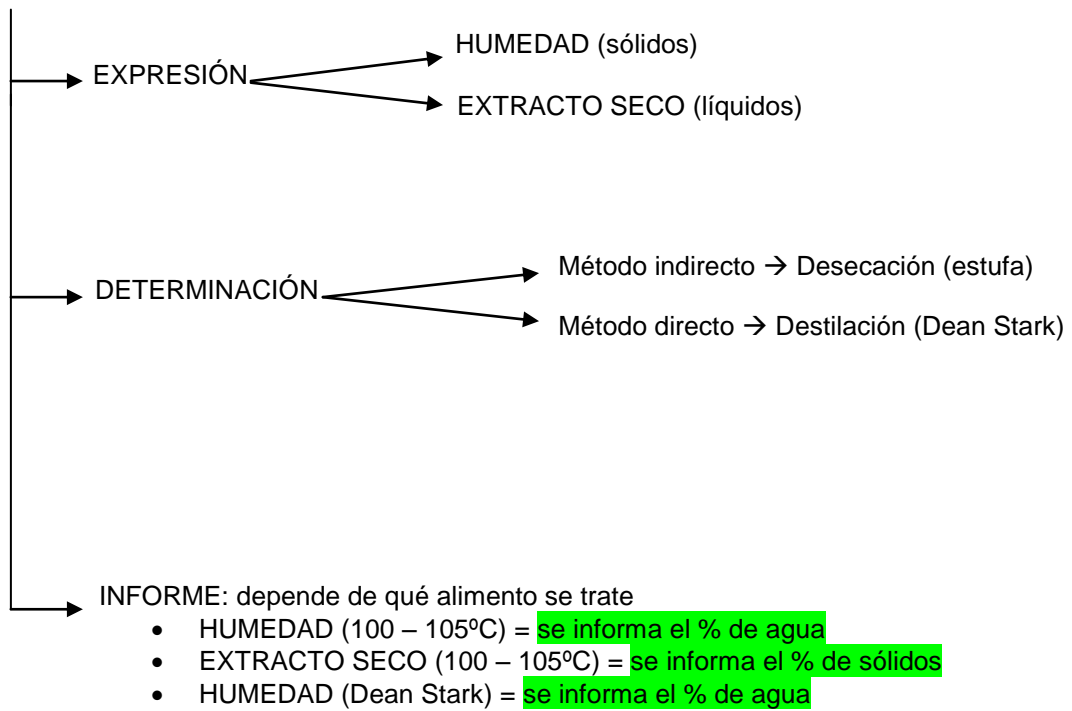
**Informe:**

- Objetivos.
- Materiales y reactivos.
- Muestra: producto, marca, lote, fecha de elaboración, vencimiento, RNE, RNPA.
- Cálculos.
- Resultados (análisis realizado, condiciones si corresponde, etc.).

Ejemplo: HUMEDAD (100 – 105°C) = 5,2%

- Conclusiones.

Resumen: contenido de agua



Trabajo Práctico Nº 2

DETERMINACIÓN DE CENIZAS

Introducción:

El método general de determinación de cenizas totales involucra la oxidación de toda la materia orgánica presente en una cantidad exactamente pesada de la muestra homogénea, y la pesada posterior de las cenizas blancas resultantes.

Técnica:

- Tomar una cápsula de porcelana limpia y seca.
- Pesarla y registrar el peso.
- Pesar exactamente aprox. 2g de la muestra (si no es homogénea mezclarla bien). Registrar el peso.
- Calentar sobre mechero hasta carbonización. Con sumo cuidado y dentro de la campana encendida, evitando que se prenda fuego la muestra. Seguir calentando hasta la desaparición de humos blancos.
- Introducir la cápsula en la mufla y calentar a 550 – 600°C hasta obtención de cenizas blancas.
- Pesar la cápsula conteniendo las cenizas.



Mufla

Informe:

- Objetivos.
- Materiales y reactivos.
- Muestra: producto, marca, lote, fecha de elaboración, vencimiento, RNE, RNPA.
- Cálculos.
- Resultados (análisis realizado, condiciones si corresponde, etc.).

Ejemplo: HUMEDAD (100 – 105°C) = 5,2%

- Conclusiones.

Trabajo Práctico Nº 3

DETERMINACIÓN DE AZÚCARES

Introducción:

Los métodos generales de análisis de estos nutrientes en alimentos son: 1) métodos por reducción, 2) métodos sacarimétricos o polaroscópicos, 3) densimétricos, 4) refractométricos, 5) enzimáticos – colorimétricos y 6) enzimáticos – cromatográficos.

En este trabajo práctico se determinará el contenido de azúcares por los métodos de reducción y refractométrico.

A. Determinación de azúcares reductores:

La presencia de un grupo aldehído o cetónico adyacente a un grupo oxhidrilo confiere poder reductor a las moléculas que los contienen. Así, todos los monosacáridos pueden ser oxidados y se clasifican como azúcares reductores. Algunos disacáridos también son reductores: lactosa, maltosa, y otros no lo son: sacarosa.

Método volumétrico de Fehling-Causse-Bonnans.

A.1: preparación del reactivo.

Técnica:

- Pesar 13g de tartrato de sodio y potasio. Disolver en 15 mL de agua.
- Pesar 11g de NaOH. Disolver en 30 mL de agua.
- Pesar 2,4g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$. Disolver en 20 mL de agua.
- Pesar 1,68g de ferrocianuro de potasio. Disolver en 10 mL de agua.
- Mezclar en el orden indicado, pasar a un matraz aforado de 100 mL y completar con agua destilada.

A.2: Estandarización del reactivo. Cálculo del título.

Técnica:

- Preparar una solución patrón de glucosa al 0,5% p/v.
- Colocar 15 mL del reactivo exactamente medidos en un erlenmeyer.
- Agregar 40 mL de agua destilada.
- Calentar a ebullición y agregar desde bureta la solución de glucosa (3 gotas/segundo), hasta coloración celeste-verdosa.
- Agregar 2 gotas de azul de metileno 1%.
- Completar la titulación dejando caer la solución hasta coloración amarilla.

TÍTULO: mg de glucosa necesarios para reducir el reactivo. Deberá ser calculado cada vez que se prepare nuevo reactivo.

A.3: Determinación del % de azúcares reductores en una muestra.

Técnica:

- Teniendo en cuenta que la reacción está estandarizada para gastar entre 5 y 11 mL de solución, y el % de azúcar declarado, hacer la dilución que corresponda.
- Cargar la bureta con la solución azucarada.
- Colocar 15 mL del reactivo exactamente medidos en un erlenmeyer.
- Agregar 40 mL de agua destilada.
- Calentar a ebullición y agregar desde bureta la muestra (3 gotas/segundo), hasta coloración celeste-verdosa.
- Agregar 2 gotas de azul de metileno 1%.
- Completar la titulación dejando caer la solución hasta coloración amarilla.

CÁLCULO (sin tomar en cuenta las diluciones): T mg de glucosa _____ X peso de muestra

% de az. reductores _____ 100g o mL

B. MÉTODOS REFRACTOMÉTRICOS

El índice de refracción de una solución puede ser determinado rápidamente con los diversos tipos de refractómetros existentes. El más ampliamente utilizado es el de Abbe, que requiere sólo unas pocas gotas de muestra.

En soluciones puras de azúcares el índice de refracción es medida directa de la concentración del azúcar. Otras sustancias disueltas también afectan dicho índice.

Técnica:

- Encender el refractómetro.
- Medir el índice de refracción del agua destilada. Debe ser 1.333.
- Medir el índice de refracción y los ° Brix (%p/p de sacarosa) de la muestra.
- Limpiar el refractómetro con agua y alcohol.
- Además, preparar soluciones de sacarosa en concentraciones de 5, 10, 15 y 20% p/v y medir el índice de refracción y los ° Brix.
- Graficar en 2 sistemas distintos: n vs. %sacarosa y ° Brix vs. % sacarosa.

Informe:

- Objetivos.
- Materiales y reactivos.
- Muestra: producto, marca, lote, fecha de elaboración, vencimiento, RNE, RNPA.
- Cálculos.
- Resultados (análisis realizado, condiciones si corresponde, etc.).

Ejemplo: HUMEDAD (100 – 105°C) = 5,2%

- Conclusiones.

Trabajo Práctico Nº 4

DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO Y PROTEÍNAS

Introducción:

El método de Kjeldhal para determinar el contenido proteico es utilizado universalmente e inclusive los resultados obtenidos por este método se usan para calibrar métodos físicos y automáticos.

Involucra la oxidación húmeda de la materia orgánica con H_2SO_4 concentrado y la conversión de nitrógeno reducido presente a sulfato de amonio. Posteriormente se descompone el sulfato de amonio por alcalinización con NaOH y se destila el amoníaco liberado captándolo en solución de ácido bórico. Finalmente se valora el NH_3 .

Técnica:

- Pesar 0,5g de muestra sobre papel satinado.
- Agregar 2 pastillas de catalizador o pesar 8 g de K_2SO_4 y 0,7 g de $CuSO_4$.
- Agregar 13 mL de H_2SO_4 .
- Se prepara un tubo blanco agregando papel, y los reactivos líquidos y sólidos.

Digestión:

Se introducen los tubos en el mineralizador. Se calienta gradualmente hasta llegar a $430^\circ C$. A esa temperatura se mantiene durante 1 hora.

Luego, se sacan los tubos del digestor, se agrega agua destilada y se tapan hasta el momento de utilización.

Destilación:

Se introduce el tubo en el digestor. También se introduce un erlenmeyer con aprox. 50 mL de solución de H_3BO_3 2% + rojo de metilo/verde de bromocresol.

Se cierra la compuerta y se procede a agregar 70 mL de NaOH 40%, junto con vapor de agua. El indicador vira del ámbar al azul. Se deja destilando durante 5 minutos.

Titulación:

Se procede a titular el amoníaco liberado con H_2SO_4 hasta viraje al color ámbar nuevamente.

$$\% N = \frac{(V \times N) H_2SO_4 \times 0.014 \times 100}{\text{Peso mtra}}$$

$$\% \text{ Proteínas} = \% N \times \text{FACTOR} \left\{ \begin{array}{l} \text{General} = 6.25 \\ \text{Cereales} = 5.71 \\ \text{Lácteos} = 6.38 \end{array} \right.$$

Informe:

- Objetivos.
- Materiales y reactivos.
- Muestra: producto, marca, lote, fecha de elaboración, vencimiento, RNE, RNPA.
- Cálculos.
- Resultados (análisis realizado, condiciones si corresponde, etc.).

Ejemplo: HUMEDAD (100 – 105°C) = 5,2%

- Conclusiones.

Trabajo Práctico Nº 5

DETERMINACIÓN DE MATERIA GRASA

Introducción:

Los diversos métodos disponibles permiten determinar como grasa todo el material soluble en éter, incluyendo: fosfolípidos, esteroides, ácidos grasos libres, pigmentos carotenoides, clorofila, etc.; además de la grasa propiamente dicha. Por esta razón, los resultados de este análisis se informan frecuentemente como grasa cruda o extracto etéreo.

Los métodos a usar pueden agruparse en dos clases:

1. Métodos directos de extracción.
2. Métodos de extracción con ataque previo.

El primer grupo comprende los procedimientos de remoción de las grasas y sustancias solubles en ellas a partir del material desecado, mediante el uso de un solvente anhidro.

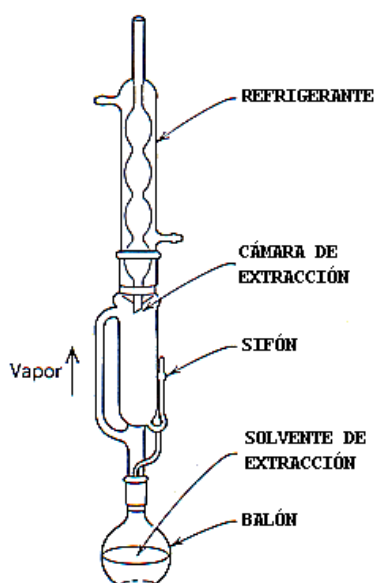
En el segundo caso se realiza un ataque ácido o alcalino previo a la extracción. No es necesario un secado previo de la muestra a analizar.

A. MÉTODOS DIRECTOS DE EXTRACCIÓN

El material a analizar debe ser totalmente desecado en estufa y el solvente a usar debe ser anhidro. Ello es necesario para impedir que la presencia de agua posibilite la extracción de material hidrosoluble que sería determinado junto con la grasa. El material seco puede someterse a extracción continua o discontinua con el solvente elegido.

SOXHLET

En el aparato de extracción intermitente, el tubo de extracción está equipado con un sifón, de modo que cada 5 o 10 minutos, el solvente más la grasa extraída es arrastrado y se vuelca en el balón inferior. La muestra estará así en contacto con un nuevo solvente (sin grasa) cada pocos minutos.



Técnica:

- Pesar exactamente alrededor de 5g de la muestra previamente homogeneizada y secar en estufa a 100 °C aproximadamente durante 2 horas.
- Transferir la muestra seca a un dedal de papel de filtro. Agregar en la parte superior del mismo una porción de algodón.
- Colocar el dedal en el extractor, armar el equipo. Tarar el balón, agregar 50 a 60 mL de n-hexano.
- Calentar el equipo mediante calentador eléctrico, cuidando que el solvente hierva suavemente durante 3-4 horas.
- Observar que el solvente no se evapore. De ser así, reponerlo.
- Retirar el balón, dejar evaporar el solvente totalmente. Enfriar en desecador y pesar.

Alimentos en que se emplea: cereales y productos derivados, carnes y vegetales.

B. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN PREVIO ATAQUE

La presencia de proteínas y también de cantidades elevadas de glúcidos, pueden impedir una extracción total de la grasa presente en algunos alimentos, especialmente productos lácteos. En tales casos, y también en alimentos con elevado contenido acuoso, los métodos por extracción sin ataque no son aconsejables.

Método de Rose – Gottlieb (método de referencia).

En este método, una cantidad exactamente medida o pesada de la muestra se trata con alcohol etílico y amoníaco y se extrae posteriormente la grasa por agitación con éter etílico y éter de petróleo en ampolla de decantación o frasco de Mojonier.



El alcohol etílico, soluble en agua y éter, permite que este último entre en contacto más íntimo con la grasa. En los productos lácteos permite además la precipitación de la caseína en forma muy finamente dividida y por consiguiente la rápida disolución de ésta en el amoníaco. El éter de petróleo reduce la solubilidad en agua en el éter etílico y previene la extracción por el éter de materiales hidrosolubles.

Alimentos en que se emplea: leche, leche condensada, leche en polvo, helados, dulce de leche, crema, mayonesa.

Técnica:

- Pesar exactamente aprox. 3g de muestra en un vaso de precipitados de 50 – 100 mL.
- Agregar bajo campana, 1,25 mL de NH_3 y 10 mL de alcohol etílico.
- Homogeneizar por mezclado.
- Transferir a una ampolla CERRADA, lavar el vaso con unas gotas de éter etílico.
- Agregar 25 mL de éter etílico, agitar fuerte 1 minuto.
- Agregar 25 mL de éter de petróleo, agitar fuerte 1 minuto.
- Destapar la ampolla y dejar separar durante 30 a 60 minutos.
- Recolectar la parte inferior de la ampolla en un vaso y la fase etérea (superior) depositarla en un cristizador previamente tarado.
- Volver a introducir en la ampolla el contenido del vaso y repetir el procedimiento utilizando 15 mL de éter etílico y de petróleo. Dejar separar durante 15 minutos.
- Dejar secar el cristizador y pesarlo.

Informe:

- Objetivos.
- Materiales y reactivos.
- Muestra: producto, marca, lote, fecha de elaboración, vencimiento, RNE, RNPA.
- Cálculos.
- Resultados (análisis realizado, condiciones si corresponde, etc.).

Ejemplo: HUMEDAD (100 – 105°C) = 5,2%

- Conclusiones.

Trabajo Práctico Nº 6

ANÁLISIS DE AGUAS DE CONSUMO

DUREZA TOTAL

La denominación de dureza en el agua, está relacionada con el contenido de la misma de sales de calcio y magnesio. Se distinguen dos clases de dureza: temporaria o de carbonatos y permanente o de sulfatos. La primera se elimina por ebullición. El agua destinada al consumo no debe tener una dureza muy elevada por los inconvenientes que acarrea (incrustaciones en los utensilios de cocina).

Por su dureza las aguas se clasifican en:

Agua blanda: 50 – 100 ppm CaCO_3

Agua moderadamente dura: 150 – 250 ppm CaCO_3

Agua excesivamente dura: > 300 ppm CaCO_3

Técnica:

- Tomar 100 mL de muestra de agua e introducirlos en un erlenmeyer.
- Agregar 2 mL de solución buffer pH 9 ($\text{NH}_3/\text{NH}_4\text{Cl}$).
- Agregar una punta de espátula de indicador NET (Negro de Eriocromo T) y titular con la solución de EDTA 0.01M hasta que se produzca el viraje del rojo vinoso al azul límpido.

EXPRESIÓN: Dureza total, ppm CaCO_3 =

ALCALINIDAD TOTAL

La alcalinidad del agua permite evaluar el contenido de carbonatos, bicarbonatos e hidróxidos alcalinos, pero también incluye boratos, fosfatos o silicatos si estos están presentes.

Técnica:

- Tomar 50 mL de muestra de agua e introducirlos en un erlenmeyer de 250 mL.
- Agregar 3 gotas de indicador heliantina 1%.
- Titular con H_2SO_4 0,02 N hasta viraje del indicador de amarillo → naranja.

EXPRESIÓN: Alcalinidad total, ppm CaCO_3 = $\text{VN}_{\text{HCl}} \times \text{PEq CaCO}_3 \times 1000 / \text{vol muestra}$

CLORUROS

La titulación se realiza con AgNO_3 como valorante y con K_2CrO_4 como indicador. Al agregar AgNO_3 a la muestra, el Cl^- presente precipita como AgCl . Una vez consumido todo el Cl^- precipita la plata como Ag_2CrO_4 apareciendo coloración anaranjada que determina el punto final.

Todo el material utilizado en esta determinación debe ser cuidadosamente enjuagado con agua destilada.

Técnica:

- Tomar 100 mL de muestra de agua e introducirlos en un erlenmeyer.
- Ajustar el pH agregando una punta de espátula de NaHCO_3 sólido.
- Agregar 1 mL de solución indicadora de K_2CrO_4 y titular con AgNO_3 hasta color anaranjado claro.
- Realizar paralelamente un ensayo en blanco.

EXPRESIÓN: Cloruros, ppm Cl^- =

NITRITOS

El anión NO_2^- se determina a través de la formación de un compuesto coloreado que se detecta espectrofotométricamente. El rango de aplicación para medidas espectrofotométricas es de 10 a 1000 $\mu\text{g NO}_2^- / \text{L}$ (ppb).

Reactivos:

- Solución de ácido sulfanílico: disolver 0.6 g de ácido sulfanílico en 70 mL de agua destilada caliente. Dejar enfriar y agregar 20 mL de HCl concentrado. Diluir a 1000 mL con agua destilada y mezclar bien.
- Solución de clorhidrato de naftilamina: disolver 0.6 g de 1-(naftil)-etilendiamina en agua conteniendo 1 mL de HCl concentrado. Diluir a 1000 mL con agua destilada y mezclar bien. Filtrar antes de usar. Almacenar en heladera.
- Solución buffer de NaAc 0.2M: disolver 16.4 g de NaAc en 1000 mL de agua destilada. Almacenar en heladera.
- Solución stock de nitrito: disolver 0.2463 g de NaNO_2 anhidro en agua destilada y completar a 1000 mL. Agregar 1 mL de CHCl_3 para preservar. **1 mL = 0.05 mg N- NO_2 .**
- Solución de trabajo de nitrito: tomar 10 mL de la solución stock y diluir a 1000 mL con agua destilada. Agregar 1 mL de cloroformo y guardar en frasco color caramelo en heladera. **1 mL = 0.0005 mg N- NO_2 .**

Técnica:

- Preparación de la curva de calibración:

TUBO	1	2	3	4	BLANCO
Sol. trabajo (mL)	0.2	0.8	2.0	3.4	0
Agua (mL)	9.8	9.2	8.0	6.6	10
[N-NO₂] (ppm)	0.01	0.04	0.1	0.17	0

- Reacción de color:

- 1) A todos los tubos agregarle paralelamente 0.2 mL de solución de ácido sulfanílico y mezclar bien. Dejar reposar entre 3 a 10 minutos.
- 2) Agregar 0.2 mL de solución de clorhidrato de naftilamina y 0.2 mL de solución buffer. Mezclar bien.
- 3) Incubar 10 minutos a temperatura ambiente y leer a 543 nm.

- Muestra:

Tomar 10 mL de muestra y repetir los pasos 1) a 3) para la reacción de color.

- Cálculos: se calcula la concentración por interpolación de la lectura de la muestra en la curva de calibración y se expresa en ppm de NO₂⁻.

TENER EN CUENTA QUE LA CURVA DE CALIBRACIÓN DA LA CONCENTRACIÓN EN PPM DE N-NO₂⁻. PARA INFORMAR COMO PPM DE NO₂⁻, RECORDAR QUE:

$$46 \text{ g NO}_2^- \text{ _____ } 14 \text{ mg N}$$

SULFATOS

El sulfato precipita con cloruro de bario en un medio de HCl. Se mide la absorbancia de la suspensión de BaSO₄ obtenida, determinándose la concentración de la muestra por interpolación de la lectura en una curva de calibración. La concentración mínima detectable es de 1 ppm aproximadamente.

Las aguas comunes no presentan otros iones distintos de los sulfatos que formen compuestos insolubles con el bario en condiciones fuertemente ácidas.

Reactivos:

- Solución patrón de Na₂SO₄: disolver 0.156 g de Na₂SO₄ en 250 mL de agua destilada.

Técnica:

- Preparación de la curva de calibración:

TUBO Nº	BLANCO	1	2	3	4
Sol. patrón (mL)	0	1.0	2.0	3.0	4.0
Agua destilada	10	9.0	8.0	7.0	6.0
[SO₄²⁻] (ppm)	0	42	84	126	168

- Agregarle a todos los tubos 0.5 mL de HCl concentrado. Mezclar por agitación con vortex. Agregar una punta de espátula de cristales de cloruro de bario y continuar la agitación durante 1 minuto.
- Leer en espectrofotómetro a 420 nm previa agitación en vortex durante 30 segundos.
- Muestra: colocar 10 mL en un tubo de ensayo.
- Agregarle al tubo 0.5 mL de HCl concentrado. Mezclar por agitación con vortex. Agregar una punta de espátula de cristales de cloruro de bario y continuar la agitación durante 1 minuto. Leer en espectrofotómetro a 420 nm previa agitación en vortex durante 30 segundos.

Trabajo Práctico Nº 7

ANÁLISIS DE LECHE

PARTE A: EVALUACIÓN DE GENUINIDAD

DENSIDAD

Se determina por areometría con lactodensímetro.

Técnica:

- Verter la leche en una probeta de 250 mL evitando formar espuma. Llenar justo hasta el borde.
- Sumergir el lactodensímetro, lo que provocará el desborde de la leche excedente. Efectuar la lectura en el borde superior del menisco.

$$\delta \text{ } 15^{\circ}\text{C} = \text{grados del lactodensímetro}/1000 + 1$$

Si la determinación no se realiza a 15°C efectuar la corrección según tablas.

MATERIA GRASA: Método de Gerber

Reactivos:

- Ácido sulfúrico $\delta = 1.820-1.825$ a 15°C: a 5.8 mL de agua destilada agregar cuidadosamente 94.2 mL de H₂SO₄ concentrado.
- Alcohol amílico para análisis de leche.

Técnica:

Colocar en el butirómetro 10 mL de H₂SO₄ y agregar con precaución para evitar la mezcla 11 mL de leche y finalmente introducir 1-2 mL de alcohol amílico. En todos los casos cuidar de no mojar la pared interior del butirómetro.



Butirómetros

Tapar con tapón de goma y agitar con precaución sosteniéndolo horizontalmente, hasta la desaparición de flóculos por disolución total. Llevar 2 veces a la posición vertical para que el H₂SO₄ que se encuentra en la parte graduada se mezcle bien con el resto del contenido.

Colocar el butirómetro caliente en la centrífuga con el ápice hacia adentro y centrifugar durante 8-10 minutos a 800-1000 rpm.

Terminada la centrifugación colocar los butirómetros a 65°C durante 5 minutos. Retirar luego del baño y ajustar el tapón con movimientos giratorios hasta que la grasa se encuentre dentro de la parte graduada del butirómetro.

La línea de separación entre la capa grasa y la solución acuosa debe coincidir con el cero o al menos con una graduación de la escala.

Cada división grande de la escala del butirómetro corresponde a 1% de grasa.

PARTE B: EVALUACIÓN DE ALTERACIÓN

ACIDEZ

Se expresa la acidez de la leche en ° Dornic y en %p/v como ácido láctico.

Técnica:

En un erlenmeyer de 125 mL colocar 10 mL de leche medidos con con pipeta de doble aforo. Agregar 2-3 gotas de fenolftaleína y desde bureta, gota a gota, solución de NaOH 0.1N hasta coloración rosada pálida que se mantenga más de 30 segundos.

Como blanco de color utilizar 10 mL de leche colocada en un erlenmeyer similar.

Cálculo: $V \times N)_{\text{NaOH}} = \text{mEq ácido láctico}$

Mr ácido láctico = 90.08

1 ° Dornic = 0.01 % p/v ácido láctico

REDUCTASIMETRÍA

Técnica:

Colocar 10 mL de la muestra en un tubo. Agregar 1 mL de solución de azul de metileno. Tapar el tubo, invertirlo hasta homogeneizar y colocarlo en baño de agua o estufa a 37 °C. Observar cada media hora, previa homogeneización. Anotar el tiempo transcurrido hasta la decoloración. Un anillo azul en la superficie y en el fondo carece de significado.

COAGULACIÓN POR CALOR

Técnica:

Colocar 10 mL de leche en un tubo de ensayo, calentar cuidadosamente a ebullición y observar si coagula.

COAGULACIÓN EN MEDIO ALCOHÓLICO

Técnica:

Colocar 2 mL de leche en un tubo de ensayo y agregar igual volumen de etanol 70 % v/v. Observar si coagula.

PARTE C: PRESENCIA DE SUSTANCIAS NO PERMITIDAS

FORMALDEHÍDO

Reactivos:

- Solución de NaOH 40%.
- Solución de floroglucina en éter: disolver una punta de espátula de floroglucina en 10 mL de éter etílico.

Técnica:

Colocar 2 mL de leche en un tubo de ensayo. Agregar 2 gotas de NaOH 40% y 2 gotas de solución de floroglucina.

Interpretación: + color rojo

AGUA OXIGENADA

Reactivos:

- Solución de ácido vanádico 1 % p/p: disolver 1g de ácido vanádico en 100g de H₂SO₄ 4N.
- Solución de H₂SO₄ 4N: agregar con precaución 110 mL de H₂SO₄ concentrado sobre aproximadamente 800 mL de agua destilada. Diluir a 1000 mL.

Técnica:

Colocar 2 mL de leche en un tubo de ensayo. Agregar 2 gotas de solución de ácido vanádico en H₂SO₄.

Interpretación: + color rojo

LAVANDINA

Reactivos:

- Solución de KI 7 % p/v: disolver 7 g de KI en 100 mL de agua destilada. Preparar antes de cada determinación.
- HCl diluido: tomar 100 mL de HCl concentrado y agregar 200 mL de agua destilada.
- Solución de almidón: agregar 1 g de almidón soluble en suspensión sobre 100 mL de agua destilada hirviendo. Agitar. Mantener en ebullición durante 1 minuto. Enfriar.

Técnica:

- Colocar 5 mL de leche en un tubo de ensayo.
- Agregar 10 gotas de HCl diluido.
- Agregar 10 gotas de solución de KI.
- Agregar 5 gotas de solución de almidón.

Interpretación: + color azul violáceo.

PARTE D: EVALUACIÓN DEL TRATAMIENTO TÉRMICO**ACTIVIDAD DE FOSFATASA ALCALINA**

La muestra incubada con fenil fosfato disódico permite valorar en forma indirecta la fosfatasa, mediante la coloración desarrollada por la reacción del fenol liberado.

Reactivos:

- Solución de sustrato en buffer alcalino: pesar 0.7 g de Na_2CO_3 , 0.3 g de NaHCO_3 y 0.3 g de p-nitrofenil fosfato disódico y llevar a un volumen final de 200 mL con agua destilada.

Técnica:

- Colocar 5 mL de leche en un tubo de ensayo.
- Incubar 10 minutos a 37°C.
- Luego de este tiempo, agregar 5 mL de solución de sustrato en buffer.
- Mezclar bien e incubar a 37°C.
- Realizar un ensayo en blanco utilizando leche previamente hervida.

Interpretación:

- Positivo: coloración amarilla.
- Negativo: incoloro.

ACTIVIDAD DE PEROXIDASA**Reactivos:**

- Solución de bencidina: 1g de bencidina se disuelve en 30 mL de alcohol 96°.
- H_2O_2 10 volúmenes.
- Ácido acético glacial.

Técnica:

- En un tubo de ensayo agregar 5 mL de leche.
- Luego adicionar 1 mL de solución de bencidina.

- Agregar 2 gotas de HAc (para coagular las proteínas).
- Por último agregar 20 gotas de H₂O₂ por las paredes del tubo.

Interpretación:

- Desarrollo inmediato de color azul: leche cruda o calentada a T < 78 °C.
- Desarrollo inmediato o en el transcurso de 1 minuto de color azul-grisáceo: la leche ha sido calentada a 79-80 °C.
- No hay desarrollo de color o se observa color rosado violáceo débil: la leche ha sido calentada a más de 80 °C.

LECHE	FOSFATASA ALCALINA	PEROXIDASA
CRUDA	+	+
PASTEURIZADA	-	+
ULTRAPASTEURIZADA	-	-
ESTERILIZADA UAT	-	-

Trabajo Práctico Nº 8

ANÁLISIS DE ACEITES

PARTE A: CONTROL DE GENUINIDAD

ÍNDICE DE REFRACCIÓN

Sirve para reconocer la pureza de un aceite o de una grasa, pues en caso de mezclas, sufre variaciones que lo alejan de los valores normales. Varía con la longitud de onda y con la temperatura.

Técnica:

- Depositar sobre el prisma inferior del refractómetro unas gotas de muestra.
- Ajustar la posición de la línea hasta que pase exactamente por el punto de cruce del retículo.
- Leer el índice de refracción en la escala. La lectura debe abarcar hasta la cuarta cifra decimal
- Hacer otras dos determinaciones y tomar como resultado el promedio de las 3 lecturas.

ÍNDICE DE IODO

Es el número de gramos de yodo que son fijados por 100 g de muestra. Permite medir el grado de instauración de una grasa o aceite.

Consiste en medir la cantidad de halógeno fijado en las dobles ligaduras de la muestra, por acción de una solución de monoclóruo de yodo (reactivo de Wijs).

Reactivos:

- Solución de almidón 1%.
- Solución de KI recién preparada: disolver 15 g de KI en 100 mL de agua destilada.
- Solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ exactamente valorada.
- Solución de Wijs 0.1 N.

Técnica:

- Pesar en el erlenmeyer de 250 mL con tapa esmerilada, entre 0.3 – 0.4 g muestra de aceite de oliva o 0.2 – 0.3 g para demás aceites.
- Agregar 10 mL de cloroformo y 25 mL de solución de Wijs, medidos con pipeta aforada. Tapar con el tapón humedecido en solución de KI para lograr un cierre hidráulico. Agitar.
- Dejar el frasco en reposo en un lugar oscuro durante media hora, agitando ocasionalmente.
- Agregar luego 20 mL de la solución de KI 15 % y 100 mL de agua, lavando el tapón y el cuello del frasco.

- Valorar con la solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1 N, usando solución de almidón como indicador. Agitar vigorosamente y titular hasta desaparición de color azul.
- Ensayo en blanco: se realiza el mismo procedimiento sin agregar muestra de aceite.

Cálculo: $([V_B - V_M] \times N) \text{S}_2\text{O}_3^{2-} = n^\circ \text{mEq I}_2$

PARTE B: CONTROL DEL ESTADO DE CONSERVACIÓN

ÍNDICE DE ACIDEZ

Es el número de mg de KOH necesarios para neutralizar, en las condiciones del ensayo, los ácidos grasos libres de sustancia grasa.

Reactivos:

- Mezcla de etanol – éter etílico (1+2) neutralizada inmediatamente antes de su uso: mezclar una parte de etanol 96° con 2 partes de éter etílico, en volumen. Colocar 100 mL de la mezcla en un erlenmeyer y agregar unas gotas de fenolftaleína. Neutralizar gota a gota con NaOH 0.1 N hasta que aparezca una coloración rosada pálida que persista durante 30 segundos.
- Solución de NaOH 0.1N.

Técnica:

- En un erlenmeyer pesar aproximadamente 5 g de muestra. Agregar 50 mL de la mezcla etanol-éter ya neutralizada. Agitar hasta disolución.
- Valorar con la solución de NaOH 0.1 N hasta que aparezca una coloración rosada pálida que persista durante 30 segundos.

Cálculo: Índice de acidez = $V \times N \times 56.1 / \text{peso muestra}$

ÍNDICE DE PERÓXIDOS

Es el número de miliequivalentes de oxígeno por 1000 g de aceite o grasa que corresponde a la cantidad de sustancias presentes en la muestra que oxidan el KI bajo las condiciones del método.

Reactivos:

- Mezcla de HAc y cloroformo: mezclar 600 mL de HAc glacial con 400 mL de cloroformo y dejar en reposo 24 horas.
- Solución acuosa saturada de KI recientemente preparada.
- Solución valorada de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1 N y 0.01 N.
- Solución acuosa de almidón soluble al 1 % m/v.

Técnica:

- Pesar en un erlenmeyer entre 9.5 y 10.5 g de muestra.
- Agregar 30 mL de mezcla de HAC/CHCl₃.
- Agitar y observar si la disolución es total. En caso contrario entibiar en baño de agua. Enfriar.
- Añadir 1 mL de solución saturada de KI y tapar el erlenmeyer, agitar 10 segundos para homogeneizar. Mantener en la oscuridad durante 1 minuto exactamente.
- Inmediatamente agregar 100 mL de agua destilada y 2 mL de la solución de almidón. Titular con la solución de Na₂S₂O₃. Hacia el final de la valoración agitar vigorosamente para liberar todo el yodo retenido en la capa de cloroformo.
- El punto final se alcanza cuando la decoloración de la capa acuosa es total.
- Ensayo en blanco: no se agrega muestra.

Cálculo: I Peróx. = $(V_M - V_B) \times N \times 1000 / \text{peso muestra}$

TEST DE KREISS

Consiste en la reacción del epoxipropanal (producto de la descomposición de un peróxido) al reaccionar con floroglucinol en medio ácido. Sin embargo, el resultado positivo no implica necesariamente rancidez ya que otras sustancias presentes en las semilla de donde se extrae la grasa pueden dar la reacción.

Reactivos:

- HCl concentrado.
- Floroglucina en éter etílico al 0,1 %: pesar 100 mg de floroglucina y disolver en 100 mL de éter etílico.

Técnica:

- En un tubo de ensayo colocar 1 mL de muestra.
- Agregar 1 mL de HCl concentrado.
- Tapar y mezclar invirtiendo varias veces el tubo durante 30 segundos.
- Luego añadir 1 mL de solución de floroglucina en éter y repetir la agitación.
- Dejar en reposo 2 minutos. Si la capa ácida toma coloración roja o rosada, el aceite puede estar enranciado.

TEST DE KREISS-KERR**Técnica:**

En caso de que la reacción anterior haya dado positiva, diluir la muestra con vaselina (1+9) y repetir la reacción de Kreiss. Color rojo implica que la muestra está rancia.

Trabajo Práctico Nº 9

ANÁLISIS DE CARNE Y DERIVADOS

HUMEDAD

Calentamiento en estufa a 100-105 °C hasta peso constante. Pesar aproximadamente 10 g de muestra previamente homogeneizada.

PROTEÍNAS

Determinación del contenido de N por el método de Kjeldhal y posterior conversión a % de proteína usando el factor 6.25. Pesar 0.5 g de muestra previamente homogeneizada.

CENIZAS

En una cápsula de porcelana previamente tarada pesar aproximadamente 2 g de muestra homogeneizada. Carbonizar en mechero sobre triángulo de pipa evitando proyecciones y calcinar en mufla a 525 °C hasta obtención de cenizas blancas. Enfriar, pesar el residuo obtenido y referir el contenido de cenizas a 100 g de muestra.

DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE ALMIDÓN

Se basa en la detección del color azul debido a la formación del clatrato entre el I₂ y el almidón.

Reactivos:

- Solución de lugol: pesar 2 g de I₂ y 6 g de KI, disolver en agua fría y llevar a 100 mL.

Técnica:

- Homogeneizar 2 a 5 g de muestra con 50 mL de agua. Agregar 1 mL de solución de lugol.

Interpretación: + color azul.

BASES NITROGENADAS VOLÁTILES TOTALES (PESCADO)

Cuando muere el animal se producen degradaciones causadas por enzimas microbianas que actúan sobre compuestos nitrogenados. Los microorganismos degradan las proteínas y aminoácidos del pescado generando productos de descomposición que son altamente volátiles y pueden ser percibidos con el olfato. Una de las aminas generadas es la **cadaverina**, a partir de la lisina. Otra amina generada es la **putrescina**, de la ornitina, también responsable del mal olor.

Reactivos:

- MgO sólido puro.
- Solución de ácido bórico 2% con indicador combinado de rojo de metilo + verde de bromocresol.
- Solución de H₂SO₄ 0.02 N.

Técnica:

- Colocar en un tubo de Kjeldahl 10 – 15 g de muestra homogeneizada
- Agregas 2 g de MgO y 200 mL de agua destilada.
- Proceder a realizar la destilación en el equipo de Kjeldahl, recolectando el destilado sobre un erlenmeyer conteniendo 100 mL de solución de H₃BO₃ con indicadores. La destilación se realiza durante 5 minutos.
- Titular el destilado con H₂SO₄ 0.02 N hasta viraje al color inicial.
- Expresar el resultado como mg de nitrógeno básico volátil / 100 g de muestra.

SULFITOS (CARNE PICADA)

Test cualitativo.

Reactivo:

- Solución de verde de malaquita: disolver 200 mg de verde de malaquita en agua y diluir hasta 1 litro.

Técnica:

- Colocar en una superficie blanca 3.5 g de carne picada.
- Agregar 0.5 mL del reactivo y mezclar 2 minutos con espátula.
- Observar el color luego de ese tiempo.

Interpretación:

- Sulfitos +: se decolora el reactivo.
- Sulfitos -: la carne presenta un color verde – azulado.

Trabajo Práctico Nº 10

ANÁLISIS DE CEREALES Y DERIVADOS

HUMEDAD

Calentamiento en estufa a 100-105 °C hasta peso constante. Pesar aproximadamente 5 g de muestra previamente homogeneizada.

CENIZAS

En una cápsula de porcelana previamente tarada pesar aproximadamente 2 g de muestra homogeneizada. Carbonizar en mechero sobre triángulo de pipa evitando proyecciones y calcinar en mufla a 525 °C hasta obtención de cenizas blancas. Enfriar, pesar el residuo obtenido y referir el contenido de cenizas a 100 g de muestra.

INVESTIGACIÓN CUALITATIVA DE BROMATOS

Técnica:

- Tamizar alrededor de 10 g de harina sobre una superficie seca.
- Agregar unas gotas de solución de KI 1% recién preparada.
- Agregar unas gotas de HCl 2 N.

Interpretación: la aparición de manchas azul-violáceas o negras revela la presencia de bromatos. Realizar un ensayo testigo.

INVESTIGACIÓN CUALITATIVA DE VITAMINA C

Técnica:

- Tomar una muestra de aproximadamente 10 g de harina.
- Humedecerla con unos pocos mL de agua.
- Agregar unas gotas de solución de 2,6-diclorofenol indofenol (azul).

Interpretación: en presencia de vitamina C aparecen manchas blancas en pocos minutos. Realizar un ensayo testigo.

MATERIA GRASA (GALLETITAS)

Técnica:

- Pesar exactamente alrededor de 5 g de la muestra previamente homogeneizada.
- Transferir la muestra seca a un dedal de papel de filtro. Agregar en la parte superior del mismo una porción de algodón.
- Colocar el dedal en el extractor, armar el equipo de Soxhlet. Tarar el balón, agregar 50 a 60 mL de n-hexano.

- Calentar el equipo mediante calentador eléctrico, cuidando que el solvente hierva suavemente durante 3-4 horas.
- Observar que el solvente no se evapore. De ser así, reponerlo.
- Retirar el balón, dejar evaporar el solvente totalmente. Enfriar en desecador y pesar.

Trabajo Práctico Nº 11

TÓXICOS EN ALIMENTOS

CAFEÍNA EN YERBA MATE (MÉTODO DE CORTEZ)

Técnica:

- Pesar 1 g de muestra en un erlenmeyer de 100 mL de capacidad.
- Agregar 2 mL de H₂SO₄ concentrado con cuidado y con la precaución de que moje toda la muestra. Llevar a baño maría durante 15 minutos.
- Transcurrido dicho lapso, agregar 50 mL de agua destilada hirviente. **Cuidado ya que se agrega agua caliente sobre H₂SO₄ concentrado.**
- Dejar unos 15 – 20 minutos en el baño maría rompiendo los grumos carbonosos que podrían formarse y filtrar en caliente y por filtro plegado a una ampolla de decantación de 150 mL, lavando el matraz y filtro con porciones de agua destilada hirviente acidificada con H₂SO₄.
- Enfriar, alcalinizar con solución concentrada de NaOH, volver a enfriar.
- Agregar 25 mL de cloroformo, y luego decantar a un cristalizador tarado, filtrándolo a través de un papel de filtro mojado con cloroformo.
- Repetir una extracción utilizando 15 mL de cloroformo y los líquidos reunidos se evaporan al baño maría, secar en estufa, enfriar en desecador y pesar.

Cálculo: Peso (cristalizador + cafeína) – tara del cristalizador x 100 = g de cafeína %

GLUCÓSIDOS CIANOGENÉTICOS EN MANDIOCA

Técnica:

Destilación:

El CN⁻ de la matriz de alimento mediante una destilación simple o utilizando el aparato destilador de Kjeldahl.

- Cortar 20 g de cáscaras de mandioca e introducirlas en un tubo de Kjeldahl.
- Agregar 30 mL de solución de ácido tartárico 10%.
- Recoger el destilado sobre una solución de NaOH 10 %.

Reconocimiento del ion CN⁻. Ensayo de Magnin:

- Colocar en un tubo de ensayo 4 mL del destilado.
- Agregar 4 gotas de solución de FeSO₄ 2%.
- Calentar suavemente a ebullición hasta aparición del precipitado color castaño de hidróxido férrico.
- Enfriar y agregar cantidad suficiente de HCl concentrado.

Resultado:

CN⁻ +: color o precipitado azul (formación de azul de prusia: Fe(CN)₆FeK).

CN⁻ -: color amarillo débil (Fe³⁺).

GRADUACIÓN ALCOHÓLICA DE VINOS:

Técnica:

- Medir 200 mL de vino blanco en matraz aforado previamente enjuagado con la muestra.
- Verter el contenido del matraz en un tubo Kjeldahl, lavando el matraz con pequeñas porciones de agua destilada.
- Neutralizar con NaOH 30% verificando con papel de pH.
- Destilar hasta recoger 150 mL, sobre 5 mL de agua destilada. Llevar a volumen final de 200 mL. Homogeneizar perfectamente.

Refractometría:

- Cargar el refractómetro con unas gotas del destilado.
- Leer el índice de refracción.
- Transformar el parámetro en ° Gay Lussac.

Anexo: tabla de conversión de índice de refracción a % v/v de alcohol.

n	% v/v alcohol	n	% v/v alcohol	n	% v/v alcohol	n	% v/v alcohol
1,3333	0,7	1,3381	11,7	1,3484	31,0	1,3621	71,0
1,3336	1,5	1,3384	12,4	1,3498	33,7	1,3626	73,6
1,3339	2,3	1,3388	13,1	1,3511	36,4	1,3630	76,1
1,3342	3,0	1,3392	13,8	1,3524	39,1	1,3634	78,7
1,3345	3,7	1,3395	14,5	1,3535	41,8	1,3638	81,2
1,3348	4,5	1,3403	15,9	1,3546	44,5	1,3641	83,6
1,3351	5,2	1,3410	17,3	1,3557	47,2	1,3644	86,1
1,3354	5,9	1,3417	18,7	1,3566	49,9	1,3647	88,5
1,3357	6,7	1,3425	20,0	1,3575	52,6	1,3650	90,9
1,3360	7,4	1,3432	21,4	1,3583	55,3	1,3652	93,3
1,3364	8,1	1,3440	22,8	1,3590	57,9	1,3654	95,7
1,3367	8,8	1,3447	24,2	1,3598	60,6	1,3655	98,0
1,3370	9,5	1,3455	25,5	1,3604	63,2	1,3657	100,3
1,3374	10,2	1,3462	26,9	1,3610	65,9		
1,3377	11,0	1,3469	28,2	1,3616	68,5		

Informe:

- Objetivos.
- Materiales y reactivos.

- Muestras: producto, marca, lote, fecha de elaboración, vencimiento, RNE, RNPA.
- Cálculos.
- Resultados (análisis realizado, condiciones si corresponde, etc.).

Ejemplo: HUMEDAD (100 – 105°C) = 5,2%

- Conclusiones.

INFORME DE CONTROL BROMATOLÓGICO – AGUAS DE CONSUMO

Fecha:

Muestra Nº:

Producto:

Marca:

Lote:

Fecha de elaboración:

Fecha de vencimiento:

RNE:

RNPA:

Análisis realizados:

Valores legislados (Art. ... CAA)

Dureza total:

Alcalinidad total:

pH:

Cloruros:

Sulfatos:

Nitritos:

Conclusiones:

Analistas:

INFORME DE CONTROL BROMATOLÓGICO - LECHE

Fecha:

Muestra N°:

Producto:

Marca:

Lote:

Fecha de elaboración:

Fecha de vencimiento:

RNE:

RNPA:

Análisis realizados:

Valores legislados (Art. ... CAA)

Densidad a 15°C:

Materia grasa:

Acidez:

Reductasimetría:

Ensayo de coagulación por calor:

Ensayo de coagulación en etanol 70°:

Formaldehído:

Agua oxigenada:

Lavandina:

Actividad de fosfatasa alcalina:

Actividad de peroxidasa:

Conclusiones:

Analistas:

INFORME DE CONTROL BROMATOLÓGICO - ACEITES

Fecha:

Muestra Nº:

Producto:

Marca:

Lote:

Fecha de elaboración:

Fecha de vencimiento:

RNE:

RNPA:

Análisis realizados:

Valores legislados (Art. ... CAA)

Índice de refracción:

Índice de iodo:

Índice de acidez:

Índice de peróxidos:

Test de Kreiss:

Test de Kreiss-Kerr (dil. 1/10):

Conclusiones:

Analistas:

INFORME DE CONTROL BROMATOLÓGICO – DERIV. CÁRNICOS

Fecha:

Muestra N°:

Producto:

Marca:

Lote:

Fecha de elaboración:

Fecha de vencimiento:

RNE:

RNPA:

Análisis realizados:**Valores legislados (Art. ... CAA)**

Humedad:

Cenizas:

Proteínas:

Almidón:

Conclusiones:

Analistas:

INFORME DE CONTROL BROMATOLÓGICO – PESCADO

Fecha:

Muestra N°:

Producto:

Marca:

Lote:

Fecha de elaboración:

Fecha de vencimiento:

RNE:

RNPA:

Análisis realizados:

Valores legislados (Art. ... CAA)

Bases nitrogenadas volátiles totales:

Conclusiones:

Analistas:

INFORME DE CONTROL BROMATOLÓGICO – CARNE

Fecha:

Muestra N°:

Producto:

Marca:

Lote:

Fecha de elaboración:

Fecha de vencimiento:

RNE:

RNPA:

Análisis realizados:

Valores legislados (Art. ... CAA)

Sulfitos:

Conclusiones:

Analistas:

INFORME DE CONTROL BROMATOLÓGICO – HARINA

Fecha:

Muestra N°:

Producto:

Marca:

Lote:

Fecha de elaboración:

Fecha de vencimiento:

RNE:

RNPA:

Análisis realizados:**Valores legislados (Art. ... CAA)**

Humedad:

Cenizas:

Ácido ascórbico:

Bromatos:

Conclusiones:

Analistas:

INFORME DE CONTROL BROMATOLÓGICO – PANIFICADOS

Fecha:

Muestra N°:

Producto:

Marca:

Lote:

Fecha de elaboración:

Fecha de vencimiento:

RNE:

RNPA:

Análisis realizados:

Valores legislados (Art. ... CAA)

Materia grasa:

Conclusiones:

Analistas: