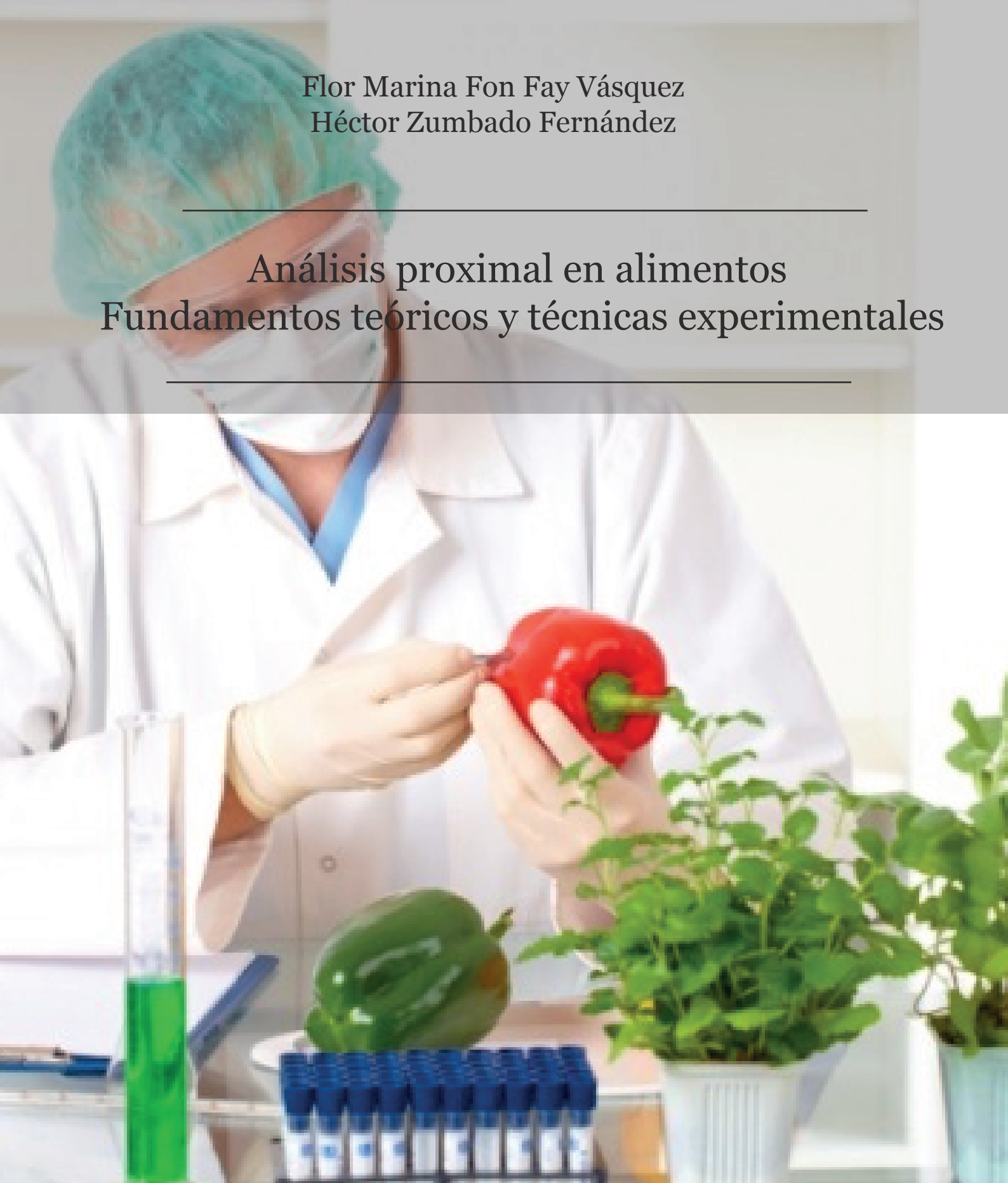


A scientist wearing a white lab coat, a blue hairnet, and a white face mask is working in a laboratory. They are wearing yellow gloves and are carefully examining a red bell pepper. On the lab bench, there is a green bell pepper, a test tube containing a green liquid, a rack of blue-capped microcentrifuge tubes, and two potted green plants.

Flor Marina Fon Fay Vásquez  
Héctor Zumbado Fernández

---

# Análisis proximal en alimentos

## Fundamentos teóricos y técnicas experimentales

---

### **Flor Marina Fon Fay Vásquez**

Ingeniera Química (Universidad de Guayaquil, 1987); Magister En Procesamiento de Alimentos (Universidad Agraria del Ecuador); Diploma Superior en Diseños Pedagógicos Universitarios; Magister en Investigación para el Desarrollo Educativo (Universidad Técnica Estatal de Quevedo, 2015). Profesor Titular de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo; Su Principal Línea de Investigación es Sobre Actividad antimicrobiana de aceites esenciales; Autora y coautora de artículos científicos; Autora de libro y a la actualidad Miembro del Consejo Universitario; Coordinadora de la carrera de Ingeniería Agroindustrial; email: ffonfay@uteq.edu.ec

### **Héctor Zumbado Fernández**

Cubano. Doctor en Ciencias Pedagógicas (2005), Master en Ciencias de la Educación Superior (1999) y Master en Ciencia y Tecnología de los Alimentos (1998). Licenciado en Alimentos (1985). Profesor Titular del Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL) de la Universidad de La Habana. Cuba. Ha impartido docencia en pregrado y postgrado. Ha realizado investigaciones en el campo de las Ciencias Alimentarias y en el área educativa. De estos temas se han derivado más de 50 publicaciones en revistas nacionales e internacionales, así como en Memorias de eventos científicos.

Autor de los libros de texto “Análisis Químico de los Alimentos. Métodos clásicos” (2006) y “Análisis Instrumental de los Alimentos” (2015). Coautor del libro “Análisis Químico Farmacéutico. Métodos clásicos cuantitativos” (2008). Premio Anual de la Academia de Ciencias de Cuba (2002) y Premio Anual de la Crítica Científico Técnica 2015 por el libro Análisis Instrumental de los Alimentos otorgado por el Instituto Cubano del Libro y la Academia de Ciencias de Cuba. Ostenta la Distinción por la Educación Cubana y la Medalla Rafael María de Mendive.



Flor Marina Fon Fay Vásquez  
Héctor Zumbado Fernández

Análisis proximal en alimentos  
Fundamentos teóricos y técnicas experimentales



Análisis proximal en alimentos  
Fundamentos teóricos y técnicas experimentales

Flor Marina Fon Fay Vásquez  
Héctor Zumbado Fernández  
Docente Universidad Técnica Estatal de Quevedo

Análisis proximal en alimentos  
Fundamentos teóricos y técnicas experimentales

Editado por Colloquium  
ISBN: 978-9942-814-28-9  
Primera edición 2019

© Universidad Técnica Estatal de Quevedo  
© Colloquium

La obra fue revisada por pares académicos antes de su proceso editorial, en caso de requerir certificación debe solicitarla a:  
[sbores@colloquium-editorial.com](mailto:sbores@colloquium-editorial.com)

Quedan rigurosamente prohibidas, bajo las sanciones en las leyes, la producción o almacenamiento total o parcial de la presente publicación, incluyendo el diseño de la portada, así como la transmisión de la misma por cualquiera de sus medios, tanto si es electrónico, como químico, mecánico, óptico, de grabación o bien de fotocopia, sin la autorización de los titulares del copyright.

Ecuador 2019

## **AGRADECIMIENTO**

A mi hijo Guillermo Aníbal, que es mi bendición.

Al modelo de padre Fausto Aníbal Fon Fay Barzola.

A mi madre querida Norma María Vásquez de Fon Fay y a mis hermanos.

Ing. Lourdes Ramos Mackliff, colaboradora incondicional para el desarrollo de este libro.

## **PROLOGO**

En el Ecuador uno de los objetivos es impulsar la transformación de la matriz productiva, para lo cual es necesario orientar la conformación de nuevas industrias y la promoción de nuevos sectores con alta productividad, competitivos, sostenibles, sustentables y diversos, con visión territorial y la inclusión económica de los encadenamientos que generen. Así mismo, deben impulsarse los recursos financieros y no financieros, profundizar la inversión pública como generadora de condiciones para la competitividad sistémica y promover la contratación pública y la inversión privada.

La Educación Superior ecuatoriana es en parte responsable de lograr este reto, por tal razón es necesario que los estudiantes en el proceso de aprendizaje logren la construcción de sus conocimientos con pensamiento crítico y creativo, con el fin de que sean capaces de analizar, reflexionar, razonar y formular pensamientos propios, y puedan resolver problemas de la industria de alimentos.

Este libro surge por la experiencia de la práctica docente de los autores, razón por la cual se compilaron diferentes métodos de análisis de alimentos, los que fueron constantemente aplicados y seleccionados, considerando el manejo y disponibilidad de equipos, materiales y reactivos dentro del laboratorio.

Por lo cual este libro oferta principalmente el fundamento científico del Análisis Proximal; el mismo que conduce a disponer de las herramientas para analizar la transformación de la materia prima y aportar con la innovación de nuevos productos que cumplan los parámetros de calidad.



El presente texto está estructurado en dos capítulos. En el primero se abordan los fundamentos teóricos del análisis proximal en alimentos enfatizando en los principios en que se basan las determinaciones de los macroelementos presentes en los alimentos (humedad, cenizas, proteínas, grasas, carbohidratos asimilables y fibra dietética). En el capítulo 2 se describen 28 técnicas experimentales de cuantificación de estos macro componentes, indicando en la mayoría de los casos la importancia de la determinación en función de un conjunto de elementos nutricionales, toxicológicos y tecnológicos del analito y la matriz analizada, aspecto novedoso y no tratado en la literatura tradicional sobre estos temas.

Nuestros agradecimientos a las autoridades Universidad Técnica Estatal de Quevedo por apoyar al desarrollo de este libro, a los revisores y a todos los que de una forma u otra han contribuido al acabado y publicación de esta obra.

Los autores

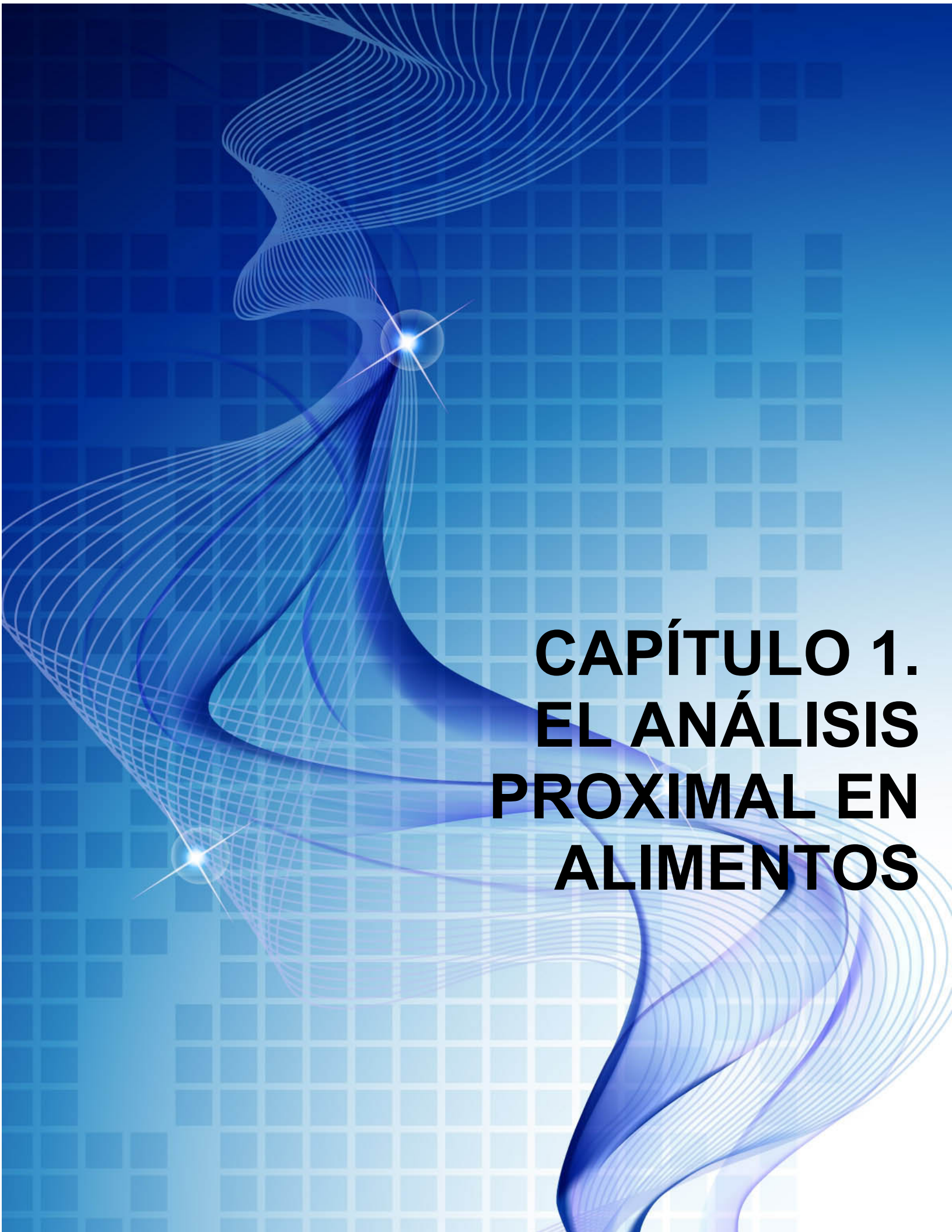
## ÍNDICE

|                                                                                 |    |
|---------------------------------------------------------------------------------|----|
| AGRADECIMIENTO .....                                                            | 1  |
| PROLOGO .....                                                                   | 3  |
| Capítulo 1. El Análisis Proximal en alimentos .....                             | 7  |
| INTRODUCCIÓN .....                                                              | 7  |
| LA PREPARACIÓN DE LA MUESTRA. UNA ETAPA CLAVE EN LA METODOLOGÍA ANALÍTICA. .... | 10 |
| DETERMINACIÓN DE HUMEDAD .....                                                  | 17 |
| 1.1.1.    DETERMINACIÓN DE HUMEDAD POR MÉTODOS INDIRECTOS ....                  | 18 |
| Determinación de humedad por destilación directa. ....                          | 20 |
| Determinación de humedad por métodos instrumentales. ....                       | 21 |
| Determinación de Humedad o Pérdida por Calentamiento .....                      | 22 |
| DETERMINACIÓN DE CENIZAS .....                                                  | 24 |
| 1.2.    DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS.....                                         | 29 |
| Fundamentos teóricos de la determinación de proteínas. ....                     | 31 |
| Factor de conversión de N a proteínas .....                                     | 34 |
| DETERMINACIÓN DE GRASAS .....                                                   | 35 |
| Métodos de extracción con solventes orgánicos .....                             | 37 |
| Método de extracción intermitente (método Soxhlet) .....                        | 40 |
| Método de Extracción de Rose-Gottlieb. ....                                     | 42 |
| Métodos butirométricos.....                                                     | 43 |
| DETERMINACIÓN DE CARBOHIDRATOS .....                                            | 48 |
| DETERMINACIÓN DE FIBRA DIETÉTICA.....                                           | 50 |
| Zanahoria .....                                                                 | 60 |
| Métodos de determinación de fibra dietética .....                               | 62 |
| Método de determinación de fibra cruda. ....                                    | 63 |
| DETERMINACIÓN DE LA FIBRA POR LE MÉTODO DE WEENDE. ....                         | 65 |
| Métodos detergentes .....                                                       | 69 |
| Métodos enzimáticos .....                                                       | 74 |
| ALGUNOS CÁLCULOS GENERALES DE INTERÉS.....                                      | 80 |
| BIBLIOGRAFÍA .....                                                              | 88 |

|                                                                                                                 |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Capítulo 2. Técnicas experimentales de análisis proximal .....                                                  | 93  |
| TÉCNICAS EXPERIMENTALES DE DETERMINACIÓN DE HUMEDAD.....                                                        | 93  |
| Determinación de humedad y materias volátiles en aceites y grasas.....                                          | 93  |
| Determinación de humedad en aceites y grasas comestibles (Método del xileno) ....                               | 96  |
| Determinación de humedad en productos cárnicos.....                                                             | 98  |
| TÉCNICA OPERATORIA (PANREAC. MÉTODOS OFICIALES DE ANÁLISIS. CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS. 1999).....              | 101 |
| Determinación de humedad en leche en polvo. ....                                                                | 105 |
| Determinación de humedad en leche evaporada, condensada y concentrada.....                                      | 111 |
| Determinación de la materia seca en yogur. ....                                                                 | 114 |
| Determinación de humedad en cereales.....                                                                       | 120 |
| TÉCNICAS EXPERIMENTALES DE DETERMINACIÓN DE CENIZAS .....                                                       | 124 |
| Determinación de cenizas en productos cárnicos.....                                                             | 124 |
| Determinación de cenizas en leche.....                                                                          | 128 |
| Determinación de cenizas en cereales .....                                                                      | 134 |
| Determinación de cenizas en vinos.....                                                                          | 137 |
| Determinación de cenizas en cerveza.....                                                                        | 145 |
| TÉCNICAS EXPERIMENTALES DE DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS.....                                                      | 147 |
| Determinación de caseína en leche .....                                                                         | 147 |
| Determinación de proteínas totales por el método Kjeldahl (método indirecto).....                               | 157 |
| TÉCNICAS EXPERIMENTALES DE DETERMINACIÓN DE GRASAS.....                                                         | 161 |
| Determinación del contenido de grasa total en productos cárnicos (método Soxhlet) .....                         | 161 |
| 2.1.1.    Determinación de grasa total en productos cárnicos .....                                              | 166 |
| Determinación de grasa en leche natural, certificada, higienizada y pasteurizada (método de Röse Gottlieb)..... | 168 |
| Determinación de grasas en cereales. ....                                                                       | 177 |
| Determinación de los índices de calidad e identidad en aceites y grasas comestibles .....                       | 180 |
| Determinación del índice de acidez en aceites y grasas comestibles .....                                        | 180 |
| Determinación del índice de peróxidos en aceites y grasas comestibles .....                                     | 184 |
| Determinación del índice de saponificación en aceites y grasas comestibles .....                                | 189 |

|                                                                                                                                                                        |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Determinación del índice de yodo en aceites y grasas comestibles (método de Hanus)                                                                                     | 193 |
| 2.5. TÉCNICAS EXPERIMENTALES DE DETERMINACIÓN DE CARBOHIDRATOS ASIMILABLES.....                                                                                        | 197 |
| 2.5.1. Determinación de azúcares reductores en rones .....                                                                                                             | 197 |
| Primera cifra decimal .....                                                                                                                                            | 202 |
| Determinación de almidón en productos cárnicos .....                                                                                                                   | 203 |
| Determinación de azúcares reductores directos y totales en zumos de frutas.....                                                                                        | 208 |
| TÉCNICAS EXPERIMENTALES DE DETERMINACIÓN DE FIBRA DIETÉTICA .....                                                                                                      | 214 |
| Determinación del contenido fibra en conservas de frutas y vegetales. ....                                                                                             | 214 |
| Determinación de fibra dietética insoluble (FDI) en cereales. ....                                                                                                     | 219 |
| 2.6.1. Determinación de fibra dietética soluble, insoluble y total en alimentos.                                                                                       | 225 |
| Bibliografía .....                                                                                                                                                     | 233 |
| Capítulo III. Aplicación Teórico – PRÁCTICO DE las Principales Técnicas De Alimentos                                                                                   | 239 |
| INTRODUCCIÓN .....                                                                                                                                                     | 239 |
| DETERMINACIÓN DE HUMEDAD O PÉRDIDA POR CALENTAMIENTO .....                                                                                                             | 239 |
| Con referencia a la siguiente norma: Determinación de contenido de humedad. (IDT). Norma técnica ecuatoriana NTE INEN-ISO 1442:2013 .....                              | 241 |
| Como referencia a la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 299 “Determinación de la Humedad en Leche en Polvo” .....                                                          | 243 |
| 3.2.2. Otra referencia es la “Determinación de materia seca mediante medición de la pérdida de peso de la muestra” .....                                               | 246 |
| DETERMINACIÓN DE CENIZA. ....                                                                                                                                          | 248 |
| CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS - DETERMINACIÓN DE CENIZA TOTAL. NTE INEN-ISO 936:2013 .....                                                                                | 249 |
| Con referencia a la INEN 302 se muestra la siguiente norma: “Determinación de las cenizas en leche en polvo. NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 302: 2012-11-21” ..... | 254 |
| DETERMINACIÓN DE GRASA.....                                                                                                                                            | 262 |
| Leche. Determinación del Contenido de Grasa. Método de Röse-Gottlieb. NTE INEN 0012:73 .....                                                                           | 265 |
| 3.3. DETERMINACIÓN DE LA FIBRA POR EL MÉTODO DE WEENDE.....                                                                                                            | 282 |

|        |                                                                            |     |
|--------|----------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3.3.1. | Harinas de origen vegetal. Determinación de la fibra cruda. NTE INEN 0522. | 286 |
| 3.4.   | DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA BRUTA.....                                       | 292 |
|        | Bibliografía .....                                                         | 313 |
|        | Capítulo IV. PLANIFICACIÓN DE REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS .....        | 318 |
|        | INTRODUCCIÓN .....                                                         | 319 |
|        | HUMEDAD O PÉRDIDA POR CALENTAMIENTO.....                                   | 320 |
|        | Equipos.....                                                               | 320 |
|        | Materiales.....                                                            | 321 |
|        | DETERMINACIÓN DE CENIZA .....                                              | 322 |
|        | Equipos.....                                                               | 322 |
|        | DETERMINACIÓN DE GRASA.....                                                | 324 |
|        | Equipos.....                                                               | 324 |
|        | Materiales.....                                                            | 327 |
|        | DETERMINACIÓN DE LA FIBRA POR EL MÉTODO DE WEENDE .....                    | 331 |
|        | Equipos.....                                                               | 331 |
|        | Materiales.....                                                            | 332 |
|        | Reactivos .....                                                            | 332 |
| 4.1.   | DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA BRUTA.....                                       | 335 |
| 4.1.1. | Equipos.....                                                               | 336 |
|        | Materiales.....                                                            | 338 |
|        | Reactivos .....                                                            | 340 |

The background is a deep blue gradient. Overlaid on this is a light blue grid of squares. Swirling, wavy lines in various shades of blue and white flow across the page, creating a sense of motion. Two bright, multi-pointed starburst effects are visible: one near the center-left and another in the lower-left quadrant.

# **CAPÍTULO 1. EL ANÁLISIS PROXIMAL EN ALIMENTOS**

## **CAPÍTULO 1. EL ANÁLISIS PROXIMAL EN ALIMENTOS**

### **INTRODUCCIÓN**

El análisis de alimentos es la disciplina que se ocupa del desarrollo, uso y estudio de los procedimientos analíticos para evaluar las características de alimentos y de sus componentes. Esta información es de extraordinaria relevancia para la comprensión de los factores que determinan las propiedades de los alimentos, así como la capacidad para producir alimentos que sean consistentemente seguros, nutritivos y deseables para el consumidor.

Existen un número considerable de técnicas analíticas para determinar una propiedad particular del alimento. De ahí que es necesario seleccionar la más apropiada para la aplicación específica. La técnica seleccionada dependerá de la propiedad que sea medida, del tipo de alimento a analizar y la razón de llevar a cabo el análisis.

El Análisis Proximal comprende las determinaciones que se realizan más frecuentemente para conocer la composición de los macro componentes presentes en los alimentos e incluyen la determinación de humedad, cenizas, extracto etéreo (grasa cruda), proteína total, fibra dietética y carbohidratos asimilables. Así mismo, dependiendo del objetivo del análisis, resultan importantes las determinaciones relacionadas con la caracterización de algún grupo de nutrientes en particular; tal es el caso del análisis de carbohidratos en el que se podría considerar la diferenciación de los que presentan poder reductor, del contenido total. En el mismo

sentido se podrían analizar las proteínas solubles o considerar la caracterización de los lípidos extraídos de un alimento.

La Química Analítica ha experimentado en los últimos 25 años un desarrollo espectacular. Este desarrollo no es más que una consecuencia de la realidad impuesta por el desarrollo de la sociedad. Actualmente los laboratorios analíticos independientemente que se dediquen a la investigación o estén vinculados a la industria se enfrentan diariamente a problemáticas mucho más complejas que hace varias décadas.

El surgimiento de nuevos materiales implica la consideración de nuevas matrices y nuevos analitos. Si se enfoca esta realidad desde el punto de vista químico, encontramos una gran cantidad de materiales de diversa naturaleza y estado físico, que pueden estar compuestos por un número elevado de sustancias químicas, dentro de las cuales nos puede interesar uno, varios o todos los componentes, los cuales pueden estar presentes a su vez en diferentes concentraciones.

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

Ante esta realidad que hemos expuesto, contar con un método que reúna todas estas características es prácticamente imposible, pero lo que sí debe quedar claro es que cuando se concibe una metodología para enfrentar un determinado problema analítico, debe estar dirigida a garantizar al menos algunos de estos requerimientos.



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

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

Por último no podemos dejar pasar por alto factores tan importantes como son el tiempo y el costo del análisis. En ocasiones se nos exigen resultados rápidos, por lo que al diseñar la metodología del análisis debe contemplarse este aspecto. El costo es también esencialmente importante, sobre todo en nuestras condiciones. En algunos casos pretendemos emplear métodos más caros pero más novedosos cuando quizás el problema pueda resolverse empleando métodos más sencillos y baratos.

## **LA PREPARACIÓN DE LA MUESTRA. UNA ETAPA CLAVE EN LA METODOLOGÍA ANALÍTICA.**

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

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

La metodología analítica pudiera definirse como una serie de etapas y operaciones comunes a cualquier método analítico, que es necesario considerar a la hora de realizar el análisis. Este esquema está conformado básicamente por las seis etapas: 1- definición de los objetivos, 2- selección del método analítico, 3- muestreo y toma de la muestra, 4- preparación de la muestra, 5- determinación y 6- cálculos e interpretación de los resultados.

No es objetivo de este libro la descripción y análisis de cada una de estas etapas, sin embargo por la marcada importancia que reviste en el análisis proximal, examinaremos con mayor detenimiento la etapa de preparación de la muestra.

La preparación de muestra es una de las etapas que puede considerarse crítica en una metodología analítica. De forma general en la literatura científica suele dársele mayor importancia a la etapa de selección del método analítico que a la etapa de preparación de

la muestra. Sin embargo, en los últimos años diversos autores han llamado la atención con respecto a la importancia de esta última etapa.

La mayoría de las determinaciones analíticas requieren de una preparación previa de la muestra. Esto obedece a diferentes razones entre las cuales se pudieran mencionar las siguientes:

1. Alta complejidad de la matriz, lo que aumenta la posibilidad de la presencia de interferencias. En este sentido se debe recordar que la complejidad de una matriz está relacionada con diferentes criterios y no solamente con el alto número de componentes.
2. Muestras muy diluidas, es decir, el o los analitos se encuentran en bajas concentraciones en la muestra original pudiendo encontrarse por debajo del límite de detección del método analítico.
3. Muestras muy concentradas, lo que pudiera ocasionar que el analito pueda dar una señal fuera de escala. En el caso más simple bastaría realizar un proceso de dilución para resolver este problema.
4. Las características físico químicas de la muestra (matriz) no son compatibles con el método analítico. Así por ejemplo el método puede exigir un análisis del analito en disolución a partir de una muestra sólida. En el caso más sencillo bastaría un proceso de disolución.

Así, el objetivo central del proceso de preparación de la muestra es el de poner al analito en condiciones óptimas para ser analizado; dicho de otro modo, obtener muestras enriquecidas en las sustancias de interés analítico y asegurar la detección y/o cuantificación eficiente del o los analitos, así como la compatibilidad con el sistema analítico, lo cual está obviamente relacionado con el éxito del análisis.

Por lo tanto la etapa de preparación de la muestra requiere de un diseño y planificación rigurosos el cual debe realizarse atendiendo a los siguientes criterios:

- 1- Naturaleza química del analito.
- 2- Concentración del analito en la matriz.
- 3- Característica de la matriz (homogeneidad o heterogeneidad, estabilidad, volatilidad, solubilidad)
- 4- Naturaleza química de las sustancias interferentes
- 5- Características del método analítico seleccionado.

En el análisis de los alimentos, la preparación de la muestra incluye un número de etapas más o menos numerosas que dependen del tipo de producto (matriz) y del componente que se desea cuantificar (analito). Ahora bien, existen dos momentos perfectamente delimitados que pueden clasificarse como sub-etapas y forman parte de la etapa de preparación de la muestra; estos momentos son: preparación de la muestra bruta y preparación de la porción de ensayo.

#### **a. Preparación de la muestra bruta**

Constituye un proceso de tratamiento de la matriz, dirigido a garantizar la representatividad de los resultados y a facilitar la posterior extracción del analito. Se realiza, como su nombre lo indica a la muestra que llega al laboratorio (muestra bruta) antes de proceder a la pesada o medida del volumen de la misma.

Usualmente, el procedimiento de preparación de la muestra bruta aparece descrito en normas que regulan e indican cómo debe realizarse esta etapa en función de las características de la matriz. Así por ejemplo, en el análisis de conservas cárnicas en salmuera,

la norma cubana exige que la muestra sea preparada de la siguiente forma:

“Se drena el contenido del envase y se toman varias porciones de diferentes zonas del producto en cantidades adecuadas. Las porciones tomadas se hacen pasar por una máquina moledora o batidora eléctrica si es necesario, mezclando después de cada operación para lograr una buena homogenización. Posteriormente se pasa a un recipiente cerrado herméticamente y se almacena bajo condiciones en que se preserve de cualquier deterioro o cambio en su composición. La muestra debe analizarse antes de las 24 horas posteriores a su preparación”.

Nótese que este procedimiento es general y se realiza a los productos cárnicos en conserva, con independencia del analito que se desee cuantificar. En otras ocasiones sin embargo, es necesario realizar procedimientos adicionales en función del método de cuantificación que será empleado posteriormente. Por ejemplo, si en esta misma muestra de carne en conserva se quiere acometer la determinación de grasa por un método de extracción con solventes orgánicos, se hace necesario, además de las operaciones indicadas, realizar un previo secado de la muestra puesto que elevados contenidos de humedad en el producto interfieren en la determinación.

#### **b. Preparación de la porción de ensayo.**

Esta etapa se inicia invariablemente con la medición exacta de la porción de la muestra homogenizada, puesto que los resultados finales del análisis se reportan en forma de concentraciones, es decir, se refiere la cantidad de analito cuantificado en función de la cantidad de muestra tomada para el análisis (porcientos, mg/g, mg/L, mg/100 g, etc.).

Una vez medida exactamente la porción de ensayo, se realizan diferentes tratamientos de mayor o menor complejidad, cuyo objetivo es el de separar el analito del resto de los componentes que pudieran constituir interferencias y facilitar la cuantificación.

A partir del análisis de estos aspectos se diseña una estrategia analítica la cual puede enfocarse desde dos puntos de vista:

1. A partir de la matriz original se realizan las operaciones químicas necesarias que permiten eliminar las interferencias. (Proceso de limpieza o “clean up”)
2. A partir de la matriz original se extraen selectivamente los compuestos de interés (analitos). (Proceso de extracción)

Estas etapas se pueden acometer empleando métodos clásicos de mayor o menor complejidad, cuya descripción sería imposible de abordar totalmente en este texto dado el enorme número de posibilidades que existen. De cualquier manera, relacionamos a continuación algunos de los procedimientos más comunes.

**Dilución:** Se emplea para muestras líquidas en las cuales el analito se encuentra en altas concentraciones o en productos fuertemente coloreados cuya coloración interfiere en el análisis. Es uno de los procedimientos más simples de preparación. Un típico ejemplo es la determinación de acidez total en vinagre comercial, el cual posee una elevada concentración de ácido acético que es necesario disminuir a través de una dilución.

**Extracción sólido-líquido:** Consiste en la extracción del analito a partir de una matriz sólida empleando un disolvente adecuado capaz de solubilizar el componente en estudio. En la determinación del contenido de cloruro de sodio por el método de Mohr en productos cárnicos, la porción pesada y homogenizada se

suspende en agua destilada y se mantiene en reposo durante 1 hora para garantizar que el cloruro de sodio sea extraído y pase a la solución. Luego se filtra y se determina el contenido de cloruro de sodio en la solución salina.

Este procedimiento de extracción sólido-líquido es relativamente sencillo pero existen otros más complejos que pueden involucrar el empleo de varias etapas con diferentes solventes y operaciones más engorrosas.

**Clarificación:** Consiste en eliminar las interferencias por precipitación o floculación empleando un agente precipitante adecuado. Así por ejemplo, en la determinación de azúcares reductores en compotas, los pigmentos y otras macromoléculas que constituyen interferencias se precipitan por adición de una solución saturada de acetato de plomo. El precipitado se separa por filtración y se obtiene una solución transparente que contiene los azúcares objeto de cuantificación. Este procedimiento se conoce también con el nombre de defecación plúmbica.

**Destilación:** El analito se separa del resto de los componentes que pueden interferir en el análisis aplicando un procedimiento de destilación con vapor de agua. La determinación de ésteres totales en rones es un típico ejemplo que requiere de un proceso de destilación a través del cual se obtienen los ésteres en el destilado que posteriormente se analiza.

**Incineración:** La incineración es el proceso de combustión de la materia orgánica que deja un residuo de material inorgánico conocido como cenizas. En algunas determinaciones de compuestos de naturaleza inorgánica se requiere eliminar primeramente el material orgánico para facilitar el análisis. Así por ejemplo, en la determinación de calcio en vinos por un método

complejo métrico, la cuantificación se realiza sobre las cenizas del producto, obtenidas por incineración a altas temperaturas.

**Digestión:** Es un proceso de hidrólisis (ácida fundamentalmente) de la materia orgánica, que puede incluso, en función de las condiciones de tratamiento, producir agentes oxidantes que transforman la materia orgánica a dióxido de carbono, vapor de agua y otros compuestos volátiles. La determinación de nitrógeno total por el método Kjeldahl incluye una etapa de digestión que transforma el nitrógeno orgánico en sulfato de amonio con el empleo de ácido sulfúrico concentrado y calor en presencia de un catalizador de sulfato de cobre. En esta determinación se realiza además una posterior destilación, por lo que constituye un ejemplo en que se combinan varios procedimientos con vistas a transformar el analito en una sustancia fácilmente cuantificable.

**Reflujo:** Es una operación que se realiza con el fin de propiciar o acelerar una reacción química entre dos sustancias mediante la aplicación de calor. Consiste en colocar las sustancias reaccionantes (en disolución), en un frasco erlenmeyer de tapa esmerilada conectado a un condensador de reflujo o tubo refrigerante, a través del cual circula agua. Se aplica calor al frasco erlenmeyer, mediante mechero, plancha de calefacción o baño termostático, y la reacción ocurre a altas temperaturas sin pérdida de los reaccionantes, por cuanto los vapores desprendidos se condensan al chocar con el tubo refrigerante y caen nuevamente en el seno de la solución. Así por ejemplo, la determinación del índice de saponificación en aceites y grasas comestibles requiere obligatoriamente de una etapa de reflujo para que tenga lugar la reacción de neutralización entre los ácidos grasos y el hidróxido de potasio, ya que esta reacción no tiene lugar a temperatura ambiente.



Los procedimientos arriba explicados constituyen tan solo unos pocos ejemplos de las numerosas operaciones que pueden emplearse como parte de la preparación de la muestra.

### **DETERMINACIÓN DE HUMEDAD**

La determinación de humedad es una de las técnicas más importantes y de mayor uso en el procesamiento, control y conservación de los alimentos, puesto que la mayoría de los productos alimenticios poseen un contenido mayoritario de agua, así por ejemplo, la leche fluida posee un 88%, el yogurt, entre un 80 y 90%, el pollo caliente (67%), las carnes frescas (60-75%) y aún los llamados productos secos como las leguminosas o el arroz, alcanzan un contenido de humedad de hasta 12%.

El contenido de humedad en un alimento es, frecuentemente, un índice de estabilidad del producto, puesto que existe una relación, aunque imperfecta, entre el contenido de agua en los alimentos y su capacidad de deterioro. Los procesos de deshidratación y concentración se emplean primariamente con el objetivo de reducir el contenido de agua en un alimento incrementando simultáneamente la concentración de los solutos y disminuyendo de este modo su alterabilidad, dado que altos contenidos de humedad aceleran procesos de degradación hidrolítica de los componentes de los alimentos y propician el desarrollo de microorganismos. De ahí que el tiempo de almacenamiento de un producto, el procesamiento y las condiciones de empaque y conservación se vean influidas por el contenido de humedad del producto.

Por otra parte, el control de la humedad es un factor decisivo en muchos procesos industriales tales como el molinado de cereales, el mezclado de productos sólidos finos, en la elaboración de pan, etc. Así mismo, en la evaluación de muchos procesos industriales

es de gran importancia conocer el contenido de agua de los productos o materias primas para formular el producto y evaluar las pérdidas durante el procesamiento.

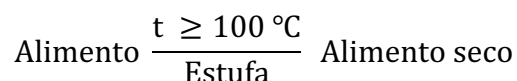
Finalmente no debe soslayarse el hecho de que el contenido de agua en los alimentos varía en un amplio rango y no constituye un parámetro constante dada la influencia de la humedad relativa ambiental. De ahí que en muchas ocasiones conviene expresar la concentración de un determinado componente de un alimento en base seca para lo cual es imprescindible conocer su contenido de agua. Otras veces se requiere realizar el cálculo inverso, es decir, la técnica de determinación exige un previo secado del producto (matriz) pero los resultados deben expresarse en base húmeda puesto que los valores de referencia, con los cuales debe compararse el resultado analítico en cuestión, están expresados en base húmeda.

Los elementos arriba expuestos dan fe de la extraordinaria importancia que reviste el control de la humedad en los alimentos, (Panreac, 1999).

#### **1.1.1. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD POR MÉTODOS INDIRECTOS**

De los diferentes métodos de determinación de humedad, el más barato, rápido y ampliamente utilizado es el método indirecto por volatilización, el cual se basa en la separación del agua del alimento por secado en estufa a temperaturas superiores a 100°C.

Visto esquemáticamente:



La masa de agua se calcula por diferencia según:

$$m(\text{agua}) = m(\text{alimento})_{\text{inicial}} - m(\text{alimento})_{\text{seco}}$$

y los resultados se expresan usualmente en porciento, según:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{m(\text{agua})}{b} \times 100$$

Donde b es el volumen (mL) o la masa (g) de la muestra tomada para el análisis.

La masa o volumen de muestra necesarios para realizar la determinación, así como la temperatura empleada en el proceso de secado, dependen de las características del producto analizado. Así por ejemplo, de forma general, los productos cárnicos se someten a temperaturas de 125°C durante 2 horas en tanto ciertos tipos de quesos se tratan a 100°C durante 4 horas y los cereales a 103°C durante 2 horas. Estos parámetros no deben ser generalizados pues de hecho, cada técnica analítica de determinación de humedad específica los parámetros de operación en función del tipo de alimento. Cuando no se conocen estos parámetros, se suele realizar al análisis hasta peso constante del residuo seco.

Las características del producto a analizar determinan también diferentes metodologías para la preparación de la muestra. Así:

1. En el caso de productos líquidos como vinos, jugos y néctares y otros con altos contenidos de humedad, los mismos deben ser sometidos a un previo procesado en baño de agua antes de ser introducidos en la estufa.
2. Los productos siroposos, espesos y ricos en grasas, se mezclan con materiales adsorbentes como arena, o piedra pómez para evitar

proyecciones de la muestra durante el secado, y la consecuente pérdida de parte de la misma.

Los métodos indirectos de determinación de humedad, no obstante ser los más empleados, presentan un conjunto de desventajas asociadas al proceso de secado. Entre ellas pueden citarse:

1. Volatilización de constituyentes como alcoholes y aceites esenciales que se cuantifican dentro del contenido de humedad al final del análisis.

2. Descomposición u oxidación de algunos constituyentes a la temperatura de trabajo ( $>100^{\circ}\text{C}$ ) lo cual pudiera ocasionar la formación de compuestos volátiles que serían entonces eliminados.

Estos inconvenientes pueden ser minimizados realizando el secado al vacío, a temperaturas que no rebasan los  $70^{\circ}\text{C}$  o por exposición a radiaciones infrarrojas.

Existen otros métodos de determinación de humedad, que si bien no pueden incluirse dentro de la clasificación de los métodos gravimétricos, esbozaremos brevemente a continuación (AOAC, 2000).

### **Determinación de humedad por destilación directa.**

El método consiste en colocar la muestra de alimento en un balón de destilación al cual se añade un solvente orgánico inmiscible en agua y de mayor punto de ebullición; por ejemplo tolueno o xileno. El balón de destilación se conecta a un tubo colector acoplado a un condensador de reflujo y se comienza la destilación. Los vapores desprendidos por la mezcla (más ricos en vapor de agua) se condensan y se recogen en el tubo colector, quedando siempre separados el solvente y el agua en dos fases líquidas bien definidas.

Al concluir la destilación se mide el volumen de agua recogido y con ayuda de la densidad y la porción exactamente medida de la muestra, se calcula el % de humedad.

$$\% \text{ Humedad} = \frac{m(\text{agua})}{b} \times 100$$

Donde b es el volumen (mL) o la masa (g) de la muestra tomada para el análisis.

Los métodos por destilación directa se emplean en la determinación de humedad en aceite y grasas comestibles y en algunas conservas de frutas y vegetales.

### **DETERMINACIÓN DE HUMEDAD POR MÉTODOS INSTRUMENTALES.**

La determinación de humedad en algunos alimentos puede realizarse también con ayuda de equipamiento instrumental de mayor o menor sofisticación, mediante los cuales se obtienen resultados en un período de tiempo mucho más corto.

Un ejemplo ilustrativo en este sentido es la determinación de humedad por el método de Chataway. Este método se basa en la relación existente, bajo determinadas condiciones, entre el índice de refracción y el contenido de humedad en un producto. A la muestra objeto de estudio se le determina el índice de refracción y se localiza el porcentaje de humedad correspondiente en una tabla que correlaciona ambos parámetros. La determinación del contenido de humedad en miel de abejas se realiza por este procedimiento.

En la actualidad existen equipos que determinan de forma automática el contenido de humedad en un gran número de matrices orgánicas e inorgánicas. Sin embargo, en el análisis de los alimentos, la propia complejidad de este tipo de matriz y la forma en que se presenta al agua en la misma, no permiten obtener

resultados confiables con estos equipos para todos los tipos de alimentos. No obstante debe señalarse que existen algunos equipos especialmente contruidos para el análisis de la humedad en algunos tipos de alimentos. Tal es el caso del medidor GMK-303 / GMK-303RS, el cual se usa para medir el contenido de humedad en granos como arroz, soja, cebada, trigo y cereales por medio del método de resistencia electrónica y con microprocesador incorporado. Otro ejemplo es el medidor de humedad modelo GMK-310, el cual está diseñado para la medición de humedad en pimientos. Este aparato mide la humedad por tecnología digital y el método empleado para la medición es por inserción directa de la sonda en el pimiento sin necesidad de molerlo antes.

De cualquier manera, en la práctica investigativa de hoy en día, se sigue considerando la determinación de humedad por vía indirecta (desección en estufa), como el método más confiable y universal.

### **DETERMINACIÓN DE HUMEDAD O PÉRDIDA POR CALENTAMIENTO**

Se muestra la siguiente norma aplicada en el laboratorio de Bromatología en la Universidad Técnica Estatal de Quevedo:

#### **Objeto**

Esta norma establece el método para determinar el contenido de Humedad y otras materias volátiles en diferentes tipos de muestras de origen agropecuario y productos terminados.

#### **1. Instrumental**

- Balanza analítica, sensible al 0.1 mg.
- Estufa, con regulador de temperatura.
- Desecador, con silicagel u otro deshidratante.
- Crisoles de porcelana

- Espátula
- Pinza

## 2. Preparación de la muestra

Las muestras para el ensayo deben estar acondicionadas en recipientes herméticos, limpios y secos (vidrio, plástico u otro material inoxidable), completamente llenos para evitar que se formen espacios de aire.

La cantidad de muestra extraída de un lote determinado debe ser y no debe exponerse al aire por mucho tiempo.

Se homogeniza la muestra invirtiendo varias veces el recipiente que la contiene.

## 3. Procedimiento

La determinación debe efectuarse por duplicado.

Calentar el crisol de porcelana durante 30 min. en la estufa, en donde va a ser colocada la muestra, dejar enfriar a temperatura ambiente y pesar.

Homogenizar la muestra y pesar 1 gr. con aproximación al 0.1 mg.

Llevar a la estufa a 130° C por dos horas o 105°C por 12 horas.

Transcurrido este tiempo sacar y dejar enfriar en el desecador por media hora, pesar con precisión.

## 4. Cálculos

$$H = \frac{W_2 - W_1}{W_0} \times 100$$

$W_0$  = Peso de la Muestra ( g )

$W_1$  = Peso del crisol más la muestra después del secado.

$W_2$  = Peso del crisol más la muestra antes del secado

%MS = 100 - HT

HT= Humedad Total.

MS= Materia Seca

(AOAC, 2000)

### **DETERMINACIÓN DE CENIZAS**

En el análisis de los alimentos, las cenizas se definen como el residuo inorgánico que se obtiene al incinerar la materia orgánica en un producto cualquiera.

Cuando los alimentos son tratados térmicamente a temperaturas entre 500 y 600°C, el agua y otros constituyentes volátiles son expulsados como vapores en tanto los constituyentes orgánicos son transformados en presencia del oxígeno del aire en dióxido de carbono ( $CO_2$ ) y óxido de nitrógeno ( $NO_2$ ) mientras el hidrógeno es expulsado en forma de vapor de agua.

Los minerales constituyentes (cenizas) permanecen en el residuo en forma de óxidos, sulfatos, fosfatos, silicatos y cloruros, en dependencia de las condiciones de incineración y la composición del producto analizado.

La determinación del contenido de cenizas en los alimentos es por tanto un indicador del contenido total de minerales y materia inorgánica, microelementos que cumplen funciones metabólicas importantes en el organismo.

Por otra parte, la determinación de cenizas permite detectar posibles contaminaciones metálicas en los alimentos, las cuales pueden ocurrir durante el proceso de producción, si parte de los



metales de la maquinaria empleada pasan al producto, o durante el almacenamiento de los productos enlatados, en los cuales los componentes de la hojalata pueden contaminar el producto como consecuencia de procesos oxidativos o contaminación con microorganismos productores de ácidos que ataquen el envase durante el almacenamiento.

En otros productos terminados tales como el azúcar, el almidón o la gelatina, por solo citar algunos ejemplos, la presencia de cenizas es cuestionable por lo que su presencia en estos productos es también indicativa de posibles adulteraciones.

El procedimiento para realizar la determinación de cenizas consiste en incinerar una porción exactamente pesada del alimento en un crisol de porcelana o platino (resistente a altas temperaturas) utilizando una mufla a temperaturas entre 500 y 600°C durante 24 horas aproximadamente. El análisis se da por terminado cuando el residuo esté libre de partículas carbonosas (de color negro) y las cenizas presenten un color blanco o gris uniforme, ocasionalmente pueden ser rojizas o verdosas. Entonces, el crisol con las cenizas se enfría en desecadora y se pesa en balanza analítica hasta peso constante.

Un esquema de este proceso se muestra a continuación.

$$\text{Alimento} = \frac{\text{mufla}(500 - 600^\circ\text{C})}{\approx 24 \text{ horas}} \text{ Cenizas}$$

Los resultados se expresan en porciento según

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{m(\text{cenizas})}{b} \times 100$$

Donde  $b$  es el volumen (mL) o la masa (g) de la muestra tomada para el análisis.

Las temperaturas de incineración empleadas, de forma análoga a la determinación de humedad, dependen del tipo de alimento a analizar, pero rara vez superan los 600°C. Se plantea que, si se alcanza rápidamente una temperatura de 650°C, el cloruro de sodio y de potasio son volatilizados, el carbonato de calcio es convertido en óxido y los fosfatos alcalinos se funden protegiendo a las proteínas y evitando que toda la materia orgánica pase a dióxido de carbono, (AOAC, 2000).

Algunas temperaturas de incineración recomendadas para varios tipos de alimentos se relacionan en la tabla 1.

Tabla 1. Temperaturas de incineración de algunos grupos de alimentos

| Tipo de alimento             | Temperatura °C |
|------------------------------|----------------|
| Frutas y productos de frutas | ≈ 600          |
| Carne y productos cárnicos   | ≈ 550          |
| Cereales                     | Variable       |
| Leche y productos lácteos    | 520 – 550      |
| Aceites y grasas             | ≈ 400          |
| Vinos                        | ≈ 525          |

Fuente: (Sánchez García, 2017)

Al realizar la determinación del contenido de cenizas en un alimento deben tenerse en cuenta un conjunto de precauciones durante el proceso de preparación de la muestra y durante la manipulación de las cenizas, con el objetivo de minimizar los errores y obtener

resultados confiables. Algunas de estas precauciones se relacionan a continuación.

1. Al homogenizar productos sólidos en morteros de porcelana se debe cuidar que el producto no se contamine con el material del mortero.
2. Alimentos con altos contenidos de humedad como la leche, los jugos y néctares de frutas, vinos, etc, deben ser sometidos, luego de medida la porción de ensayo, a un previo presecado en estufa con el objetivo de concentrar los solutos.
3. Alimentos con altos contenidos de azúcares y/o grasas deben ser flameados previamente bajo la llama de un mechero hasta que el material comience a carbonarse. Esta operación evita que durante la posterior incineración en la mufla, parte de la muestra se proyecte fuera del crisol por excesivo espumeo, en el caso de los azúcares, o crepitaciones producidas por el alto contenido lipídico.
4. Para productos de incineración dificultosa, como por ejemplo los productos cárnicos, pueden añadirse sustancias que aceleren y faciliten el proceso de incineración, tales como  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{MgAc}$ , mezcla glicerina-etanol, entre otros. En este caso es necesario realizar un ensayo en blanco, incinerando bajo idénticas condiciones la misma cantidad de la sustancia empleada para facilitar la incineración.
5. Todas las manipulaciones de las cenizas finalmente obtenidas deben realizarse lo más rápidamente posible, para evitar que las mismas absorban humedad ambiental (Sánchez García, 2017).

**Determinación de ceniza aplicando norma utilizada en la Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Laboratorio de Bromatología.**

## 1. Objeto

Esta norma establece el método para determinar el contenido de ceniza en diferentes tipos de muestras de origen agropecuario y productos terminados.

## 2. Instrumental

- Balanza analítica, sensible al 0.1 mg.
- Mufla, con regulador de temperatura, ajustada a 600<sup>o</sup> C
- Estufa, con regulador de temperatura.
- Desecador, con silicagel u otro deshidratante.
- Crisoles de porcelana
- Espátula
- Pinza

## 3. Preparación de la muestra

Las muestras para el ensayo deben estar acondicionadas en recipientes herméticos, limpios y secos (vidrio, plástico u otro material inoxidable), completamente llenos para evitar que se formen espacios de aire.

La cantidad de muestra extraída de un lote determinado debe ser y no debe exponerse al aire por mucho tiempo.

Se homogeniza la muestra invirtiendo varias veces el recipiente que la contiene.

## 4. Procedimiento

La determinación debe realizarse por duplicado sobre la misma muestra preparada.

Lavar cuidadosamente y secar el crisol de porcelana en la estufa ajustada a 100° C durante 30 minutos. Dejar enfriar en el desecador y pesar con aproximación al 0.1 mg

Sobre el crisol pesar con aproximación al 0.1 mg, aproximadamente 1 g de muestra.

Colocar el crisol con su contenido cerca de la puerta de la mufla abierta y mantenerlo allí durante unos pocos minutos, para evitar pérdidas por proyección de material que podrían ocurrir si el crisol se introduce directamente en la mufla.

Introducir el crisol en la mufla a 600° ± 2° C hasta obtener cenizas libres de partículas de carbón (esto se obtiene al cabo de 3 horas).

Sacar el crisol con las cenizas, dejar enfriar en el desecador y pesar con aproximación al 0.1 mg.

## 5. Cálculos

$$C = \frac{W_2 - W_1}{W_0} \times 100$$

$W_0$  = Peso de la Muestra (g)

$W_1$  = Peso del crisol vacío.

$W_2$  = Peso del crisol más la muestra calcinada.

(AOAC, 2000)

### 1.2. DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS

Las proteínas son los constituyentes más importantes de la materia viva y uno de los alimentos básicos y esenciales del hombre y del

mundo animal. Las proteínas pueden definirse como macromoléculas complejas de alto peso molecular que por hidrólisis completa rinden aminoácidos o compuestos similares.

Las proteínas son elementos fundamentales para la vida animal y vegetal desarrollando importantísimas y muy variadas funciones biológicas. Forman parte de los tejidos, de las hormonas, de los anticuerpos, de las enzimas y son además componentes principalísimos de la sangre transportando grasas al torrente sanguíneo y oxígeno desde los pulmones hasta los tejidos. Así mismo presentan funciones estructurales formando parte de los tejidos animales como la piel, los músculos, el cabello y el material corneo de las uñas.

El insuficiente consumo de alimentos ricos en proteínas, trae consigo la aparición de enfermedades nutricionales como la desnutrición proteico-energética, la cual incluye una gama de categorías dentro de la que se destacan el Marasmo, el Kwashiorkor y el enanismo nutricional entre otros. Por estas razones, la calidad nutritiva de un alimento está asociada directamente al contenido y calidad de sus proteínas.

Otro elemento esencial a tener en cuenta a la hora de valorar la importancia de la determinación de proteínas en los alimentos es la influencia que éstas tienen en las propiedades físico-químicas y tecnológicas de los alimentos. Así por ejemplo, las propiedades y características de calidad de la harina de trigo están íntimamente relacionadas con su contenido proteico. Como regla general, las harinas con alto contenido en proteínas se corresponden con trigos fuertes que al ser empleados en panificación producen masas de mayor capacidad de absorción de agua y mayor estabilidad en la

fermentación, brindando un producto de corteza más fina, mayor volumen y mayor durabilidad.

Por otra parte, las proteínas se encuentran frecuentemente combinadas física y químicamente con carbohidratos (glicoproteínas) y lípidos (lipoproteínas), los cuales influyen en las propiedades reológicas de los alimentos y materias primas, desempeñando un importante papel en la preparación de emulsiones comestibles. Así por ejemplo, la capacidad emulsificante de las proteínas cárnicas es una propiedad que se aprovecha en la elaboración de embutidos.

Todos estos elementos, avalan el importante papel que desempeñan las proteínas en el procesamiento y almacenamiento de los alimentos, por lo que se hace necesario que el hombre conozca el contenido de proteínas, tanto en la materia prima como los productos alimenticios terminados y durante el almacenamiento.

### **FUNDAMENTOS TEÓRICOS DE LA DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS.**

El nitrógeno es el elemento químico más sobresaliente que se encuentra en las proteínas y a pesar de no todo el nitrógeno de la materia orgánica proviene necesariamente de las proteínas, los métodos de determinación de proteínas totales usados hoy en día se fundamentan en la cuantificación de nitrógeno total.

El método aceptado universalmente como estándar para la determinación de nitrógeno total es el conocido como el método de Kjeldahl-Willfart-Gunninfg.

En 1883, el danés Kjeldahl trabajó en un método para determinar nitrógeno orgánico como parte de sus estudios sobre los cambios en las proteínas de los granos usados en la industria de bebidas. El

método planteado por Kjeldahl considera tres etapas fundamentales, ellos son: Digestión, Destilación y Valoración.

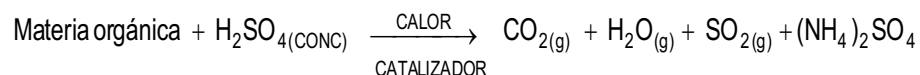
Para la etapa de digestión, Kjeldahl utilizó originalmente una solución de permanganato de potasio con el fin de oxidar toda la materia orgánica, pero los resultados obtenidos no fueron satisfactorios. En 1885, Willfarth observó que realizando la digestión con ácido sulfúrico concentrado y en caliente, se obtienen resultados satisfactorios. Cuatro años más tarde Gunning sugirió la adición de sulfato de potasio para elevar el punto de ebullición de la mezcla y acortar así los tiempos de digestión. De ahí que el método se conozca con el nombre de los tres autores, aunque en la actualidad aparece mayoritariamente reportado como método de Kjeldahl (Marchante & col., Análisis Químico Farmacéutico Métodos clásicos cuantitativos, 2008)

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

### 1. Digestión:

Se emplea ácido sulfúrico concentrado y sulfato de cobre como catalizador, que con ayuda de calor y sulfato de potasio oxidan la materia orgánica hasta  $\text{CO}_2$  y agua y transforman todo el nitrógeno amínico ( $\text{NH}_2$ ) e imínico ( $\text{NH}=\text{NH}$ ) provenientes de proteínas y aminoácidos en ión amonio ( $\text{NH}_4^+$ ).

La reacción general que tiene lugar es la siguiente:



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

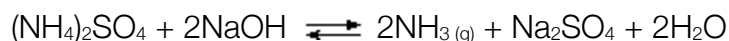


Cuando la digestión termina, la solución queda transparente, libre de partículas carbonosas. En el caso de haber empleado como catalizador el sulfato de cobre, la solución toma un color azul verdoso.

## 2. Destilación:

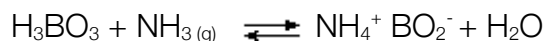
En la muestra digerida se trata con un álcali (NaOH 40% m-V) añadido en exceso, el cual reacciona descomponiendo el sulfato de amonio en amoníaco, que es volátil y se destila por arrastre con vapor.

La reacción que tiene lugar es la siguiente:



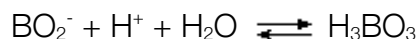
El amoníaco destilado se recoge en un erlemeyer con una mezcla de indicadores (bromocresol verde-rojo de metilo) y solución alcohólica de ácido bórico.

La reacción que ocurre es:



## 3. Valoración:

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



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

El contenido de nitrógeno finalmente calculado se multiplica por un factor característico de cada alimento y se obtiene entonces el contenido de proteínas totales.

Tabla 2. Factores de conversión para obtener la tasa de proteína  
bruta a partir del Nitrógeno total

| Alimento                  | Factor de<br>conversión de N a<br>proteínas |
|---------------------------|---------------------------------------------|
| Harina de Trigo           | 5.70                                        |
| Trigo, centeno,<br>cebada | 5.83                                        |
| Cacahuetes                | 5.46                                        |
| Productos cárnicos        | 6.25                                        |
| Huevos                    | 6.68                                        |
| Clara de huevo            | 6.70                                        |
| Yema de huevo             | 6.62                                        |
| Productos lácteos         | 6.38                                        |
| Soya                      | 5.71                                        |
| Cereales                  | 5.95                                        |
| gelatina                  | 5.55                                        |
| vegetales                 | 6.25                                        |

Fuente: (García Martínez, 2017)

Los factores de conversión para cada tipo de alimento han sido estimados a través de la determinación de nitrógeno total a una proteína patrón característica de cada alimento.

Así por ejemplo se ha determinado que las proteínas cárnicas poseen un 16% de nitrógeno. Quiere decir que 100 g de proteínas cárnicas contiene 16 g de nitrógeno. Entonces:

$$\text{Factor de conversión} = \frac{100}{16} = 6.25$$

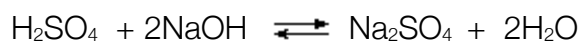
De aquí que el factor de conversión de nitrógeno en los productos cárnicos es 6.25

Los fundamentos anteriormente descritos se corresponden con el método Kjeldahl de determinación de nitrógeno en el cual se emplea un procedimiento de valoración directa por cuanto la solución valorante de ácido clorhídrico reacciona directamente con el borato de amonio formado de la reacción del amoniaco destilado con el ácido bórico.

Existe sin embargo una técnica de valoración por retroceso en la que las etapas de digestión y destilación son prácticamente idénticas, pero el amoniaco destilado se recoge en un exceso de ácido sulfúrico, según la reacción siguiente:



Posteriormente se valora exceso de ácido que no reaccionó con el amoniaco con solución estandarizada de hidróxido de sodio teniendo lugar la siguiente reacción:

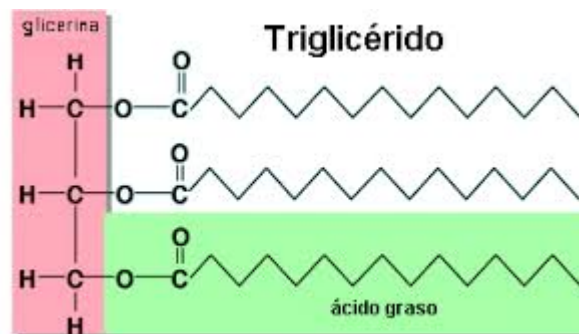
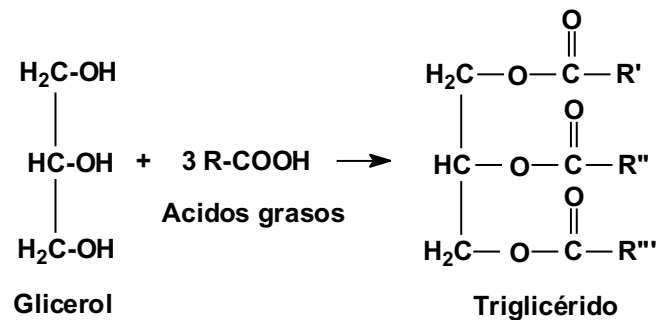


Obviamente la diferencia entre ambas metodologías radica en el reactivo de recogida del amoniaco destilado y en el patrón valorante empleado en la etapa de valoración (AOAC, 2000).

### **DETERMINACIÓN DE GRASAS**

Los aceites y grasas (llamados lípidos genéricamente), son sustancias de origen vegetal o animal compuestas mayoritariamente (97-98%) de triglicéridos, los cuales son estructuras constituidas por la esterificación de tres ácidos grasos superiores de la cadena

alifática a un alcohol poliatómico de tres átomos de carbono llamado glicerol o glicerina.



En menor cuantía forman parte de los lípidos, estructuras más complejas que además de contener ácidos grasos poseen nitrógeno y fósforo, y otros en los cuales los ácidos grasos se encuentran en formas de amidas. Así mismo integran el grupo de los lípidos otras moléculas que no poseen ácidos grasos en su estructura y constituyen la materia insaponificable de las grasas.

Todos los lípidos tienen la propiedad común de ser solubles en solventes orgánicos (metanol, etanol, acetona, cloroformo, éter, benceno, etc.) e insolubles en agua.

El término grasa se utiliza para referirse a lípidos de consistencia sólida o semisólida a temperatura ambiente, en tanto se denomina aceite aquellos que son líquidos a la misma temperatura.

El tejido adiposo de los animales está formado principalmente por lípidos, la leche y sus derivados y las semillas de muchas plantas

contienen también gran cantidad de estos. Las frutas y los vegetales no son generalmente fuentes de lípidos aunque algunos como el aguacate y la aceituna madura los contienen en proporción de alrededor de un 20%.

En la alimentación los lípidos desempeñan fundamentalmente la función de suministrar energía al organismo. Las grasas y los aceites proporcionan 2,3 veces más kilocalorías que los carbohidratos y las proteínas (9,2 Kcal/g de lípidos, por solo 4 Kcal/g de proteínas y 4 Kcal/g de carbohidratos). El organismo acumula energía principalmente, almacenando los excesos de grasas que consume.

En los alimentos, los lípidos juegan un importante papel, puesto que inciden de forma directa en las características organolépticas de los productos en los cuales están presentes, sobre todo en el sabor y la textura. Así mismo, el contenido lipídico en los alimentos determina muchas veces su estabilidad, dado que estos nutrientes son sensibles a sufrir procesos de oxidación (conocidos como enranciamiento) cuyos productos finales de reacción (aldehídos y cetonas) comunican a los alimentos olores y sabores desagradables.

Los métodos de determinación de grasa se fundamentan en la separación de la fracción lipídica del resto de los componentes de la matriz y la posterior medida de la fracción separada. En general, pueden clasificarse en dos grandes grupos: métodos de extracción con solventes orgánicos y métodos butirométricos (Zumbado, Análisis Químico de los Alimentos; Método Clásico, 2004).

### **MÉTODOS DE EXTRACCIÓN CON SOLVENTES ORGÁNICOS**

Estos métodos se fundamentan en una extracción sólido-líquido basado en las diferencias de solubilidad de los componentes de la

muestra sólida o semisólida (matriz) en un solvente particular dado. Aprovechando la naturaleza apolar de los lípidos se lleva a cabo la extracción con un solvente orgánico que solubiliza grasas dejando un residuo sólido con los componentes menos solubles, aunque nunca la separación es total ya que no existe un límite exacto entre las solubilidades. Debe señalarse que la fracción extraída no solo está compuesta por ácidos grasos y glicéridos, sino que también se extraen los esteroides, fosfolípidos, vitaminas liposolubles, y otros compuestos que son también solubles en solventes apolares.

Los solventes empleados en la extracción de grasas, deben reunir un conjunto de requisitos, tales como:

1. Alta capacidad de solubilizar las grasas.
2. Bajo punto de ebullición
3. No debe dejar residuos al evaporarse
4. No debe ser inflamable
5. No debe ser tóxico en estado líquido o de vapor
6. Debe penetrar completamente en la muestra

Es difícil encontrar un solvente que reúna todas las condiciones arriba relacionadas. En la práctica, los solventes más empleados son el éter etílico y el éter de petróleo, aunque no se descarta la utilización de hexano y cloroformo, entre otros.

En los métodos de determinación de grasas basados en la extracción con solventes orgánicos, deben observarse algunos cuidados para la preparación de la muestra, en función de las características de la matriz analizada.

1. Los sólidos deben estar divididos y homogenizados para permitir que el solvente tenga una mayor área de contacto con la muestra.

2. Para productos con un contenido de humedad superior al 15-20%, debe realizarse un previo secado de la muestra para facilitar la penetración del solvente en los tejidos, puesto que se conoce que si el material está húmedo, el solvente penetra más lentamente y la extracción es menos eficiente. Por otra parte, si el producto posee altos contenidos de humedad, el agua puede acumularse gradualmente en la solución extractora haciendo difícil su posterior eliminación dada la necesidad de aplicar mayores temperaturas, pudiéndose introducir errores en los resultados.

3. Los productos que contienen cantidades apreciables de almidones y proteínas requieren de una previa digestión ácida si se desea cuantificar la grasa total. Esto se explica por el hecho de que en muchos alimentos, particularmente los productos cárnicos y otros con altos contenidos en almidón, Parte de la grasa se encuentra atrapada y comprometida en estructuras proteicas y almidonosas que impiden su total extracción con solventes orgánicos; de ahí que en estos casos sea necesario realizar una hidrólisis ácida previo a la extracción, con el objetivo de liberar las fracciones lipídicas comprometidas y difícilmente extraíbles.

Cuando en un producto alimenticio con estas características se realiza la extracción con solventes orgánicos sin realizar un previo tratamiento ácido a la muestra se cuantifica solo la llamada grasa libre.

Los métodos de extracción con solventes orgánicos más empleados para la determinación de grasas en los alimentos son el método de extracción intermitente (método de Soxhlet) y el método de Rose Gottlieb (Zumbado, Análisis Químico de los Alimentos; Método Clásico, 2004).

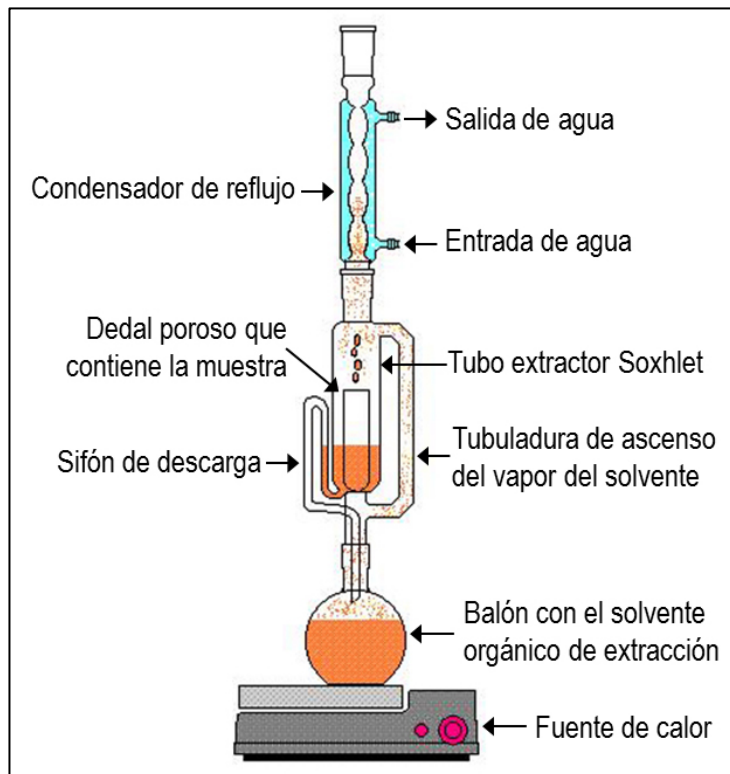
## **MÉTODO DE EXTRACCIÓN INTERMITENTE (MÉTODO SOXHLET)**

En este procedimiento se emplea un equipo diseñado de modo que una porción fresca del solvente esté en contacto con la muestra por un tiempo relativamente largo. Uno de los aparatos más usualmente empleados para realizar esta determinación es el llamado equipo Soxhlet (figura 1), el cual consta de un tubo extractor provisto de un sifón y una tubuladura lateral. Dicho extractor está conectado por su extremo inferior, a través de uniones esmeriladas a un balón en el cual se coloca el solvente (generalmente éter de petróleo o éter etílico); mientras que en el extremo superior se ajusta un condensador vertical que actúa como refrigerante. En el tubo extractor se coloca un dedal poroso que contiene la muestra y permite la entrada del éter al tiempo que un tapón de algodón impide la salida del sólido. El equipo se coloca en una fuente de calor a la temperatura de ebullición del solvente, el cual se evapora, asciende por la tubuladura lateral del extractor, se condensa en el refrigerante y cae sobre la muestra acumulándose en el tubo extractor y atravesando las paredes porosas del dedal para hacer contacto con la muestra y solubilizar las grasas presentes. Cuando el nivel del solvente en el tubo extractor sobrepasa el nivel del sifón, el extractor se descarga y pasa al balón el éter conteniendo la grasa extraída, para a partir de ese instante, dar comienzo nuevamente el ciclo de evaporación del solvente, condensación, caída sobre la muestra, acumulación en el aparato de extracción y descarga. Una vez que el equipo ha estado funcionando el tiempo especificado para cada tipo de alimento (nunca menor de 2 horas), el solvente se elimina del balón por evaporación, quedando entonces en este último el residuo lipídico extraído, el cual se determina por diferencia



de pesada entre la masa del balón que contiene el residuo y la masa del balón vacío, previamente tarado.

Figura 1. Esquema del equipo de extracción Soxhlet



Fuente: (Vásquez, 2017) Extracciones con Equipo Soxhlet.

Los resultados se expresan en porciento según:

$$\% \text{ Grasa} = \frac{m(\text{grasa})}{m(\text{muestra})} \times 100$$

$$\% \text{ Grasa} = \frac{m(\text{balón} + \text{grasa}) - m(\text{balón vacío})}{m(\text{muestra})} \times 100$$

El método Soxhlet se emplea para determinación de grasa en productos sólidos, tales como cárnicos, cereales, frutas, vegetales, otros de naturaleza similar (AOAC, 2000).

### **MÉTODO DE EXTRACCIÓN DE ROSE-GOTTLIEB.**

Este método se basa en la extracción de la grasa a partir de una solución alcohólico amoniacal con éter etílico y éter de petróleo, seguido de una evaporación del solvente y posterior pesada del residuo lipídico.

En este procedimiento la muestra se coloca en un matraz de extracción provisto de un tapón de vidrio esmerilado, al cual se añade una mezcla alcohólico amoniacal y luego una cierta cantidad de éter etílico. Se cierra el extractor y se agita la mezcla durante un minuto para acelerar el proceso de solubilización de las grasas en el éter. Posteriormente el matraz se deja en reposo al menos por 2 horas o se centrifuga durante 5 minutos a 500-600 rpm hasta que la capa de éter etílico esté totalmente límpida y separada de la fase acuosa. Luego se trasvasa la fase etérea, por decantación a un erlenmeyer o matraz de fondo plano y se realiza una segunda extracción sobre la fase acuosa añadiendo éter de petróleo y siguiendo el procedimiento arriba indicado. La capa etérea se trasvasa al mismo erlenmeyer de la primera extracción y el solvente se elimina por destilación y posterior secado en estufa. Finalmente el erlenmeyer conteniendo la grasa se pesa en balanza analítica y los resultados se expresan en porciento según:

$$\% \text{ Grasa} = \frac{m(\text{grasa})}{m(\text{muestra})} \times 100$$

$$\% \text{ Grasa} = \frac{m(\text{erlenmeyer} + \text{grasa}) - m(\text{erlenmeyer vacío})}{m(\text{muestra})} \times 100$$

El método de extracción de Rose-Gottlieb se emplea para muestras líquidas y encuentra su mayor aplicación en la determinación de

grasas en leches naturales, pasteurizadas, esterilizadas, evaporadas, condensadas, concentradas y leche en polvo.

Los solventes utilizados y el número de extracción que se realiza pueden variar en función del tipo de producto. Así mismo en casi todos los casos suele realizarse un ensayo en blanco, cuya magnitud debe restarse al peso del residuo lipídico obtenido durante la extracción en la muestra.

Las diferencias fundamentales entre este procedimiento y la extracción con el equipo Soxhlet radican en que aquí no se recircula el solvente de extracción y el tiempo de análisis se reduce considerablemente.

Los procedimientos de determinación de grasas basados en la extracción con solventes orgánicos son típicos métodos gravimétricos de amplia aplicación en el análisis de los alimentos, sin embargo no son los únicos. Existen también los llamados métodos butirométricos que si bien no incluyen la medición final de la masa de la fracción lipídica, presentan una gran aplicación para la cualificación de grasa total en productos cárnicos y lácteos fundamentalmente (Sánchez García, 2017). Es por esta razón que, a pesar de no constituir un método gravimétrico de análisis, creemos necesario dedicar un espacio de este capítulo a reseñar las características generales de los métodos butirométricos.

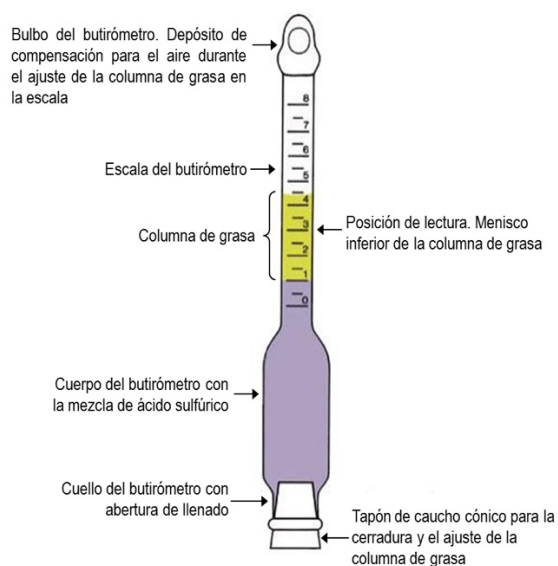
### **MÉTODOS BUTIROMÉTRICOS.**

Los métodos butirométricos se fundamentan en la liberación de la grasa presente en la muestra por adición de ácido sulfúrico que hidroliza las sustancias proteicas. La fracción lipídica así liberada se separa por centrifugación y se mide directamente la altura de la

columna de grasa separada en la escala graduada de un instrumento.

El instrumento empleado para realizar el análisis recibe el nombre de butirómetro (figura 2). Existen varios tipos de butirómetros pero uno de los más empleados en la actualidad es el ideado por Gerber y consiste en un frasco de vidrio formado por un vástago graduado cerrado permanentemente en la parte superior y que en el extremo inferior se ensancha en forma de bulbo, el cual lleva una abertura en su extremo que sirve para llenar el instrumento, siendo cerrada por un tapón de goma mientras se realiza el ensayo.

Figura 2. Representación esquemática de un butirómetro Gerber



El procedimiento de determinación consiste en añadir al butirómetro, que contiene la muestra previamente medida, ácido sulfúrico concentrado y alcohol isoamílico. El butirómetro se cierra con un tapón de goma y se agita vigorosamente hasta la total disolución de la fase proteica. Se calienta entonces la mezcla en baño de agua (60-70°C) durante 15-20 minutos y se centrifuga por espacio de 3-5 minutos a 800-1000 rpm para separar la fase

lipídica. Finalmente se coloca de nuevo el instrumento en baño de agua (60-70°C) durante 5 minutos y se lee directamente el porcentaje de grasa en la escala del butirómetro (Carreño, 2015).

En el capítulo 2 de este texto se pueden encontrar varias técnicas de determinación de grasas que aplican los principios expuestos en este apartado.

Determinación de grasa utilizando norma aplicada en la Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Laboratorio de Bromatología.

### **Objeto**

Esta norma establece el método para determinar el contenido de grasa o extracto etéreo en diferentes tipos de muestras de origen agropecuario y productos terminados.

#### **1. Instrumental**

- Vasos Beacker para grasa
- Aparato Golfish
- Dedales de Extracción
- Portadedales
- Vasos para recuperación del solvente
- Balanza analítica
- Estufa (105°C)
- Desecador
- Espátula
- Pinza Universal
- Algodón Liofilizado e Hidrolizados

#### **2. Reactivos**

- Éter de Petróleo

### 3. Preparación de la muestra

Las muestras para el ensayo deben estar acondicionadas en recipientes herméticos, limpios secos (vidrio, plástico u otro material inoxidable), completamente llenos para evitar que se formen espacios de aire.

La cantidad de la muestra extraída dentro de un lote debe ser representativa y no debe exponerse al aire mucho tiempo.

Se homogeniza la muestra invirtiendo varias veces el recipiente que lo contiene.

### 4. Procedimiento:

La determinación debe realizarse por duplicado sobre la misma muestra preparada.

Secar los vasos beakers en la estufa a  $100^{\circ} \pm C$ , por el tiempo de una hora. Transferir al desecador y pesar con aproximación al 0,1 mg, cuando haya alcanzado la temperatura ambiente.

Pesar aproximadamente 1 gr. de muestra sobre un papel filtro y colocarlos en el interior del dedal, taponar con suficiente algodón hidrófilo, luego introducirlo en el portadedal.

Colocar el dedal y su contenido en el vaso beaker, llevar a los ganchos metálicos del aparato de golfish.

Adicionar en el vaso beaker 40 ml. de solvente, al mismo tiempo abrir el reflujo de agua.

Colocar el anillo en el vaso y llevar a la hornilla del aparato golfish, ajustar al tubo refrigerante del extractor. Levantar las hornillas y graduar la temperatura a 5.5 ( $55^{\circ} C$ )

Cuando existe sobre presión abrir las válvulas de seguridad 2 o 3 veces.

El tiempo óptimo para la extracción de grasa es de 4 horas, mientras tanto se observa que éter no se evapore caso contrario se colocará más solvente.

Terminada la extracción, bajar con cuidado los calentadores, retirar momentáneamente el vaso con el anillo, sacar el portadedal con el dedal y colocar el vaso recuperar del solvente.

Levantar los calentadores, dejar hervir hasta que el solvente este casi todo en el vaso de recuperación, no quemar la muestra.

Bajar los calentadores, retirar los beaker, con el residuo de la grasa, el solvente transferir al frasco original.

El vaso con la grasa llevar a la estufa a 105° C hasta completa evaporación del solvente por 30 minutos.

Colocar los vasos beaker que contiene la grasa, durante 30 min, en la estufa calentada a  $100 \pm 5^{\circ}\text{C}$ , enfriar hasta temperatura ambiente en desecador, Pesar y registrar.

Calcular el extracto etéreo por diferencia de pesos.

$$G = \frac{W_2 - W_1}{W_0} \times 100$$

G = Porcentaje de grasa

$W_0$  = Peso de la muestra

$W_1$  = Peso del vaso beaker vacío

$W_2$  = Peso del vaso más la grasa

(AOAC, 2000).

## DETERMINACIÓN DE CARBOHIDRATOS

Los carbohidratos, también llamados hidratos de carbono, constituyen más del 90% de la materia seca de los vegetales. Son por tanto abundantes, de fácil disponibilidad y baratos. Son un componente común en los alimentos, bien como componentes naturales o bien como ingredientes añadidos. Su uso está muy extendido, tanto por las cantidades que se consumen como por la variedad de productos en los que se encuentran. Poseen muchas estructuras moleculares diferentes, tamaños y formas, y exhiben una gran variedad de propiedades físicas y químicas. Por otra parte, son susceptibles de modificación química y bioquímica, y ambos tipos de modificaciones se utilizan comercialmente para mejorar sus propiedades y para ampliar su uso. Por último, son inocuos (no tóxicos).

El almidón, la lactosa y la sacarosa son digestibles por los humanos, y todos ellos, junto con la D-glucosa y la D-fructosa, son fuentes de energía para ellos, proveyendo el 70-80% de las calorías de la dieta como promedio en el mundo. Las organizaciones de la salud recomiendan que el porcentaje de las calorías totales que el americano medio consume en forma de grasa (alrededor del 37%) sea reducido a no más del 30% y que la diferencia sea aportada por los carbohidratos, de manera especial por el almidón.

El término carbohidrato sugiere una composición elemental genérica, concretamente  $C_x(H_2O)_y$ , que coincide con moléculas que contienen átomos de carbono con otros de hidrógeno y oxígeno en la misma proporción que el agua. Sin embargo, la gran mayoría de los carbohidratos naturales producidos por los organismos vivos no poseen esta simple fórmula empírica. De hecho, la mayoría de los carbohidratos naturales se encuentran en forma de oligómeros



(oligosacáridos) o polímeros (polisacáridos) de azúcares sencillos o modificados. Los carbohidratos de peso molecular más bajo se obtienen con frecuencia por despolimerización de los polímeros naturales.

La importancia de los carbohidratos en el organismo humano se deriva de un conjunto de funciones que los mismos cumplen. Entre las más importantes pueden citarse:

- Actúan como fuente energética, ya que constituyen el combustible fundamental de todas las células.
- Son reserva energética; como glucógeno en los animales y almidón en las plantas. Ambos contienen gran cantidad de glucosa para mantener el nivel de glucosa en sangre.
- Son protectoras o constructoras al formar parte de los glicolípidos y glicoproteínas que forman parte de las membranas celulares.
- Constituyen precursores debido a que participan en el proceso de síntesis que son importantes en el organismo. Ejemplo: síntesis de glicerol, ácidos nucleicos (ARN y ADN) y lípidos.
- La mayoría de los compuestos orgánicos de los seres vivos son derivados de ellos. La glucosa sintetizada en las plantas por la fotosíntesis es la materia prima fundamental para la síntesis de la gran mayoría de los carbohidratos mediante diferentes rutas bioquímicas. La glucosa da origen a la sacarosa y la fructosa, al almidón y la celulosa, entre otros.

Referente a sus funciones en los alimentos, los carbohidratos determinan la calidad sensorial de los alimentos naturales y procesados. Su estructura química define su funcionalidad y las características que inciden de diferente forma en los alimentos,

fundamentalmente en su sabor, color, viscosidad y textura, debido a su presencia o productos de reacciones donde intervienen. Por sus propiedades funcionales se emplean como aditivos entre los que se destacan espesantes, gelificantes, estabilizantes, humectantes, etc.

Para la determinación de los carbohidratos asimilables totales no existe un método analítico particular. Desde el Análisis Proximal su contenido se estima con el parámetro Extracto Libre de Nitrógeno (ELN) y se calcula por la diferencia del 100 % y la suma de los restantes macronutrientes, según:

$$\text{ELN} = 100 \% - (\% \text{ Humedad} + \% \text{ Cenizas} + \% \text{ Proteínas} + \% \text{ Grasas} + \% \text{ Fibra dietética})$$

Sin embargo si existen métodos de determinación de carbohidratos particulares como: azúcares totales, azúcares reductores, almidón, etc.

Así mismo, para la determinación de los polisacáridos no asimilables que componen la fibra dietética también existen métodos de determinación que abordaremos en el siguiente epígrafe (Norma & NC 77-22-17, Determinación de fibra. Conserva de frutas y vegetales. Métodos de ensayo, 1982).

### **DETERMINACIÓN DE FIBRA DIETÉTICA**

En la actualidad se acepta que la fibra dietética (FD) es el total de polisacáridos de las plantas junto con la lignina, que son resistentes a la digestión por las enzimas del tracto gastrointestinal humano. La denominación de la fibra es genérica y abarca una serie de sustancias químicamente definidas, con propiedades físico-químicas peculiares y efectos fisiológicos individuales.

Todos los componentes mayoritarios de la fibra (excepto la lignina) son carbohidratos complejos que pueden ser atacados por las enzimas de la microflora intestinal. De este proceso fermentativo bacteriano llevado a cabo en el colon por microorganismos anaeróbicos, surgen ácidos grasos volátiles de cadena corta (acético, propiónico y butírico) y ciertos gases (hidrógeno, CO<sub>2</sub> y CH<sub>4</sub>) que influyen en las funciones digestivas y pueden estar implicados en ciertas enfermedades, así como también encuentran ciertas aplicaciones terapéuticas.

La alimentación humana occidental ofrece como característica destacada la disminución del contenido de fibra vegetal. El déficit de fibra podría ser el origen común de las llamadas “enfermedades de la civilización”. Básicamente podrían interpretarse a través de un estreñimiento crónico, bien por el aumento de la presión intraluminal, enfermedad diverticular del colon, apendicitis, cáncer de colon o intra abdominal, hernia de hiatus, hemorroides y várices. Otras enfermedades metabólicas podrían explicarse a través de la hipernutrición (colectiasis, diabetes mellitus, aterosclerosis y obesidad).

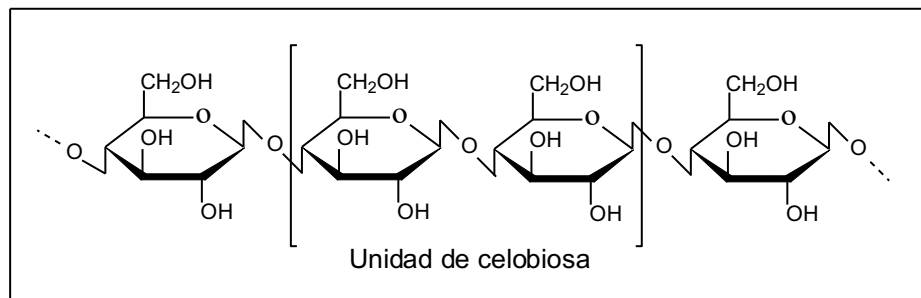
Por otra parte, existen también algunas consecuencias indeseables del consumo de dietas que incluyen elevadas dosis de FD. Se asocian con molestias abdominales, flatulencia (gases) y mayor frecuencia en la defecación. Estos problemas se presentan sobre todo cuando se inicia una dieta con elevado contenido de FD y pueden reducirse si se aumenta la ingestión de manera gradual. En la mayoría de los casos el problema de flatulencia desaparece después de pocas semanas, cuando la población de bacterias intestinales se adapta al "nuevo menú". De cualquier forma, existe

una amplia variabilidad individual en relación con la cantidad de fibra que se puede tolerar sin molestias (Prosky & y , 1988).

La Fibra Dietética está formada por un total de siete componentes mayoritarios:

1. **Celulosa:** Es el principal constituyente de la pared celular en los vegetales, donde constituye el principal elemento de sostén de esta. Representa es 10% del peso seco de las hojas, cerca del 50% se encuentra en el tallo y alrededor del 90% en la fibra del algodón. Es un polvo blanco, sólido, insípido, insoluble en agua y alcohol pero si es soluble en ácidos fuertes. No es reductora ni da reacciones características con el yodo. No es atacada por los fermentos, por lo cual no puede ser digerida. Los rumiantes poseen en su aparato digestivo microorganismos que les permite digerir la celulosa. Puede sufrir hidrólisis ácidas que puede ser parcial o total y esta hidrólisis requiere de altas temperaturas y altas concentraciones de ácido. La celulosa se considera una glucana formada por monómero de glucosa unida por un enlace beta 1-4; es decir, la molécula de celulosa consta de una larga cadena de unidades de celobiosa (figura 3).

Figura 3. Fracción de la molécula de celulosa (Ecured, 2016).



2. **Hemicelulosa:** No está estructuralmente relacionada con la celulosa sino que son polímeros de las pentosas sobre todo D Xilanos, los cuales son polímeros de la D Xilosa con enlaces  $\beta$  (1- 4) y poseen cadenas laterales de arabinosa y otros azúcares (ácido glucurónico y galactosa) lo que le confiere distintas propiedades químicas.

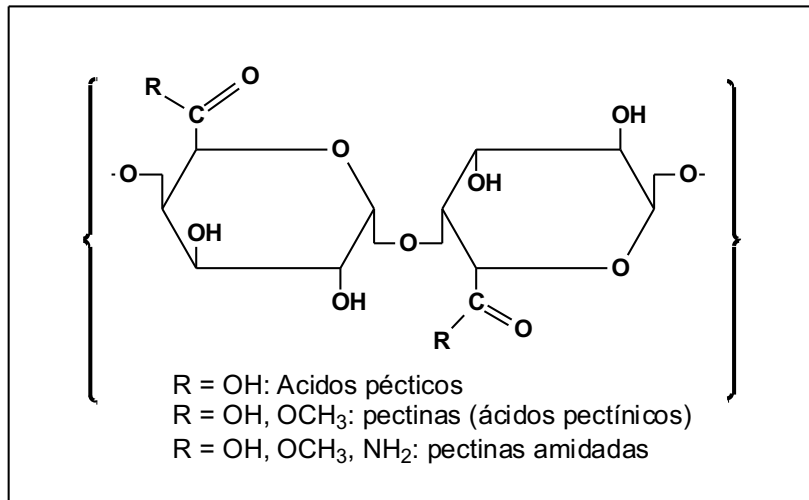
3. **Pectinas:** La pectina es un coloide natural siempre presente en el mundo vegetal ya que forma parte de las paredes celulares donde está ligada, entre otras sustancias, a la celulosa y donde constituye a la vez el tejido nutriente y el cemento que confiere textura a las células vegetales.

La molécula de pectina puede esquematizarse en forma de una macromolécula lineal de ácido polianhidrogalacturónico parcialmente metilado (figura 4). Los eslabones están formados por unidades de ácido  $\alpha$  D-galacturónico, ligados por enlaces 1-4, interrumpidos por enlaces con la  $\beta$  L-ramnosa. Algunas veces pueden ligarse a las funciones hidroxílicas de los carbonos 2 y 3 de la estructura principal, azúcares neutros poliméricos (arabanos, galactanos, xilanos) o bien grupos acetilos.

La pectina está presente en mayor o menor grado en todas las frutas, en algunas raíces (remolachas, zanahorias, etc.), en los

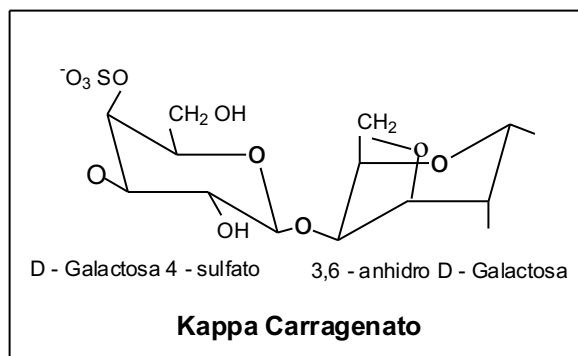
tubérculos (patatas), en las pipas de girasol entre otras (Chasquibol Silva, 2008).

Figura 4. Estructura parcial de la molécula de pectina



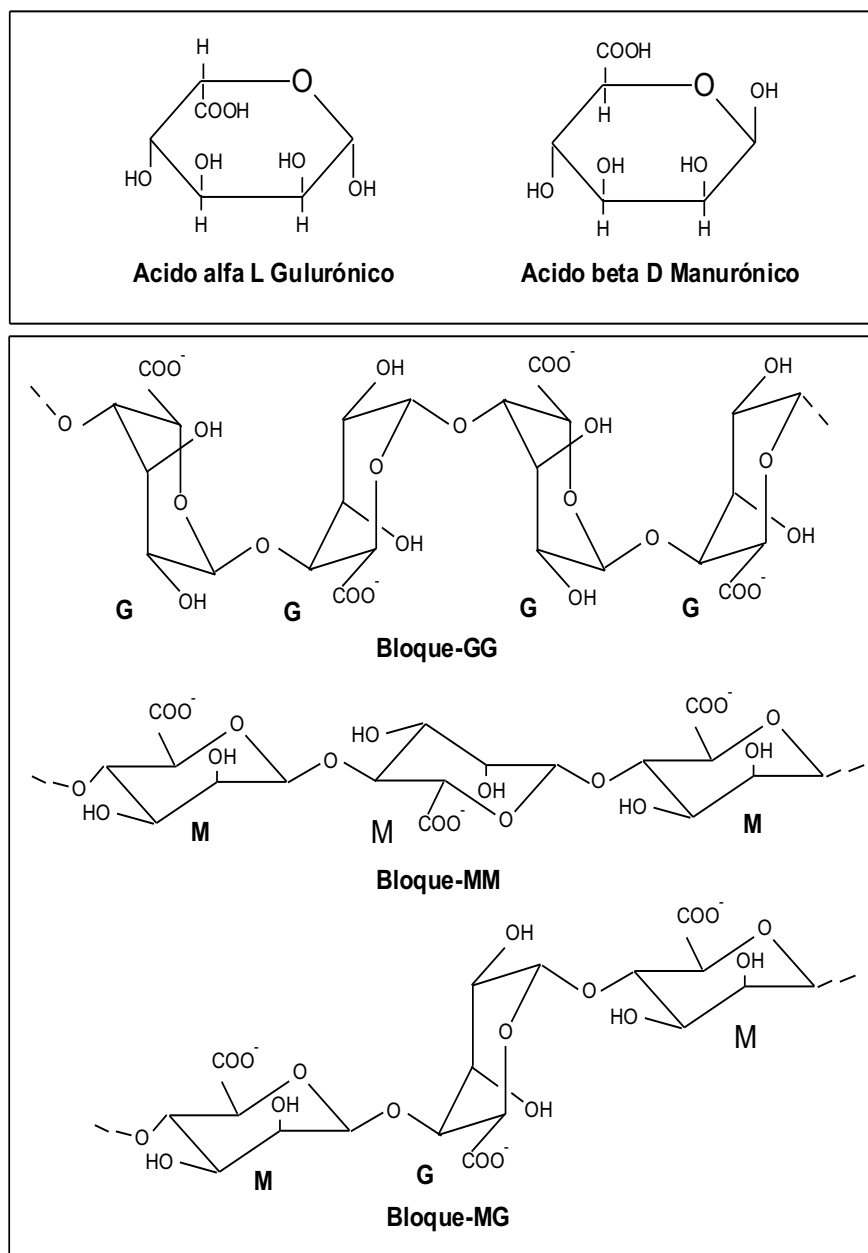
4. **Carragenatos:** Es un polímero complejo extraído de las algas rojas. Son galactanos compuestos principalmente de D-galactopiranososa y algo de 3,6-anhidro-D-galactosa, ácido cetoglucónico y unidades de azúcar no reductor, cada monómero es un éster de ácido sulfúrico (Peso, Frontela, y otros, 2012). (Figura 5), (Porto, 2017). Las unidades de galactosa están unidas en las posiciones 1 y 3 y el átomo de carbono 4 es el que está sulfatado. La carragenina es un polímero cargado negativamente que reacciona con las proteínas cargadas positivamente y produce un incremento rápido de la viscosidad, tiene propiedades gelificantes y estabiliza suspensiones y emulsiones (Martínez M. J., 2010).

Figura 5. Estructura del kappa carragenato



5. **Alginatos:** Los alginatos son polisacáridos coloidales hidrófilos, que se obtienen de algas de la clase Phaeophyceae, comúnmente conocidas como algas pardas; ya que forman parte de su pared celular. Desde el punto de vista estructural (figura 6), el ácido alginico está constituido por unidades de ácido  $\beta$ -D-manurónico y  $\alpha$ -L-gulurónico, unidos por enlaces glicosídicos  $\beta$  1-4 y arreglados en tres tipos de segmentos: el bloque del homopolímero del ácido  $\beta$ -D-manurónico (M-M), el del ácido  $\alpha$ -L-gulurónico (G-G) y una tercera fracción contentiva de ambos monómeros en una distribución al azar (GM-MG). Los alginatos, como otros polisacáridos naturales, son inestables al calor, al oxígeno y a la presencia de iones metálicos (Avendaño y otros, 2013).

Figura 6. Estructura del ácido algínico (Rangel, 2016).



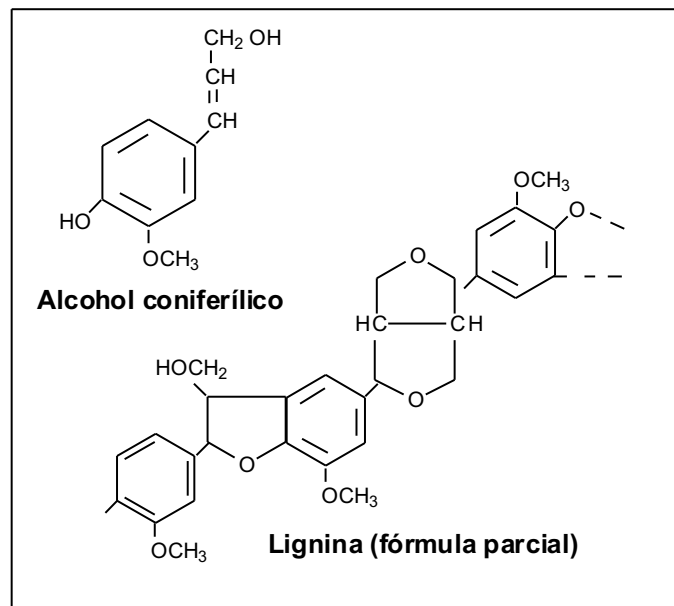
6. **Lignina:** Desde el punto de vista estructural, la lignina es una sustancia altamente polimerizada. Se origina a partir del alcohol coniferílico, aislado de la madera en forma de glicósido: la coniferina. Por deshidrogenación y polimerización, el alcohol coniferílico forma un producto de estructura reticular del que se representa una sección de su molécula con los tipos de unión



característicos (figura 7). La Lignina ocupa el primer lugar entre las sustancias vegetales aromáticas. Su peso molecular asciende a 10000.

La lignina es una sustancia cementante intracelular propia de los vegetales de estructura y naturaleza amorfa y compleja. Contiene componentes fenólicos, polisacáridos, ácidos urónicos y proteínas. Representa la parte hidrofóbica de la fibra dietética. El contenido medio de lignina en cereales, hortalizas crudas y frutas es de 7, 3 y 17% respectivamente siendo su contenido especialmente alto en frutas y semillas comestibles y vegetales maduros (Zumbado, Análisis Químico de los Alimentos; Método Clásico, 2004).

Figura 7. Estructura parcial de la molécula de lignina (Zumbado, Análisis Químico de los Alimentos; Método Clásico, 2004).



7. **Gomas:** Son moléculas de alto peso molecular constituidas por polímeros hidrofílicos de unidades monosacáridas y derivados, unidos por enlaces glucosídicos formando largas cadenas, pudiendo estar constituidas por un solo tipo de monosacáridos o

por monosacáridos distintos. Las gomas naturales se encuentran asociadas a las paredes celulares de las plantas y microorganismos y a los exudados de las plantas. En los alimentos aparecen como constituyentes naturales o bien como aditivos, ya que su utilización alimentaria está ampliamente extendida al utilizarse como estabilizantes y gelificantes (Martínez, 2017).

Hoy en día, algunos autores incluyen dentro de los componentes de la fibra dietética a los compuestos polifenólicos y al ácido fítico. Sin embargo, si bien es cierto que estas sustancias forman parte del complejo no digerible por las enzimas del tracto gastrointestinal humano, ninguna de ellas es de naturaleza polisacárida y los métodos de determinación de fibra dietética que se emplean en la actualidad no cuantifican estos dos compuestos. Es por ello que en este texto nos ajustamos a la definición tradicional y no incluimos los compuestos polifenólicos y el ácido fítico en la definición de fibra dietética.

En todos los alimentos la fibra dietética (FD) constituye una mezcla de fibras con distinta solubilidad, y como consecuencia existe una necesidad por parte de los investigadores de definir los componentes de la fibra y determinar sus efectos fisiológicos, con el fin de poder llevar a cabo una prevención y tratamiento de determinadas enfermedades. La FD se clasifica según su solubilidad en agua en fibra dietética soluble y fibra dietética insoluble y se

caracterizan ambas fracciones por poseer efectos fisiológicos totalmente distintos.

La fibra dietética soluble (FDS) incluye pectinas, gomas, mucílagos y ciertos tipos de hemicelulosas solubles y polisacáridos de reserva de la planta. La fracción de FDS es variable, existiendo altas proporciones en algunas fuentes de fibra como las frutas, los vegetales de hojas u hortalizas y las legumbres. La FDS se caracteriza porque gran parte de ella sufre un proceso bacteriano de fermentación en el colon con producción de  $H_2(g)$ ,  $CH_4(g)$ ,  $CO_2(g)$ , y ácidos grasos de cadena corta que son absorbidos y metabolizados, teniendo una relación estrecha con los procesos metabólicos del sistema digestivo, y cuyos efectos fisiológicos se asocian generalmente con la disminución de colesterol en sangre, con el control de la glucosa en sangre, y de la diabetes.

La fibra dietética insoluble (FDI) incluye la celulosa, la lignina y algunas fracciones de hemicelulosa. Predomina en las hortalizas, verduras, leguminosas frescas y en los granos de cereales, por ejemplo, algunas fibras como las del trigo, el maíz, y las vainas de algunas semillas son mayoritariamente insolubles. La fracción insoluble apenas sufre procesos fermentativos y tiene un efecto más marcado en la regulación intestinal, con reducción del tiempo de tránsito de los alimentos y aumento de la excreción (Prosky & y , 1988).

Tabla 3. Contenido de fibra dietética soluble, insoluble y total en algunos alimentos.

| LEGUMBRES             | Valores por 100g de alimento |         |       |
|-----------------------|------------------------------|---------|-------|
|                       | Fibra Dietética              |         |       |
|                       | Insoluble                    | Soluble | Total |
| Lechuga americana     | 1.0                          | 0.7     | 1.7   |
| Lechuga romana        | 1.3                          | 1.1     | 2.4   |
| Pimentón verde        | 1.5                          | 0.5     | 2.0   |
| <u>Pepino</u>         |                              |         |       |
| Con piel              | 0.7                          | 0.3     | 1.0   |
| Sin piel              | 0.5                          | 0.3     | 0.8   |
| <u>ZANAHORIA</u>      |                              |         |       |
| Cruda                 | 1.3                          | 0.6     | 1.9   |
| Cocida                | 0.8                          | 0.1     | 0.8   |
| LEGUMINOSAS           | Valores por 100g de alimento |         |       |
|                       | Fibra Dietética              |         |       |
|                       | Insoluble                    | Soluble | Total |
| Frijoles blancos      | -----                        | -----   | 23.1  |
| Garbanzos             | 12.1                         | 0.1     | 12.2  |
| <u>Frutas</u>         |                              |         |       |
| Manga                 | 1.3                          | 0.7     | 2.0   |
| Mango de Hilacha      | 1.2                          | 0.6     | 1.8   |
| <u>Plátano maduro</u> |                              |         |       |
| Crudo                 | 0.7                          | 0.6     | 1.3   |
| Frito                 | 0.6                          | 0.5     | 7.1   |

| LEGUMBRES            | Valores por 100g de alimento |         |       |
|----------------------|------------------------------|---------|-------|
|                      | Fibra Dietética              |         |       |
|                      | Insoluble                    | Soluble | Total |
| Horneado             | 2.1                          | 0.3     | 2.4   |
| Salcochado           | 1.7                          | 0.5     | 2.2   |
| <u>Plátano verde</u> |                              |         |       |
| Crudo                | 1.9                          | 0.8     | 2.7   |

|                       |   |                               |         |       |
|-----------------------|---|-------------------------------|---------|-------|
| CEREALES<br>DERIVADOS | Y | Valores por 100 g de alimento |         |       |
|                       |   | Fibra Dietética               |         |       |
|                       |   | Insoluble                     | Soluble | Total |
| <u>Arroz</u>          |   |                               |         |       |
| Blanco crudo          |   | 0.8                           | 0.4     | 1.2   |
| Integral              |   | 3.0                           | 0.6     | 3.6   |
| Blanco cocido         |   | 1.7                           | 0.1     | 1.8   |
| <u>Avena</u>          |   |                               |         |       |
| Harina                |   | 3.6                           | 0.6     | 4.2   |
| Hojuelas              |   | 11.4                          | 3.1     | 14.5  |
| Casabe                |   | 3.4                           | 0.7     | 4.1   |
| <u>Galletas</u>       |   |                               |         |       |
| De arroz y ajonjolí   |   | 2.3                           | 0.9     | 3.2   |
| De avena              |   | 4.2                           | 0.2     | 4.4   |
| Integrales dulces     |   | 4.9                           | 1.1     | 6.0   |
| Integrales saladas    |   | 4.6                           | 0.3     | 4.9   |
| Pan integral          |   | 4.9                           | 0.1     | 5.0   |

| LEGUMBRES       | Valores por 100g de alimento |         |       |
|-----------------|------------------------------|---------|-------|
|                 | Fibra Dietética              |         |       |
|                 | Insoluble                    | Soluble | Total |
| Pasta           | 5.4                          | 1.5     | 6.9   |
| Trigo           |                              |         |       |
| Germen tostado  | 8.8                          | 2.8     | 11.6  |
| Harina          | 2.0                          | 0.2     | 2.2   |
| Harina integral | 19.3                         | 0.1     | 19.4  |

Fuente: (Rayas y Romero, 2008)

### **MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DE FIBRA DIETÉTICA**

La determinación de fibra dietética (o fibra alimentaria, como también se le llama) puede realizarse a través de métodos gravimétricos, espectrofotométricos y cromatográficos. En este texto nos referiremos únicamente a los métodos gravimétricos.

Los métodos gravimétricos miden un residuo insoluble después de la solubilización química o enzimática de los constituyentes digeribles que no forman parte de la fibra. La metodología general de trabajo consiste en adicionar a la muestra (previamente seca y desgrasada), en un número variable de etapas, agentes químicos o enzimáticos que se encargan de solubilizar las proteínas y los carbohidratos digeribles. Posteriormente, una etapa de filtración permite separar los compuestos solubilizados del residuo insoluble que contiene la fibra dietética y los minerales. El residuo se seca, se pesa exactamente y luego se incinera y se vuelve a pesar, calculándose la cantidad de fibra por diferencia de pesada del residuo seco menos las cenizas. Los resultados se expresan en porciento según:

$$\% \text{ Fibra} = \frac{m(\text{Fibra})}{b} \times 100$$

donde:

$m(\text{Fibra}) = m(\text{residuo seco}) - m(\text{cenizas})$

b es el volumen (mL) o la masa (g) de la muestra tomada para el análisis.

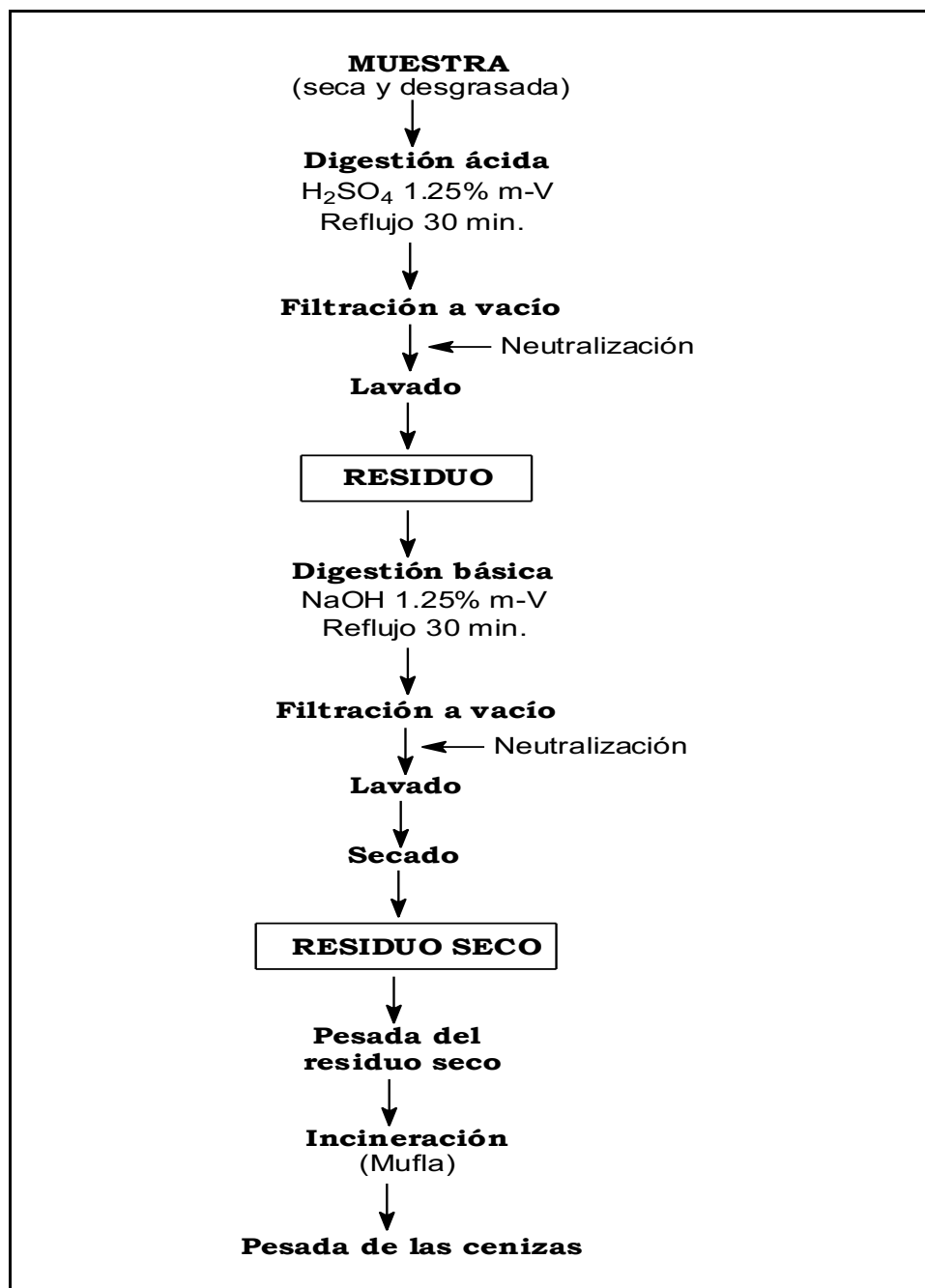
En la actualidad, los métodos enzimáticos son capaces de determinar también los componentes de la fibra dietética soluble a través de una precipitación con etanol y posterior ultrafiltración o diálisis.

En función del tipo de agente que se emplee para la solubilización de los componentes que no forman parte de la fibra, los métodos de determinación se clasifican en: métodos de determinación de fibra cruda, métodos detergentes y métodos enzimáticos (AACC, 1992)-

### **MÉTODO DE DETERMINACIÓN DE FIBRA CRUDA.**

El método de fibra cruda o el método de Weende, fue desarrollado en el año 1850 para la determinación del material indigerible en alimentos y forrajes. El método implica la extracción secuencial de los componentes que no forman parte de la fibra (proteínas y carbohidratos asimilables, con ácido diluido ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  1,25% m-V) y álcali diluido (NaOH 1,25% m-V) y posterior aislamiento del residuo insoluble (fibra cruda) mediante filtración (figura 8).

Figura 8. Esquema analítico de determinación de Fibra Cruda de Weende, (Ramírez, 2017).





Debido a la falta de métodos alternativos simples se aplicó también para alimentos humanos, sin embargo fue reportado hace 50 años que el 40% de los carbohidratos no digeribles se perdían debido al tratamiento tan severo que se aplica, el cual produce considerables degradaciones hidrolíticas de la celulosa nativa presente y degradaciones parciales y variables de la lignina. El método de fibra cruda ha sido abandonado durante los últimos 10 años (Ureña, 2017).

### **DETERMINACIÓN DE LA FIBRA POR LE MÉTODO DE WEENDE.**

#### **1. Objeto**

Esta norma establece el método para determinar el contenido de fibra en diferentes tipos de muestras de origen agropecuario y productos terminados.

#### **2. Instrumental**

- Equipo Dosi-Fider.
- Troca o bomba de vacío.
- Crisoles porosos.
- Estufa

#### **3. Reactivos necesarios:**

- Ácido sulfúrico  $H_2SO_4$  o. 180M (7.1ml 96% en 1 litro con agua destilada)
- Hidróxido potasio KOH 0.223 (12.5g en litro con agua destilada)
- Antiespumante, por ejemplo Octanol
- Acetona

#### **4. Preparación de la muestra**

Moler la muestra de tamiz de 1mm

Calentar el reactivo en la placa calentadora (accesorios 4000634 o similar) a una Ta de 95 -1000C.

Llenar los crisoles con las muestras molidas y situarlo en la “gradillas porta-crisoles “(4). Esta gradilla se puede figar en la parte frontal de la unidad principal. Recoger los crisoles e introducirlos en la unidad principal frente a la resistencia (6). Bajar la palanca de fijación (5) y bajar la palanca reflectora.

Situar los mandos de la válvula (5) en posición “OFF”.

Abrir el grifo de entrada de agua refrigerante. Caudal entre 1 y 2 litros/minuto.

Accionar el interceptor principal (POWER) (9), el piloto ámbar se iluminara. El potenciómetro (7) en posición “OF”

Proceso de extracción caliente

Levantar la tapa superior (1) y añadir el reactivo en cada columna. (10) determinar la cantidad de reactivos mediante la escala graduada de cada columna.

Girar el potenciómetro de ajuste (7) (sentido horario) hasta la posición 80-90%. La resistencia se pone en marcha.

Añadir antiespumante en cada columna.

Cuando el reactivo empiece a hervir disminuir la potencia de calor girando el potenciómetro (7) (sentido anti horario) hasta el 20-30%.

Mientras dura la extracción puede aprovecharse de calentar el segundo reactivo o agua destilada.

Finalice la extracción apagando el calentador por el instructor (9).

Abrir el grifo de la trompa de agua (si se ha utilizado este sistema para producir presión de vacío). Situar los mandos de la válvula (5) en la posición “Aspirar”. Una vez completada la filtración cerrar la válvula.

Si durante la filtración es necesario disolver el residuo, accionando el interruptor de la bomba de aire (8) (PRESSURE) y situar el mando de la válvula en la posición soplar volviendo luego a la posición espiral. La potencia de la bomba de soplar es ajustable interiormente. Ver “MANTENIMIENTO”

No para la bomba (pressure) con las válvulas en posición “Soplar”

Lave la muestra con agua destilada caliente utilizando un bote pulverizado. El agua se introduce por la entrada de cada columna. Situar los mandos de la válvulas en la posición espirar para dejar las muestra seca. Cerrar de nuevo las válvulas. Si el método precisa de varias extracciones repetir el proceso.

Para sacar los crisoles de la unidad de extracciones utiliza el “asa porta-crisoles” encajando en los crisoles y librando los desbloqueados de la palanca de la izquierda.

Trasladarlos a la gradilla.

## **5. Procedimiento**

Pesar (con una precisión de  $\pm 1\text{mg}$ ) de 1 a 1.5 g de muestra en un crisol poroso. La cantidad de muestra es  $w_0$ .

Introducir los crisoles en el Dosi-Fiber

Hidrólisis ácida en caliente:

Asegurarse que las válvulas están en la posición “cerrado”

Añadir 100-150 de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  caliente en cada columna y unas gotas de anti-espumante

Añadir el círculo de refrigeración y activar las resistencias calefactoras. (potencial 90%)

Esperar a que hierva, reducir la potencial al 30% y dejar hervir durante el tipo de extracción (30min a 1h. dependiendo del material). Para una hidrólisis más efectiva accionar la bomba de aire en la posición “Soplar”

Para la calefacción Abrir el circuito de vacío y poner los mandos de las válvula en posición “Adsorción”. Lavar con agua destilada y filtrar. Repetir este proceso tres veces (Zumbado, Análisis Químico de los Alimentos; Método Clásico, 2004).

Hidrólisis básica en caliente

Repetir los pasos 3 y 7 pero utilizando KOH en lugar de  $H_2SO_4$

No realizar las extracciones en frío con acetona en el equipo Dosi-Fiber

Preparar el fisco “kitasatos” con las trompas de vacío. Situar el crisol en la entrada del kitasatos y añadir acetona a la vez que el circuito de vacío esta adsorbiendo hacia el frasco. Repetir esta operación 3 veces

Poner las muestras a secar en la estufa a  $150^{\circ}C$  durante 1h

Dejar enfriar en desecador.

Pesar con una precisión de  $\pm 0.1$  mg. La cantidad pesada es  $w_1$

Incinerar las muestras de los crisoles. En el Horno de mufla a  $500^{\circ}C$  durante un tiempo de 3h

Dejar enfriar en desecador. Tener en cuenta las recomendaciones dadas para la manipulación de los crisoles.

Realizar el siguiente cálculo:

$$\% \text{ Fibra Bruta} = \frac{W_2 - W_1}{W_0} \times 100$$

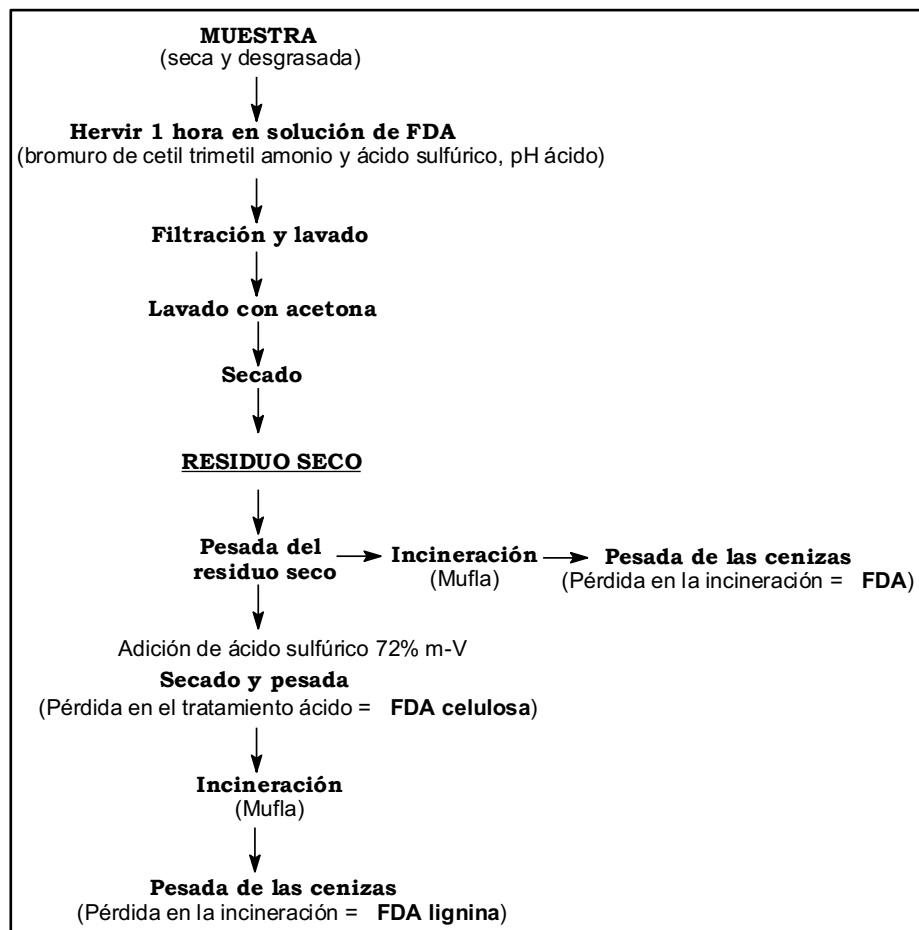
(FAO, 2018)

### **MÉTODOS DETERGENTES**

Las pérdidas de componentes de fibra en el ensayo de fibra cruda son principalmente debido al tratamiento con álcali. Consecuentemente el procedimiento de ácido normal fue sugerido por Walker y Hepburn, 1955, en el cual la etapa de extracción alcalina es eliminada. Sin embargo, esta modificación dio un residuo de proteínas insolubles, el cual fue necesario corregir mediante la realización de un análisis de proteínas.

Van Soest (1963) solucionó el problema de los residuos de proteína mediante la inclusión de un detergente (bromuro de cetil trimetilamonio, CIAB) en medio ácido ( $H_2SO_4$ ). Este método es referido como el método de fibra detergente ácida (FDA) y se muestra en la figura 9. Idealmente se determina celulosa y lignina, pero han sido reportados residuos de pectina y hemicelulosas.

Figura 9. Esquema analítico de determinación de FDA(Van Soest)  
(Segura, 2007)

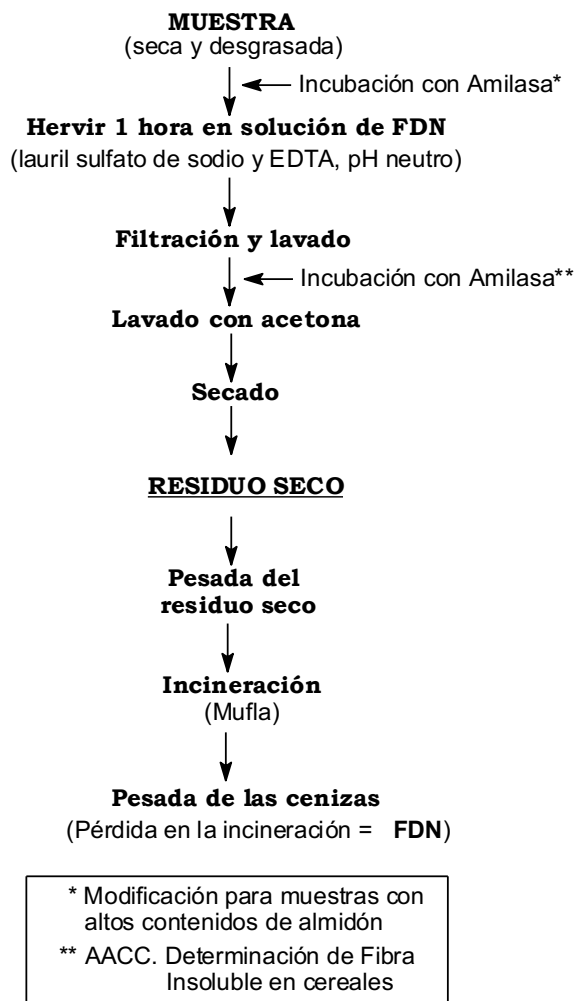


En el método de fibra detergente neutra (FDN), propuesto por Van Soest y Wine en 1967, la muestra es hervida con una solución neutralizada de dodecil sulfato de sodio y EDTA. Este tratamiento más moderado, también deja hemicelulosa en el residuo, mientras que la pectina es eficientemente extraída con el EDTA. El sistema detergente neutro solubiliza las proteínas eficientemente en un alcance limitado, mientras que en materiales con altos contenidos en almidón los residuos de almidón causan problemas de filtración

y erróneamente valores altos de fibra. Esto ha conducido a varias modificaciones para mejorar la solubilización de almidón. La Asociación Americana de Química del Cereal (AACC) adoptó un método para la fibra insoluble en cereales, en el cual el residuo de FDN es tratado con amilasa (una enzima que hidroliza el almidón) y lavado para remover el almidón. Los problemas de filtración son solucionados más eficientemente mediante la inclusión de amilasa en el reactivo FDN o mediante la pre incubación con amilasa (figura 10).

Figura 10. Esquema analítico de determinación de FDN (Van Soest)

Fuente; (Segura, 2007)



Los métodos detergentes pueden ser usados juntos para análisis de componentes de fibra dietética. La diferencia entre FDN y FDA es la hemicelulosa. El residuo de FDA puede ser tratado con 72% de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  para solubilizar la celulosa, dejando un residuo de lignina.

Los métodos detergentes fueron originalmente desarrollados para el análisis de forrajes, pero han sido aplicados extensivamente también a alimentos humanos. Sus ventajas principales son la simplicidad y rapidez, siendo el trabajo comparable a aquel del ensayo de fibra cruda. El problema de la retención de almidón puede ser solucionado mediante el uso de una modificación del análisis de FDN. La principal desventaja es que los componentes solubles no



son determinados y no pueden ser fácilmente recuperados del filtrado.

En algunos materiales, fundamentalmente soya y papa son obtenidos valores muy bajos, posiblemente debido a la solubilización de complejos fibras-proteínas. En el sorgo son obtenidos resultados oscuros, debido a la insuficiente solubilización de proteínas. El procesamiento puede también cambiar la solubilidad de la fibra dietética y por tanto, el valor de FDN. Sin embargo, el método FDN es útil como un método de rutina para la aproximación de la fibra dietética en muchos alimentos, una vez que la relación entre FDN y la fibra dietética ha sido establecida para el alimento específico analizado.

En la actualidad los métodos detergentes de determinación de fibra (FDA y FDN) se emplean muy poco y han sido casi totalmente sustituidos por los métodos enzimáticos.

Los métodos de determinación de fibra cruda han sido totalmente abandonados hoy en día, y los métodos detergentes se emplean con poca frecuencia y por lo general, en combinación con los métodos enzimáticos que a continuación serán abordados. Sin embargo, estas técnicas han sido descritas en este texto para que el lector perciba el desarrollo histórico que ha experimentado la química analítica a través de los años. La

evolución de los métodos de determinación de fibra dietética, constituye un vivo y muy elocuente ejemplo de los esfuerzos del hombre por perfeccionar los métodos de análisis con vistas a obtener resultados cada vez más confiables en consonancia con los requerimientos científicos, que imponen estos tiempos de acelerado desarrollo. Por otra parte, la descripción de estos métodos revela la esencia de todos los procedimientos gravimétricos de determinación de fibra dietética, es decir, la solubilización, por acción de un determinado tratamiento, de los compuestos digeribles y la posterior separación de estos, para finalmente cuantificar por medidas de pesada el residuo que contiene la fibra dietética.

### **MÉTODOS ENZIMÁTICOS**

En los métodos enzimáticos, la solubilización de los constituyentes que no forman parte de la fibra, no se realiza con adición de reactivos químicos sino que se añaden enzimas específicas que hidrolizan los carbohidratos asimilables y las proteínas. Estos métodos son los más eficientes debido a que el procedimiento analítico se asemeja más al proceso fisiológico de degradación de nutrientes que tiene lugar en el organismo humano, en el cual participan enzimas. De ahí que los resultados obtenidos con la

aplicación de los métodos enzimáticos son más confiables y cercanos al valor real del contenido de fibra dietética.

La metodología general que se sigue en estos métodos consiste en tratar la muestra (seca y desgrasada) con enzimas amilolíticas (hidrolizan y solubilizan el almidón) y enzimas proteolíticas (hidrolizan y solubilizan las proteínas) en condiciones de pH y temperatura optimas que favorecen la acción enzimática. Mediante una posterior etapa de filtración se separa el residuo que contiene la fibra dietética, se seca, se pesa y finalmente se incinera y se vuelve a pesar, calculándose la cantidad de fibra por diferencia de pesada.

Muchos son los estudios que se han realizado para la determinación de fibra dietética por métodos enzimáticos. Las enzimas amilolíticas más empleadas son la amilasa y la amiloglucosidasa, mientras que las enzimas proteolíticas de mayor utilización son la tripsina, la pepsina y la pancreatina.

A lo largo de los años, los investigadores han trabajado para reducir los tiempos de incubación (tiempos de contacto de las enzimas con la muestra) con vistas a lograr una mayor rapidez en la determinación sin perder la eficiencia del método. La tabla 4 muestra las condiciones sugeridas por varios autores para acometer la etapa de solubilización enzimática de las proteínas y el almidón.

Tabla 4. Algunas condiciones de incubación en los métodos gravimétricos enzimáticos.

|                        | Agentes para la solubilización de proteína y almidón. | Tiempo de incubación |
|------------------------|-------------------------------------------------------|----------------------|
| <u>Fibra insoluble</u> |                                                       |                      |

|                                                      |                                                                     |                      |
|------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|----------------------|
|                                                      | Agentes para la solubilización de proteína y almidón.               | Tiempo de incubación |
| Weinstock y Benham (1951)                            | Rhozyme S                                                           | 24 h                 |
| Salo y Kotilainen (1970)                             | Pepsina o tripsina (diastasa)                                       | 20h                  |
| Thomas (1975)                                        | Pancreatina<br>Rhozyme u otra amilasa                               | 5h<br>18h            |
| Elchazly y Thomas (1976)                             | Amiloglucosidasa<br>o takadiastasa<br>Tripsina o pancreatina        | 3h<br>18h<br>18h     |
| Hellendoorn et al. (1975)                            | Pepsina<br>Pancreatina                                              | 18h<br>1h            |
| <u>Fibra insoluble y soluble</u>                     |                                                                     |                      |
| Furda (1977, 1981)                                   | Amilasa de B. Subtilis y proteasa                                   | 16-18h               |
| Schweiser y Würsch (1979)                            | Pepsina<br>Pancreatina + glucoamilasa                               | 20h<br>18h           |
| Asp y Johansson (1981)                               | Pepsina<br>Pancreatina                                              | 18h<br>1h            |
| Asp et al (1983)                                     | Amilasa termoestable<br>Pepsina<br>Pancreatina                      | 15 min<br>1h<br>1h   |
| Mauser et al (1983)                                  | Amiloglucosidasa<br>Pancreatina/ tripsina                           | 3h<br>15-18h         |
| Prosky et al. (1984)<br>Método sugerido por la AOAC. | Amilasa termoestable<br>Proteasa de B. Subtilis<br>Amiloglucosidasa | 15-30 min<br>30 min  |

|                   |                                                                              |                            |
|-------------------|------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|
|                   | Agentes para la solubilización de proteína y almidón.                        | Tiempo de incubación       |
|                   |                                                                              | 30 min                     |
| Asp et al. (1992) | $\alpha$ amilasa termoestable<br>Proteasa de B. Subtilis<br>Amiloglucosidasa | 35 min<br>30 min<br>30 min |

Fuente: (Zumbado, Análisis Químico de los Alimentos; Método Clásico, 2004, pág. 194).

En dependencia del proceso que se siga una vez que se han realizado las etapas de incubación enzimática, se podrá determinar el contenido de fibra dietética insoluble (FDI), fibra dietética soluble (FDS) o fibra dietética total (FDT).

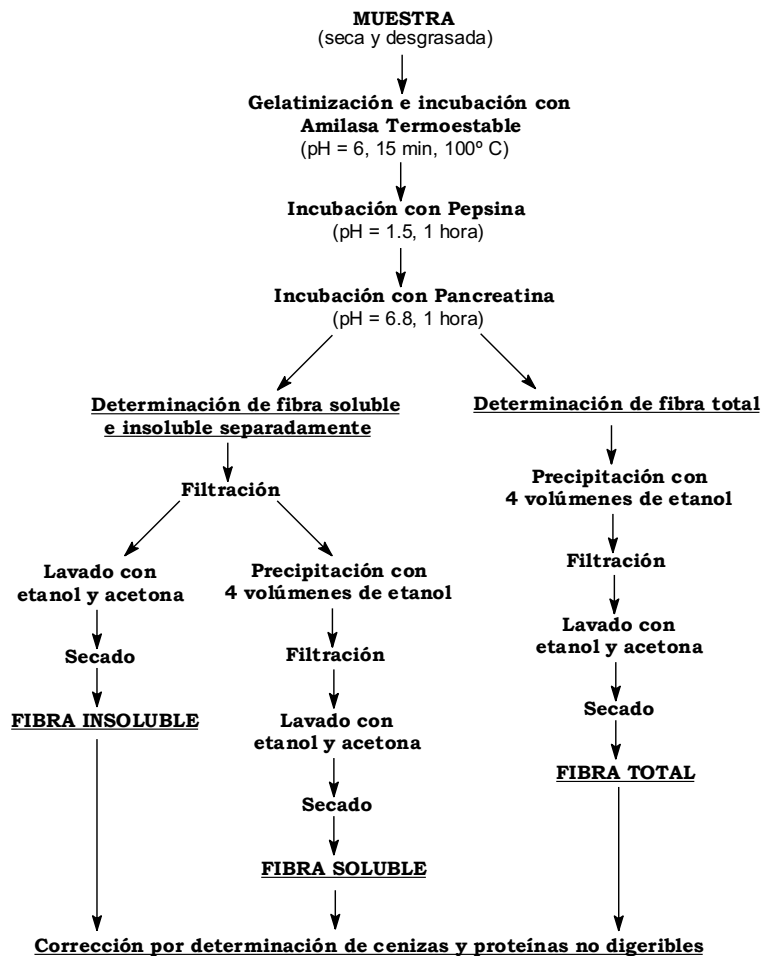
Al concluir la etapa de incubación enzimática, el extracto se filtra y el residuo sólido que queda está constituido por la fibra dietética insoluble, mientras que los productos de hidrólisis de las proteínas (aminoácidos y péptidos) y del almidón (monosacáridos y disacáridos) estarán contenidos en el filtrado conjuntamente con la fibra dietética soluble.

Para la determinación de la fibra dietética insoluble basta con secar el residuo sólido, pero si se desea determinar la fibra dietética soluble, es necesario precipitarla en el filtrado por adición de 4 volúmenes de etanol (lo que produce un cambio brusco de polaridad y conduce a la precipitación de la fibra soluble); posteriormente se separa el precipitado por filtración y el residuo sólido se seca.

Si el objetivo del análisis es cuantificar la fibra dietética total (soluble + insoluble), entonces al extracto obtenido luego de la etapa de incubación enzimática, se adicionan 4 volúmenes de etanol y posteriormente se filtra, quedando en el residuo sólido tanto la fibra soluble como la insoluble.

Un resumen de los procedimientos de determinación arriba descritos aparece en la figura 11.

Figura 11. Esquema analítico de determinación de FDI, FDS y FDT  
(Asp y col.,1984)



En los métodos enzimáticos, además de eliminar la interferencia de los minerales (por incineración), se realiza una corrección adicional

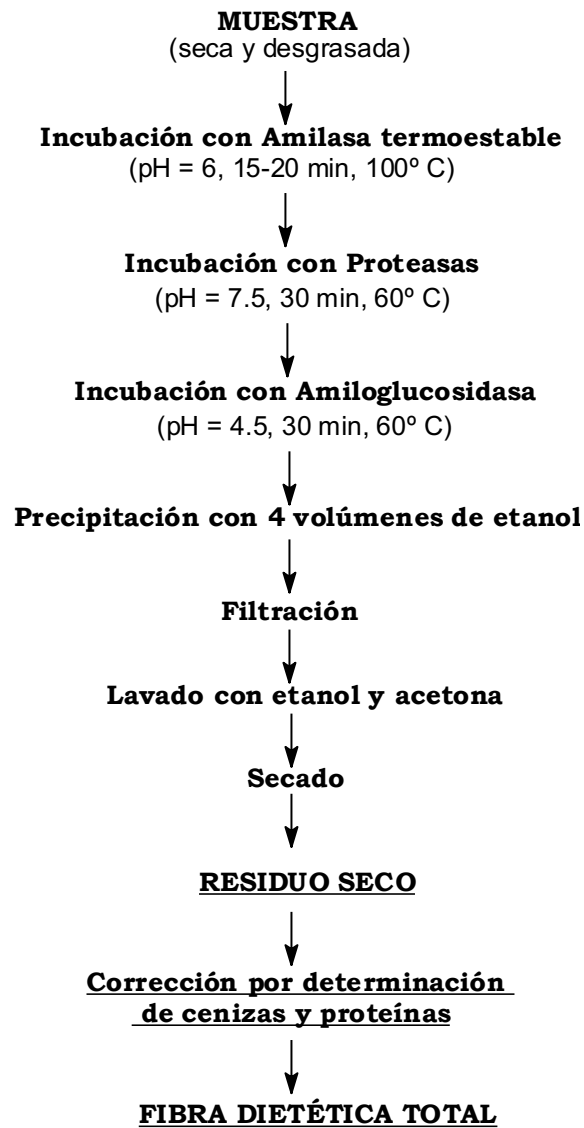
con vistas a eliminar también las interferencias introducidas por las proteínas no solubilizadas por la acción enzimática (proteínas no digeribles), las cuales, por definición, no se incluyen entre los componentes de la fibra dietética.

Para realizar esta corrección, en una de las réplicas de la muestra, se determina el contenido de proteínas (usualmente por el método Kjeldahl) al residuo seco obtenido luego de la filtración del extracto. El valor de proteínas resultante se resta entonces al valor de fibra calculado.

El método de la AOAC (Asociación Oficial de Química Analítica) sugerido por Prosky y colaboradores (1984) para la determinación de fibra dietética total, fue desarrollado sobre las bases de la experiencia común de tres grupos de investigadores (Asp y col., 1983; Furda, 1981; Schweizer y Wiirsch, 1979). El método es similar al reportado por Asp y col. en 1983. La etapa de gelatinización inicial con amilasa termoestable (15-30 min.) es mantenida, pero las enzimas fisiológicas son reemplazadas por una proteasa de *B. Subtilis* (30 min.) y aminoglucosidasa (30 min.). las etapas fundamentales de esta metodología se muestran en la figura 12.

Con posterioridad se han introducido modificaciones a este método, tales como reducciones de volúmenes o ligeros cambios en las condiciones de incubación enzimática, pero en su esencia el método oficial de la AOAC empleado hoy en día para la determinación de fibra dietética total sigue las etapas principales sugeridas por estos autores.

Figura 12. Esquema analítico de determinación de FDT (Prosky y , 1988).



### **ALGUNOS CÁLCULOS GENERALES DE INTERÉS**

Como ya se ha planteado con anterioridad en este texto, el resultado final del análisis cuantitativo se calcula a partir de los



resultados obtenidos experimentalmente (datos de las pesadas realizadas, mediciones de volúmenes obtenidos al efectuar el análisis, señal que se obtiene de un equipo instrumental, etc.) y siempre es conveniente expresarlo en forma de concentración, es decir, referir la cantidad de analito cuantificado en función de la cantidad de muestra (matriz) tomada para el análisis. Ahora bien, en ocasiones los resultados obtenidos experimentalmente necesitan ser convertidos para poder compararlos con valores de referencia, aun cuando ambos estén expresados en la misma forma de concentración.

Por ejemplo, para realizar la determinación de proteínas en productos cárnicos por el método Kjeldahl, la técnica operatoria exige que la porción de muestra tomada para el análisis esté seca, es decir que previamente se le debe haber eliminado el contenido de humedad, mientras que las normas de calidad expresan el porcentaje de proteínas en base húmeda, o sea considerando que la misma posee la cantidad de agua característica del producto. Quiere esto decir que ambos valores (el experimentalmente obtenido y el valor de referencia) no pueden ser comparados puesto que están expresados de forma diferente (el primero en base seca y el segundo en base húmeda), por lo que será necesario transformar el porcentaje de proteínas obtenido experimentalmente en base seca a base húmeda para que la comparación con el valor de referencia sea válida.

Otras veces, el análisis se realiza en base húmeda y el valor de referencia está expresado en base seca debido a que en muchos trabajos de investigación se prefiere expresar el resultado en base seca con vistas a ganar precisión, pues se sabe que la humedad de un producto varía con la humedad relativa ambiental y si el alimento

gana o pierde agua se afectará la concentración relativa del resto de los nutrientes que lo componen. Así, en este caso habría que convertir el resultado experimentalmente obtenido, de base húmeda a base seca para poder realizar la comparación con el valor de referencia.

Está claro que para realizar la conversión de un resultado analítico de base húmeda a base seca o viceversa es imprescindible conocer el porcentaje de humedad del producto.

A continuación analizaremos dos ejemplos concretos que nos servirán para ilustrar como se realizan estos cálculos.

### **Ejemplo No 1**

En el análisis del efecto de un nuevo fertilizante sobre el contenido de cenizas en una variedad de mamey se realizó la determinación de cenizas a 50 muestras del producto tratado con el fertilizante obteniéndose un valor medio de 1.2% de cenizas en base húmeda. Se conoce que los resultados históricos obtenidos para esta misma variedad de mamey sin el empleo de este fertilizante oscilan entre 4.5 y 5.3% de cenizas en base seca. Se sabe también que el contenido de humedad promedio del producto es de 75.8%.

Obviamente no es posible comparar el valor de 1.2% con el intervalo histórico de referencia (4.5 – 5.3%) por cuanto estos resultados no están expresados de la misma forma. De hecho, vale la pena comentar que es lógico que los resultados expresados en base húmeda sean menores que los expresados en base seca puesto que en este último caso, la eliminación de un componente (el agua) conduce a un incremento en la proporción del resto de los componentes de la muestra. Habría entonces que convertir el valor

de 1.2% de cenizas en base húmeda a base seca y comprobar si el resultado está o no comprendido en el intervalo histórico.

Ahora bien, ¿cómo realizar esta conversión?

Como no conocemos el valor exacto de la masa de muestra tomada para el análisis, lo cual por demás resulta imposible desde el punto de vista práctico dado que el 1.2% es un valor medio proveniente del análisis de 50 muestras, se hace necesario asumir una base de cálculo, es decir un valor hipotético y arbitrario de masa de matriz que nos permita calcular la masa de cenizas que se habría obtenido para arrojar un resultado de 1.2%. Esta base de cálculo debe ser un valor entero y fácil de trabajar matemáticamente con vistas a no hacer engorrosos los cálculos.

Tomemos por ejemplo como base de cálculo un valor de 10 g de muestra húmeda.

Se sabe que el porcentaje de cenizas en base húmeda puede calcularse a través de la siguiente expresión:

$$\% \text{ Cenizas}_{(\text{Base Húmeda})} = \frac{m(\text{cenizas})}{m(\text{muestra húmeda})} \times 100$$

Entonces, como hemos asumido una masa de muestra húmeda igual a 10 g y conocemos el porcentaje de cenizas en base húmeda (1.2%) podemos calcular la masa de cenizas correspondiente a ese porcentaje, según:

$$1.2\% = \frac{m(\text{cenizas})}{10 \text{ g}} \times 100$$

$$m(\text{cenizas}) = \frac{1.2 \times 10}{100}$$

$$m(\text{cenizas}) = 0.12 \text{ g}$$

Quiere esto decir que si se hubieran tomado para el análisis 10 g de muestra húmeda, para obtener un 1.2% de cenizas (en base

húmeda) fue necesario encontrar al final del análisis una masa de cenizas de 0.12 g.

Ahora bien, recordemos que el objetivo de este problema es calcular el porcentaje de cenizas en base seca, para lo cual es necesario emplear la siguiente expresión:

$$\% \text{ Cenizas}_{(Base\ Seca)} = \frac{m(\text{cenizas})}{m(\text{muestra seca})} \times 100$$

La masa de cenizas es la misma que se ha calculado con anterioridad (0.12 g) pues la cantidad de cenizas obtenidas no depende de la humedad del producto, sin embargo es obvio que la masa de muestra seca debe tener un valor inferior a los 10 g puesto que el 75.8% de esta masa está ocupada por agua. Así, el porcentaje de materia seca del producto será igual a (100% – %Humedad), es decir (100% – 75.8% = 24.2% de muestra seca).

Entonces puede plantearse que:

10 g de producto húmedo representa el 100% del total

m (muestra seca) representa el 24.2% del total

operando quedaría:

$$m(\text{muestra seca}) = \frac{10\text{ g} \times 24.2\%}{100\%}$$

$$m(\text{muestra seca}) = 2.42\text{ g}$$

y sustituyendo esta masa de muestra seca en la expresión para el cálculo del porcentaje de cenizas en base seca quedaría:

$$\% \text{ Cenizas}_{(Base\ Seca)} = \frac{0.12\text{ g}}{2.42\text{ g}} \times 100$$

$$\% \text{ Cenizas}_{(Base\ Seca)} = 4.96\% \approx 5.0\%$$

El resultado obtenido (4.96%) está incluido en el intervalo histórico reportado (4.5 – 5.3%), por lo que puede plantearse que el nuevo fertilizante empleado no influye en el contenido de cenizas de la variedad de mamey en estudio.

### Ejemplo No 2

En la determinación del porcentaje de proteínas en una muestra de perros calientes, se pesaron 0.1932 g de producto previamente secado y se aplicó el método Kjeldahl obteniéndose una masa final de proteínas de 0.0627 g. Conociendo que el porcentaje de humedad de este embutido es de 67.2% y que la norma de especificación de calidad establece para el contenido de proteínas un 12% mínimo (base húmeda), diga si el producto analizado cumple con la norma de especificación para este nutrimento.

Con estos datos pudiera calcularse muy fácilmente el porcentaje de proteínas en base seca, pues se conoce la masa de proteínas (0.0627 g ) y la masa de la matriz seca (0.1932 g), pero sería un cálculo inútil dado que carecería de sentido comparar este resultado con la norma de especificación pues esta última está expresada en base húmeda. Para hacer válida esta comparación, habría que convertir el porcentaje de proteínas en base seca a base húmeda, o sea proceder de forma inversa a la explicada en el ejemplo No 1.

El porcentaje de proteínas en base húmeda puede calcularse a través de:

$$\% \text{ Proteínas}_{(\text{Base Húmeda})} = \frac{m(\text{proteínas})}{m(\text{muestra húmeda})} \times 100$$

pero no se conoce la masa de muestra húmeda, la cual puede calcularse teniendo en cuenta la masa de muestra seca (0.1932 g) y el porcentaje de humedad del producto (67.2%). Considerando el

porcentaje de humedad, puede afirmarse que la masa de muestra seca tomada para el análisis representa solo el 32.8% del total (100% – 67.2%)

Nótese que en este caso no es necesario asumir una base de cálculo pues se conoce la masa de muestra seca empleada para la determinación.

Entonces, la masa de muestra húmeda puede calcularse según:

0.1932 g de producto seco    representa el 32.8% del total

m (muestra húmeda)                    representa el 100% del total

y operando quedaría:

$$m (\text{muestra húmeda}) = \frac{0.1932 \text{ g} \times 100\%}{32.8\%}$$

$$m (\text{muestra húmeda}) = 0.589 \text{ g}$$

y sustituyendo esta masa de muestra húmeda en la expresión para el cálculo del porcentaje de proteínas en base húmeda quedaría:

$$\% \text{ Proteínas}_{(\text{Base Húmeda})} = \frac{0.0627 \text{ g}}{0.589 \text{ g}} \times 100$$

$$\% \text{ Proteínas}_{(\text{Base Húmeda})} = 10.64\%$$

El resultado obtenido (10.64%) es inferior al valor mínimo estipulado por la norma de especificación (12%), por lo que puede concluirse que el producto analizado no cumple con los requerimientos normados para el contenido de proteínas.

Los ejemplos arriba considerados demuestran la importancia de saber convertir un resultado expresado en base húmeda a base seca y viceversa con vistas a garantizar la adecuada interpretación de un resultado analítico. Debe señalarse además que algunas

técnicas de análisis exigen no solo el previo secado de la muestra sino también la previa eliminación de la materia grasa (como es el caso de la determinación de fibra alimentaria) por lo que en estos casos es necesario considerar además el porcentaje de material lipídico del producto para realizar las correcciones pertinentes.

Los cálculos explicados en este epígrafe son usualmente necesarios de realizar en técnicas cuantitativas que se han desarrollado mediante métodos gravimétricos de volatilización y/o extracción y es por ello que se han abordado en este tema 3. No obstante debe señalarse que también son aplicables a cualquier técnica analítica (ya sea por métodos volumétricos o incluso instrumentales) en la que la que se haga necesario la conversión de los resultados en función de la forma en que estos estén expresados.

## BIBLIOGRAFÍA

- INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN). NORMA TÉCNICA ECUATORIANA . (2012). 299, Determinación de la humedad en la leche en polvo. Quito, Ecuador.
- AACC, m. 3.-1. (1992). *Determination of soluble, insoluble and total dietary fiber in food and food products*.
- AACC. ( 1992). Determination of soluble, insoluble and total dietary fiber in food and food products. *AACC method 32-07*.
- AOAC. (2000). *Official Methods Validation Program "AOAC International Official Methods of Analysis"* (Vol. XXIII). 17.
- Arévalo, M. (2015). Elaboración de Yogur a Base de Bacterias Probióticas, Prebióticos y Vitamina A en la Planta Piloto de Lácteos de la Universidad de Cuenca. Cuenca, Ecuador.
- Asp, N. G., & Johansson, C. G. (1984). Dietary fiber analysis. . *Clinical Nutrition*.
- Avendaño, G., & y otros. (2013). Propiedades del almidón y aplicación en alimentos. *Temas*, 87-96. Retrieved from <http://web.udlap.mx/tsia/files/2013/12/TSIA-71-Avendano-Romero-et-al-2013.pdf>
- Carreño, J. (2015, 01 20). <http://covarida.blogspot.com>. Retrieved from <http://covarida.blogspot.com/2011/11/composicion-de-la-leche-de-vaca-vs.html>
- Chasquibol Silva, N. (2008). Extracción y caracterización de pectina obtenidas a partir de frutos de la biodiversidad peruana. *Ingeniería Industrial*, 175-199. Retrieved from <https://www.redalyc.org/pdf/3374/337428492010.pdf>
- Ecured. (2016, 02 20). <https://www.ecured.cu/Celulosa>. Retrieved from [https://www.ecured.cu/Celulosa#Estructura\\_de\\_la\\_celulosa](https://www.ecured.cu/Celulosa#Estructura_de_la_celulosa)
- FAO. (2018, 12 25). <http://www.fao.org>. Retrieved from <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB489S/AB489S03.htm>
- García Martínez, E. (2017, 03 10). <https://riunet.upv.es>. (U. P. Valencia, Ed.) Retrieved from <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/16338/Determinaci%C3%B3n%20de%20proteinas.pdf?sequence=1>
- INEN. (2012). NTE 299. *Determinación de humedad en leche en polvo*. Quito.
- INEN. (2012). NTE 302. *Leche en polvo. Determinación de las cenizas*. Quito.
- INEN. (2012). NTE 348. *Determinación de Cenizas en Vino*, 4. Quito.
- INEN. (2013). NTE 0012:73. *LECHE. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE GRASA*. Quito.
- INEN. (2013, Septiembre). NTE INEM-ISO 936. *Carne y Productos Carnicos - Determinación de Ceniza Total. (IDT), I, 5*. Quito.



- INEN. (2013). NTE INEN 522. *HARINAS DE ORIGEN VEGETAL. DETERMINACION DE LA FIBRA CRUDA*. Quito.
- INEN. (2013, Septiembre). NTE INEN-ISO 3961:2013. *ACEITES Y GRASAS DE ORIGEN ANIMAL Y VEGETAL. DETERMINACION DEL INDICE DE YODO*. Quito.
- INEN. (2013). NTE: 1442. *Determinación de contenido de humedad*. Quito.
- INEN. (2015). NTE INEM 16. *Leche y Productos Lácteos. Determinación de Contenido de Nitrogeno. Método de Kjeldahl*, 14. Quito.
- INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN . (2013). 0348 Bebidas alcoholicas. Determinación de Cenizas. Segunda revisión. Quito, Ecuador .
- INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN. (2012). (L. y. lácteos, Producer) Retrieved from <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/ecu139663.pdf>
- INTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN). (2012). *Norma Técnica Ecuatoriana 302. Leche En Polvo. Determinación De Las Cenizas*. Quito-Ecuador: Segunda revisión.
- INTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN). NORMA TÉCNICA ECUATORIANA. (1085). Carnes y productos cárnicos. Determinación de la pérdida de calentamiento. *NTE INEN 0777*. Quito, Ecuador.
- Marchante, P., & col. (2008). *Análisis Químico Farmacéutico Métodos clásicos cuantitativos*. La Habana: Félix Varela.
- Marchante, P., Zumbado, H., González, A., Álavarez , M., & Hernández, L. (2008). *Análisis Químico Farmacéutico. Métodos clásicos cuantitativos*. La Habana: Félix Varela.
- Martínez, J. J. (2017, 02 16). <http://libroelectronico.uaa.mx>. Retrieved from <http://libroelectronico.uaa.mx/capitulo-12-otras-vias/estructura-y-funcion-del.html>
- Martínez, M. J. (2010). *Impacto de la interacción entre lactoglobulina, caseinoglicomacropéptido y polisacáridos en coloides alimentarios*. Buenos Aires: UBA. Retrieved from [file:///D:/correcciones%20libro%20ing.%20Fon%20Fay/correcciones%2025%2007%20%202017/tesis\\_n4570\\_Martinez%20carragento.pdf](file:///D:/correcciones%20libro%20ing.%20Fon%20Fay/correcciones%2025%2007%20%202017/tesis_n4570_Martinez%20carragento.pdf)
- NMX-F-312-1978;. (1978). Determinación de reductores directos y totales en alimentos. Normas mexicanas. . *Method of test for total and direct reducing substances in food*. México.
- Norma, C. (1978). NC77-22-17. Determinación de fibra. Conserva de frutas y vegetales. Métodos de ensayo. Cuba: Dirección general de normas.
- Norma, C. (1981). NC 85-04. Aceites y grasas comestibles. Métodos de ensayo. La Habana, Cuba.
- Norma, C. (2001). NC-ISO.669. Aceites y grasas comestibles. Método de ensayo. La Habana, Cuba.
- Norma, C. (2004). NC-1443. Carne y productos cárnicos. Método de ensayo. La Habana, Cuba.
- Norma, C., & NC 77-22-17. (1982). *Determinación de fibra. Conserva de frutas y vegetales. Métodos de ensayo*.
- Normas Cubanas. (1981). NC 79-06 Carne y productos cárnicos. Métodos de ensayo.
- Panreac . (1999). *Métodos Analíticos en Alimentos. Cereales, derivados de cereales y cerveza*. España: Panreac Química, SA.
- Panreac. (1992). *Método oficiales de análisis. Aceites y grasas*. España.
- Panreac. (1999). *Métodos Analíticos en Alimentaria. Carne y productos cárnicos. Métodos oficiales de análisis*. España: PANREAC QUÍMICA, SA.

- Panreac. (1999). Métodos Analíticos en Alimentaria. Productos derivados de la Uva, aguardientes y sidras. Métodos oficiales de análisis. España: PANREAC QUÍMICA, SA.
- Panreac. (1999). *Métodos Analíticos en Alimentos, Cereales, derivados de cereales y cerveza. Métodos oficiales de análisis*. España: Panreac Química SA.
- Panreac. (2013). Métodos Analíticos en Alimentos. Leche y productos lácteos. . *Métodos oficiales de análisis*. España, España: PANREAC QUÍMICA, SA. .
- Peso, P., Frontela, C., & y otros. (2012). Polisacáridos de algas como ingredientes funcionales en acuicultura marina: alginato, carragento y ulvano. *Biología Marina y Oceanografía*, 373-381. Retrieved from <https://scielo.conicyt.cl/pdf/revbiolmar/v47n3/art01.pdf>
- Porto, S. (2017, 03 18). <http://www.agargel.com>. Retrieved from <http://www.agargel.com.br/index-es.html>
- Prosky, L., & y, c. (1988). Determination of soluble and insoluble dietary fiber in food and food products. *Publmed*, 23. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2853153>
- Ramírez, G. (2017, 11 11). <http://aprendeenlinea.udea.edu.co>. *Esquema de Weende*. Colombia. Retrieved from [http://aprendeenlinea.udea.edu.co/lms/moodle/pluginfile.php/44570/mod\\_resource/content/0/Esquema\\_Weende\\_moodle.pdf](http://aprendeenlinea.udea.edu.co/lms/moodle/pluginfile.php/44570/mod_resource/content/0/Esquema_Weende_moodle.pdf)
- Rangel, D. (2016, 12 05). <https://es.scribd.com>. Retrieved from <https://es.scribd.com/document/90696073/Acido-alginico>
- Rayas, P., & Romero, B. (2008). Fibra a base de frutas, vegetales y cereales función salud. *Mexicana de Agronegocios*, 613-621. Retrieved from <https://www.redalyc.org/pdf/141/14102306.pdf>
- Sánchez García, J. M. (2017, 09 15). <https://es.slideshare.net>. Retrieved from <https://es.slideshare.net/DiegoGuzmanSilva/prctica-3-20161123-lab-analisis-determinacin-de-cenizas>
- Segura, F. (2007). Descripción y Discusión acerca de los métodos de análisis de fibra y del valor nutricional de forrajes y alimentos para animales. *Vitae*, 72-81. Retrieved from <file:///C:/Users/Flor%20Marina%20Fon%20Fay/Desktop/PORTAFOLIO%20DOCENTE%20ING.%20AGROINDUSTRIA%202018%202019%20FINAL/MAA321%20METODOS%20Y%20TECNICAS%20DE%20ANALISIS/v14n1a11.pdf>
- U.T.E.Q. Laboratorio de Bromatología . (2013). Principales Técnicas de Alimentos. *Determinación de Fibra Bruta*. Quevedo.
- U.T.E.Q. Laboratorio de Bromatología. (2012, Abril). Principales Técnicas de Análisis de Alimentos. *Determinación de Cenizas*. Quevedo.
- U.T.E.Q. Laboratorio de Bromatología. (2013, Septiembre). Técnicas de Análisis de Laboratorio. *Determinación de Humedad o perdida por calentamiento*. Quevedo, Los Ríos.
- U.T.E.Q. Laboratorio de Bromatología. (2014). Principales Técnicas de Alimentos. *Determinación de Grasa*. Quevedo.
- U.T.E.Q. Laboratorio de Bromatología. (2014). Principales Técnicas de Alimentos. *Determinación de Fibra*. Quevedo.
- Ureña, F. (2017, 01 05). <https://www.uco.es>. Retrieved from <https://www.uco.es/zootecniaygestion/menu.php?tema=146>

- UTEQ. (2014). Equipos, Materiales y Reactivos empleados en Laboratorio de Bromatología. *Reactivos empleados en Determinación de Proteína Bruta*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Materiales empleados en Determinación de Humedad*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de equipos, materiales y reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Equipos empleados en Determinación de Humedad*. . Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Materiales empleados en Determinación de Grasa*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Materiales empleados en Determinación de Grasa*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Reactivos empleados en Determinación de Grasa*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Equipos empleados en Determinación de Fibra por el método de WEENDE*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Materiales empleados en Determinación de Fibra por el Método de WEENDE*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Reactivos empleados en Determinación de Fibra por el Método de WEENDE*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Equipos empleados en Determinación de Proteína Bruta*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Equipos empleados en Determinación de Proteína Bruta*. Quevedo.
- Vásquez, P. (2017, 05 25). <https://es.scribd.com>. Retrieved from <https://es.scribd.com/document/60173156/Determina>
- Zumbado, H. (2002). *Análisis Químico de los Alimentos*. La Habana, Cuba: Félix Varela.
- Zumbado, H. (2004). *Análisis Químico de los Alimentos; Método Clásico*. La Habana: Universitaria. Retrieved from <file:///C:/Users/Flor%20Marina%20Fon%20Fay/Downloads/Analisis%20quimico%20de%20los%20alimento%20-%20Hector%20Zumbado-Fernandez.pdf>
- Zumbado, H. (2004). <https://es.scribd.com>. Retrieved from <https://es.scribd.com/doc/47639250/Analisis-Quimico-de-los-alimentos>



# CAPÍTULO II

## TÉCNICAS EXPERIMENTALES DE ANÁLISIS PROXIMAL

## **CAPÍTULO 2. TÉCNICAS EXPERIMENTALES DE ANÁLISIS PROXIMAL**

### **TÉCNICAS EXPERIMENTALES DE DETERMINACIÓN DE HUMEDAD**

#### **DETERMINACIÓN DE HUMEDAD Y MATERIAS VOLÁTILES EN ACEITES Y GRASAS**

Dado que los aceites comestibles de primera calidad tienen un alto valor en el mercado, puede existir la tentación de adulterar los aceites caros con material menos costoso o de vender aceites de calidad inferior como si fueran de mejor calidad. La infracción de las normas y etiquetas de los alimentos constituyen un engaño a los consumidores y puede crear enormes trastornos en el mercado.

Con el fin de proteger a los consumidores y al comercio, los aceites auténticos están definidos por leyes y normas y descritos en una base de datos. Existe una descripción de los criterios de pureza para los aceites fabricados a partir de la soja, el maní, la semilla de algodón, el girasol, el maíz y la oliva. Los aceites de oliva sin refinar se valoran por su sabor y aroma y se distinguen de los aceites refinados que son insípidos. Los índices de calidad para otros aceites vegetales pueden ayudar a determinar si el aceite de oliva está adulterado. Actualmente, debido a los espectaculares avances realizados en los métodos de análisis de alimentos resultan muy improbables las adulteraciones evidentes. A medida que se desarrolla la tecnología, se dispone de un mayor número de datos de calidad suficiente para las bases de datos y las normas evolucionan. Las normas de la Comisión del Codex Alimentarius establecen una línea básica para la calidad de los productos que cuenta con el consenso internacional, lo cual permite dirimir los conflictos y contribuye a la protección del comprador. Las normas del Codex Alimentarius con respecto a las grasas y aceites han

evolucionado gradualmente y están destinadas en parte a ser cada vez más útiles para abordar los problemas de la autenticidad.

Para la mayor parte de los aceites, los parámetros correspondientes a una norma alimentaria se refieren al contenido en humedad, impurezas y ácidos grasos libres, así como a su valor en peróxido de hidrógeno. Los límites indican si el aceite está sin refinar, o total o parcialmente refinado, y se tiene en cuenta también la concentración de oligoelementos y metales pesados. Para el caso del contenido de humedad y materias volátiles, este índice no deberá ser mayor a 0,2% en los aceites comestibles y no más de 0,5% en las mantecas o grasas.

Técnica operatoria (Panreac. Métodos oficiales de análisis. Aceites y grasas. 1992)

Principio:

Se establecen las condiciones adecuadas para la determinación, en las materias grasas, del agua y de las materias volátiles, operando en las condiciones del ensayo. Es aplicable a las grasas animales y vegetales, con excepción de los aceites secantes ó semisecantes y los aceites del grupo del coco.

Materiales y aparatos:

- Estufa de desecación, con regulación de la temperatura, pudiéndose calentar hasta 150°C como mínimo; la regulación se efectuará entre unos límites de oscilación de  $\pm 2^{\circ}\text{C}$ , siendo además la temperatura uniforme en todo el espacio interior, tolerándose diferencias que no excedan de 1°C entre posiciones extremas.

- Cápsulas de fondo plano, con dimensiones aproximadas de 80 mm de diámetro y 20 mm de altura, preferiblemente de acero inoxidable, aluminio o porcelana.
- Desecador conteniendo como agente desecante Sulfato de Calcio o Gel de Sílice con indicador, o, en su defecto Ácido sulfúrico PA (96% m-m; 1.84 Kg/L), aunque para asegurar una desecación efectiva deberá ser renovado con frecuencia.

Procedimiento:

#### **A. Preparación de la muestra:**

La muestra debe ser previamente homogenizada antes de pesar la cantidad con que se vaya a operar. Esto se logra, con las grasas fluidas, agitando fuertemente el frasco que contiene la muestra y vertiendo rápidamente la cantidad aproximada que se vaya a pesar en la cápsula en la que se efectúe la desecación. Si se tratase de grasas sólidas o semisólidas a la temperatura ambiente, calentar suavemente en baño de agua hasta conseguir el grado de fluidez conveniente, cuidando de no llegar a fundir completamente y homogenizar con un mezclador adecuado o simplemente con una espátula si no se dispusiese de este instrumento.

#### **B. Determinación:**

En una cápsula desecada previamente en una estufa a 105 °C y enfriada en un desecador, pesar, con exactitud de 1 mg, una cantidad aproximada de 5 a 10 g de muestra, según el contenido de humedad, preparada como se indica en la preparación de la muestra.

Colocar en la estufa, previamente regulada a 105°C, manteniéndola allí durante 30 minutos. Sacar y pasar a un desecador donde se deja enfriar; pesando a continuación.

Repetir este tratamiento en operaciones sucesivas, hasta que la diferencia entre dos pesadas consecutivas no exceda del 0.05 %.

Cálculo:

Calcular el contenido de humedad expresado en porcentaje.

$$\% \text{ humedad} = \frac{m(\text{H}_2\text{O})}{m(\text{M})} \cdot 100$$

donde:

$m(\text{H}_2\text{O}) = m(\text{cápsula} + \text{muestra húmeda}) - m(\text{cápsula} + \text{muestra seca})$ , en gramos

$m(\text{M})$  es la masa en gramos de la porción de ensayo inicialmente pesada

### **DETERMINACIÓN DE HUMEDAD EN ACEITES Y GRASAS COMESTIBLES (MÉTODO DEL XILENO)**

TÉCNICA OPERATORIA (PANREAC. MÉTODOS OFICIALES DE ANÁLISIS. ACEITES Y GRASAS. 1992)

#### **PRINCIPIO**

Este método determina la cantidad total de agua no combinada que se encuentra en la materia grasa por destilación directa.

#### **MATERIAL Y APARATOS**

- Matraz de vidrio de cuello corto, de 300 a 500 mL de capacidad, sobre el cual se adapta un aparato especial que consta de un tubo cilíndrico graduado en mL, provisto de llave de descarga en el extremo inferior; en el superior se adapta un refrigerante de reflujo. Entre este y la terminación de la graduación, lleva el tubo cilíndrico



otro tubo comunicante y paralelo a él, a cuyo extremo se adapta el matraz (figura 13).

#### Reactivos y soluciones

- Acetona PA
- Ácido sulfúrico (96% m-m; 1.84 Kg/L)
- Agua destilada PA
- Óxido de cromo VI
- Piedra pómez 4 a 8 mm
- Xileno PA

#### Procedimiento

Eliminar todo vestigio de grasa del tubo graduado y del tubo interior del refrigerante, lavando sucesivamente con mezcla crómica, agua destilada y acetona. Secar. Preparar la mezcla crómica con ácido sulfúrico y óxido de cromo VI.

Pesar de 20 a 50 g de materia grasa, en el matraz seco, con una aproximación de 0.1 g. Agregar de 100 a 300 mL de Xileno y algunos trozos de piedra pómez. Calentar progresivamente hasta la ebullición y mantenerla hasta que el xileno destilado resulte limpio y no separe más agua. Dejar en reposo hasta perfecta separación de las capas de xileno y agua. Leer el volumen de agua.

#### Cálculo

Calcular el contenido de agua expresado en porcentaje.

$$Agua (\%) = \frac{V}{P} \times 100$$

P = peso en g de la muestra.

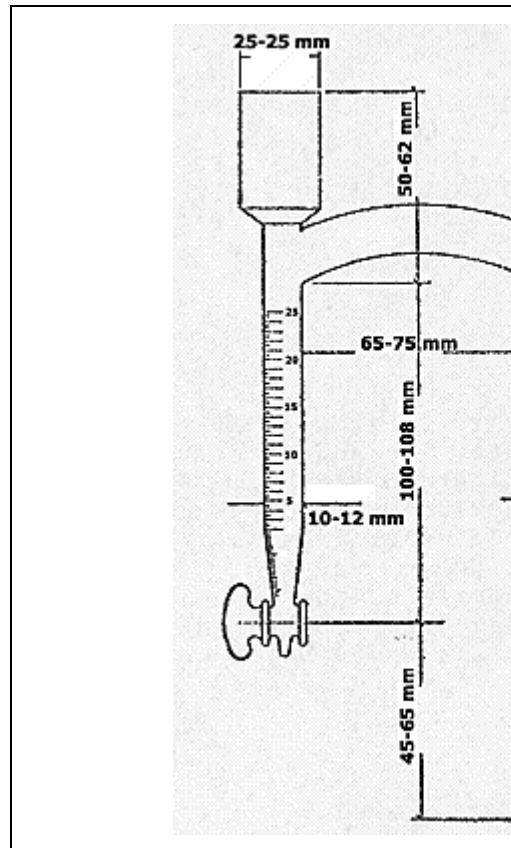
$V$  = volumen en mL de agua.

Observaciones

Si las gotas de agua quedan adheridas a la pared del tubo, desprenderlas calentando con precaución con una llama pequeña.

Figura 13

Esquema del aparato especial para determinación de humedad por el método del xileno. (Panreac, 1992).



### **DETERMINACIÓN DE HUMEDAD EN PRODUCTOS CÁRNICOS.**

La carne constituye obviamente la materia prima fundamental de los productos cárnicos. A pesar de que se trata de un material sólido,

el constituyente mayoritario de la carne es el agua, la que puede representar alrededor de un 75 % del total, en función del músculo de que se trate, el tipo de animal, la alimentación del mismo, etc.

El agua que entra en la composición del tejido muscular no es homogénea en cuanto a sus propiedades fisicoquímicas y a la función que cumple, lo cual se encuentra en estrecha relación con las interacciones que se establecen entre las moléculas de agua y los elementos estructurales de la carne, fundamentalmente las proteínas, lo que permite decir que en las carnes existen diferentes tipos de agua. Las diferentes formas en que se encuentre el agua, así como la fortaleza de la unión a las proteínas de la carne determinan la capacidad de ésta de retener más o menos fuertemente una cantidad de agua. Tal propiedad de las carnes se conoce como Capacidad de Retención de Agua (CRA).

La CRA es una propiedad muy importante de las carnes, que varía en dependencia de muchos factores (cambios de pH y adición de sales, entre otros) y define el comportamiento tecnológico de éstas, sobre todo en un aspecto tan sensible como lo es el rendimiento de los procesos. Las carnes que presentan una CRA disminuida, sufrirán mayores pérdidas de agua que conllevan pérdidas de peso superiores y por ende, afectación de la rentabilidad o las ganancias de un proceso.

El agua presente en las carnes también interviene de manera significativa durante la conservación por congelación. Los cristales de hielo que pueden formarse durante una congelación lenta, favorecen la pérdida de jugos cárnicos, lo cual trae aparejado una disminución del valor nutricional de la carne, pérdidas de peso y afectaciones sensoriales.

Sólo una parte del agua total presente en la carne o los productos cárnicos se encuentra disponible para participar en las reacciones químicas o para ser utilizada por los microorganismos para su desarrollo, ya sea aquellos que son causa de deterioro u otras especies cuya actividad metabólica favorece el desarrollo de algunas cualidades deseadas en los productos cárnicos.

El contenido de agua de la carne fresca se relaciona (aunque no es el único elemento responsable de ellas) con sus propiedades sensoriales, particularmente con la textura. Igualmente, el contenido de humedad de los productos cárnicos se relaciona con sus propiedades sensoriales, particularmente con la textura. Un ejemplo típico son los jamones, donde los jamones tipo York, más secos, pero más duros, han dado paso a los jamones tipo Virginia, de mayor contenido de humedad, pero más suaves y jugosos.

Para el fabricante de productos cárnicos, la adición de agua a sus productos es una ventaja económica, pues mientras mayor cantidad de agua pueda añadir, menores son sus costos de producción y mayores los rendimientos. Con esta finalidad se incorporan a los productos cárnicos diferentes aditivos, cuya función fundamental es la retención de agua. Sin embargo cuando esta práctica se torna abusiva, el consumidor sale obviamente perjudicado, pues el valor nutricional de los productos disminuye, y paga por el exceso de agua el precio que le corresponde al contenido de carne del producto. Por otra parte, no puede prohibirse la adición de agua a los productos cárnicos, pues esta cumple una función tecnológica y además puede perderse durante el proceso de cocción.

De todo lo antes expuesto se comprende que es necesario regular el contenido de humedad de los productos cárnicos, de forma tal que el consumidor reciba el producto con la calidad que

corresponde al precio que paga por el mismo. Por este motivo existen regulaciones que norman la cantidad de agua añadida permisible en los productos cárnicos, las cuales varían, tanto en la cantidad permisible como en cual es el contenido de agua permisible sin considerarlo agua añadida, entre los diferentes países. En términos generales se considera agua añadida aquella que excede una relación agua: proteína de un cierto valor que fluctúa corrientemente entre 3.7 y 4 según la legislación vigente.

**TÉCNICA OPERATORIA (PANREAC. MÉTODOS OFICIALES DE ANÁLISIS.  
CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS. 1999)**

**Principio.**

Formación de una pasta con ayuda de harina y alcohol etílico al 95% que es sometida primeramente a un presecado en baño de María y a continuación secada a  $102^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  hasta obtener un peso constante.

**Material y aparatos.**

- Balanza analítica.
- Cápsula de acero inoxidable con tapa de 60 mm de diámetro y 25 mm de altura.
- Varilla fina de vidrio con punta aplastada, que entre por completo en la cápsula.
- Desecador provisto de un deshidratante eficaz (gel de sílice con indicador).
- Baño de agua.
- Estufa eléctrica regulada a  $102 \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

Reactivos y disoluciones.

- Alcohol etílico al 96 %. V-V
- Arena de mar lavada, con grano fino.
- Gel de sílice con indicador.
- Arena de mar lavada a los ácidos, Tp de 0,25-1,4 mm.

### **Preparación de la muestra**

Tomar una muestra representativa de 200 g. Quitar la piel si la tuviese y cortarla en pequeños trozos. Pasarlos varias veces por una trituradora hasta lograr una mezcla homogénea. Guardar inmediatamente en frascos limpios y secos y conservarlos en refrigeración. Tomar la porción de ensayo dentro de las 24 horas siguientes.

### **Procedimiento.**

Secar la cápsula conteniendo una cantidad de Arena de mar lavada, con grano fino igual a 3-4 veces el peso de muestra y la varilla de vidrio, durante 30 min., en la estufa eléctrica regulada a  $102 \pm 2$  °C.

Sacarla de la estufa e introducirla en el desecador, hasta que alcance la temperatura ambiente, y pesar el conjunto con error máximo de 0,1 mg.

Introducir en dicha cápsula una masa de muestra de alrededor de 5 g, pesados con aproximación de 0.1 mg.

Añadir a la cápsula 5 mL de Alcohol etílico al 96 % V-V PA y remover la mezcla con la varilla de vidrio. Colocar la capsula al baño de agua regulándolo a una temperatura comprendida entre 60 y 80°C para evitar la posibilidad de proyecciones, mantener el calentamiento hasta que el alcohol se evapore. Secar la muestra durante 4 horas en la estufa eléctrica regulada a  $102 \pm 2$  °C. Retirar la cápsula de la

estufa y colocar en el desecador, hasta que alcance la temperatura ambiente. Pesar con aproximación de 0,1mg.

Repetir las operaciones de secado hasta peso constante.

**Efectuar por lo menos dos determinaciones sobre la misma muestra.**

Cálculos.

Calcular el contenido de humedad expresado en porcentaje.

$$\% \text{ humedad} = \frac{m(\text{H}_2\text{O})}{m(\text{M})} \cdot 100$$

donde:

$m(\text{H}_2\text{O}) = m(\text{cápsula} + \text{muestra húmeda}) - m(\text{cápsula} + \text{muestra seca})$ , en gramos

$m(\text{M})$  es la masa en gramos de la porción de ensayo inicialmente pesada

### **Observaciones.**

La diferencia entre los resultados de dos determinaciones simultaneas o realizadas inmediatamente una después de la otra efectuadas por el mismo analista, no debe ser superior a los 0,1 mg de agua de muestra (0,1 %) (Panreac, 1999).

Determinación de contenido de humedad. Norma técnica ecuatoriana NTE INEN-0777.1985

### **Objeto**

Esta norma específica un método de referencia para la determinación del contenido de humedad de la carne y productos cárnicos.

### **2 Definiciones**

A los efectos de esta norma, se entenderá por.

**2.1 Contenido de humedad de la carne y productos de carne:** La pérdida de la masa obtenida bajo las condiciones especificadas en esta Norma Nacional, dividida por la masa de la muestra problema. Contenido de humedad se expresa como porcentaje en masa.

**2.2 Resultado de la prueba:** El valor de una característica obtenida llevando a cabo un método específico de ensayo. [ISO 5725-1]

### **3 Principio**

Mezclar completamente la porción de ensayo con arena y secar hasta un peso constante a  $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

### **4 Material**

4.1 Arena, limpia, lavada con ácido, de un tamaño tal que pasa a través de un tamiz de orificios 1, 4 mm y permanecer en un tamiz con orificios de tamaño de 250  $\mu\text{m}$ .

Seque la arena antes de su uso entre  $150^{\circ}\text{C}$  a  $160^{\circ}\text{C}$  y guardar en un frasco cerrado herméticamente.

NOTA – Si no está disponible arena limpia (lavado con ácido), la arena se puede limpiar mediante el siguiente procedimiento.

Lavar la arena con agua corriente. Hervir la arena con ácido clorhídrico diluido,  $p_{20} = 1,19 \text{ g/ml}$ , diluido (1 + 1), durante 30 min mientras se agitaba continuamente. Repetir la operación de ebullición con otra porción del ácido hasta que el ácido ya no se vuelve amarillo después de la ebullición. Lavar la arena con agua destilada hasta que la prueba de cloruro sea negativa. Para el almacenamiento, seque la arena entre  $150^{\circ}\text{C}$  a  $160^{\circ}\text{C}$ .

### **5 Equipos**

Aparatos de laboratorio habituales y, en particular, lo siguiente.

**5.1 Equipo mecánico o eléctrico capaz de homogeneizar la muestra de laboratorio.** Esto incluye un cortador de alta velocidad de



rotación, o una picadora equipada con una placa con orificios no superiores a 4,0 mm de diámetro.

5.2 Cápsula plana, de porcelana o de metal (por ejemplo, níquel, aluminio, acero inoxidable), de diámetro de al menos 60 mm y altura aproximadamente 25 mm. (INEN, 1085).

### **DETERMINACIÓN DE HUMEDAD EN LECHE EN POLVO.**

La elaboración de leches en polvo persigue el objetivo de incrementar la vida útil de este valioso alimento, ya que la leche fluida tiene una vida útil muy pequeña por lo que la obtención de este producto puede considerarse un método de conservación.

Las leches en polvo son productos obtenidos por la eliminación casi total del agua empleando aire caliente o superficies con temperaturas superiores a 100°C. Se elaboran leches en polvo a partir de leche entera, semidescremada y descremada. La leche empleada debe ser pasteurizada y concentrada hasta aproximadamente el 50% y posteriormente sometida al tratamiento de secado. Existen dos métodos fundamentales: Secado por cilindros y secado por atomización (spray dried), para lo cual se emplean diferentes equipos, siendo diferentes las propiedades de los polvos obtenidos, tales como, la solubilidad, dispersabilidad, humectabilidad, etc.

La leche entera en polvo obtenida por atomización tiene entre 2,5–3,0% de humedad y la descremada aproximadamente un 4% de humedad. Dentro de los sólidos totales se encuentran la lactosa, las proteínas, la fracción lipídica, las vitaminas y los minerales.

Técnica operatoria (Panreac. Métodos oficiales de análisis. Leche y productos lácteos. 1999)

**Principio.**

Se entiende por humedad de la leche en polvo el contenido en agua libre, es decir la pérdida en peso, expresado en porcentaje en peso, determinado por el procedimiento expuesto a continuación, que corresponde con el descrito en la norma FIL-26 : 1964 de la Federación Internacional de Lechería.

Este método es aplicable a las leches en polvo, entera y desnatada.

El agua, contenida en la leche en polvo, se elimina por calentamiento de la muestra en una estufa de desecación, a una temperatura de  $102^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$ , hasta peso constante.

#### **Material y aparatos.**

- Balanza analítica, de sensibilidad 0.1 mg como mínimo.
- Cápsulas apropiadas, preferentemente en aluminio, níquel; acero inoxidable o vidrio. Las cápsulas deberán ser provistas de tapas que se adapten convenientemente, pero que se puedan quitar con facilidad. Las dimensiones más convenientes son: diámetro aproximado 50 mm; profundidad aproximada, 25 mm.
- Un desecador provisto de gel de sílice con indicador de humedad.
- Una estufa de desecación bien ventilada, provista de termostato y regulada a  $102^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Es importante que la temperatura sea uniforme en toda la estufa.
- Frascos provistos de tapones herméticos para el mezclado de la leche en polvo.

#### **Procedimiento.**

Preparación de la muestra: Trasvasar toda la muestra de la leche en polvo a un frasco seco y tapado, de un volumen igual al doble, aproximadamente, del de la muestra, mezclar íntimamente por

rotación y agitación (en el caso de que no se pueda obtener una homogenización completa por este procedimiento, extraer, con objeto de realizar determinaciones paralelas, dos muestras en dos puntos, lo más distantes posible el uno del otro).

Determinación: Colocar la cápsula destapada y la correspondiente tapa en la estufa de desecación durante una hora, a la temperatura de  $102^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Colocar la tapa sobre la cápsula y pasarla de la estufa al desecador. A continuación enfriar a la temperatura ambiente y pesar. Introducir aproximadamente 1 g de leche en polvo en la cápsula, tapar la cápsula y pesar rápidamente con la mayor exactitud posible. Destapar la cápsula y colocarla con su tapa en la estufa a una temperatura de  $102^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$  durante dos horas. Volver a colocar la tapa, poner la cápsula en la desecadora, dejar enfriar a temperatura ambiente y pesar rápidamente con la mayor exactitud posible.

Calentar la cápsula abierta a  $102^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$  en la estufa durante 1 hora suplementaria, volver a tapar y dejar enfriar en la desecadora a temperatura ambiente; pesar de nuevo. Repetir la operación hasta que las pesadas sucesivas no difieran en más de 0.0005 g. La desecación se acaba aproximadamente en 2 horas.

#### **Cálculo.**

Calcular el contenido de humedad expresado en porcentaje.

$$\% \text{ humedad} = \frac{m(\text{H}_2\text{O})}{m(\text{M})} \cdot 100$$

donde:

$m(\text{H}_2\text{O}) = m(\text{cápsula} + \text{muestra húmeda}) - m(\text{cápsula} + \text{muestra seca})$ , en gramos

m (M) es la masa en gramos de la porción de ensayo inicialmente pesada

La diferencia entre las determinaciones repetidas no debe sobrepasar el 0.06 % de agua. (Panreac., 2013)

Determinación De La Humedad En Leche En Polvo. Norma Técnica Ecuatoriana. INEN 299.

## **1. Objeto**

1.1 Esta norma tiene por objeto establecer el método para determinar el contenido de humedad y otras materias volátiles, por calentamiento a 103° C, en la leche en polvo.

## **2. Alcance.**

**2.1 Esta norma se aplica a los siguientes tipos de leche:**

- a) Tipo I. Leche entera en polvo.
- b) Tipo II. Leche semidescremada en polvo.
- c) Tipo III . Leche descremada en polvo.

## **3. Resumen.**

3.1 Calentar el producto a 103°C hasta eliminar completamente la humedad y las materias volátiles, luego pesarlo.

## **4. Instrumental**

4.1 Balanza analítica. Sensible al 0,1 mg.

4.2 Cápsula de metal con tapa (níquel, aluminio o de acero inoxidable), o de otro material inalterable a las condiciones de ensayo, de fondo plano, con diámetro de 75mm y altura de 25 mm.

4.3 Estufa, con ventilación y regulador de temperatura, ajustada a  $102^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ .

4.4 Desecador, con cloruro de calcio anhidro u otro deshidratante adecuado.

## **5. Preparación de la muestra**

5.1 La leche en polvo es un producto que absorbe fácilmente la humedad y olores extraños; por tanto, es necesario que todos los utensilios y recipientes, además de limpios y estériles, estén secos.

5.2 La extracción de la muestra debe realizarse en un ambiente seco y exento de polvo y olores, lo más rápidamente posible, procurando reducir al mínimo el tiempo que el producto a ser ensayado permanezca en contacto con el aire.

5.3 Transferir la leche en polvo a un frasco limpio, estéril y bien seco, de capacidad aproximadamente dos veces el volumen de la muestra, e inmediatamente tapar y homogeneizar invirtiendo varias veces el recipiente que lo contiene.

## **6. Procedimiento**

6.1 La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra preparada.

6.2 Lavar cuidadosamente y secar la cápsula destapada y su tapa en la estufa ajustada a  $103^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , durante una hora. Tapar la cápsula, sacarla de la estufa, dejarla enfriar en el desecador por 30 min y pesarla con aproximación al 0,1 mg.

6.3 Invertir lentamente la botella que contiene la muestra preparada; inmediatamente, transferir a la cápsula y pesar rápidamente, con aproximación a 0,1 mg, aproximadamente 1 g de muestra, y tapar.

6.4 Quitar la tapa, colocar la cápsula a la estufa ajustada a  $103^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , y calentar durante 2 h.

6.5 Tapar la cápsula y dejar enfriar en el desecador durante 30 min, y pesar con aproximación a 0,1 mg. Repetir el calentamiento por períodos de 1 h, enfriando y pesando hasta que la diferencia entre los resultados de dos operaciones sucesivas de pesaje no exceda de 0,5 mg.

## **7. Cálculos**

7.1 El contenido de humedad en la leche en polvo se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$H = \frac{m_1 - m}{m_2}$$

Siendo:

H = humedad, en porcentaje de masa

m = masa de la cápsula vacía, en g

$m_1$  = masa de la cápsula y la muestra, antes del calentamiento, en g

$m_2$  = masa de la cápsula y la muestra, después del calentamiento, en g.

## **8. Errores de método**

8.1 La diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder de 0,05%; en caso contrario, debe repetirse la determinación.

## **9. Informe de resultados**

9.1 Como resultado final, debe reportarse la media aritmética de cada una de las dos determinaciones.

9.2 En el informe de resultados, deben indicarse el método usado y el resultado obtenido para cada caso. Deba mencionarse, además, cualquier condición no especificada en esta norma, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre los resultados.

9.3 Deben incluirse todos los detalles necesarios para la completa identificación de la muestra. (INEN, 2012).

### **DETERMINACIÓN DE HUMEDAD EN LECHE EVAPORADA, CONDENSADA Y CONCENTRADA.**

Tanto la leche condensada como la leche evaporada se clasifican como leches concentradas y se definen como aquellas que han sido privadas parcialmente de su contenido de agua (entre el 55 y el 60% en ambos los casos), con la consiguiente disminución de peso y volumen y el incremento de la densidad y la viscosidad del producto final. La diferencia esencial entre ambos tipos de leches concentradas radica en el hecho de que el proceso de elaboración de la leche condensada incluye además la adición de sacarosa y dextrosa, en otras palabras, de azúcar; de ahí que este producto se conozca también con el nombre de leche concentrada azucarada. Los contenidos finales de humedad para las leches condensada y evaporada son de alrededor de 25% para la primera y 70% para la segunda. Obviamente la determinación de humedad constituye un indicador de calidad del producto final, aunque debe señalarse que usualmente se prefiere determinar el % de sólidos totales. (INEN, 2012).

Técnica operatoria (Panreac. Métodos oficiales de análisis. Leche y productos lácteos. 1992)

**Principio.**

Se entiende por humedad la pérdida de masa durante el proceso de desecación determinado por el método descrito a continuación.

La masa residual de la muestra se determina tras la desecación a presión atmosférica en una estufa a  $102^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$  hasta obtener una masa constante. La pérdida de masa se calcula en porcentaje de la masa de muestra.

Este método también permite determinar la pérdida de masa durante el proceso de desecado de los tipos de leche citados a continuación:

- Leche en polvo rica en grasas o extragrasa.
- Leche en polvo entera o leche entera en polvo.
- Leche en polvo parcialmente desnatada o semidesnatada.
- Leche en polvo desnatada o leche desnatada en polvo.
- Material y aparatos.
- Balanza analítica.
- Cápsulas preferentemente de vidrio, de níquel, de aluminio o de acero inoxidable. Las cápsulas han de estar dotadas de tapas que se adapten perfectamente pero que puedan ser fácilmente levantadas. Las dimensiones más idóneas son: diámetro de 60 a 80 mL; profundidad de unos 25 cm.
- Estufa a presión atmosférica, bien ventilada y controlada con termostato, con la temperatura regulada a  $102^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Es muy importante que la temperatura del conjunto de la estufa sea uniforme.
- Desecador, lleno con gel de sílice activado recientemente o de un desecante equivalente.



- Frasco provisto de tapones herméticos para el mezclado de la leche.

### **Procedimiento.**

Quitar la tapa de la cápsula y colocar la tapa y la cápsula en la estufa a una temperatura de  $102^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$  durante una hora. Volver a poner la tapa, transferir la cápsula al desecador y dejar enfriar hasta alcanzar la temperatura ambiente; pesar con una precisión de 0.1 mg.

Colocar en la cápsula uno o dos gramos de la muestra, poner la tapa sobre la cápsula y proceder rápidamente a pesar la cápsula equipada de su tapa con una precisión de 0.1 mg. Retirar la tapa y colocar cápsula y tapa en la estufa durante dos horas. Poner de nuevo la tapa, transferir la cápsula tapada al desecador y dejar enfriar hasta alcanzar la temperatura ambiente; pesar rápidamente con una precisión de 0.1 mg.

Destapar la cápsula y calentar, junto con su tapa, durante una hora en la estufa. Poner de nuevo la tapa, transferir la cápsula tapada al desecador y dejar enfriar hasta alcanzar la temperatura ambiente; pesar rápidamente con una precisión de 0.1 mg.

Una vez pesada nuevamente someter la muestra a calentamiento hasta que dos pesadas no difieran en más de 0.5 mg.

### **Cálculo.**

Calcular la pérdida de masa de la muestra durante el proceso de desecación, expresada en porcentaje de la masa.

$$\% \text{ humedad} = \frac{m(\text{H}_2\text{O})}{m(\text{M})} \cdot 100$$

donde:

$m(\text{H}_2\text{O}) = m(\text{cápsula} + \text{muestra húmeda}) - m(\text{cápsula} + \text{muestra seca})$ , en gramos

$m(\text{M})$  es la masa en gramos de la porción de ensayo inicialmente pesada

La diferencia entre los resultados de dos determinaciones paralelas, efectuadas simultáneamente o inmediatamente una después de la otra por el mismo analista de la misma muestra y en las mismas condiciones, no ha de exceder 0.1 g de agua por 100 g de producto. (Panreac., 2013)

### **DETERMINACIÓN DE LA MATERIA SECA EN YOGUR.**

El yogur es el ejemplo típico de las leches fermentadas. Se fabrica a partir de leche entera o normalizada a un determinado valor de grasa, de alta calidad microbiológica y libre de antibióticos. Se prefiere utilizar leches con alta densidad, con un alto contenido proteico, el que puede ser corregido por adición de sólidos de leche o por concentración de la leche fluida.

El producto fermentado es obtenido mediante la inoculación de la leche con bacterias ácido lácticas. El típico yogur se elabora a partir de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus*. Estas bacterias desdoblan parte de la lactosa hasta ácido láctico en una fermentación homogénea.

Al concluir la fermentación puede batirse o no, obteniéndose dos formas de presentación, el denominado yogur de coágulo o el yogur batido. El producto terminado debe tener una acidez final de 0,7-

0,9% expresada como ácido láctico. Un yogur bien elaborado tiene una vida útil de 7 días a temperaturas de 6–7°C y su valor nutricional es equivalente al de la leche para igual volumen de alimento.

Independientemente de la variedad de productos, los métodos de fabricación no difieren esencialmente por lo que puede decirse que existe una tecnología general de elaboración.

Se elaboran otras leches fermentadas variando el tipo de bacteria inoculada, su concentración y la temperatura del proceso fermentativo.

En todo tipo de leche fermentada pueden además, adicionarse sabores naturales o artificiales, lo que permite diferentes combinaciones y diferentes productos lácteos.

La determinación de materia seca en yogur, constituye una opción analítica para el control de los sólidos totales, aunque debe señalarse que estos se controlan usualmente a través de la determinación de la densidad en la materia prima. (Zumbado, 2004).

Técnica operatoria (Panreac. Métodos oficiales de análisis. Leche y productos lácteos. 1999)

### **Principio.**

Desecación de la muestra a  $103^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$  y pesado posterior del residuo.

Material y aparatos.

- Balanza analítica, de sensibilidad 0.1 mg como mínimo.
- Cápsulas apropiadas de metal inoxidable o vidrio. Las cápsulas deberán ser provistas de tapas que se adapten convenientemente, pero que se puedan quitar con facilidad y de alrededor 25 mm de altura.

- Un desecador provisto de un deshidratante eficaz (Gel de Sílice activa)...
- Una estufa de desecación bien ventilada, provista de termostato y regulada a  $103^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Es importante que la temperatura sea uniforme en toda la estufa.
- Varilla de vidrio con una extremidad aplastada, cuya longitud no debe sobrepasar en más de 1 cm el diámetro de la cápsula.

### **Reactivos.**

- Ácido Clorhídrico (37% m-m; 1.19 Kg/L) PA.
- Agua Destilada PA.
- Solución de Ácido Clorhídrico 25% m-V
- Arena de Mar de grano fino.
- Gel de Sílice con indicador.

Purificación de la arena de mar con Ácido Clorhídrico al 25% m-V, lavado con Agua Destilada PA y calcinar a alrededor de  $500^{\circ}\text{C}$ . La arena debe atravesar el tamiz AFNOR # 28 (diámetro interior de la malla de 0.500 mm) y ser retirada por el tamiz AFNOR # 23 (diámetro interior de la malla 0.160 mm).

### **Procedimiento.**

Preparación de la muestra:

Esta operación consiste en obtener una muestra homogénea y a la temperatura conveniente. Para ello se debe proceder de la siguiente forma:

1. Vaciar la muestra al máximo posible, dentro de un vaso o de un mortero seco.

2. Homogenizar el producto por batido y si es fluido por trasvases sucesivos.
3. Llevar a temperatura próxima de 20° C.
4. Llevar rápidamente las porciones de ensayo necesarias para las diferentes determinaciones, recogiendo el producto con la ayuda de una espátula antes de cada extracción.
5. Reducir al máximo la exposición de la muestra a la atmósfera ambiental.
6. Trasvasar el resto de la muestra a un recipiente herméticamente cerrado. Conservar el resto de la muestra a una temperatura alrededor de 4°C en previsión de otro análisis posterior.

En caso de tratarse de yogures de frutas se debe verter la muestra sobre un colador metálico (abertura de mallas de alrededor de 0.5 mm) con el fin de retener las frutas. Proseguir las operaciones como se ha indicado anteriormente.

### **Determinación**

En la cápsula introducir 20 g de arena lavada y una varilla de vidrio. Colocar en la estufa durante 1 hora. Dejar enfriar en la desecadora y pesar. Introducir rápidamente dentro de la cápsula alrededor de 5 g, pesados con precisión de 1 mg, de muestra preparada según técnica operatoria descrita anteriormente. Mezclar cuidadosa e íntimamente la porción de ensayo y la arena con la ayuda de la varilla de vidrio. Colocar la cápsula en la estufa durante 5 horas. Dejar enfriar en el desecador y pesar. Repetir la operación de secado a períodos de 1 hora hasta peso constante (las desviaciones no deben sobrepasar los 2 mg). En caso de un aumento de peso, tomar para el cálculo el peso más bajo obtenido. En la práctica, un

solo secado de 15 horas en la estufa, proporciona los mismos resultados.

### **Cálculo.**

La materia seca expresada en porcentaje en peso, se obtiene por la fórmula siguiente:

$$\text{Materia seca} = (M - A) \times \frac{100}{E}$$

Donde:

M = masa en gramos de la cápsula más los 20 g de arena lavada, la varilla de vidrio y la muestra seca

A = masa en gramos de la cápsula más los 20 g de arena lavada y una varilla de vidrio después de ser sometida a un previo calentamiento.

E = masa en gramos de la muestra.

La pérdida máxima entre dos determinaciones paralelas efectuadas por dos operadores distintos, debe ser de 0.3 g por 100 g de muestra. (Panreac., 2013)

Determinación de materia seca mediante medición de la pérdida de peso de la muestra

### **Método y Principio**

La humedad y el contenido de materia seca se determinan mediante la medición de la pérdida de peso de la muestra después del tratamiento térmico a 70-130 °C. Se puede hacer por calentamiento en una plancha caliente, horno de aire caliente o un horno de vacío.

Las interacciones entre las diferentes sustancias y la evaporación de otras sustancias diferentes al agua pueden ocurrir, y esto puede ser frenado por adsorción sobre arena.

### **Reactivos**

Arena de mar brillante (lavada)

Equipos y Materiales

Plato pequeño de aluminio + varilla de vidrio –

Horno a 105 °C

Desecador

Balanza analítica

### **Procedimiento**

- ✓ Secar una cápsula de porcelana (+ varilla de vidrio) con arena brillante por varias horas en el horno.
- ✓ Dejar que la cápsula con arena se enfríe a temperatura ambiente en el desecador (30 min).
- ✓ Pesar la cápsula (+ varilla de vidrio) con arena con una precisión de 1 mg.
- ✓ Pesar 5 g de muestra en la cápsula y mezclarla con la arena (con la varilla de vidrio).
- ✓ Calcular el peso de la muestra por sustracción.
- ✓ Secar la cápsula (+ varilla de vidrio) con la muestra durante dos horas a 105 ° C.
- ✓ Dejar enfriar en un desecador a temperatura ambiente (20 min.)
- ✓ Pesar, con precisión de 1 mg.
- ✓ Secar de nuevo durante 30 minutos, enfriar y pesar.
- ✓ Repetir este procedimiento hasta alcanzar un peso constante ( $\pm$  1 mg entre dos pesadas consecutivas).

### Fórmula

El % P/P de materia seca en una muestra será determinado de acuerdo a la siguiente

$$\% \text{ Materia Seca} = \frac{P_2 \times 100}{P_1}$$

Dónde:

$P_1$  = Peso (g) de la muestra antes de secar

$P_2$  = Peso (g) de la muestra después de secar y llegar a peso constante (materia seca)

Expresión de resultados

Expresar el contenido de materia seca en % de peso. Los porcentajes de materia seca y humedad son complementarios.

### **DETERMINACIÓN DE HUMEDAD EN CEREALES**

La determinación de la humedad es uno de los criterios más importantes para evaluar la calidad de un lote. Es un parámetro importante para establecer la comercialización, el almacenamiento y la calidad de harinas y productos finales.

Existen diversos métodos para cuantificar la humedad en granos y productos de molienda. Los métodos más empleados son los que se basan en el secado en estufa, bien a 100°C o a 130°C, establecidos en la AACC en grano molturado. En granos enteros, se emplean algunos equipos basados por la conductividad eléctrica y la constante dieléctrica. Entre los más conocidos se encuentran el Steinlile, Motomco y Universal. Actualmente se está empleando el método de infrarrojo cercano.



El método de secado en estufa es el más utilizado y el último, conocido como reflectancia infrarroja es el más novedoso y rápido de hacer. El problema de la determinación de humedad estriba en las diferencias de los resultados que se obtienen en dependencia al método empleado, por lo que es indispensable indicar el procedimiento seguido acompañado a las cifras finales informadas.

También se pueden emplear métodos empíricos usados fundamentalmente por los agricultores y que se basan en la experiencia personal de ellos.

Cabe citar, la costumbre de masticar los granos, aplastarlos con los dedos, escuchar el sonido cuando se pone una masa entre las manos. Si el grano está seco, al ser movido produce un sonido parecido al de un vidrio.

El alto contenido de humedad de un grano puede conducir a un incremento en los procesos de respiración y autocalentamiento, descomposición de glucosa por procesos de fermentación, una disminución en la calidad de los granos y pérdida en el poder germinativo de las semillas.

La humedad de las harinas debe ser menor de un 16 %. En caso de las destinadas a la exportación este contenido debe ser reducido hasta un 12 - 13,5 %.

TÉCNICA OPERATORIA (PANREAC. MÉTODOS OFICIALES DE ANÁLISIS. CEREALES, DERIVADOS DE CEREALES Y CERVEZA.

1999)

### **Principio.**

El contenido en agua e un alimento se define convencionalmente como la pérdida de masa que experimenta en condiciones determinadas.

El producto se seca a 130°C a presión atmosférica normal, durante una hora y media.

Este método de desecación a 130°C se aplica a granos, harinas y otros productos derivados de los cereales, reducido a partículas de dimensiones inferiores o iguales a 1700 $\mu$ , de los cuales menos del 10% serán superiores a 1000 $\mu$  y más del 50% inferiores a 500 $\mu$ .

#### **Material y aparatos.**

- Balanza con precisión de 1mg.
- Aparato triturador que no provoque calentamiento, fácil de limpiar y que proporcione partículas de las proporciones especificadas anteriormente.
- Pesa filtro metálico o de vidrio con tapadera, y con una superficie útil que permita un reparto de la muestra de 0,3 g/cm<sup>3</sup>, como máximo.
- Estufa isotérmica de calefacción eléctrica, regulada de tal manera que la temperatura del aire en su interior sea de 130°C, y que tenga aireación suficiente. La estufa tendrá una capacidad calorífica tal que, regulada previamente a la temperatura de 130°C, pueda alcanzar de nuevo esa temperatura en menos de media hora, después de colocar simultáneamente en su interior el número máximo de muestras a desecar.
- La eficacia de la ventilación se determinara con la ayuda de sémola como material de ensayo que tenga 1mm como máximo de partícula. La ventilación será tal que secando simultáneamente a 130°C todas las muestras que la estufa pueda contener, primero durante dos horas y después durante tres horas, los resultados presenten entre ellos una diferencia inferior a 0,15%.

- Desecador provisto de placa de porcelana o metálica perforada, conteniendo un agente deshidratante como oxido de fósforo V, cloruro de calcio anhidro 95% escoriforme o gel de sílice con indicador.

### Procedimiento.

Introducir 5 g de la muestra en el pesafiltros, tarado después de permanencia en la estufa y de enfriamiento en el desecador. Cerrar el pesafiltros y pesar con aproximación de 1mg. Debe operarse rápidamente.

Tener en la estufa hora y media el pesa filtro destapado con la muestra. Transcurrido este tiempo, y operando rápidamente, retirar el pesa filtros de la estufa una vez tapado y colocarlo en el desecador. Pesar en cuanto se seque en el desecador.

### Calculo.

Calcular el contenido de humedad expresado en porcentaje.

$$\% \text{ humedad} = \frac{m (H_2O)}{m (M)} \cdot 100$$

donde:

$m (H_2O) = m (\text{pesafiltros} + \text{muestra húmeda}) - m (\text{pesafiltros} + \text{muestra seca})$ , en gramos

$m (M)$  es la masa en gramos de la porción de ensayo inicialmente pesada

La media de dos resultados, con una aproximación de 0,05% g representará la humedad de la muestra.

Dispersión de los resultados. La diferencia resultante entre determinaciones duplicadas de la misma muestra no deberá ser mayor de 0,1% en valor absoluto. En caso contrario, se repetirá la determinación por duplicado. (Panreac , 1999).

## **TÉCNICAS EXPERIMENTALES DE DETERMINACIÓN DE CENIZAS**

### **DETERMINACIÓN DE CENIZAS EN PRODUCTOS CÁRNICOS**

La carne constituye obviamente la materia prima fundamental de los productos cárnicos. Ella contiene entre otros constituyentes una cantidad relativamente apreciable de minerales como el hierro y el potasio, que poseen un determinado interés desde el punto de vista nutricional.

Las sustancias minerales del tejido muscular forman parte de la composición de los elementos estructurales de la fibra muscular e intervienen en muchos procesos de intercambio intra e intercelulares. Participan además en la formación de sistemas buffer, particularmente, los iones fosfato y bicarbonato. Las sustancias minerales influyen en el estado de las proteínas intracelulares del tejido muscular, particularmente en su solubilidad y grado de hidratación.

Entre los elementos minerales que entran en la composición de las carnes frescas se encuentran mayoritariamente  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ . Estos elementos participan en el mantenimiento de la tensión osmótica y del equilibrio electrolítico intra e intercelulares. El  $\text{Na}^+$  se encuentra fundamentalmente en los espacios intercelulares, mientras que una parte significativa del  $\text{K}^+$  y del  $\text{Ca}^{+2}$  se encuentra unida a las proteínas.

Importante función cumplen el  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{+2}$  y  $\text{Mg}^{+2}$  en los procesos de contracción-relajación en vida del animal y en algunas

importantes etapas de los procesos posteriores al sacrificio, durante la obtención de las carnes. Otros elementos minerales presentes en las carnes son el  $\text{Fe}^{+2}$ ,  $\text{Zn}^{+2}$ ,  $\text{Cu}^{+2}$ ,  $\text{Co}^{+2}$  y  $\text{Ni}^{+2}$

Entre los elementos minerales de la carne y los productos cárnicos especial significado desde el punto de vista nutricional tiene la presencia de  $\text{Fe}^{+2}$ . El  $\text{Fe}^{+2}$  presente en el tejido muscular se encuentra unido a una importante proteína cárnica: la mioglobina y se considera como  $\text{Fe}^{+2}$  orgánico, el cual resulta de mejor asimilación por el organismo en comparación con el  $\text{Fe}^{+2}$  inorgánico presente en forma de sales ferrosas en otros alimentos contentivos de este mineral, por lo que las carnes constituyen una fuente excelente de este mineral, incluso para casos de anemia por deficiencia de  $\text{Fe}^{+2}$

El contenido de cenizas de la carne y los productos cárnicos se relaciona fundamentalmente, aunque no exclusivamente, con el contenido de minerales aportado por las materias primas cárnicas y por la sal común añadida. Sin embargo el desarrollo tecnológico ha llevado a la incorporación de nuevas fuentes proteicas en los productos cárnicos, las cuales en ocasiones poseen un contenido de minerales superior al de la carne y/o diferente en composición. Así, en los procesos de elaboración de productos cárnicos como pueden ser los de la línea del curado en piezas (jamones, lomo, paletas) y los embutidos (salchichas, jamonadas, mortadellas, salchichones, chorizos y otros) por sólo mencionar algunos, son utilizados gran cantidad y variedad de ingredientes que modifican la composición mineral de la materia prima original. Por ejemplo es muy frecuente el empleo de carne deshuesada mecánicamente en la elaboración de los productos de pasta fina (salchichas por ejemplo). Estas carnes deshuesadas mecánicamente, debido al

proceso de obtención que se sigue, poseen un contenido de minerales, fundamentalmente calcio, proveniente de los huesos a los que están adheridas, que le incorpora un sabor particular a los productos en los que se añade.

Técnica operatoria (Panreac. Métodos oficiales de análisis. Carne y productos cárnicos. 1999)

### **Principio.**

Adición de solución de acetato de magnesio, desecación en baño de agua o en baño de arena, incineración a 550°C y posterior determinación de la masa del residuo, teniendo en cuenta la cantidad de óxido de magnesio proveniente de la adición de la solución de acetato de magnesio utilizada en primer lugar.

### **MATERIAL Y APARATOS.**

- Cápsulas de porcelana, cuarzo o platino, con fondo plano, de aproximadamente 15 cm<sup>2</sup> de superficie y 25 mm de altura, de paredes ligeramente inclinadas.
- Pipetas de 1 y 2 mL de doble aforo.
- Baño de agua o baño de arena o placa calefactora.
- Horno de mufla provisto de termostato y capaz de alcanzar al menos 800°C.
- Desecador provisto un agente deshidratante eficiente con indicador.
- Balanza analítica.
- Pinzas adecuadas para el manejo de las cápsulas.

### **Reactivos y soluciones.**

- Agua Destilada PA.

- Acetato de Magnesio 4-Hidrato PA.
- Solución de Acetato de Magnesio que contenga 150 g/L. Pesar 25g de (ó 15g de reactivo anhidro) y llevarlos, una vez disueltos, a un matraz de 100 mL y enrasar.

#### **Procedimiento.**

Introducir la cápsula bien limpia en el horno regulado a 550°C durante 20 min. Sacarla e introducirla en el desecador, permaneciendo en el desecador 30 min. Pesarla con una precisión de 0,1mg.

Introducir en la cápsula una masa de muestra de alrededor de 5 g, preparada y pesada con una precisión de 0,1mg. Añadir 1 mL de la solución de Acetato de Magnesio 4-Hidrato PA uniformemente. Colocar la cápsula en un baño de arena, o placa calefactora, hasta conseguir la carbonización de la muestra, prestando mucha atención a las posibles proyecciones. Transferir la cápsula al horno de mufla que debe quedar estabilizado a 550°C por espacio de, al menos, 1 hora. Si las cenizas no alcanzan el grado de blancura deseado, debe sacarse la cápsula, dejarla enfriar y añadir unos mililitros (2-4) de Agua Destilada PA. Evaporar el agua en baño de arena. Introducir de nuevo la cápsula en el horno de mufla por espacio de 30 min., y repetir las operaciones anteriores si es necesario hasta conseguir unas cenizas blancas o ligeramente grises. Sacarlas del horno e introducirlas en el desecador durante 30 min.

Pesar con precisión de 0,1mg.

Efectuar dos determinaciones sobre la misma muestra.

Calculo.

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{(M_2 - M_0 - M_3)}{(M_1 - M_0)} \times 100$$

Siendo:

$M_0$  = masa, en g, de la cápsula.

$M_1$  = masa, en g, de la cápsula conteniendo la muestra.

$M_2$  = masa, en g, de la cápsula y el residuo después de incineración.

$M_3$  = masa, en g, del óxido proveniente de la disolución de acetato de magnesio añadido.

Observaciones.

La diferencia entre dos determinaciones sobre la misma muestra, realizada simultáneamente una después de otra por el mismo analista, no debe ser superior a 0,10g por 100g de muestra. (Panreac, 1999).

### **DETERMINACIÓN DE CENIZAS EN LECHE.**

Los minerales presentes en la leche, se encuentran en forma de sales de calcio, magnesio, sodio y potasio. Estas sales pueden ser fosfatos, citratos y cloruros. El contenido de cenizas es un valor analítico indicativo de la cantidad de materia no combustible en la leche y da una idea del contenido de minerales totales, pero no puede indicar cómo están estos minerales distribuidos en la leche. Los niveles de cenizas en la leche son de aproximadamente 0,7% y un valor mucho más alto constituye un indicativo de condiciones anormales en la glándula secretora. El % de sales y los componentes en las cenizas, varían con los factores usuales: raza, alimentación, estación del año, ciclo de lactación, enfermedades e individualidad del animal, etc.



## TÉCNICA OPERATORIA (PANREAC. MÉTODOS OFICIALES DE ANÁLISIS. LECHE Y PRODUCTOS LÁCTEOS. 1999)

### Principio.

Se entiende por contenido en cenizas de la leche el producto resultante de la incineración del extracto seco, expresado en porcentaje en peso, obtenido según el procedimiento a continuación descrito.

El extracto seco se incinera a una temperatura determinada y en una lenta corriente de aire.

### Material y aparatos.

- Balanza de sensibilidad 0.1 mg como mínimo.
- Desecador provisto de un buen deshidratante (Gel de Sílice con indicador).
- Estufa de desecación, regulada a 120°C.
- Horno eléctrico con circulación de aire, provisto de un regulador de temperatura.
- Cápsulas de platino o de un material inalterable en las condiciones de ensayo de aproximadamente 55 mL de diámetro y 25 de altura.
- Baño de agua a temperatura de ebullición.

### Procedimiento.

Colocar la cápsula en la estufa de desecación a  $120^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  durante 30 minutos. Pasarla luego al desecador, dejarla enfriar a la temperatura ambiente y pesar. Pesar exactamente alrededor de 10 g de leche en la cápsula. Poner la cápsula en baño de agua hirviendo hasta secado por evaporación (aproximadamente siete

horas). Incinerar el extracto seco, procedente de la desecación anterior, por calentamiento durante 2 o 3 horas en un horno regulado entre 520° y 550°C (no debe existir en este último, partículas de productos orgánicos). Poner a enfriar la cápsula en el desecador. Pesar con una aproximación de 0.5 mg.

### **Cálculo.**

Calcular el contenido de cenizas en la leche expresado en porcentaje en peso.

$$\% \text{ cenizas} = \frac{m(\text{cenizas})}{m(M)} \cdot 100$$

donde:

$m(\text{cenizas}) = m(\text{cápsula} + \text{cenizas}) - m(\text{cápsula vacía})$ , en gramos

$m(M)$  es la masa en gramos de la porción de ensayo inicialmente pesada

### **Observaciones.**

El peso de las cenizas es variable según las condiciones de incineración. La técnica descrita anteriormente proporciona los resultados más constantes; las diferencias no pasan generalmente de un 2 % por término medio, y el 95 % por lo menos de los cloruros se encuentran en las cenizas.

Cuando la temperatura del horno se haya elevado ligeramente por encima de 550°C, determinar los cloruros y corregir en consecuencia el peso de las cenizas.

Si a la muestra se le ha añadido dicromato de potasio, es necesario efectuar dos correcciones para obtener un valor aproximado de las cenizas de la leche inicial, operando como sigue:

1- Determinar el dicromato de potasio y restar su peso del de las cenizas.

2- Determinar los cloruros en las cenizas, expresarlos en NaCl y añadir al peso de las cenizas la diferencia entre los cloruros totales y los cloruros resultantes. (Panreac., 2013).

Determinación de las cenizas en leche en polvo. NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 302: 2012-11-21

### **1. Objeto**

Esta norma tiene por objeto establecer el método para determinar el contenido de cenizas en la leche en polvo.

### **2. Alcance**

Esta norma se aplica a los siguientes tipos de leche:

- a) Tipo I. Leche entera en polvo.
- b) Tipo II. Leche semidescremada en polvo.
- c) Tipo III. Leche descremada en polvo.

### **3. Resumen**

Se incinera a  $530^{\circ} \pm 20^{\circ}\text{C}$  el residuo total proveniente de la determinación de la humedad y se pesa el resto, que corresponde a las cenizas de la leche en polvo.

### **4. Instrumental**

- Balanza analítica. Sensible al 0,1 mg.
- Crisol de platino, o de otro material inalterable a las condiciones del ensayo, de fondo plano, con diámetro de 60 - 80 mm y 25 mm de altura.
- Desecador, con cloruro de calcio anhidro u otro deshidratante adecuado.

- Mufla, con regulador de temperatura, ajustada a  $530^{\circ} \pm 20^{\circ} \text{C}$ .

## 5. Preparación de la muestra

- La leche en polvo es un producto que absorbe fácilmente la humedad y olores extraños; por tanto, es necesario que todos los utensilios y recipientes, además de limpios y estériles, estén secos.
- La extracción de la muestra debe realizarse en un ambiente seco y exento de polvo y olores, lo más rápidamente posible, procurando reducir al mínimo el tiempo que el producto a ser ensayado permanezca en contacto con el aire.
- Transferir la leche en polvo a un frasco limpio, estéril y bien seco, de capacidad aproximadamente dos veces el volumen de la muestra, e inmediatamente tapar y homogeneizar, invirtiendo varias veces el recipiente que lo contiene.

## 6. Procedimiento

- La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra preparada.
- Lavar el crisol cuidadosamente y secarlo en la mufla ajustada a  $530^{\circ} \pm 20^{\circ} \text{C}$ , durante 1 h. Dejar que se enfríe en el desecador por 60 min y pesarlo con aproximación a 0,1 mg.
- Invertir la botella que contiene la muestra preparada; inmediatamente transferir al crisol y pesar, con aproximación a 0,1 mg, aproximadamente 2 g de muestra.
- Colocar el crisol cerca de la puerta de la mufla abierta y mantenerlo allí durante unos pocos minutos, para evitar pérdidas por proyección de material, lo que podría ocurrir si el crisol se introduce directamente en la mufla.
- Introducir el crisol en la mufla a  $530^{\circ} \pm 20^{\circ} \text{C}$ , hasta obtener cenizas libres de partículas de carbón (esto se obtiene al cabo de 1 h).

- Sacar el crisol (con las cenizas), dejarlo enfriar en el desecador y humedecer las cenizas con agua.
- Romper los grumos formados valiéndose de una varilla y lavar algunas partículas adheridas a la varilla.
- Introducir el crisol con las cenizas húmedas a la estufa ajustada a  $102^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$  por 30 min, hasta evaporar a sequedad, y luego pasar a la mufla calentada a  $530^{\circ} \pm 20^{\circ}\text{C}$  por un tiempo adicional, osea, hasta que las cenizas estén libres de carbón.
- Sacar de la mufla el crisol y su contenido, dejar enfriar en el desecador por 1 h y pesar con aproximación a 0,1 mg.

## 7. Cálculos

El contenido de cenizas en la leche en polvo se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$C = \frac{m_1 - m}{m_2 - m} \times 100$$

Siendo:

C = cantidad de cenizas de la leche en polvo, en porcentaje de masa.

m = masa de la cápsula vacía, en g.

$m_2$  = masa de la cápsula con la leche en polvo (antes de la incineración), en g.

$m_1$  = masa del crisol con las cenizas (después de la incineración), en g.

## **8. Errores de método**

La diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder de 0,01%; en caso contrario, debe repetirse la determinación.

## **9. Informe de resultados**

Como resultado final, debe reportarse la media aritmética de los dos resultados de la determinación, aproximada a centésimas.

En el informe de resultados, deben indicarse el método usado y el resultado obtenido. Deben mencionarse, además, cualquier condición no especificada en esta norma, o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado.

Deben incluirse todos los detalles necesarios para la completa identificación de la muestra. (INEN, 2012).

## **DETERMINACIÓN DE CENIZAS EN CEREALES**

Los cereales son considerados como fuente importante de algunos minerales, los que se encuentran fundamentalmente en las capas externas del grano (pericarpio y capas de aleurona) y en el germen.

La composición mineral de los cereales refleja que son una fuente deficiente de calcio y que el fósforo es el que se encuentra en mayores cantidades. Sin embargo, gran parte de éste se encuentra como ácido fítico, el que posee baja biodisponibilidad y presenta la propiedad de asociar algunos minerales, por lo que es considerado como un tóxico natural, no obstante, existen fitasas en los granos, que en determinadas condiciones pueden lograr la hidrólisis de dicho ácido.

La importancia principal de la determinación de cenizas radica en el hecho que sirve para indicar el grado de extracción de la harina de trigo analizada. Mientras menor sea el porcentaje de cenizas en el resultado del análisis, inferior será la contaminación de salvado y germen en esa harina. Hay que recordar que el endospermo del grano contiene un 0,3 % aproximadamente de cenizas, sin embargo éstas alcanzan la cifra del 9 % en la cáscara, de aquí que el contenido de cenizas de una harina sea una señal efectiva de la perfección con que se realizó el proceso de molienda.

El principio en que se basa esta prueba se refiere a la combustión completa de las sustancias orgánicas presentes en la harina hasta lograr solamente las sustancias inorgánicas que no combustionan, el color final de la muestra incinerada debe ser un polvo blanco ligeramente grisáceo

Técnica operatoria (Panreac. Métodos oficiales de análisis. Cereales, derivados y cerveza. 1992)

### **Principio.**

El contenido en cenizas de un producto es el residuo resultante después de su incineración en condiciones determinadas. Este método es aplicable a los granos, harinas y otros productos derivados de los cereales.

### **Material y aparatos.**

- Balanza analítica con precisión de 0.1mg.
- Horno de mufla eléctrico, con circulación de aire suficiente, con mecanismos de regulación y control de temperatura.
- Cápsulas de incineración redondas de fondo plano, preferiblemente de aleación de oro y platino, o bien de cuarzo o de

porcelana. El diámetro de las cápsulas será de unos 5 cm, y la altura máxima de 2 cm.

- Desecador provisto de llave, con placa perforada de aluminio, conteniendo un agente deshidratante como cloruro de calcio anhidro 95% escutiforme o gel de sílice con indicador.

### **Procedimiento**

Pesar 5 g de muestra con aproximación de 10 mg; las restantes pesadas deben hacerse con aproximación de 0.1 mg. Inmediatamente antes de usar las cápsulas de incineración, secarlas en el horno a temperatura de 910°C durante 15 min. Enfriarlas en el desecador y pesarlas en cuanto alcancen la temperatura ambiente.

Introducir la muestra pesada en la cápsula repartiéndolas en una capa de espesor uniforme, sin comprimirla. Colocar la cápsula a la entrada del horno con la puerta abierta, y dejar que arda. Cuando las llamas se extingan, empujar las cápsulas al interior del horno y cerrar la puerta del mismo. Una vez cerrada la misma debe mantenerse en el horno una corriente de aire suficiente, que no sea tan fuerte como para arrastrar la sustancia fuera de las cápsulas.

La incineración se continúa hasta lograr la combustión total de la muestra incluso de las partículas carbonosas que puedan quedar incrustadas en las cenizas. Dar por terminada la incineración cuando el residuo sea blanco o gris después del enfriamiento. Sacar las cápsulas del horno y dejarlas enfriar en el desecador. Pesarlas tan pronto alcancen la temperatura ambiente.

La temperatura de incineración es de 910°C.

### **Calculo.**



El contenido de cenizas se expresa por 100 partes de sustancia seca y con dos cifras decimales.

$$\% \text{ cenizas} = \frac{m (\text{cenizas})}{m (M)} \cdot 100$$

donde:

$m (\text{cenizas}) = m (\text{cápsula} + \text{cenizas}) - m (\text{cápsula vacía})$ , en gramos

$m (M)$  es la masa en gramos de la porción de ensayo inicialmente pesada

El porcentaje de cenizas sobre materia seca se obtiene relacionando el valor de contenido de cenizas obtenido sobre materia húmeda o natural con el valor del contenido en humedad.

Límite de errores. Cuando el contenido de cenizas no rebase el 1% de la muestra la diferencia de los resultados de un ensayo efectuado por duplicado no deberá ser superior al 0,02%. Si el contenido de cenizas rebasa el 1% la diferencia no deberá ser superior al 2% de dicho contenido. Si es superior se repetirá la determinación. (Panreac , 1999).

## **DETERMINACIÓN DE CENIZAS EN VINOS**

El vino constituye una bebida alcohólica obtenida por procesos de fermentación del zumo de la uva por acción de cierto grupo de microorganismos denominados levaduras.

Como todos los jugos vegetales, el mosto contiene un gran número de materias minerales. El vino que resulta de su fermentación es siempre menos rico en elementos minerales y en ciertos casos pueden desaparecer. Se denomina cenizas del vino al residuo de

calcinación de extracto seco, completamente desprovisto de carbón. De otra manera, se denomina cenizas al conjunto de los productos de la incineración del residuo de la evaporación del vino, conducido de manera de obtener la totalidad de los cationes (amonio excluido) bajo la forma de carbonatos y otras sales minerales anhidras.

Los vinos tintos tienen mayor contenido de cenizas que los blancos. Las cenizas o materiales minerales contenidas en un vino oscilan entre 1 y 3 g/L, y supone aproximadamente el 10% del extracto seco.

La determinación de las sustancias minerales contenidas en el vino, cuya expresión general son las cenizas, sirve, entre otras cosas, para diagnosticar si un vino ha sido aguado.

Otro análisis que se puede realizar además a las cenizas es su alcalinidad. Las cenizas del vino son alcalinas, en efecto, en el momento de la calcinación, los ácidos orgánicos libres desaparecen completamente o bien son transformados en carbonatos, especialmente los ácidos tártrico y málico, así como el bitartrato de potasio y el tartrato neutro de calcio, dando carbonatos alcalinos o alcalino térreos, de reacción alcalina. En cuanto a los ácidos minerales fuertes, que están en el vino al estado de sales, ellos se encuentran bajo el mismo estado en las cenizas.

Por lo tanto, la alcalinidad de las cenizas mide la cantidad de ácidos orgánicos que están en el vino bajo la forma de sales más o menos disociadas, estos valores de alcalinidad de las cenizas pueden representar un índice de seguridad en el aguado o en confirmar la

adición de ácido sulfúrico a ciertas muestras, para aumentar color en tintos o subir la acidez total en vinos blancos.

Técnica operatoria (Panreac. Métodos oficiales de análisis. Productos derivados de la Uva, aguardientes y sidras. 1999)

### **Principio:**

Se denomina cenizas de un vino, al conjunto de los productos de incineración del residuo de evaporación de un volumen conocido del vino, realizada de manera que se puedan obtener todos los cationes (excepto amonio) en forma de carbonatos y otras sales minerales anhidras.

### **Materiales y aparatos:**

- Horno eléctrico regulable.
- Baño de agua y baño de arena.
- Lámpara de infrarrojo.
- Cápsula de platino o de cuarzo de 70 mm de diámetro y 25 mm de altura, fondo plano.

### **Procedimiento:**

Colocar 20 mL de vino en una cápsula tarada en balanza que aprecie 1/10 de mg. Evaporar con precaución en baño de agua, después de evaporar hasta consistencia siroposa, continuar el calentamiento sobre baño de arena con moderación y durante una media hora. Es conveniente ayudar a la evaporación con la aplicación de rayos infrarrojos hasta carbonización. Cuando ya no se desprendan vapores, llevar la cápsula al horno eléctrico a  $525^{\circ}\text{C} \pm 25^{\circ}\text{C}$  y con aireación continua.

Después de 5 minutos de carbonización completa, sacar la cápsula del horno, dejar enfriar y añadir 5 mL de agua que se evaporan en baño de agua, y llevar de nuevo al horno a 525°C.

Si la combustión de las partes carbonosas no se consigue en 15 minutos, volver a comenzar la operación de adición de agua, evaporación y recalcinación.

Cuando se trate de un vino rico en azúcares, se recomienda adicionar unas gotas de aceite puro vegetal al extracto, antes de comenzar la calcinación para impedir el desbordamiento de la masa del contenido. La duración de la primera carbonización deberá ser en este caso 15 minutos.

Después de enfriar en la desecadora cápsula y cenizas, se pesan.

Cálculo:

Calcular el contenido en cenizas expresado en g/L.

Cenizas = 50 P g/L

P = peso en g de las cenizas contenidas en 20 mL de vino.

Dar los resultados con una aproximación de 0,03 g/L.

(Panreac, 1999).

Determinación de cenizas en vinos. INEN 0348

## **1. Objeto**

Esta norma tiene por objeto establecer el método para determinar el contenido de cenizas en bebidas alcohólicas en general.

## **2. Terminología**

Cenizas. Es el producto resultante de la calcinación del residuo obtenido por evaporación de las bebidas alcohólicas, efectuada de

manera tal, que se logre la totalidad de los cationes (excluyendo el radical amonio), bajo la forma de carbonates y de otras sales minerales anhidros.

### **3. Resumen**

Calcinar el extracto de una muestra de bebida alcohólica a una temperatura de  $525^{\circ} \pm 25^{\circ}\text{C}$ , hasta la combustión completa del carbono, enfriar las cenizas en un desecador y pesar.

### **4. Instrumental**

- ✓ Balanza analítica, sensible al 0,1 mg,
- ✓ Mufla, con regulador de temperatura ajustable a  $525^{\circ} \pm 25^{\circ}\text{C}$
- ✓ Baño María,
- ✓ Cápsula de porcelana, de capacidad equivalente a 50 o 100 cm<sup>3</sup>
- ✓ Desecador, con cloruro de calcio anhidro u otro deshidratante adecuado.
- ✓ Reverbero eléctrico, o evaporador de rayos infrarrojos.
- ✓ Vaso de precipitación, graduado, de 250 cm<sup>3</sup>
- ✓ Matraz, de 1000 cm<sup>3</sup>, de fondo redondo y provisto de aditamentos para practicar el vacío: 2g mediante una trompa de agua.

### **5. Reactivos**

- ✓ Aceite vegetal puro, preferentemente de oliva
- ✓ Agua destilada. Exenta de anhídrido carbónico

### **6. Reparación de la muestra**

Si la bebida alcohólica analizada contiene anhídrido carbónico (champaña, vinos espumantes, sidras, cervezas), eliminarlo colocando la muestra en un matraz de 1000 cm<sup>3</sup>, en el cual se practica el vacío mediante una trompa de agua. Debe agitarse el

matraz hasta que no se obtenga más desprendimiento de gas (uno o dos minutos).

## 7. Procedimiento

7.1. La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra preparada.

7.2. Colocar la cápsula de porcelana en la mufla calentada a  $525^{\circ} \pm 25^{\circ}\text{C}$ , por un tiempo de 15 min, sacar y mantener en el desecador hasta temperatura ambiente y pesar con aproximación al 0,1 mg.

7.3. Si se trata de bebidas alcohólicas fermentadas, colocar 20 cm<sup>3</sup> de muestra en la cápsula de porcelana y evaporar, cuidadosamente, en baño María hirviente.

✓ Calentar el extracto obtenido, a temperatura moderada, sobre el reverbero eléctrico o bajo un evaporador de rayos infrarrojos, para carbonizar el producto.

✓ Si se trata de vino rico en azúcares, debe añadirse al extracto, antes de la carbonización, algunas gotas de aceite vegetal puro, a fin de evitar el desborde del contenido de la cápsula.

✓ Cuando el residuo carbonizado haya dejado de emitir vapores, colocar la cápsula en la mufla y calcinar durante 5 minutos a  $525^{\circ} \pm 25^{\circ}\text{C}$

✓ Si se añadió aceite vegetal puro (ver 7.3.2), la calcinación debe efectuarse durante 15 minutos a  $525^{\circ} \pm 25^{\circ}\text{C}$ .

✓ Retirar la cápsula y su contenido de la mufla y dejar enfriar; luego, adicionar 5 cm<sup>3</sup> de agua destilada y evaporar inmediatamente en el baño María hirviente.

✓ Colocar nuevamente la cápsula en la mufla a  $525^{\circ} \pm 25^{\circ}\text{C}$ , por 15 minutos; si luego de este tiempo se observa que la combustión de las partículas carbonosas no ha terminado, repetir las

operaciones de lavado con 5 cm<sup>3</sup> de agua destilada, evaporación y calcinación en la mufla.

- ✓ Retirar la cápsula de la mufla y colocarla en el desecador para enfriamiento.

- ✓ Pesar la cápsula con su contenido, con aproximación al 0,1 mg.

7.4 Si se trata de bebidas alcohólicas destiladas:

- ✓ Colocar 200 cm<sup>3</sup> de muestra en un vaso de precipitación y evaporar en el baño María, hasta tener la muestra reducida a 20 cm<sup>3</sup>.

- ✓ Transferir cuidadosamente la muestra reducida a la cápsula de porcelana, lavando el vaso de precipitación con pequeñas porciones de agua destilada.

- ✓ Evaporar el contenido de la cápsula en el baño María hirviendo.

- ✓ Continuar como se indica desde 7.3.1 hasta 7.3.7.

7.5 Si se trata de licores:

- ✓ Colocar 50 cm<sup>3</sup> de muestra en la cápsula de porcelana y calentar sobre el reverbero eléctrico para eliminar el agua.

- ✓ Adicionar algunas gotas de aceite vegetal puro y continuar el calentamiento, hasta que termine la ebullición.

- ✓ Colocar la cápsula en la mufla a  $525^{\circ} \pm 25^{\circ}\text{C}$ , hasta que se observen cenizas casi blancas, las que deben humedecerse con una pequeña cantidad de agua destilada.

- ✓ Evaporar el contenido de la cápsula en el baño María hirviendo y luego secar utilizando el reverbero eléctrico.

- ✓ Calcinar nuevamente en la mufla a  $525^{\circ} \pm 25^{\circ}\text{C}$ , hasta obtener cenizas blancas.

- ✓ Pesar la cápsula con su contenido, con aproximación al 0,1 mg.

## 8. Cálculos

El contenido de cenizas en bebidas alcohólicas se determina mediante la ecuación siguiente:

$$C = 1000 \frac{m_2 - m_1}{V}$$

Siendo:

C = contenido de cenizas, en gramos por 1 000 cm<sup>3</sup> de muestra.

m<sub>1</sub> = masa de la cápsula vacía, en gramos.

m<sub>2</sub> = masa de la cápsula con cenizas, en gramos.

V = volumen de la muestra analizada, en cm<sup>3</sup>.

## 9. Errores de método

La diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder del 2%; en caso contrario, debe repetirse la determinación.

## 10. Informe de resultados

Como resultado final, debe reportarse la media aritmética de los resultados de la determinación.

En el informe de resultados, deben indicarse el método usado y el resultado obtenido. Debe mencionarse, además, cualquier condición no especificada en esta norma, o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado.

Deben incluirse todos los detalles para la completa identificación de la muestra. (INEN , 2013).



## **DETERMINACIÓN DE CENIZAS EN CERVEZA.**

La cerveza es una bebida alcohólica muy antigua, desarrollada por los pueblos de los imperios mesopotámicos y por los egipcios, resultado de fermentar los cereales germinados en agua, en presencia de levadura. Aunque existen en el mercado cervezas de trigo, mijo y arroz, la más habitual es la obtenida a partir de la fermentación de la cebada.

Una vez embebida de agua, la cebada se deja germinar a fin de que el almidón se convierta en azúcar soluble. Una vez conseguido este proceso, se seca y se tuesta más o menos, según se quiera obtener una cerveza pálida, dorada o negra.

Para conseguir ese paladar amargo que caracteriza a la cerveza, se le añade lúpulo o, más exactamente, su flor, un cono de pétalos dorados que contiene resinas y aceites aromáticos.

Para conseguir la mezcla de ambos sabores, se añade el lúpulo durante el proceso de ebullición de la cerveza, en las tinas de cobre, al tiempo que también se adiciona el azúcar. Sin la presencia del lúpulo, la masa en ebullición o Wort podría utilizarse para la destilación de whisky.

Si la cerveza tiene mucho gas carbónico, ya sea natural o añadido, se denomina "Lager". La "Stout" es oscura y densa, algo dulzona, característica de Irlanda e Inglaterra. La "Bock" es densa y guarda algo de aroma de las levaduras. La cerveza clara es una clase inglesa, suave, endulzada y con intenso sabor a lúpulo.

La cerveza contiene más de 30 minerales entre elementos trazas, la mayoría de éstos se originan en la cebada malteada. Un litro de

cerveza satisface casi la mitad de las necesidades diarias de magnesio de un adulto, y un 40% y 20% respectivamente de las necesidades diarias de fósforo y potasio. Su alto contenido en potasio unido al bajo contenido de sodio la convierte en un excelente diurético; así mismo, al ser baja en calcio y rica en magnesio, tiene valores preventivos contra todo tipo de enfermedades del corazón y contra la formación de cálculos y piedras en las vías urinarias

Técnica operatoria (Panreac. Métodos oficiales de análisis. Cereales, derivados de cereales y cerveza. 1999)

Principio.

Evaporar a sequedad 50 mL de cerveza y determinar el peso del residuo después de su incineración.

Material y aparatos.

- Cápsula para evaporación de 100 mL, de platino, cuarzo o porcelana.
- Baño de agua o vapor.
- Horno de mufla.
- Pipeta de 50 mL ( $\pm 0.1$  mL).
- Balanza analítica.
- Desecador.

Procedimiento.

Pipetear 50. mL de cerveza en una cápsula previamente tarada y evaporar a sequedad en un baño de agua o vapor. Calcinar a temperatura moderada no pasando del rojo sombra (550°C), hasta obtención de cenizas blancas. Enfriar en un desecador y pesar con

una precisión de 0,0001 g. Determinar la densidad de la cerveza a 20 °C, por el método del picnómetro.

Calculo.

El contenido de cenizas expresado en porciento en peso vendrá dado por la siguiente formula:

$$\text{Cenizas (\% en peso)} = \frac{100 \times p}{50 \times d} = \frac{2 \times p}{d}$$

p= Peso en en gramos de las cenizas.

d = Densidad en g/mL de la cerveza, medida a 20°C/20°C.

(Panreac , 1999).

## **TÉCNICAS EXPERIMENTALES DE DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS**

### **DETERMINACIÓN DE CASEÍNA EN LECHE**

La leche es el fluido biológico que se obtiene higiénicamente del ordeño completo y continuado de las hembras de diversas especies, a partir de animales sanos, no cansados y bien alimentados. Posee sabor dulzón y aroma y color característicos.

La calidad de la leche depende de su composición química, física y bacteriológica.

En la composición química de la leche de vaca, los nutrimentos que forman parte del extracto seco (12,5%) y que se encuentran en abundancia son los carbohidratos, (4,7%), las proteínas (3,5%) y los lípidos (3,5%) y en menor cuantía los minerales, las vitaminas y las enzimas. Una medida rápida para detectar adulteración de los sólidos de la leche es la determinación de su densidad. La densidad de la leche entera oscila entre 1,028-1,032 g/mL.

La fracción de los carbohidratos está representada básicamente por el disacárido lactosa, la fracción proteica está compuesta por las caseínas y las proteínas del lactosuero, las cuales tienen elevado valor biológico, y en la fracción lipídica, el máximo representante son los triacilglicéridos. La leche constituye una fuente importante de satisfacción de los requerimientos de calcio, fósforo y riboflavina del organismo humano.

La composición de la leche está determinada por varios factores: la raza, los factores genéticos, la alimentación del ganado, la salud del animal, el período de lactancia, las estaciones del año y el stress, siendo la raza el factor que más influye.

Este alimento natural es tal vez el más complejo y original, no sólo por su composición sino también por la presencia de sus componentes en diferentes estados físico-químicos.

La leche es una materia prima muy versátil, de la cual se elaboran un gran número de productos, fermentados o no, entre los que se encuentran los quesos, la mantequilla, los helados y las leches fermentadas, entre otros.

El componente principal del valor nutricional de la leche son las proteínas, no sólo por su buena asimilación sino también por su composición aminoacídica, ya que las proteínas lácteas contienen todos los aminoácidos indispensables para el organismo animal.

Aproximadamente el 80% de las proteínas totales de la leche está constituido por caseínas. Es el único alimento que contiene este tipo de proteína. El 20% restante está representado por las proteínas del lactosuero.

En la fracción caseínica se encuentran un conjunto de glicoproteínas fosforadas heterogéneas. Su contenido en leche

oscila entre 3,0-3,5% y determina el rendimiento en la elaboración de quesos, ya que el coagulo que se forma durante el proceso de coagulación constituye la fracción sólida y está conformado por caseínas asociadas al calcio, de ahí la importancia de su determinación en la leche fresca destinada a la elaboración de quesos.

Técnica operatoria (Panreac. Métodos oficiales de análisis. Leche y productos lácteos. 1999)

Principio.

Se entiende por contenido de caseína en leche el contenido en proteínas, expresado en porcentaje en peso, obtenidas después de una precipitación a pH 4.6, siguiendo el procedimiento expuesto a continuación que corresponde con la norma FIL-20: 1964 de la Federación Internacional de Lechería.

Este método es aplicable a las leches no alteradas, natural, higienizada, esterilizada y a las reconstituidas también, no alteradas posteriormente, de las leches concentrada, evaporada, condensada y en polvo. Asimismo puede aplicarse a las muestras de leche conservadas por la adición de formaldehído (1:2. 500).

Se determina la cantidad total de nitrógeno de la leche. A continuación la caseína se precipita con un tampón acético-acetato y se filtra. Se determina luego la cantidad de nitrógeno del filtrado.

La cantidad de caseína se calcula con estas dos determinaciones de nitrógeno, que se realizan por el método Kjeldahl.

Material y aparatos.

- Pipetas de 0.5, 1 y 10 mL.
- Probeta graduada de 100 mL.

- Matraz graduado de 100 mL.
- Papel de filtro, lavado en ácido, velocidad media: de 11 a 12.5 cm.
- Embudos.

Reactivos y soluciones.

- Ácido Acético glacial PA.
- Agua Destilada PA.
- Acetato de sodio PA.
- Solución de Ácido Acético al 10 % m-V
- Solución de Acetato de Sodio 1 M.

Procedimiento.

Preparación de la muestra: Antes del análisis, poner la muestra a  $20^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$  y mezclarla cuidadosamente. Si no se obtiene una dispersión homogénea de la materia grasa, calentar a  $40^{\circ}\text{C}$ , mezclar suavemente y enfriarla de nuevo a  $20^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

Determinación:

Determinar el contenido total de nitrógeno (NT) de la leche utilizando el método adjunto para la determinación de proteínas.

Precipitar la caseína de la siguiente forma: llevar con pipeta 10 mL de leche a un matraz aforado de 100 mL. Añadir 75 mL de Agua Destilada PA a  $40^{\circ}\text{C}$ ; después 1 mL de la solución de Ácido Acético. Mezclar suavemente el contenido del matraz y esperar 10 minutos. Añadir la solución de Acetato de Sodio 1 M. Mezclar de nuevo. Dejar enfriar el contenido del matraz a unos  $20^{\circ}\text{C}$ , completar hasta 10 mL con Agua Destilada PA y mezclar invirtiendo lentamente el matraz. Cuando el precipitado de caseína y materia grasa se haya

depositado, filtrar con filtro seco y recoger el filtrado en un recipiente seco.

Determinar el contenido de nitrógeno de 50 mL del filtrado límpido (nitrógeno no caseínico: NNC), utilizando igualmente el método adjunto para la determinación de proteínas.

Ensayo en blanco:

Además del ensayo en blanco previsto para el método adjunto relativo a la determinación del contenido de nitrógenos totales de la leche, conviene hacer un ensayo en blanco para comprobar los reactivos que precipitan la caseína, utilizando 50 mL de Agua Destilada PA, 0.5 mL de la solución de Ácido Acético y 0.5 mL de la solución de Acetato de Sodio 1 M.

Cálculo.

Calcular el porcentaje en peso de NT en la leche y del NNC en el suero límpido con tres cifras significativas. Corregir la cifra obtenida para NNC por el volumen del precipitado, multiplicando el valor obtenido por 0.994. Calcular la cantidad de caseína mediante la fórmula.

$$\text{caseína (\%)} = 6.38 (NT - NNC)$$

La aplicación de este factor a todas las leches enteras no entraña error sensible; sin embargo, si se aplica el método a leche desnatada, el factor de corrección utilizado deberá ser 0.998.

La diferencia entre dos determinaciones repetidas no debe sobrepasar el 0.04 % de caseína. (Marchante y Zumbado, 2008).

Método adjunto para la determinación de proteínas por Kjeldhal.

Principio.

Se entiende por contenido en proteínas de la leche el contenido en nitrógeno expresado en porcentaje en peso y multiplicado por el factor de conversión, que se determina por el método expuesto a continuación, el cual corresponde al descrito en la norma FIL- 20: 1962 de la federación Internacional de Lechería.

Este método es aplicable a las leches no alteradas, natural, certificada, higienizada, esterilizada y a las reconstituidas, asimismo no alteradas, posteriormente de las leches concentrada, evaporada, condensada y en polvo.

La determinación del nitrógeno total se realiza por aplicación del método Kjeldahl: una determinada cantidad pesada de leche se trata con ácido sulfúrico en presencia de óxido de mercurio II como catalizador con objeto de transformar el nitrógeno de los compuestos orgánicos en nitrógeno amoniacal. El amoníaco se libera por adición de hidróxido de sodio, se destila y se recoge en una solución de ácido bórico. A continuación se valora el borato formado con solución de ácido clorhídrico.

Material y aparatos.

- Balanza analítica de 1 mg de sensibilidad mínima.
- Aparato de digestión que permita mantener el matraz Kjeldahl en una posición inclinada y provisto de un sistema de calentamiento que no afecte más que ala parte del matraz ocupada por el líquido.
- Matraz Kjeldahl de 500 mL de capacidad.
- Refrigerante Liebeig de tubo interior rectilíneo.
- Un tubo de salida con bulbo de seguridad esférico, conectado a la parte inferior del refrigerante por unión esmerilada.



- Una alargadera conectada al matraz Kjeldahl y el refrigerante Liebig por medio de goma. Uniones esmeriladas.
- Un matraz erlenmeyer de 500 mL de capacidad.
- Probetas graduadas de 25, 50, 100 y 150 mL.
- Bureta de 50 mL graduados a 0.1 mL.
- Materiales para facilitar la ebullición. En la digestión, pequeños trozos de porcelana dura o de perlas de vidrio, y en la destilación, pequeños trozos de piedra pómez recién calcinados.

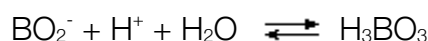
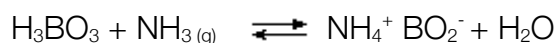
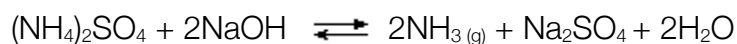
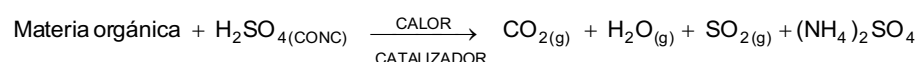
Reactivos y soluciones.

- Ácido Clorhídrico (37% m-m, 1.19 Kg/L) PA.
- Ácido Sulfúrico (1.84 Kg/L y 96% m-m) PA.
- Agua Destilada PA.
- Azul de Metileno DC.
- Indicador Mixto para valoraciones de amoníaco.
- Oxido Rojo de Mercurio (II).
- Piedra Pómez 4-8 mm.
- Sulfato de Potasio PA.
- Rojo de Metilo.
- Tetra-Borato de Sodio 10-Hidrato PA.
- Hidróxido de Sodio PA.
- Sulfuro de Sodio 9-Hidrato.
- Solución de Ácido Bórico al 4% m-V.
- Solución estandarizada de Ácido Clorhídrico 0.1N

- Solución de Hidróxido de Sodio: 500 g de Sodio Hidróxido PA y 12 g Sulfuro de Sodio 9-Hidrato disueltos en 1000 mL de agua destilada PA.
- Indicador Mixto: en su defecto puede prepararse disolviendo 2 g de Rojo de Metilo y 1 g de Azul de Metileno DC en 1000 mL de Alcohol Etílico 96% V-V PA.

Los reactivos y las soluciones utilizadas no deben contener sustancias nitrogenadas.

Reacciones químicas:



Procedimiento.

Preparación de la muestra:

Antes del análisis poner la muestra a  $20^\circ \pm 2^\circ \text{C}$  y mezclarla cuidadosamente. Si no se obtiene una dispersión homogénea de la materia grasa, calentar a  $40^\circ \text{C}$ , mezclar suavemente y enfriarla de nuevo a  $20^\circ \pm 2^\circ \text{C}$ .

Determinación:

Introducir sucesivamente en el matraz Kjeldahl algunas perlas de vidrio o pequeños trozos de porcelana, alrededor de 10 g Sulfato de Potasio PA, 0.5 g de Oxido rojo Mercurio II y alrededor de 5 g de leche exactamente pesados, con aproximación de 1 mg.

Añadir 20 mL de Ácido Sulfúrico 96% PA y mezclar el contenido del matraz. Calentar cuidadosamente el matraz Kjeldahl sobre el dispositivo para la reacción hasta que no se forme espuma y el contenido se vuelva líquido. Continuar la reacción por calentamiento más intenso, hasta que el contenido del matraz esté perfectamente límpido e incoloro. Durante el calentamiento, agitar de cuando en cuando el contenido del matraz. Cuando el líquido esté perfectamente límpido, proseguir la ebullición durante una hora y media, evitando todo sobrecalentamiento local.

Dejar enfriar el contenido del matraz a la temperatura ambiente, añadir alrededor de 150 mL de Agua Destilada PA y algunos fragmentos de Piedra Pómez, mezclar cuidadosamente y dejarlo todavía enfriar algo más. Con la ayuda de una probeta graduada, verter 50 mL de solución de Ácido Bórico 4% m-V en un matraz erlenmeyer colector, añadir cuatro gotas de indicador y mezclar. Situar el matraz erlenmeyer bajo el refrigerante, de manera que el extremo del tubo de salida se introduzca en la solución de Ácido Bórico. Con la ayuda de una probeta graduada añadir al contenido del matraz Kjeldahl 80 mL de la solución de Hidróxido de Sodio que contiene sulfuro. Durante esta operación, mantener el matraz inclinado, de tal manera que el Hidróxido de Sodio se deslice a lo largo de la pared del recipiente y que los líquidos se mezclen. Conectar inmediatamente el matraz Kjeldahl al refrigerante por medio de la alargadera. Mezclar el contenido del matraz por agitación. Calentar a ebullición evitando la espuma. Proseguir la destilación hasta el momento en que el contenido del matraz presente ebullición a saltos. Regular el calentamiento de manera que la destilación dure por lo menos 20 minutos. Enfriar bien el destilado para evitar que se caliente la solución de Ácido Bórico. Poco tiempo

antes de terminar la destilación, bajar el matraz erlenmeyer para que el tubo de salida no esté introducido en la solución de Ácido Bórico. Detener el calentamiento, elevar el tubo de salida y enjuagar sus paredes exteriores con un poco de Agua Destilada PA. Valorar el destilado con solución estandarizada de Ácido Clorhídrico 0.1 N.

Ensayo en blanco:

Efectuar un ensayo en blanco, aplicando el método operatorio descrito, pero utilizando 5 mL de Agua Destilada PA en lugar de leche.

Cálculo.

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{(V_M - V_B) \cdot c\left(\frac{\text{HCl}}{1}\right) \cdot 14 \cdot 100}{1000 \cdot m (M)}$$

dónde:

$V_M$  son los mL de HCl consumidos en la valoración de la muestra

$V_B$  son los mL de HCl consumidos en la valoración del ensayo en blanco

$c(\text{HCl}/1)$  es la normalidad o concentración molar del equivalente de la disolución de HCl

14 es la masa molar del equivalente de nitrógeno, expresada en g/mol

$m (M)$  es la masa en gramos de la porción de ensayo pesada para el análisis

La diferencia máxima entre dos determinaciones repetidas no debe sobrepasar el 0.005% de nitrógeno.

Proteínas: Para expresar el contenido en proteínas de la leche analizada es preciso multiplicar la cantidad de nitrógeno total,

obtenida según el método descrito, por un factor de conversión que es propio de cada alimento, en este caso es 6.38. (Zumbado, 2004).

### **DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS TOTALES POR EL MÉTODO KJELDAHL (MÉTODO INDIRECTO).**

Técnica operatoria (NC 79-06. Carne y productos cárnicos. Métodos de ensayo. 1981)

Principio:

Este método se basa en la digestión del producto con ácido sulfúrico concentrado el cual transforma el nitrógeno orgánico en iones amonio, en presencia de sulfato de cobre como catalizador, adición de un álcali, destilación del amoniaco liberado dentro de un exceso de solución de ácido sulfúrico y posterior valoración del exceso de ácido con solución de hidróxido de sodio.

Material y aparatos

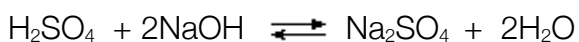
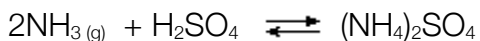
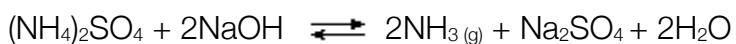
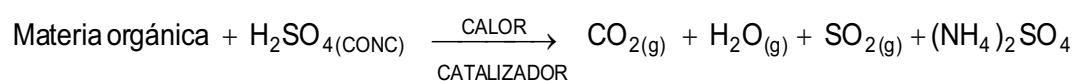
- Balanza analítica con capacidad máxima de 200 g y valor de división de 0.1mg.
- Aparato de digestión o mechero de gas
- Aparato de destilación con trampa Kjeldahl
- Buretas
- Balanza técnica con capacidad máxima de 1000g y valor de división 0.1g
- Cilindro graduado
- Frasco lavador
- Dedales de vidrio
- Embudos

- Erlenmeyer
- Balón Kjeldahl de no más de 800 mL

#### Reactivos y soluciones

- Sulfato de cobre(II) pentahidratado PA
- Sulfato de potasio anhidro PA
- Hidróxido de sodio PA
- Ácido sulfúrico PA (96% m-m; 1.84 Kg/L)
- Etanol 96% V-V
- Solución de hidróxido de sodio 35% m-V
- Solución estandarizada de ácido sulfúrico 0.1 N.
- Solución estandarizada de hidróxido de sodio 0.1 N.
- Solución indicadora de rojo de metilo y azul de metileno: Mezcle 2 g de rojo de metilo y 1 g de azul de metileno en 1000mL de etanol 96% V-V.

#### Reacciones químicas:



#### PROCEDIMIENTO

#### Preparación de la porción de ensayo:

Se pesa con un error máximo de 0.0001g entre 1 y 2 gramos de la muestra bien homogenizada en un vidrio de reloj previamente tarado.

La muestra una vez pesada se transfiere cuantitativamente a un balón Kjeldahl de 500 mL, se le añade 10 g sulfato de potasio, 0.5 g de sulfato de cobre y 25 mL de ácido sulfúrico concentrado, se agita bien y el balón se tapa con un embudo pequeño.

Determinación:

Se somete a la mezcla a un calentamiento suave inicialmente evitando la excesiva formación de espuma. Posteriormente se lleva a ebullición cuidando que los vapores del ácido no se condensen por encima del tercio inferior del cuello del balón.

Una vez que la mezcla quede transparente con un color azul verdoso claro, se continuara la ebullición durante media hora.

Terminada la digestión se deja enfriar y se le añaden 250 mL de agua destilada y algunas piedras pómez o perlas de cristal, para evitar los saltos bruscos de la mezcla durante la destilación.

Se prepara el vaso colector en el cual se colocan de 50 a 100 mL de solución 0.1 N de ácido sulfúrico (la cantidad de este se determina de acuerdo con el tipo de producto) y algunas gotas del indicador. Para que el extremo del tubo del condensador quede ligeramente por debajo de la superficie de la solución se añade a veces un poco de agua destilada.

Se añade al balón de destilación de 80 mL 100 mL de hidróxido de sodio al 35% (m-v). Se coloca inmediatamente en el destilador apretando bien el tapón. Se calienta y se destila hasta que se haya desprendido todo el amoníaco, esto ocurre cuando la cantidad del

líquido en el vaso colector se hace el doble de la relación con la inicial.

Se separa el vaso colector del destilador y se lava el tubo de destilación con el frasco lavador, recogiendo el agua de lavado en el mismo colector. Para verificar si la destilación del amoníaco ha terminado, utilice un papel de tornasol rojo humedecido en agua destilada, el color de este no debe cambiar al contacto con el líquido proveniente del refrigerante, si la destilación no ha terminado efectúe una nueva determinación.

Se valora el ácido sulfúrico libre que contiene el colector con solución de hidróxido de sodio 0.1 N, durante la valoración cambia el color rojo a amarillo naranja.

Cálculos

Los resultados se expresan en % de proteínas y se dan aproximadamente hasta la centésima. La diferencia entre los resultados de dos determinaciones realizadas simultáneamente o en rápida sucesión por el mismo analista no será mayor de 0.20 de N<sub>2</sub>.

$$\% \text{ Proteínas} = \frac{(V_B - V_M) \cdot c \left( \frac{\text{NaOH}}{1} \right) \cdot 14 \cdot 100 \cdot f}{1000 \cdot m (M)}$$

dónde:

V<sub>M</sub> son los mL de NaOH consumidos en la valoración de la muestra

V<sub>B</sub> son los mL de NaOH consumidos en la valoración del ensayo en blanco

c (NaOH/1) es la normalidad o concentración molar del equivalente de la disolución de HCl



14 es la masa molar del equivalente de nitrógeno, expresada en g/mol

m (M) es la masa de la porción de ensayo pesada para el análisis

f es el factor de conversión de % de nitrógeno a % de proteínas

(Normas Cubanas, 1981).

## **TÉCNICAS EXPERIMENTALES DE DETERMINACIÓN DE GRASAS**

### ***DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE GRASA TOTAL EN PRODUCTOS CÁRNICOS (MÉTODO SOXHLET)***

El contenido graso de las carnes se encuentra en un rango aproximado entre el 1 y el 3% del tejido fresco, dependiendo tanto en sus aspectos cuantitativos como cualitativos de la incidencia de muchos factores. La composición grasa de la carne depende de la especie animal, la raza, línea genética, del tipo de músculos, edad, estado del animal, de la abundancia y tipo de la alimentación. Aún las carnes que sean consideradas magras, siempre presentan cierta cantidad de grasa.

Los lípidos que entran en la composición de las carnes pueden encontrarse en diferentes localizaciones lo cual determina incluso ciertas características de éstos. Los fosfolípidos constituyen materiales plásticos y entran en la composición de los elementos estructurales de la fibra muscular: miofibrillas, membranas celulares, y gránulos, entre otros. El retículo sarcoplásmico se diferencia por su gran contenido en fosfolípidos.

Otra parte de los lípidos cumple con el rol de ser material energético de reserva. Estos se encuentran en el sarcoplasma en forma de pequeñas gotas en las crestas mitocondriales.

Una parte importante de los lípidos de las carnes se encuentra en los espacios intercelulares, entre los haces musculares y esta grasa intercalada entre las fibras musculares reviste gran importancia ya que de ella depende en gran parte el sabor y el grado de dureza de las carnes. Esta grasa extracelular, llamada también “grasa muscular” se encuentra principalmente en forma de triacilglicéridos, conteniendo cantidades notables de ácidos grasos como el oleico, palmítico y esteárico. Además contiene cantidades considerables de colesterol.

Los lípidos de las carnes presentan un alto contenido en ácidos grasos saturados, a diferencia de los aceites vegetales, que presentan una mayor proporción de ácidos grasos insaturados.

Desde que fuera demostrada, divulgada y aceptada la relación existente entre la incidencia de enfermedades circulatorias, especialmente cardiovasculares e isquémicas con un elevado consumo de grasas saturadas, las carnes han estado en el punto de mira de muchos consumidores y del mundo científico relacionado con el tema. Esto ha dado lugar al establecimiento de tendencias en los ámbitos científicos y tecnológicos. Tales tendencias han llevado por diferentes caminos, entre los que se pueden señalar, la búsqueda de modificaciones genéticas en razas de cerdos para obtener carnes más magras, el diseño de una gran variedad de productos cárnicos bajos en grasa y el abandono del consumo de carnes rojas por parte de muchos consumidores que han adoptado los puntos de vista vegetarianos.

Con independencia de cualquier consideración negativa respecto a la grasa presente en las carnes y productos cárnicos, este componente presenta también aspectos muy positivos, al contribuir al valor energético de este alimento, debido a que constituye una

fuelle concentrada de energía metabólica (9 Kcal/g); es fuente y vehículo de vitaminas liposolubles y contribuye notablemente al sabor y la palatabilidad de las carnes y sus productos, así como también influye de forma considerable sobre su textura.

Cuando la carne es empleada como materia prima para la elaboración de productos cárnicos, obviamente el contenido final de grasa depende fuertemente de la composición de la carne fresca de partida. Pero a su vez, este contenido final de grasa influye notablemente sobre las características sensoriales del producto obtenido, especialmente su textura. Para el fabricante de productos cárnicos, la adición de grasa a sus productos es una ventaja económica, pues mientras mayor cantidad de grasa pueda añadir en lugar de carne, menores son sus costos de producción y mayores los rendimientos ya que las materias primas grasas son generalmente de menor precio que las materias primas cárnicas. Por esta razón en muchos países, la legislación vigente vincula la calidad (y por tanto el precio máximo de venta) de los productos cárnicos de pasta fina con su contenido de grasa, para asegurar que el consumidor reciba, a cambio de lo que paga, un producto con una calidad y composición adecuada.

De ahí, que resulte de vital importancia la determinación del contenido graso de los productos cárnicos, por cuanto éste es una expresión de la formulación empleada en su elaboración, y representa un determinado costo. Valores por debajo de lo establecido en un producto, pudiera ser indicativo de fraudes tecnológicos o incumplimiento de las regulaciones establecidas. Su determinación puede considerarse también como uno de los aspectos que contribuye a la “protección al consumidor”. Por otra parte, el consumidor tiene pleno derecho a conocer y decidir sobre

el consumo de un componente tan importante como las grasas, cuya repercusión no se limita a la esfera económica o sensorial, sino a un aspecto tan vital como la salud. (Norma, NC-1443. Carne y productos cárnicos. Método de ensayo, 2004)

Técnica operatoria (Panreac. Métodos oficiales de análisis. Carne y productos cárnicos. 1999)

Principio.

Extracción de la grasa de la muestra previamente hidrolizada y desecada, por medio de hexano o éter de petróleo. Eliminación del disolvente por evaporación, desecación del residuo y posterior pesada después de enfriar.

Material y aparatos.

- Erlenmeyer de 500mL.
- Vidrios de reloj.
- Placa calefactora.
- Papel de filtro Albet 242 Ø o similar.
- Embudos.
- Extractor de Soxhlet.
- Estufa eléctrica.
- Balanza eléctrica
- Balanza analítica.
- Desecador provisto de un deshidratante eficaz (gel de Sílice con indicador).

Reactivos y soluciones.

- Agua Destilada PA.

- Ácido clorhídrico PA (30-37% m-m; 1.19 kg/L)
- Éter Etílico PA
- Éter de Petróleo 40-60°C PA
- Gel de sílice con indicador
- n-Hexano PA
- Piedra de pómez 4 a 8 mm
- n-Hexano PA o Éter de Petróleo 40-60°C PA con índice de bromo inferior a 1, o Éter de Petróleo 40-60°C PA exento de peróxidos.
- Solución de ácido clorhídrico 3 N.

#### Procedimiento.

Pesar con aproximación de 1 mg, 2.5 g de muestra preparada e introducirlos en un erlenmeyer de 500 mL. Añadir 100 mL de Ácido Clorhídrico 3N y unos trozos de Piedra de pómez 4 a 8 mm. Cubrir la boca del erlenmeyer con un vidrio de reloj, y someter la mezcla a una ebullición suave en la placa calefactora durante una hora. Enfriar y filtrar sobre doble filtro evitando cualquier paso de materia grasa al filtrado. Lavar el residuo con agua fría hasta desaparición de la reacción ácida. Verificar que en el filtrado no existe materia grasa.

Colocar los papeles de filtro conteniendo el residuo sobre un vidrio de reloj y desecarlos durante hora y media en la estufa a 95-98°C. Una vez seco el conjunto, introducirlo en un cartucho de extracción Soxhlet extrayendo la grasa con Éter Etílico PA durante 6 horas y regulando la ebullición de forma tal que se produzcan 15 sifonadas al menos en cada hora. Eliminar el disolvente en el rotovapor y eliminar el resto del disolvente en la estufa durante una hora y media a 75°C. Enfriar el matraz con la grasa en desecador, matraz que

previamente fue tarado, y pesar cuando se alcanza la temperatura ambiente.

Repetir el calentamiento y la pesada hasta que la diferencia entre dos consecutivas sea menor de 5 mg.

Cálculos.

Expresar el resultado en % m-m.

$$\% \text{ grasas} = \frac{m(\text{grasa})}{m(M)} \cdot 100$$

donde:

$m(\text{grasa}) = m(\text{matraz} + \text{grasas}) - m(\text{matraz vacío})$ , en gramos

$m(M)$  es la masa en gramos de la porción de ensayo inicialmente pesada

(Panreac, 1999).

#### 2.1.1. Determinación de grasa total en productos cárnicos

Técnica operatoria (NC-ISO 1443. Carne y productos cárnicos. Métodos de ensayo. 2004)

##### Principio

Liberación de la grasa por disolución de las sustancias proteicas, separación de la grasa por centrifugación y posterior medida volumétrica de ésta en el butirómetro de Gerber.

Material y aparatos.

- Balanza analítica con capacidad máxima de 200 g y valor de división 0.1 mg.
- Dosificador de émbolo de 10 mL para el ácido sulfúrico.
- Baño de agua regulable a 65° C.

- Centrífuga Gerber.
- Butirómetros original Gerber.
- Tapones de caucho.
- Vaso de precipitados de 100 ó 150 mL.

Reactivos y soluciones.

- Ácido sulfúrico PA (96% m-m; 1.84 Kg/L)
- Alcohol iso-amílico. .
- Solución de ácido sulfúrico 50% V-V.

Procedimiento:

Se pesan de 3 a 5 g de la muestra previamente molida y homogeneizada en un vaso especial del butirómetro. Posteriormente se añade al butirómetro solución de ácido sulfúrico 50% V-V hasta completar el vaso que contiene la muestra, después de lo cual se cierra con un tapón de goma y se coloca en un baño de agua a temperatura de 65°C a 70°C durante 20 minutos agitando el butirómetro en intervalos de 5 minutos. Una vez transcurrido este tiempo, se añaden al instrumento 1 mL de alcohol isoamílico y solución de ácido sulfúrico 50% V-V hasta la marca 35 del butirómetro; luego se tapa, se agita invirtiéndolo varias veces y se coloca nuevamente en el baño de agua durante 5 minutos a la misma temperatura. Pasado este tiempo, se coloca el butirómetro en la centrífuga y se centrifuga a 3000 rpm durante 5 minutos. Posterior a la centrifugación el butirómetro se coloca en el baño de agua y se mantiene en reposo durante 5 minutos. Posteriormente se lee directamente el porcentaje de grasa separada en la escala del butirómetro.

Cálculos:

Los resultados se expresan en porcentaje por lectura directa de la grasa separada en la escala del butirómetro. La diferencia entre los resultados de dos determinaciones realizadas simultáneamente o en rápida sucesión por el mismo analista, no será mayor de 0.5 g de grasa por 100 g de muestra. (Norma, NC-1443. Carne y productos cárnicos. Método de ensayo, 2004).

### **DETERMINACIÓN DE GRASA EN LECHE NATURAL, CERTIFICADA, HIGIENIZADA Y PASTEURIZADA (MÉTODO DE RÖSE GOTTLIEB)**

Los lípidos lácteos suministran la principal fuente de energía del alimento. El contenido y composición de los lípidos de la leche de diferentes especies varía con diferentes factores, siendo el principal la raza y el ciclo de lactación. En leche de bovinos el contenido promedio es de 37 g/L. También contribuyen a esa variación, la dieta del ganado, y la estación del año entre otros.

La comúnmente denominada grasa láctea está compuesta en su mayor fracción (97–98%) por triacilglicéridos de bajo y alto punto de fusión. El resto de la grasa está representada por diacilglicéridos, monoacilglicéridos y en menor proporción fosfolípidos, glicolípidos, esteroides y ácidos grasos libres.

El contenido de grasa en leche es una expresión de calidad y determina la clasificación y la realización de determinados procesos tecnológicos, así como el precio de la misma. Su composición en ácidos grasos saturados y no saturados determina la textura y las potencialidades de ocurrencia de los procesos oxidativos que la deterioran, como la lipólisis y la rancidez, provocando la aparición de olores y sabores anormales

Técnica operatoria (Panreac. Métodos oficiales de análisis. Leche y productos lácteos. 1999)



Principio.

Este método es aplicable a las leches naturales, higienizadas, certificadas y pasteurizadas, enteras y parcialmente desnatadas.

Se entiende por contenido en materia grasa de las leches, el porcentaje en masa de las sustancias determinadas por el procedimiento expuesto a continuación, que corresponde al descrito en la norma FIL-1A: 1969 de la Federación Internacional de Lechería.

El contenido en materia grasa se determina gravimétricamente, por extracción de la citada materia grasa de una solución alcohólica-amoniaca según el tipo de leche de que se trate, mediante éter etílico y éter de petróleo, evaporación de los disolventes y pesado del residuo, según el principio del método de Röse Gottlieb.

Este método es válido además para la determinación de grasa en leche concentrada, evaporada y condensada. En este caso ver en las observaciones como se debe proceder para la preparación de la muestra.

Material y aparatos.

- Balanza analítica.
- Probetas o matraces de extracción adecuados, provistos de tapones de vidrio esmerilado, de tapones de corcho u otros dispositivos de cierre inatacables por los disolventes utilizados. Los tapones de corcho serán de buena calidad y se tratarán sometiéndolos sucesivamente a extracciones con éter etílico y con éter de petróleo. Después se introducirán durante 20 minutos, por lo menos, en agua a una temperatura de 60°C o superior y se dejarán enfriar también en agua, con objeto de que estén saturados cuando se utilicen.

- Matracas de paredes delgadas y bases planas, de una capacidad de 150 a 250 mL.
- Estufa de desecación, bien ventilada y controlada termostáticamente (ajustada para que funcione a una temperatura de  $120^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ),
- Estufa de desecación por vacío (temperatura  $70^{\circ} - 75^{\circ}\text{C}$ , presión menor de 50 mm de Hg).
- Materiales para facilitar la ebullición, exentos de materia grasa, no porosos ni deleznable al ser utilizados, como, por ejemplo; perlas de vidrio o trozos de carburo de silicio (el empleo de estos materiales es facultativo).

#### Reactivos y soluciones.

Todos los reactivos deben de ser de calidad pura para análisis y no dejar en la evaporación mayor cantidad de residuos que la autorizada para el ensayo en blanco. En el caso necesario, los reactivos podrán destilarse de nuevo en presencia de 1 g aproximadamente de mantequilla deshidratada por 100 mL de disolvente. El agua que se utilice deberá ser destilada o, por lo menos, de igual pureza que el agua destilada.

- Agua Destilada PA.
- Alcohol Etilico 96% V-V PA.
- Amoniaco 25% (en  $\text{NH}_3$ ) PA.
- Sulfato de Cobre penta-Hidratado PA.
- Eter Etilico (exento de peróxidos) PA.
- Éter de Petróleo de puntos de ebullición entre  $30^{\circ}\text{C}$  y  $60^{\circ}\text{C}$ . En su defecto usar Éter de Petróleo  $40^{\circ} - 60^{\circ}\text{C}$  PA.

- Yoduro de Potasio PA.
- Solución de Amoniac 25% (en  $\text{NH}_3$ ) PA.
- Disolvente mixto, preparado poco antes de su utilización, mezclando volúmenes iguales de Éter Etílico y Éter de Petróleo (se podrá sustituir la mezcla de disolventes en aquellos casos en que su utilización esté prevista por Éter Etílico o por Éter de Petróleo).

Procedimiento.

Preparación de la muestra:

Poner la muestra a una temperatura  $20^{\circ}\text{C}$ . Mezclarla cuidadosamente hasta obtener una distribución homogénea de la materia grasa. No agitar muy enérgicamente para evitar la formación de espuma en la leche o el batido de la materia grasa. Si resulta dificultoso dispersar la capa de nata, calentar lentamente hasta  $35 - 40^{\circ}\text{C}$ , mezclando cuidadosamente y teniendo la precaución de reincorporar a la muestra la nata que pudiera haberse adherido a la paredes del recipiente. Enfriar rápidamente la muestra hasta la temperatura ambiente. Si se desea se puede utilizar un homogeneizador apropiado para facilitar la dispersión de la grasa. Si se separa la materia grasa líquida o se observa la presencia de partículas blancas de forma irregular adheridas a las paredes del recipiente que contiene la muestra, el análisis no dará los resultados correctos.

Ensayo en blanco:

Al mismo tiempo que se determina el contenido en materia grasa de la muestra, efectuar un ensayo en blanco con 10 mL de Agua Destilada PA en lugar de la muestra, empleando la misma técnica de análisis que se utilizó para la muestra. Si el resultado del ensayo en blanco excede de 0.5 mg, habrá que comprobar los reactivos, y

aquel o aquellos que resulten impuros deberán sustituirse o purificarse.

Determinación:

Secar el matraz en la estufa durante un intervalo de media a una hora. Dejar que se enfríe el matraz hasta la temperatura ambiente de la balanza y, una vez enfriado, pesarlo con una aproximación de 0.1 mg.

Invertir tres o cuatro veces el recipiente que contiene la muestra preparada y pesar inmediatamente en el aparato de extracción directamente o por diferencia de 10 a 11 g de la muestra bien mezclada, con una aproximación de 1 mg. Añadir 1.5 mL de disolución de amoníaco PA, o un volumen equivalente de una solución más concentrada, y mezclar convenientemente. Añadir 10 mL de Alcohol Etilico 96 % V-V PA y mezclar suavemente, pero de modo homogéneo, manteniendo abierto el aparato de extracción. Añadir 25 mL de Éter Etilico PA, cerrar el aparato y agitarlo vigorosamente, invirtiéndolo varias veces, durante 1 minuto. Si es necesario, enfriar el aparato con agua corriente. Quitar el tapón cuidadosamente y añadir 25 mL de Éter de Petróleo, utilizando los primeros mL para enjuagar el tapón y que los líquidos de los enjuagues penetren en el último. Cerrarlo, volviendo a colocar el tapón, y agitarlo e invertirlo repetidamente durante 30 segundos. Si no está previsto centrifugar, en la operación descrita, no agitar muy enérgicamente.

Dejar el aparato en reposo hasta que la capa líquida superior esté completamente límpida y claramente separada de la fase acuosa. Podrá efectuarse igualmente la separación mediante el uso de una centrífuga adecuada. Si se utiliza una centrífuga cuyo motor no sea trifásico, puede producirse chispa y será preciso tomar las debidas

precauciones para evitar una explosión o un incendio debido a la presencia de vapores de éter (por ejemplo, en caso de rotura de un tubo). Quitar el tapón y enjuagarlo, así como también el interior del cuello del aparato, con algunos mL de la mezcla de disolventes, y dejar que los líquidos de los enjuagues penetren en el aparato. Trasvasar con cuidado al matraz, lo más completamente posible, la capa superior de decantación o con la ayuda de un sifón. Si el trasvase no se efectúa mediante un sifón, tal vez sea necesario añadir un poco de Agua Destilada PA para elevar la separación entre las dos capas, con el objeto de facilitar la decantación. Enjuagar el exterior y el interior del cuello del aparato, o el extremo y la parte inferior del sifón, con algunos mL de la mezcla de disolventes. Dejar deslizar los líquidos del enjuague del exterior del aparato dentro del matraz y los del interior del cuello y el sifón, dentro del aparato de extracción.

Proceder a una segunda extracción repitiendo las operaciones descritas, desde la adición de Éter Etílico PA, pero utilizando sólo 15 mL de Éter Etílico PA y 15 mL de Éter de Petróleo PA. Efectuar una tercera extracción procediendo como se indica anteriormente, pero omitiendo el enjuague final. Eliminar con cuidado por evaporación o destilación la mayor cantidad posible de disolvente (incluido el alcohol etílico). Si el matraz es de pequeña capacidad, será necesario eliminar un poco de disolvente después de cada extracción de la manera antes indicada. Cuando ya no subsiste el olor a disolvente, calentar el matraz, tumbado, durante una hora en la estufa. Dejar que el matraz se enfríe hasta la temperatura ambiente de la balanza como se indicó y pesar con una aproximación de 0.1 mg. Repetir la operación calentando a intervalos de 30 a 60 minutos hasta obtener una masa constante.

Añadir de 15 a 25 mL de Éter de Petróleo para comprobar si la materia extraída es totalmente soluble. Calentar ligeramente y agitar el disolvente mediante un movimiento rotatorio hasta que toda la materia grasa se disuelva. Si la materia grasa es totalmente soluble en Éter de Petróleo, la masa de materia grasa será la diferencia entre las pesadas efectuadas. En caso contrario o de duda, extraer completamente la materia grasa contenida en el matraz, mediante lavados repetidos con Éter de Petróleo caliente, dejando que se deposite la materia no disuelta antes de cada decantación. Enjuagar tres veces el exterior del cuello del matraz. Calentar el matraz tumbado durante una 1 hora en la estufa y dejar que se enfríe hasta la temperatura ambiente de la balanza, como lo indicado anteriormente, y pesar con una aproximación de 0.1 mg. La masa de materia grasa será la diferencia entre las masas obtenidas y la obtenida en esta pesada final.

Cálculo.

La masa expresada en gramos, de la materia grasa extraída es:

$$m(\text{grasa}) = (M_1 - M_2) - (B_1 - B_2)$$

en donde

$M_1$  = masa, en gramos, del matraz M, que contiene la materia grasa después de desecar hasta masa constante.

$M_2$  = masa, en gramos, del matraz M, sin materia grasa, o en caso de presencia de materias insolubles, después de extraer completamente la materia grasa.

$B_1$  = masa, en gramos, del matraz B, del ensayo en blanco, después de desecar hasta masa constante.

B<sub>2</sub> = masa, en gramos, del matraz B, o en el caso de presencia de materias insolubles, después de extraer completamente la materia grasa.

S = masa, en gramos, de la cantidad de muestra utilizada en la determinación.

y el contenido en materia grasa de la muestra se expresa en porcentaje en peso.

$$\% \text{ grasas} = \frac{m(\text{grasa})}{m(M)} \cdot 100$$

donde:

m (M) es la masa en gramos de la porción de ensayo inicialmente pesada

La diferencia entre los resultados en dos determinaciones repetidas (resultados obtenidos simultáneamente o uno inmediatamente después de otro, por el mismo analista) no debe ser mayor de 0.03 g de materia grasa de 100 g de producto.

Observaciones.

Prueba de peróxidos del éter: Añadir a 10 mL de Éter Etílico PA contenidos en una pequeña probeta con tapón de vidrio, previamente enjuagada con un poco de éter, 1 mL de solución de Yoduro de Potasio al 10% m-V, recién preparada. Agitar y dejar reposar durante 1 minuto. No debe aparecer coloración amarilla en ninguna de las dos capas.

El Éter Etílico puede mantenerse exento de peróxidos, añadiendo una lámina de Zinc húmeda, que deberá sumergirse completamente en una solución ácida diluida de Sulfato de Cobre II pentahidratado PA durante 1 minuto y después lavarse con Agua Destilada PA. Por

litro de Éter Etílico PA, utilizar una superficie de 80 cm<sup>2</sup> aproximadamente de lámina de Zinc cortada en bandas lo suficientemente largas para que lleguen por lo menos hasta el centro del recipiente.

Preparación de la muestra para diferentes tipos de leches:

Concentrada y Evaporada: Agitar e invertir el recipiente que contiene la muestra. Abrir y trasvasar lentamente la leche a un segundo recipiente (provisto de cierre hermético). Mezclar mediante trasvases sucesivos, teniendo cuidado de incorporar a la muestra toda la materia grasa u otro constituyente adherido a las paredes o al fondo del primer recipiente. Finalmente trasvasar la leche lo más completamente posible al segundo recipiente y cerrar este último. En caso necesario, templar el envase original, cerrado, en baño de María a 40°C y 60°C. Sacarlo y agitar vigorosamente cada 15 minutos. Al cabo de 2 horas, retirar el envase y dejarlo enfriar hasta temperatura ambiente. Quitar totalmente la tapadera y mezclar cuidadosamente removiendo el contenido con una cuchara o espátula (si se separa la materia grasa no se debe efectuar el análisis de la muestra). En el caso de envases flexibles, abrirlos y trasvasar el contenido a un vaso. Rasgar los envases, despegar todas las materias adheridas a las paredes e introducirlas en el vaso.

Condensada: Abrir el recipiente que contiene la muestra y mezclar cuidadosamente la leche con una cuchara o espátula. Imprimir a este instrumento un movimiento rotatorio ascendente y descendente de manera que las capas superiores e inferiores se mezclen bien con el resto del contenido. Tener cuidado de reincorporar a la muestra toda la masa de leche que pudiera haberse adherido a las paredes y fondos del recipiente. Trasvasar la leche lo más completamente posible a un segundo recipiente (provisto de



cierre hermético) y cerrar este último. En caso necesario, templar el envase original, cerrado, en baño de María a 30°C y 40°C. Abrir el bote, desprender toda la leche adherida a las paredes del mismo, trasvasar a una cápsula lo suficientemente grande para permitir un manejo cuidadoso y mezclar hasta que toda la masa sea homogénea. En caso de tubos flexibles abrirlos y trasvasar el contenido a un vaso. Rasgar los tubos, despegar todas las materias adheridas a las paredes e introducirlas en el vaso. (Panreac., 2013).

### **DETERMINACIÓN DE GRASAS EN CEREALES.**

Los lípidos suelen representar entre el 1 y el 4 % del grano de los cereales, encontrándose fundamentalmente en el germen de los mismos.

Los lípidos se encuentran en todos los tejidos del grano, generalmente como componentes de la membrana celular. También, existen lípidos en una fina membrana que recubre los gránulos de almidón, así como forman incrustaciones en las membranas que recubren los cuerpos proteicos del endospermo y escutelo. Por último, se encuentran también en esferosomas, parece ser que asociadas con proteínas a la capa de aleurona, escutelo y germen.

Predominan los triglicéridos, seguidos de los glicerofosfolípidos, los que pueden representar el 4 % de los lípidos totales, aunque también podemos encontrar cantidades apreciables de mono y diglicéridos y ácidos grasos libres.

Los ácidos grasos saturados constituyen el 11-26 % del total y los no saturados el 72-85%. El arroz y la avena son especialmente ricos en oleico, el centeno en linoléico y la cebada en linolénico.

Durante la germinación y la respiración o durante la molturación del grano, las lipasas pueden dar lugar a la aparición de nuevos ácidos grasos libres, lo que conlleva a una disminución del pH y a la aparición de productos de oxidación si ésta tiene lugar por las condiciones ambientales favorables.

Además, pueden estar presentes otros compuestos lipídicos, como son las ceras, que recubren algunas variedades de sorgo, compuestos carotenoides en aquellos que presenten un endospermo de color amarillo entre otros.

La determinación de grasas en los cereales se realiza con el objetivo de completar el conocimiento de la composición química del producto.

Técnica operatoria (Panreac. Métodos oficiales de análisis. Cereales, derivados de cereales y cerveza. 1999)

Principio.

El contenido en grasa bruta de un producto se define convencionalmente como la parte del mismo extraíble por éter etílico en condiciones determinadas. Incluye, además de la grasa, otras muchas sustancias solubles en éter etílico, como son: ceras, pigmentos, vitaminas, etc.

Este método es aplicable a los granos, harinas y otros productos derivados de los cereales.

Material y aparatos.

- Extractor tipo Soxhlet.
- Balanza analítica con precisión de 0,1mg.
- Estufa de desecación, graduada a 100°C

- Desecador con placa de porcelana o metálica perforada, conteniendo un agente deshidratante, como anhídrido fosfórico o silicagel.
- Cartuchos de extracción.
- Matraces de 100 a 150 mL, adaptable al extractor.
- Batería de extracción, baño de agua.

Reactivos y disoluciones.

- Éter etílico PA

Procedimiento.

Pesar, con precisión de 0.1 mg, de 5 a 10 g de muestra, molida de forma que pase por un tamiz de 500  $\mu$  y desecada a 100°C, e introducirlos en un cartucho que se tapona con algodón. Tarar el matraz, desecado en la estufa y enfriado en el desecador. Introducir el cartucho en el extractor, añadir éter etílico PA una vez conectado el matraz y proceder a la extracción, continuándola hasta que el éter sea incoloro; son suficientes 4 horas a una velocidad de destilación de 4-5 gotas/ s, y 16 horas para 2-3 gotas/ s.

Sacar el cartucho del extractor y recuperar el éter. Llevar el matraz con el extracto y el resto del disolvente a la estufa de desecación a 100°C y tenerlo media hora. Se enfría después en desecadora y se pesa el matraz con la grasa en balanza analítica hasta peso constante, de manera que dos pesadas sucesivas no difieran más de 0.001 g.

Cálculo.

Calcular el contenido de grasa bruta expresado en porcentaje sobre sustancia seca.

$$\% \text{ grasas} = \frac{m(\text{grasa})}{m(M)} \cdot 100$$

donde:

$m(\text{grasa}) = m(\text{matraz} + \text{grasas}) - m(\text{matraz vacío})$ , en gramos

$m(M)$  es la masa en gramos de la porción de ensayo inicialmente pesada

(Norma, NC-ISO.669. Aceites y grasas comestibles. Método de ensayo, 2001)

## **DETERMINACIÓN DE LOS ÍNDICES DE CALIDAD E IDENTIDAD EN ACEITES Y GRASAS COMESTIBLES**

### **DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE ACIDEZ EN ACEITES Y GRASAS COMESTIBLES**

El índice de acidez se define como los miligramos de NaOH o KOH necesarios para neutralizar los ácidos grasos libres presentes en 1 gramo de aceite o grasa, y constituye una medida del grado de hidrólisis de una grasa.

Todos los aceites y las grasas tienen ácidos grasos libres y algunos los tienen en grandes cantidades. La causa de la existencia de ácidos grasos libres es la actividad enzimática de las lipasas. Todas las semillas y los frutos oleaginosos tienen presentes algunas de estas enzimas lipolíticas que se encuentran tanto en el embrión como en el mesocarpio del fruto. Por este motivo, el aceite de arroz y el de palma, por lo general, tienen una acidez muy alta.

Los aceites que tienen ácidos grasos de cadena corta son muy sensibles a estas enzimas hidrolíticas. Los aceites extraídos de semillas descompuestas tienen acidez alta, al igual que los aceites almacenados durante mucho tiempo.

El comportamiento del Índice de Acidez (expresado como % de Ácido Oleico) durante el almacenamiento en los aceites y grasas comestibles evidencia un incremento en una primera etapa, como resultado de la actividad enzimática de las lipasas, hasta alcanzar un valor máximo, a partir del cual comienza a disminuir. Esta disminución pudiera ser explicada por el hecho de que los ácidos grasos libres hayan comenzado a oxidarse a compuestos oxigenados, como por ejemplo los hidroperóxidos, por la acción de agentes químicos (oxígeno, temperatura, luz, trazas metálicas) o agentes bioquímicos (microorganismos, enzimas lipoxidasas) o la combinación de ambos, en función de las condiciones de almacenamiento y de la composición del aceite almacenado.

Este comportamiento permite inferir que la determinación del Índice de Acidez no ofrece por sí sola información concluyente sobre el estado cualitativo de un aceite. Así, un valor bajo pudiera indicar: o bien que el producto está poco hidrolizado, o bien que el estado de deterioro es más avanzado y que parte de los ácidos grasos libres han comenzado a oxidarse.

De ahí la necesidad de realizar otros análisis (Índices de Peróxidos, Yodo y Saponificación, entre otros), si se desea obtener información fidedigna del estado de un aceite o grasa.

Técnica operatoria (Panreac. Métodos oficiales de análisis. Aceites y grasas. 1999)

Principio.

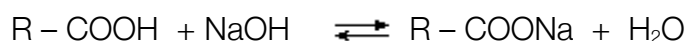
El método se basa en la neutralización de los ácidos grasos libres presentes en el aceite o grasa con solución etanólica de hidróxido de potasio en presencia de fenolftaleína como indicador. El índice de acidez se expresa en mg de Hidróxido de Potasio necesarios

para neutralizar un gramo de grasa. También puede expresarse en porcentaje de Ácido Oleico.

#### Reactivos y soluciones

- Alcohol etílico absoluto PA
- Alcohol metílico PA
- Éter etílico PA
- Fenolftaleína
- Hidróxido de potasio PA
- Solución etanólica de Hidróxido de Potasio 0.5 N previamente valorada (o solución etanólica de Hidróxido de Potasio 0.1 N).
- Solución al 1% m-V de fenolftaleína en Alcohol Metílico.
- Mezcla Alcohol Etílico absoluto- Éter Etílico 1:1, neutralizada exactamente con Hidróxido de Potasio 0.1 N etanólica, con Fenolftaleína como indicador.

#### Reacciones químicas:



#### Procedimiento

Pesar con una aproximación de 0.01 g, de 5 a 10 g de grasa, en un erlenmeyer de 250 mL. Disolverla en 50 mL de la mezcla Alcohol Etílico absoluto- Éter Etílico. Valorar, agitando continuamente, con solución etanólica de Hidróxido de Potasio 0.5 N (o con solución etanólica de Hidróxido de Potasio 0.1 N para acidez inferiores a 2), hasta viraje del indicador.

#### Cálculo.

Calcular la acidez como grado de acidez expresado en porcentaje de ácido oleico o como índice de acidez expresado en miligramos de hidróxido de potasio por gramo de aceite o grasa, según:

En porcentaje de ácido oleico:

$$\% \text{ ácido oleico} = \frac{V(\text{KOH}) \cdot c(\text{KOH}) \cdot 282}{1000 \cdot m \text{ (M)}} \cdot 100$$

dónde:

V(KOH) son los mL de KOH consumidos en la valoración de la muestra

c(KOH) es la normalidad o concentración molar del equivalente de la disolución de KOH

282 es la masa molar del equivalente del ácido oleico, expresada en g/mol

m (M) es la masa en gramos de la porción de ensayo de aceite o grasa pesada para el análisis

En mg KOH/g de aceite o grasa

$$\text{mg KOH/g} = \frac{V(\text{KOH}) \cdot c(\text{KOH}) \cdot 56}{m \text{ (M)}}$$

dónde:

V(KOH) son los mL de KOH consumidos en la valoración de la muestra

c(KOH) es la normalidad o concentración molar del equivalente de la disolución de KOH

56 es la masa molar del equivalente de KOH, expresada en g/mol

m (M) es la masa de la porción de ensayo de aceite o grasa pesada para el análisis expresada en gramos

Normalmente se expresa en tanto por ciento de ácido oleico. Solo en casos particulares, en dependencia de la naturaleza de la grasa, se expresa referida al ácido palmítico, al ácido láurico o a otros. (Norma, NC-ISO.669. Aceites y grasas comestibles. Método de ensayo, 2001).

### **DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE PERÓXIDOS EN ACEITES Y GRASAS COMESTIBLES**

El Índice de Peróxidos se expresa como los miliequivalentes de Peróxidos presentes en 1 Kg de aceite o grasa, y brinda información sobre el grado de oxidación de un aceite.

La causa de la alteración de los aceites y las grasas puede ser el resultado de una reacción tanto química como bioquímica pero la oxidación de las grasas es más frecuente por efecto de reacciones químicas. Lo esencial es que los dobles enlaces de sus ácidos grasos constituyentes, reaccionan con el oxígeno del aire formando compuestos que al descomponerse originan otros, a los cuales se les atribuye el olor y sabor desagradables característicos de las grasas oxidadas, y es esto lo que se conoce con el nombre de rancidez.

Al principio de la oxidación de las grasas es posible que, en su mayoría, el producto de la reacción no sea más que hidroperóxido. Al aumentar la cantidad de peróxidos y aparecer el olor y el sabor característicos de la rancidez, se demuestra la presencia de otros productos resultantes de la descomposición de los hidroperóxidos. El agudo y desagradable olor a rancio se cree que es debido principalmente a la presencia de aldehídos con 6–9 átomos de carbono. El sabor y el olor a rancio aparecerán sólo cuando la concentración de estos compuestos sea tal que puedan ser detectados por nuestros órganos sensoriales. La correlación entre



el olor y el sabor de grasas rancias y la cantidad de peróxidos, expresada como índice de peróxido, depende de muchos factores, como de su grado de insaturación y de la longitud de la cadena del ácido, entre otros.

No es posible generalizar cuál es el índice de peróxido correspondiente a la aparición de la rancidez; se hace necesario, en la mayoría de los casos, determinar el índice de peróxido y hacer las correspondientes pruebas organolépticas; no obstante, si tenemos grasas que tienen una composición similar, se puede generalizar y decir, más o menos, qué índice de peróxido corresponderá a la aparición de la rancidez. Por ejemplo, en el caso de la grasa de cerdo, la rancidez aparece cuando ésta tiene un índice de peróxido de alrededor de 20 meq (milimoles equivalentes) de peróxidos por kilogramo. En el caso del aceite de girasol es aproximadamente de 60 a 80.

La Norma Cubana establece para los aceites y grasas comestibles que el índice de peróxidos no debe superar los 10 meq (milimoles equivalentes) de peróxidos por kilogramo de aceite o grasa.

De forma análoga al índice de acidez, al analizar el comportamiento del índice de peróxidos con el tiempo de almacenamiento, se observan dos zonas que manifiestan tendencias opuestas: una primera etapa caracterizada por el incremento de los peróxidos hasta un valor máximo, como consecuencia de la oxidación lipídica por acción de agentes químicos y/o bioquímicos; y un segundo momento en que comienza a disminuir este índice, lo que indica un grado de oxidación más avanzado puesto que este decremento pudiera ser resultado de la oxidación de los peróxidos a otros compuestos como aldehídos y cetonas, responsables fundamentales del olor y sabor característicos de la rancidez.

En este sentido, al igual que en el caso del índice de acidez, la información que brinda el índice de peróxidos requiere para su interpretación del complemento de otros análisis como la determinación de los índices de yodo y saponificación.

Técnica operatoria (NC-ISO 660. Aceites y grasas comestibles. Métodos de ensayo. 2001)

Principio.

Se denomina “índice de peróxidos” a los miliequivalentes (milimoles equivalentes) de oxígeno activo contenidos en un kilogramo de la materia ensayada, calculados a partir del yodo liberado del yoduro de potasio, operando en las condiciones que se indican en la metodología.

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

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

Material y aparatos.

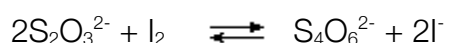
- Navecillas de vidrio de aproximadamente 3 mL para pesada de la grasa.
- Matraces con tapón esmerilado, de aproximadamente 250 mL, previamente secados y llenos de gas inerte (anhídrido carbónico o nitrógeno).

Reactivos.

- Ácido Acético glacial PA
- Agua Destilada PA
- Almidón soluble
- Cloroformo PA
- Yoduro de Potasio PA
- Tiosulfato de Sodio pentahidratado PA
- Cloroformo PA, exento de oxígeno por barboteo de una corriente de gas inerte puro y seco.
- Ácido Acético glacial PA exento de oxígeno como anterior.
- Solución acuosa de Sodio Tiosulfato 0.1 N, exactamente valorada.
- Solución acuosa saturada de Yoduro de Potasio, exento de yodo y yodatos. Disolver Yoduro de Potasio PA en Agua Destilada PA.
- Soluciones acuosas de Tiosulfato de Sodio 0.01 N y 0.02 N exactamente valoradas. Úsese solución valorada de Tiosulfato de Sodio 0.1 N y diluir convenientemente con Agua Destilada PA.
- Solución indicadora de Almidón al 1% en Agua Destilada PA. Disolver Almidón soluble con Agua Destilada PA y ajustar a la concentración indicada.

Reacciones químicas:

Peróxidos +  $2I^- \rightleftharpoons$  Productos de reducción de los peróxidos +  $I_2$



Procedimiento.

Tomar un matraz con cierre esmerilado, de unos 250 mL, previamente seco (anhídrido carbónico o nitrógeno). Introducir tan rápidamente como se pueda la muestra del aceite que se desea ensayar, definida en función de los índices presumidos que aparecen en la tabla de observaciones.

Agregar 10 mL de Cloroformo PA, en el cual se disuelve rápidamente la grasa por agitación, 15.0 mL de Ácido Acético glacial PA y 1 mL de una disolución acuosa de Yoduro de Potasio.

Cerrar el matraz y mantener en agitación durante 1 minuto, imprimiéndole un suave movimiento de agitación, conservándolo después en la oscuridad durante 5 minutos; transcurrido este tiempo, agregar 75 mL de Agua Destilada PA, agitar vigorosamente y valorar el yodo liberado con una disolución de Tiosulfato de Sodio 0.02 N, para los aceites de índices inferiores o iguales a 20 y Tiosulfato de Sodio 0.01 N para los índices más elevados.

Paralelamente, se efectúa un ensayo en blanco, sin aceite, que debe dar un índice nulo.

Cálculo.

El índice de peróxidos se expresa en milequivalentes (milimoles equivalentes) de oxígeno por kilogramo de muestra.

$$\text{miliequivalentes/kg} = \frac{(V_M - V_B) \cdot c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)}{m \text{ (M)}}$$

dónde:

$V_M$  son los mL de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  consumidos en la valoración de la muestra

$V_B$  son los mL de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  consumidos en la valoración del ensayo en blanco

$c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)$  es la normalidad o concentración molar del equivalente de la disolución de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

$m$  (M) es la masa de la porción de ensayo pesada para el análisis, expresada en kg

Observaciones.

Peso de la muestra. La toma de las muestras para el ensayo se efectuará tomando una cantidad de grasa de acuerdo con el índice de peróxidos que se presupone y que se indica en el cuadro siguiente:

| Índice que se presupone | Peso de la muestra en g |
|-------------------------|-------------------------|
| de 0 a 20               | de 2.0 a .12            |
| de 20 a 30              | de 1.2 a 0.8            |
| de 30 a 50              | de 0.8 a 0.5            |
| de 50 a 100             | de 0.5 a 0.3            |

Para la expresión del índice de peróxidos se han propuesto otras unidades distintas a la adoptada en esta técnica y que suelen ser utilizadas en algunos casos, prestándose a confusiones en la interpretación de los resultados. Para evitar estos errores y los inconvenientes que pudieran derivarse de los mismos, en los informes analíticos deberá indicarse siempre la unidad en que se expresa el índice. (Norma, NC-ISO.669. Aceites y grasas comestibles. Método de ensayo, 2001).

### **DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE SAPONIFICACIÓN EN ACEITES Y GRASAS COMESTIBLES**

El Índice de Saponificación, es el número de miligramos de hidróxido de potasio necesarios para saponificar por completo 1g de aceite o grasa.

Este valor da la medida del peso molecular promedio de los glicéridos mixtos que constituyen una grasa o aceite dado, ya que si estos contienen ácidos grasos de bajo peso molecular, el número de moléculas presentes en 1g de muestra será mayor que si los ácidos grasos son de alto peso molecular.

La grasa o aceite con bajo peso molecular presentará entonces un alto valor en su índice de saponificación. Por ejemplo, la mantequilla, que contiene gran cantidad de ácido butírico, posee un índice de saponificación alto.

El Índice de Saponificación es, al igual que el Índice de Yodo una propiedad química característica de los aceites y grasas. La siguiente tabla muestra los Índices de Saponificación de algunos aceites y grasas.

| Aceite o grasa          | Índice de saponificación |
|-------------------------|--------------------------|
| Aceite de algodón       | 189-198                  |
| Aceite de babasú        | 247-251                  |
| Aceite de ballena       | 185-194                  |
| Manteca de puerco       | 190-203                  |
| Aceite de coco          | 250-264                  |
| Manteca de cacao        | 190-200                  |
| Aceite de colza         | 168-180                  |
| Aceite de girasol       | 188-194                  |
| Aceite de linaza        | 188-196                  |
| Aceite de maíz          | 187-193                  |
| Aceite de maní          | 186-196                  |
| Mantequilla             | 210-230                  |
| Aceite de nuez de palma | 245-255                  |

| Aceite o grasa  | Índice de saponificación |
|-----------------|--------------------------|
| Sebo de carnero | 192-198                  |
| Sebo de res     | 190-200                  |

El comportamiento del Índice de Saponificación con el tiempo de almacenamiento experimenta una tendencia decreciente. Ello se explica por la oxidación que pueden sufrir los ácidos grasos, lo que conduce a su transformación en otros compuestos de naturaleza no saponificable (hidroperóxidos, peróxidos, aldehídos y cetonas).

Técnica operatoria (NC 85-04. Aceites y grasas comestibles.  
Métodos de ensayo. 1981)

Principio.

El Índice de Saponificación de una grasa constituye una medida del peso molecular promedio de los glicéridos que la constituyen y se fundamenta en la saponificación de la muestra de grasa por adición de KOH y valoración del exceso de álcali con solución estandarizada de HCl. Los resultados se expresan como los mg de KOH necesarios para saponificar por completo 1 g de grasa.

Este método es aplicable a aceites y grasas con un contenido de ceras inferior al 5%.

Material y aparatos.

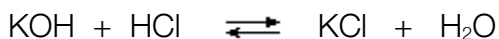
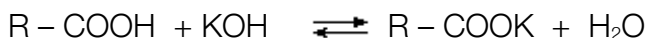
- Balanza analítica con capacidad máxima de 200 g y valor de división de 0.1 mg.
- Cristalería necesaria para realizar una valoración: buretas, pipetas, matraces aforados, frascos erlenmeyer, vasos de precipitados, embudos, agitadores de vidrio, frasco lavador, etc.

- Condensador de reflujo (650 a 900 mm de largo por 100 mm de diámetro).

Reactivos y soluciones.

- Agua destilada PA
- Hidróxido de potasio PA.
- Ácido clorhídrico (30-37% m-m; 1.19 Kg/L) PA
- Etanol 96% V-V.
- Solución estandarizada de hidróxido de potasio 0.5 N.
- Solución estandarizada de ácido clorhídrico 0.5 N.
- Solución etanólica de fenolftaleína 1% m-V

Reacciones químicas:



Procedimiento.

Pesar con una precisión de 1mg, en el matraz de vidrio, 2 g aproximadamente de grasa. Agregar 25 mL medidos exactamente de solución etanólica de hidróxido de potasio 0.5 N. Adaptar el refrigerante de flujo, llevar a ebullición, y mantener durante 60 minutos, agitando por rotación de cuando en cuando. Retirar de la fuente de calor. Agregar 4 o 5 gotas de Fenolftaleína solución 1%, y valorar la solución jabonosa, todavía caliente con la solución de Ácido Clorhídrico 0.5 N.

Realizar en las mismas condiciones un ensayo en blanco.

Cálculos.



Calcular el índice de saponificación expresado en mg de hidróxido de potasio por g de grasa.

$$\text{mg KOH/g} = \frac{(V_B - V_M) \cdot c(\text{HCl}) \cdot 56}{m \text{ (M)}}$$

dónde:

$V_M$  son los mL de HCl consumidos en la valoración de la muestra

$V_B$  son los mL de HCl consumidos en la valoración del blanco

$c(\text{HCl})$  es la normalidad o concentración molar del equivalente de la disolución de HCl

56 es la masa molar del equivalente de KOH, expresada en g/mol

$m \text{ (M)}$  es la masa de la porción de ensayo de aceite o grasa pesada para el análisis expresada en gramos

Observaciones.

Para ciertas materias grasas difíciles de saponificar es necesario calentar durante más de 60 minutos. (NC, 1981).

### **DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE YODO EN ACEITES Y GRASAS COMESTIBLES (MÉTODO DE HANUS)**

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

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

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

medida de identificación y calidad. La siguiente tabla muestra los Índices de Yodo característicos de algunos aceites y grasas.

Índices de yodo de algunos aceites y grasas comestibles

| Aceite o grasa          | Índice de Yodo |
|-------------------------|----------------|
| Aceite de Algodón       | 99-113         |
| Aceite de Babasú        | 14-18          |
| Aceite de ballena       | 110-135        |
| Manteca de puerco       | 47-67          |
| Aceite de coco          | 6-10           |
| Manteca de cacao        | 33-42          |
| Aceite de colza         | 94-100         |
| Aceite de Girasol       | 125-136        |
| Aceite de linaza        | 170-202        |
| Aceite de maíz          | 103-130        |
| Aceite de maní          | 84-100         |
| Mantequilla             | 26-42          |
| Aceite de nuez de palma | 14-23          |
| Sebo de carnero         | 35-46          |
| Sebo de res             | 35-48          |

Durante el almacenamiento, en tanto un aceite sufre procesos de oxidación, el Índice de Yodo muestra una tendencia decreciente por cuanto estos procesos oxidativos tienen lugar precisamente sobre los dobles enlaces, saturando la molécula y provocando por consiguiente una disminución de este índice. (Zumbado, Análisis Químico de los Alimentos, 2002).

Técnica operatoria (Panreac. Métodos oficiales de análisis. Aceites y grasas. 1992)

Principio:

La grasa, previamente disuelta, se mezcla con un volumen de solución de monobromuro de yodo. La cantidad de yodo que no se adiciona a los dobles enlaces de los ácidos grasos, se valora en forma de triyoduro con tiosulfato de sodio en presencia de almidón como indicador.

El índice de yodo se expresa convencionalmente como los gramos de yodo absorbidos por cien gramos de materia grasa.

Material y aparatos:

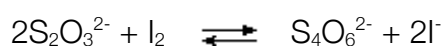
- Frasco de boca ancha de 200 a 220 mL de capacidad, con tapón esmerilado
- Buretas graduadas
- Pipetas de 25 mL de salida rápida

Reactivos y disoluciones:

- Agua destilada PA
- Almidón soluble
- Tetracloruro de carbono PA
- Yoduro de potasio
- Reactivo de Hanus 0.2 N
- Tiosulfato de sodio PA
- Solución de almidón 1% m-V
- Solución de yoduro de potasio 10% m-V
- Solución estandarizada de tiosulfato de sodio 0.1 N

- Reactivo de Hanus: Disolver en un frasco ámbar con tapón esmerilado, 10 g de monobromuro de yodo en 500 mL de ácido acético glacial (exento de alcohol etílico)

Reacciones químicas:



Procedimiento:

Trabajar en luz difusa.

En un frasco limpio y seco, pesar de 0.25 a 0.30 g de materia grasa limpia y filtrada sobre papel. Disolver la materia grasa en 10 mL de tetracloruro de carbono PA. Añadir mediante bureta o pipeta de salida rápida, 25 mL exactos del reactivo de Hanus. Tapar el frasco, mezclar por agitación suave y dejar en reposo al abrigo de la luz durante una hora a temperatura de 20°C.

Añadir 20 mL de solución de yoduro de potasio 10% m-V y 10 mL de agua destilada PA, mezclar. Valorar con solución de tiosulfato de sodio 0.1 N (utilizando solución de almidón 1% m-V como indicador) agitando constantemente. Añadir la solución de almidón poco antes de finalizar la valoración.

Realizar un ensayo en blanco en idénticas condiciones.

Cálculos:

Los resultados se expresan en gramos de yodo absorbidos por 100 gramos de materia grasa.

$$\text{Indice de Yodo} = \frac{(V_B - V_M) \cdot c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) \cdot 126,9 \cdot 100}{1000 \cdot m (M)}$$

dónde:

$V_M$  son los mL de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  consumidos en la valoración de la muestra

$V_B$  son los mL de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  consumidos en la valoración del ensayo en blanco

$c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)$  es la normalidad o concentración molar del equivalente de la disolución de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

126,9 es la masa molar del equivalente de yodo, expresada en g/mol

$m (M)$  es la masa de la porción de ensayo pesada para el análisis expresada en gramos, (Zumbado, Análisis Químico de los Alimentos, 2002).

## 2.5. TÉCNICAS EXPERIMENTALES DE DETERMINACIÓN DE CARBOHIDRATOS ASIMILABLES

### 2.5.1. Determinación de azúcares reductores en rones

El ron es un licor alcohólico destilado, obtenido de la melaza de la caña de azúcar. Usualmente es un sub-producto de la fabricación del azúcar e incluye a los tipos claros ligeros, típicos de la República Dominicana, Cuba y Puerto Rico, y los rones más pesados y de más sabor como los de Jamaica.

Los rones se elaboran por fermentación de la melaza que es el líquido residual que queda luego de la cristalización del azúcar en el jugo de la caña; la melaza contiene alrededor de un 5% de azúcar. Algunos países tienen que importar la melaza para producir ron. Donde no hay desarrollo de la industria azucarera o se usa melaza

impura, se produce un licor de baja calidad llamado tafiá que no es considerado como un verdadero ron y que no es exportado.

El azúcar necesario para la fermentación ya se encuentra en el material crudo (melaza), y el ron conserva más del sabor original del material crudo que la mayoría de los licores. El sabor característico de rones específicos está determinado por el tipo de levaduras empleado para la fermentación, el método de destilación, las condiciones de envejecimiento y las mezclas.

En esencia los azúcares reductores en rones provienen de azúcar o sirope invertido que se añade al producto para hacerlo algo más suave al paladar. La cantidad adicionada es menor a 2% y las más comunes son 0,3-1%.

Aunque se plantea que puede existir algún aporte de reductores provenientes de la madera de los barriles las cantidades son insignificantes frente a las ya mencionadas. A partir de 2% ya se comienzan a considerar licores. (Zumbado, <https://es.scribd.com>, 2004).

Técnica operatoria (Panreac... Métodos oficiales de análisis. Productos derivados de la Uva, aguardientes y sidras. 1999)

Principio:

Eliminación previa de todas las materias reductoras distintas de los azúcares reductores por defecación y posterior valoración basada en la acción reductora de los azúcares sobre una solución cupro-alcalina.

Material y aparatos:

- Erlenmeyer de 300 mL con refrigeración de reflujo
- Material necesario para volumetría

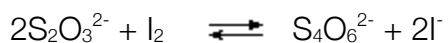
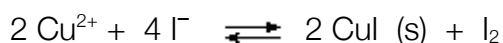
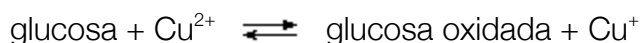
- Baño de agua

Reactivos y soluciones:

- Ácido Cítrico anhidro PA
- Ácido Sulfúrico (96% m-m; 1.84 Kg/L) PA
- Agua destilada PA
- Almidón soluble
- Carbonato de Calcio precipitado PA
- Sulfato de Cobre II 5-hidrato PA
- Piedra Pómez 4 a 8 mm
- Acetato de Plomo II 3-hidrato PA
- Yoduro de potasio PA
- Carbonato de Sodio 1-hidrato PA
- Cloruro de Sodio PA
- Hidróxido de sodio PA
- Tiosulfato de sodio PA
- Solución de Acetato de Plomo II 3-hidrato PA (aproximadamente saturada). Añadir a 250 g de Acetato de Plomo II 3-hidrato PA Agua Destilada PA caliente hasta 0,5 L y agitar hasta disolución completa.
- Solución crupo-alcalina. Disolver por separado 25 g de Sulfato de Cobre II 5-hidrato PA en 100 mL de Agua Destilada PA; 50 g de Ácido Cítrico anhidro PA en 300 mL de Agua Destilada PA y 388 g de Carbonato de Sodio 1-hidrato PA en 300-400 mL de Agua Destilada PA caliente. Mezclarla solución de Sulfato de Cobre y completar el volumen con Agua Destilada PA hasta un litro.
- Solución de Yoduro de potasio al 30% m-V.

- Solución de Ácido Sulfúrico al 25% m-V.
- Solución estandarizada de Hidróxido de Sodio 1N
- Solución estandarizada de Tiosulfato de Sodio 0,1N
- Engrudo de Almidón de 5 g/L. Contendrá 200 g/L de Cloruro de Sodio PA para asegurar su conservación. Esta solución debe ser mantenida diez minutos en ebullición en el momento de su preparación.

Reacciones químicas:



Procedimiento:

Defecación plúmbica:

Llevar 100 mL de ron a un matraz aforado de 125 mL. Añadir agitando 5 mL de solución saturada de Acetato de Plomo II y 1 g de Carbonato de Calcio precipitado PA, agitar varias veces y dejar sedimentar, por lo menos quince minutos, enrasar con Agua Destilada PA. Añadir 0,6 mL más de Agua Destilada PA y filtrar.

Valoración:

Poner en el erlenmeyer de 300 mL, 25 mL de la solución crupoalcalina y 25 mL de ron previamente defecado. Añadir unos gramos de Piedra Pómez y llevar a ebullición, que debe ser alcanzada en dos minutos, adaptando el erlenmeyer al refrigerante de reflujo y mantener exactamente durante diez minutos la ebullición.



Enfriar inmediatamente bajo corriente de agua fría. Añadir 10 mL de la solución de Yoduro de potasio al 30% m-V, 25 mL de la solución de Ácido Sulfúrico al 25% m-V y 2 mL de Engrudo de Almidón. A continuación valorar con solución estandarizada de Tiosulfato de Sodio 0,1N.

Efectuar una prueba en blanco, sustituyendo los 25 mL de muestra, por igual volumen de Agua Destilada PA y tratar como se ha indicado para la muestra.

Cálculo:

La cantidad de azúcar, expresada en azúcares reductores contenida en la muestra analizada, se obtiene en la tabla adjunta en función del número  $n' - n$  de mL de tiosulfato utilizado.

Siendo:

$n$  = volumen, en mL, de solución de Tiosulfato de Sodio 0,1N utilizados para la valoración de la muestra.

$n'$  = volumen, en mL, de solución de Tiosulfato de Sodio 0,1N utilizados en la prueba en blanco.

Expresar el contenido en gramos de azúcares reductores por litro, teniendo en cuenta las diluciones efectuadas en el curso de la defecación del volumen de la muestra analizada.

Azúcares reductores expresados en mg de glucosa

| mL de tiosulfato de sodio 0,1N | PRIMERA CIFRA DECIMAL |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|--------------------------------|-----------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|                                | 0                     | 1    | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    |
| 0                              | 0,0                   | 0,3  | 0,6  | 1,0  | 1,3  | 1,6  | 1,9  | 2,2  | 2,6  | 2,9  |
| 1                              | 3,2                   | 3,5  | 3,8  | 4,2  | 4,5  | 4,8  | 5,1  | 5,4  | 5,7  | 6,1  |
| 2                              | 6,4                   | 6,7  | 7,1  | 7,4  | 7,7  | 8,1  | 8,4  | 8,7  | 9,0  | 9,4  |
| 3                              | 9,7                   | 10,0 | 10,4 | 10,7 | 11,0 | 11,4 | 11,7 | 12,0 | 12,3 | 12,7 |
| 4                              | 13,0                  | 13,3 | 13,7 | 14,0 | 14,4 | 14,7 | 15,0 | 15,4 | 15,7 | 16,1 |
| 5                              | 16,4                  | 16,7 | 17,1 | 17,4 | 17,8 | 18,1 | 18,4 | 18,8 | 19,1 | 19,5 |
| 6                              | 19,8                  | 20,1 | 20,5 | 20,8 | 21,2 | 21,5 | 21,8 | 22,2 | 22,5 | 22,9 |
| 7                              | 23,2                  | 23,5 | 23,9 | 24,2 | 24,6 | 24,9 | 25,2 | 25,6 | 25,9 | 26,3 |
| 8                              | 26,6                  | 26,9 | 27,3 | 27,6 | 28,0 | 28,3 | 28,6 | 29,0 | 29,3 | 29,7 |
| 9                              | 30,0                  | 30,3 | 30,7 | 31,0 | 31,3 | 31,7 | 32,0 | 32,4 | 32,7 | 33,0 |
| 10                             | 33,4                  | 33,7 | 34,1 | 34,4 | 34,8 | 35,1 | 35,4 | 35,8 | 36,1 | 36,5 |
| 11                             | 36,8                  | 37,2 | 37,5 | 37,9 | 38,2 | 38,6 | 38,9 | 39,3 | 39,6 | 40,0 |
| 12                             | 40,3                  | 40,7 | 41,0 | 41,4 | 41,7 | 42,1 | 42,4 | 42,8 | 43,1 | 43,5 |
| 13                             | 43,8                  | 44,2 | 44,5 | 44,9 | 45,2 | 45,6 | 45,9 | 46,3 | 46,6 | 47,0 |
| 14                             | 47,3                  | 47,7 | 48,0 | 48,4 | 48,7 | 49,1 | 49,4 | 49,8 | 50,1 | 50,5 |
| 15                             | 50,8                  | 51,2 | 51,5 | 51,9 | 52,2 | 52,6 | 52,9 | 53,3 | 53,6 | 54,0 |
| 16                             | 54,3                  | 54,7 | 55,0 | 55,4 | 55,8 | 56,2 | 56,5 | 56,9 | 57,3 | 57,6 |
| 17                             | 58,0                  | 58,4 | 58,8 | 59,1 | 59,5 | 59,9 | 60,3 | 60,7 | 61,0 | 61,4 |
| 18                             | 61,8                  | 62,2 | 62,5 | 62,9 | 63,3 | 63,7 | 64,0 | 64,4 | 64,8 | 65,1 |
| 19                             | 65,5                  | 65,9 | 66,3 | 66,7 | 67,1 | 67,5 | 67,8 | 68,2 | 68,6 | 69,0 |

| mL de tiosulfato de sodio 0,1N | PRIMERA CIFRA DECIMAL |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|--------------------------------|-----------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|                                | 0                     | 1    | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    |
| 20                             | 69,4                  | 69,8 | 70,2 | 70,6 | 71,0 | 71,4 | 71,7 | 72,1 | 72,5 | 72,9 |
| 21                             | 73,3                  | 73,7 | 74,1 | 74,5 | 74,9 | 75,3 | 75,6 | 76,0 | 76,4 | 76,8 |
| 22                             | 77,2                  | 77,6 | 78,0 | 78,4 | 78,8 | 79,2 | 79,6 | 80,0 | 80,4 | 80,8 |
| 23                             | 81,2                  | 81,6 | 82,0 | 82,4 | 82,8 | 83,2 | 83,6 | 84,0 | 84,4 | 84,8 |
| 24                             | 85,2                  | 85,6 | 86,0 | 86,4 | 86,8 | 87,2 | 87,6 | 88,0 | 88,4 | 88,8 |
| 25                             | 89,2                  | 89,6 | 90,0 | 90,4 | 90,8 | 91,2 | 91,6 | 92,0 | 92,4 | 92,8 |

(Panreac, 1999)

### **DETERMINACIÓN DE ALMIDÓN EN PRODUCTOS CÁRNICOS**

La carne y los productos cárnicos son fuentes importantes de proteínas, grasas, aminoácidos esenciales, minerales y vitaminas y otros nutrientes, aunque reportes recientes asocian su consumo al incremento de enfermedades cardiovasculares y al cáncer de colon provocando una percepción negativa de su consumo. En los últimos años, las demandas de los consumidores por carnes y productos cárnicos más saludables, con niveles reducidos de grasa y colesterol, disminución del contenido de cloruro de sodio y nitrito y una mejor composición del perfil de ácidos grasos y la incorporación de ingredientes con capacidad de mejorar la salud, están aumentando rápidamente en todo el mundo.

Las carnes poseen además propiedades funcionales que deben ser consideradas en los procesos de formulación de los productos cárnicos, principalmente sus propiedades gelificantes y aquellas que se le asocian (por ejemplo la unión y adhesión entre partículas) y las capacidades de emulsificación (CE) y de retención de agua (CRA). Por ejemplo, una carne que tiene poca capacidad de retención de agua es considerada de baja calidad para la industria de embutidos, porque no tiene estabilidad en las emulsiones, provocando la separación de agua y grasa, afectando la calidad del producto.

Así, el principal desafío en la elaboración de emulsiones cárnicas es la obtención de productos cárnicos estables que no sufran excesivas pérdidas de grasa y agua durante la fase de cocinado. La rotura de la emulsión es sólo evidente durante el tratamiento térmico, cuando es demasiado tarde para aplicar acciones correctoras. En la actualidad, es común el uso de almidones, grasa y proteínas no cárnicas para mejorar las propiedades tecnológicas de estos productos. Un uso apropiado de estas sustancias puede ayudar a controlar la estabilidad de la emulsión y su rendimiento tras el cocinado.

Resultados de investigaciones han demostrado que las emulsiones elaboradas con almidón y un menor porcentaje de grasa presentan una reducción significativa de las pérdidas de exudado, mejorando el rendimiento tras el cocinado y en definitiva, dando un producto más estable.

Técnica operatoria (Panreac. Métodos oficiales de análisis. Carne y productos cárnicos. 1999)

Principio.

Extracción de azúcares simples con etanol caliente 80%, permaneciendo el almidón. El residuo de almidón se solubiliza con ácido perclórico diluido, y medida a 630 nm de color desarrollado al calentarlo con el reactivo antrona-ácido sulfúrico.

Material y aparatos.

- Balanza analítica.
- Matraces aforados de 100 mL y 200 mL.
- Tubos de centrifuga, cónicos, de 100 mL.
- Pipetas graduadas de 10 mL, 25 mL, 5 mL y 2 mL.
- Centrifugas de 2.500 r.p.m.
- Baño de agua.
- Baño de agua termostatable hasta 25°C.
- Probeta graduada de 25 mL.
- Papel de filtro Albet número 238 o equivalente.
- Espectrofotómetro capaz de lecturas de 630 nm.

Reactivos.

- Ácido Perclórico 60% PA
- Ácido Sulfúrico 96% PA
- Agua PA
- Etanol 96% v/v PA
- Antrona PA
- Éter de Petróleo 50-70°C PA
- D(+)-Glucosa PA

- Disolución de Ácido Sulfúrico-Antrona. Disolver 0,2 g de Antrona PA en 100 mL de Ácido Sulfúrico 96% PA. El reactivo sirve para 3-4 días conservándolo a 0°C.
- Glucosa patrón. Disolver 0,1 g de D(+)- Glucosa PA en 100 g de Agua PA
- Acido Perclórico al 52%. Diluir Acido Perclórico 60% PA en Agua PA y ajustar a la concentración indicada.
- Etanol al 80%. Diluir Etanol 96% v/v PA en Agua PA y ajustar a la concentración indicada.

Procedimiento.

Extracción de azúcar y de grasa. Pesar 2,0 g de carne triturada, preparada como en el método 1, en un tubo centrífugo cónico de 100 mL. Añadir 25,0 mL de disolución Etanol-Éter de Petróleo 50-70°C PA (1-3), tapar con un tapón, agitar vigorosamente y centrifugar a 2.500 r.p.m. durante cinco minutos. Decantar y dejar a un lado la disolución Etanol-Éter de Petróleo 50-70°C PA.

Añadir 10 mL de etanol caliente al 80%, agitar y centrifugar a 2500 r.p.m. durante cinco minutos. Dejar a un lado la disolución alcohólica y repetir la extracción alcohólica con Etanol caliente.

Extracción de Almidón. Añadir 5,0 mL de Agua PA al residuo y remover. Añadir 6,5 mL de disolución de Acido Perclórico diluido (52%); remover o agitar durante cinco minutos. Dejar reposar durante quince minutos. Añadir 20,0 mL de Agua PA y centrifugar durante cinco minutos.

Verter la disolución de Almidón en un frasco volumétrico de 100 mL. Añadir 6,5 mL de disolución de Acido Perclórico (52%) y remover. Dejar reposar durante treinta minutos. Remover y lavar el contenido

entero del tubo en el frasco volumétrico que contiene el primer extracto. Llevar a volumen y filtrar por papel filtro.

Determinación de Almidón. Diluir 5 mL de disolución de almidón filtrada en 200 mL con Agua PA. Pipetear 5 mL de dicha disolución en un tubo, enfriar en baño de agua y añadir 10 mL de Antrona reactivo. Mezclar completamente y calentar durante cinco minutos a 100°C. Quitar el tubo del baño, enfriar con rapidez a 25°C y determinar la absorbancia a 630 nm. El color permanece fijo durante treinta minutos.

Cálculo.

Curva patrón de glucosa. Diluir 1,2, 5 y 10 mL de glucosa patrón hasta 100 mL con agua destilada. A partir de las lecturas obtenidas dibujar la curva patrón.

Contenido en almidón de la muestra:

Glucosa (porcentaje) = 0,04 P

Almidón (porcentaje) = 1,06 M

Siendo:

P =  $\mu$ g de glucosa leídos en la curva patrón.

M = porcentaje total de glucosa obtenido.

Observaciones.

- Teniendo en cuenta que el carragenato se determina como almidón, se deberá deducir del valor obtenido de almidón el correspondiente de carragenato.
- En los productos que declaren contener carragenato y hasta que no exista técnica oficial para su determinación cuantitativa se permitirá una tolerancia del 1,4% en el valor obtenido de almidón.

- Cuando la naturaleza de la muestra lo requiera se podrán repetir las extracciones hasta que el producto quede completamente libre de grasas y azúcares. (Panreac, 1999).

### **DETERMINACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES DIRECTOS Y TOTALES EN ZUMOS DE FRUTAS**

El uso de los zumos o jugos de frutas es conocido desde hace mucho tiempo en la alimentación humana. Ya desde 1811, Appert propuso una tecnología para la preparación y conservación del jugo de uvas, sin embargo no es hasta después de 1862 que la industria adquiere un volumen considerable en la elaboración de conservas, a partir de los experimentos de Pasteur y de los estudios sobre clarificación y esterilización de los jugos.

El empleo de los jugos y néctares de frutas en la alimentación humana tiene una gran importancia dietética, derivada de la composición química de estos productos.

Entre los nutrimentos en los jugos y néctares de frutas se destaca en primer término su contenido en azúcares en forma de glucosa y levulosa fundamentalmente, los cuales son altamente asimilables y constituyen un elemento energético de primer orden. Así mismo entran en su composición ácidos orgánicos en forma de ácido cítrico, tartárico y málico, desempeñando un papel estimulador de las funciones glandulares y digestivas, favoreciendo así la digestión y el apetito.

Otros elementos interesantes son las sustancias minerales, consideradas como elementos catalizadores inorgánicos. También están presentes las enzimas, los compuestos aromáticos y las



vitaminas, los cuales se encuentran en las frutas en proporciones variables.

Los jugos y néctares de frutas se consumen en forma de bebidas, ya sea puras, mezcladas con otros ingredientes o carbonatadas. De cualquier manera está claro que constituyen una importante fuente de vitaminas y una agradable opción para la alimentación infantil.

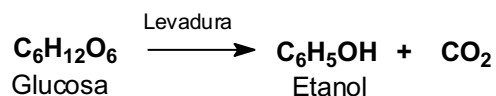
Dentro de las distintas especies de frutas utilizadas en la industria, las cítricas ocupan el primer lugar, en especial la naranja y la toronja.

Las conservas de frutas pueden sufrir alteraciones más o menos intensas durante su almacenamiento. Como resultado, el producto puede, en algunos casos, ser invalidado para su consumo o en otros disminuir su valor comercial.

Estas alteraciones tienen su origen en varias causas, entre las que pueden citarse: materia prima en mal estado, mala esterilización, defectos en el cierre de los envases y malas condiciones de almacenamiento entre otras.

Entre las alteraciones que pueden sufrir los jugos y néctares en conserva se destacan aquellas que se producen como consecuencia de fermentaciones alcohólicas desarrolladas por las levaduras.

El alto contenido en azúcares de los jugos y néctares en conserva, favorece la acción de estos microorganismos (las levaduras), los cuales transforman estos azúcares, fundamentalmente la glucosa, en etanol y CO<sub>2</sub> según:



Este proceso fermentativo puede provocar la aparición de sabores indeseados en el producto y en estadíos más avanzados, el desprendimiento de  $\text{CO}_2$  puede hinchar los envases y provocar su rotura. (NMX-F-312-1978; 1978).

Técnica operatoria (NMX-F-312-1978)

Principio

El método descrito es el volumétrico de Lane-Eynon que se basa en la determinación del volumen de una disolución de la muestra, que se requiere para reducir completamente un volumen conocido del reactivo alcalino de cobre. El punto final se determina por el uso de un indicador interno, azul de metileno, el cual es reducido a blanco de metileno por un exceso de azúcar reductor.

Este método es aplicable para los siguientes productos: leche evaporada y condensada, productos lácteos, néctares, jugos, mermeladas, cajetas, dulces, moles, jarabes y mieles.

Material y aparatos

- Placa eléctrica con control de temperatura.
- Balanza analítica con sensibilidad de 0.1 mg.
- Material común de laboratorio.

Reactivos y disoluciones

Los reactivos empleados en esta prueba, deben ser grado analítico a menos que se indique otra cosa. Cuando se hable de agua debe entenderse agua destilada.

- Oxalato de sodio o de potasio.
- Disolución defecante de acetato neutro de plomo. Preparar una disolución acuosa saturada de acetato neutro de plomo.

- Disolución A: Disolver 34.639 g de sulfato de cobre pentahidratado en 500 mL de agua destilada y filtrar a través de lana de vidrio o papel.
- Disolución B: Disolver 173 g de tartrato doble de sodio y potasio y 50 g de hidróxido de sodio en agua y diluir a 500 mL, dejar reposar dos días y después filtrar usando asbesto.
- Disolución acuosa de azul de metileno al 0.2 %
- Disolución de azúcar invertido al 1 %: P/V Pesar 9.5 g de sacarosa y disolver en 50 mL de agua, añadir 5 mL de HCl concentrado y diluir con agua a 100 mL, guardar algunos días a temperatura ambiente después de esta inversión se completa el volumen a 1000 mL.
- Disolución de Glucosa al 1 %; P/V

#### Procedimiento

#### Titulación de la disolución A + B

- Neutralizar 10 mL de la disolución de azúcar invertido con hidróxido de sodio 1N, en un matraz volumétrico de 100 mL y completar el volumen con agua.
- Transferir la disolución a una bureta y valorar dejando caer la disolución mL a mL a un matraz Erlenmeyer que contenga una mezcla de 5 mL de la disolución A, 5 mL de la disolución B y 50 mL de agua en ebullición. Agregar la disolución de azúcar invertido hasta un poco antes de la total reducción del cobre.
- Agregar 1 mL de la disolución de azul de metileno y completar la titulación hasta decoloración del indicador. La titulación debe efectuarse en 3 minutos. Cuando se emplea el reactivo de glucosa titular directamente.

- El título de la disolución debe ser de 0.0505 a 0.0525 de acuerdo con el cálculo siguiente: Multiplicar los mL de disolución requeridos en la titulación por la concentración de ésta en g/mL.

El título se expresa indicando que 10 mL de la disolución A + B corresponden a X gramos de azúcar invertido; este valor se utilizará en el cálculo de las disoluciones problema.

Determinación de los reductores directos

#### Defecación de la muestra

- Pesar la muestra apropiada (de 5 a 10 g) y colocarla en un matraz volumétrico de 250 mL., añadir 100 mL de agua, agitar lo suficiente para que todo el material soluble en agua quede disuelto.
- Añadir 2 a 10 mL de la disolución saturada de acetato neutro de plomo, agitar y dejar sedimentar.
- Añadir poco a poco oxalato de sodio o potasio hasta la total precipitación del acetato de plomo. Completar el volumen con agua, agitar y filtrar.

#### Determinación

Transferir el filtrado obtenido de la defecación a una bureta y valorar dejando caer la disolución mL a mL a un matraz Erlenmeyer que contenga una mezcla de 5 mL de la disolución A, 5 mL de la disolución B y 50 mL de agua en ebullición. Agregar la disolución de azúcar invertido hasta un poco antes de la total reducción del cobre. Agregar 1 mL de la disolución de azul de metileno y completar la titulación hasta decoloración del indicador.

Determinación de reductores totales

#### Defecación de la muestra

- Pesar una cantidad de muestra apropiada (de 5 a 10 g) y colocarla en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, añadir 100 mL de agua y agitar.
- Añadir de 2 a 10 mL de disolución saturada de acetato neutro de plomo, agitar y dejar sedimentar.
- Añadir poco a poco oxalato de sodio o de potasio hasta la total precipitación del acetato de plomo. Filtrar recibiendo el filtrado en un matraz volumétrico de 250 mL.
- Lavar tres veces el matraz Erlenmeyer y el filtro con 20 mL de agua, recibir el agua de lavado en un matraz volumétrico.

#### Determinación

Añadir 10 mL de HCl concentrado al matraz volumétrico que contiene el filtrado obtenido en la defecación. Calentar a 65 °C durante 15 minutos y enfriar.

Neutralizar con hidróxido de sodio 1N y completar el volumen con agua. Transferir a una bureta y valorar dejando caer la disolución mL a mL a un matraz Erlenmeyer que contenga una mezcla de 5 mL de la disolución A, 5 mL de la disolución B y 50 mL de agua en ebullición. Agregar la disolución de azúcar invertido hasta un poco antes de la total reducción del cobre. Agregar 1 mL de la disolución de azul de metileno y completar la titulación hasta decoloración del indicador.

Expresión de los resultados

$$\% \text{ de azúcares reductores} = \frac{25\,000 \cdot T}{V \cdot P}$$

donde

T es el título de la disolución A + B en gramos de azúcar invertido

V es el volumen en mL de la disolución problema empleado en la valoración de 10 mL de la disolución A + B.

P es la masa de la muestra, en gramos

NOTA: Esta expresión se emplea igualmente para la determinación de azúcares directos y totales. La diferencia está en el volumen en mL de la disolución problema consumido en cada una de las valoraciones.

Observaciones

- La disolución al 1 % de azúcares invertido, puede guardarse aproximadamente siete días a la temperatura de 12 a 15 °C ó 3 días a 20 a 25°C ó 15 minutos a 65°C.
- Las disoluciones al 1 % de azúcar invertido, acidificada, son estables por algunos meses en refrigeración.
- El matraz Erlenmeyer que contiene la mezcla A + B debe estar colocado sobre una parrilla eléctrica.
- Durante la titulación de la disolución A + B debe mantenerse continua la emisión de vapores para prevenir la reoxidación del cobre o del indicador. (NMX-F-312-1978;, 1978).

## **TÉCNICAS EXPERIMENTALES DE DETERMINACIÓN DE FIBRA DIETÉTICA**

### **DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO FIBRA EN CONSERVAS DE FRUTAS Y VEGETALES.**

Todos los alimentos de origen vegetal como son los cereales, frutos secos, verduras, frutas y legumbres proporcionan fibra, sobre todo si están crudos. La fibra no tiene valor nutritivo ya que no se puede digerir ni absorber, pero contribuye a la asimilación de los alimentos, a mantener sano el aparato digestivo y a eliminar los productos de desecho del cuerpo. Además previene la aparición de

enfermedades como el estreñimiento y el cáncer de colon, mejora los niveles de glucosa en sangre en los diabéticos y disminuye el nivel de colesterol en sangre y los riesgos de padecer la obesidad.

Aunque su efecto en el organismo es similar y se encuentran juntas en la mayoría de los vegetales, las fibras se dividen en solubles e insolubles en agua. Algunos de los alimentos que contienen fibra soluble son la avena, la cebada, las manzanas, las frutas cítricas, las fresas y las leguminosas como el frijol, la lenteja y el garbanzo.

Los alimentos ricos en fibra insoluble son los vegetales crudos, frutas con semillas comestibles como el coco, el salvado o cascarilla de los cereales y los cereales integrales como el maíz, trigo, arroz y avena que no han sido trillados y conservan aún su cascarilla. También hay fibra insoluble en los alimentos procesados que se preparan a partir de estos.

Los constituyentes de la fibra cruda en las frutas y vegetales son la celulosa, la hemicelulosa y las sustancias pécticas.

Además de la importancia de estos compuestos desde el punto de vista nutricional, en la industria de procesamiento de alimentos estos compuestos tienen una gran utilidad práctica. Generalmente, la celulosa no se usa como aditivo de manera directa, se emplean más bien sus diversos derivados, principalmente la carboximetilcelulosa, la metilcelulosa y la hidroxipropilmetilcelulosa y la celulosa microcristalina.

Los usos de los derivados de la celulosa son muchos y muy variados, por ejemplo, en el control de la cristalización de la lactosa en helados, en productos congelados, en aderezos para impartir cuerpo e incrementar la viscosidad, en mezclas con otras gomas para evitar la sinéresis en alimentos dietéticos, etc.

Dentro de las sustancias pécticas, las pectinas desempeñan un papel muy importante en la industrialización de las frutas, sobre todo en lo relacionado con la elaboración de bebidas. Además debido a su capacidad de formar geles se emplean en la elaboración de jaleas, mermeladas, confituras y postres dietéticos.

Técnica operatoria (NC 77-22-17. Determinación de fibra. Conserva de frutas y vegetales. Métodos de ensayo. 1982)

#### Principio

El método se basa en la determinación cuantitativa del residuo de la fibra en las paredes celulares de la fruta o vegetal, obtenido mediante la digestión de la muestra en medio ácido.

#### Material y aparatos

- Estufa eléctrica con límite superior de 200°C y valor de división de 1°C.
- Mufla eléctrica con límite superior de 800°C
- Balanza analítica con capacidad máxima de 200 g y valor de división de 0.1 mg.
- Aparato de digestión, el cual consta de un frasco erlenmeyer de 250 mL con boca esmerilada, al cual se inserta un condensador recto de 15 mm de diámetro y 70 mm de longitud con ajuste esmerilado. Se utiliza como fuente de calor una hornilla eléctrica.
- Crisol de Gooch y kitasato
- Asbestos u otro material filtrante resistente al ácido.
- Desecadora con deshidratante efectivo tales como sulfato de cobre, sílicagel y otros.

#### Reactivos y soluciones



- Acetona PA
- Éter etílico PA
- Ácido acético PA
- Ácido tricloroacético PA
- Ácido nítrico PA
- Solución de ácido acético 70% V-V.
- Mezcla ácida: Se disuelven 2 g de ácido tricloroacético PA en una mezcla de 75 mL de solución de ácido acético 70% V-V y 5 mL de ácido nítrico PA.

#### Procedimiento

##### A. Preparación de la muestra:

Productos líquidos o pastosos: Se homogeniza la muestra objeto de análisis, agitando la misma con una varilla de vidrio o agitador durante 15 segundos.

Productos sólidos o semisólidos: Se toman tres porciones en puntos diferentes de la muestra y se tritura en un mortero hasta obtener una mezcla homogénea.

Productos de fase sólida y líquida: Para productos de 30 días o más de producidos, se separa la fase líquida y se agita durante 15 segundos trabajando directamente con la misma y desechando la fase sólida.

Para productos de menos de 30 días de producidos, se homogeniza la muestra haciéndola pasar por una licuadora, retirando previamente las semillas u otras materias que pudieran interferir.

Frutas frescas: Dependiendo del tipo de fruta, se pican en pequeñas porciones, se muelen o se pasan por una licuadora.

Frutas deshidratadas: Se muelen tres veces o se pasa por una licuadora efectuando las operaciones de forma rápida para evitar afectaciones de la muestra.

Especias: Se procede de igual forma que para el caso de las frutas deshidratadas.

**B.** Preparación de la porción de ensayo: Para productos con un contenido de grasa menor a 2% se trabaja directamente con la muestra de ensayo.

Para productos con un contenido de grasa superior a 2%, se procede a desgrasar la muestra de ensayo a través del método Soxhlet.

**A.** Determinación: Se pesan con exactitud, alrededor de 5 g de muestra en el frasco erlenmeyer que se utilizará en la digestión. Se añaden entonces 25 mL de mezcla ácida, se ajusta el condensador a la boca del frasco erlenmeyer y se calienta moderadamente para evitar proyecciones hacia las paredes del erlenmeyer. Cuando comienza la ebullición, se mantiene moderadamente durante 30 minutos. Concluido el tiempo de digestión, se enfría el frasco erlenmeyer y se filtra a través de asbestos u otro material filtrante resistente al ácido, sobre crisol de Gooch previamente tarado. Se lava el frasco erlenmeyer con solución de ácido acético y se transfieren cuidadosamente las porciones del lavado sobre el crisol filtrante.

El residuo del filtrado se lava con agua caliente hasta que las aguas del lavado tengan un pH de 5. Posteriormente se lava tres veces con porciones sucesivas de acetona y éter etílico. Se coloca el crisol

en la estufa a 75°C durante no menos de 45 minutos. Se deja enfriar en desecadora, se pesa y se repite la operación hasta peso constante.

El crisol con el residuo seco se introduce en una mufla a temperaturas entre 500 y 550°C durante no menos de 4 horas. Al cabo de este tiempo, se deja enfriar en desecadora y se pesan con exactitud las cenizas obtenidas.

#### Cálculos

El contenido de fibra se expresa en % m-m y los resultados se reportan hasta la centésima.

$$\% \text{ fibra} = \frac{m(\text{fibra})}{m(M)} \cdot 100$$

donde:

$m(\text{fibra}) = m(\text{crisol luego de secado en estufa a } 75^{\circ}\text{C}) - m(\text{crisol} + \text{cenizas})$ , en gramos

$m(M)$  es la masa en gramos de la porción de ensayo inicialmente pesada. (NC, 1978).

#### **DETERMINACIÓN DE FIBRA DIETÉTICA INSOLUBLE (FDI) EN CEREALES.**

Los componentes de la fibra dietética que se presentan en cantidades importantes en las capas externas de los cereales son la celulosa, la hemicelulosas, las  $\beta$ -glucanas y las pentosanas.

La celulosa es un polímero formado por unidades de D-glucosa unidas mediante enlaces  $\beta$ -1,4, formando una estructura básicamente lineal, la que se asocia de manera sólida consigo mismo y es insoluble en agua. En el caso de los cereales, la celulosa abunda en el pericarpio y el germen, en forma de constituyente estructural de las paredes celulares. Además, la celulosa es un

componente importante de la cáscara, motivo por el cual, los cereales que se cosechan con la cáscara intacta contienen más celulosa.

Las hemicelulosas son polímeros ramificados de diferentes azúcares (xilosa, arabinosa, galactosa, ácido glucónico y glucosa). El peso molecular y su solubilidad en agua son muy variados. Son componentes fundamentales de las paredes celulares y constituyen el material de unión que mantiene juntas a las células. Aunque algunas poseen estructura fibrilar, la mayoría tiene estructura amorfa y químicamente son muy diferentes unas de otras. Por hidrólisis dan lugar a pentosas (xilosa, arabinosa), hexosas (glucosa, manosa y galactosa) y ácidos urónicos (galacturónico, glucurónico), aunque de todos ellos, los más importantes son la xilosa y la arabinosa.

Las hemicelulosas estudiadas con mayor detalle han sido las de la harina de trigo, con un porcentaje del 2 – 3 % de hemicelulosas, de las cuales un 0.5 – 0.8 % son solubles en agua. Las hemicelulosas insolubles en agua, poseen una estructura muy similar a las solubles, pero con un mayor grado de polimerización. En las harinas de trigo, las hemicelulosas solubles en agua, provocan un aumento de la absorción del agua, y por tanto, una disminución del tiempo de amasado, con lo que mejora el volumen del pan y su textura. Por el contrario, las hemicelulosas insolubles en agua perjudican la calidad del pan.

En el caso del centeno, la cantidad de hemicelulosas encontrada es muy superior a la del resto de los cereales (8 %) y se sabe que tienen un papel importante en el proceso de panificación. En la cebada, influyen en los procesos de malteado y producción de cerveza y en la avena, donde presentan porcentajes elevados (4 – 6 %), forman

las bases de las gomas de avena, de reciente interés por reducir los niveles de colesterol.

Las  $\beta$ -glucanas son polímeros de glucopiranosil unido por enlaces 1-4 ó 1-3, siendo su proporción de aproximadamente 3 a 1, en tanto las pentosanas tienen una estructura similar a las hemicelulosas y se conforman por pentosas como la arabinosa y la xilosa.

Las  $\beta$ -glucanas y pentosanas tienen la característica de ligar agua, por lo que se les denomina, comúnmente, gomas. La solubilidad en agua dependerá del tamaño molecular y del grado de ramificación de la cadena.

Estos polisacáridos diferentes al almidón forman la fibra dietética, siendo considerados los cereales una fuente importante de ésta.

El contenido de fibra dietética total y sus fracciones en algunos cereales se muestra a continuación:

Contenido de fibra dietética de algunos cereales.

|                 | Fibra dietética total | Fibra dietética insoluble | Fibra dietética soluble |
|-----------------|-----------------------|---------------------------|-------------------------|
| Arroz elaborado | 3,7                   | 2,8                       | 0,9                     |
| Avena entera    | 12,5                  | 5,9                       | 6,6                     |
| Cebada          | 15,4                  | 11,5                      | 3,9                     |
| Centeno         | 16,1                  | 12,3                      | 3,8                     |
| Maíz            | 12,8                  | 9,7                       | 1,1                     |
| Sorgo           | 11,8                  | 10,8                      | 1,0                     |
| Trigo           | 12,1                  | 10,4                      | 1,7                     |

(Zumbado, 2004).

Técnica operatoria (Panreac. Métodos oficiales de análisis.  
Cereales, derivados de cereales y cerveza. 1999)

Principio.

La muestra se extrae con una solución de detergente neutro en caliente. La determinación de las cenizas en el residuo filtrado permite conocer por diferencia, de peso, la cantidad de celulosa, hemicelulosa y lignina de la muestra.

Material.

- Baño termostático y refrigerante de reflujo.
- Filtros de vidrio fritado del número 2.
- Sistema de filtración al vacío por succión a vacío.
- Desecador.
- Estufa para 110°C y para 37°C.
- Horno eléctrico (mufla) con dispositivo de control de temperatura.
- Balanza analítica de precisión 0.1 mg.

Reactivos.

- Acetona PA.
- Ácido orto- fosfórico al 85% PA.
- Agua Destilada PA.
- alfa Amilasa tipo VI-A.
- Decahidronaftaleno.
- EDTA Sal disódica 2-hidrato PA.
- Fosfato mono-básico de sodio anhidro.
- Etilglicol

- Tetra-borato de Sodio 10-hidrato PA.
- Fosfato di-básico de Sodio anhidro PA.
- Lauril Sulfato de Sodio.
- Sulfito de Sodio Anhidro PA.
- Solución de Detergente Neutro: Mezclar 18,61g de EDTA Sal di sódica 2-hidrato PA y 6,81 g de Tetra-borato de Sodio 10-hidrato PA con 150 mL de Agua Destilada PA y calentar hasta su disolución. Disolver 30 g de Lauril Sulfato de Sodio y 10 mL de Etilglicol en 700 mL de Agua Destilada PA caliente y mezclar con la solución anterior. Disolver 4,56 g de Fosfato di-básico de Sodio anhidro PA en 150 mL de Agua Destilada PA y mezclar con las soluciones anteriores. Ajustar a pH 6,9–7 con Ácido orto- fosfórico al 85% PA, si fuera necesario.
- Solución tampón fosfato 0,1 N: Mezclar 39,2 mL de Fosfato mono-básico de sodio anhidro 0,1 M (preparado disolviendo 13,6 g en 1 L de Agua Destilada PA) con 60,8 mL de Fosfato di-básico de Sodio anhidro PA 0,1 M (preparado disolviendo 14,2 g en 1 L de Agua Destilada PA).

Procedimiento.

Pesar, con precisión de 1 mg, aproximadamente 1g de muestra previamente homogenizada. Agregar ordenadamente 100 mL de solución de detergente neutro, Decahidronaftaleno y 0,5 g de Sulfito de Sodio Anhidro PA. Calentar hasta ebullición y mantener a reflujo durante una hora. Filtrar a través de filtro de vidrio fritado del número 2 (previamente calcinado a 550°C) conectado a un sistema de succión por vacío.

Lavar sucesivamente con unos 300 mL de Agua Destilada PA hirviendo. Añadir hasta sobrepasar el nivel del residuo una solución al 2,5% de amilasa en tampón fosfato 0,1 N.

Incubar a 37°C durante 18 horas, aproximadamente. Filtrar la solución enzimática por succión a través de un sistema de vacío y lavar el residuo con unos 80 mL de Acetona PA. Secar el filtro con el residuo a 110 °C durante 8 horas, como mínimo. Enfriar en desecador y pesar. Mantener el filtro con el residuo en mufla hasta 550°C durante 3 horas. Enfriar y pesar.

Cálculos.

Calcular el contenido de fibra dietética insoluble (FDI) expresado en porcentaje.

$$\% \text{ FDI} = \frac{m(\text{FDI})}{m(\text{M})} \cdot 100$$

donde:

$m(\text{FDI}) = m(\text{filtro con el residuo secado en estufa a } 110^{\circ}\text{C}) - m(\text{crisol} + \text{cenizas})$ , en gramos

$m(\text{M})$  es la masa en gramos de la porción de ensayo inicialmente pesada

Observaciones.

Las muestras conteniendo más de un 10% de materia grasa deberán desengrasarse previamente.

Para efectuar el procedimiento anterior podrán usarse procedimientos automáticos o semiautomáticos, adaptándose a las especificaciones del equipo.

(Panreac , 1999).



### 2.6.1. Determinación de fibra dietética soluble, insoluble y total en alimentos.

Técnica operatoria (AACC. 1992)

Principio General:

1 gramo de muestra de alimento seco (por duplicado) es sometido a digestiones enzimáticas consecutivas por  $\alpha$ -amilasa estable al calor, proteasa y amiloglucosidasa.

Principio de determinación de fibra dietética soluble (FDS) e insoluble (FDI): La fibra dietética insoluble es filtrada. El residuo es lavado con agua destilada caliente o tibia. Se combinan la solución de filtrado y agua de lavado y son precipitados con 4 volúmenes de etanol 95% para la determinación de fibra dietética soluble. El precipitado es filtrado y secado. Ambos, FDS y FDI (residuos), son corregidos para proteínas, ceniza y blanco para los cálculos finales de los valores de FDS y FDI.

Principio de determinación de fibra dietética total (FDT): La FDS es precipitada con etanol y el residuo es filtrado, secado y pesado. El valor de FDT es corregido para el contenido de proteína y cenizas.

Objetivo:

Este método determina el contenido de FDS, FDI y FDT en alimentos procesados y en materias primas, tales como; productos de cereales, frutas y vegetales.

Material y aparatos

- Beaker, 400 mL y 600 mL
- Crisol de Gooch con placa filtrante. Preparar como sigue:
  - a. Incinerar toda la noche a 525° en horno de mufla.

- b. Retirar celite y ceniza por medio de vacío.
  - c. Remojar en solución limpiadora Micro 2% a temperatura ambiente por una hora.
  - d. Enjuagar los crisoles con agua y agua desionizada.
  - e. Para el enjuague final, usar 15 mL de acetona y aire seco.
  - f. Adicionar 10 g de celite al crisol seco y secar a 130°C hasta peso constante.
  - g. Enfriar el crisol en una desecadora por aproximadamente 1 hora y pesar el crisol conteniendo celite.
- Frasco de filtrar de paredes fuertes.
  - Adaptadores de cubrir, de caucho para usar en los frascos de filtrar.
  - Fuente de vacío: Bomba de vacío o aspirador con regulador capaz de regular el vacío.
  - Baño de agua con agitación, capacidad (20-40L) con tapa, capaz de mantener temperatura de 100° C; equipado con tiempo automático para operación on/off.
  - Balanza analítica con precisión de 0.1 mg.
  - Horno de mufla: 525 ± 5°C.
  - Estufas de convección mecánica (103 ± 2° y 130 ± 3°)
  - Reloj.
  - Desecador de aire ajustado.
  - Peachímetro.
  - Pipetas 100 – 300 µL.
  - Dispensadores.

a.  $15 \pm 0.5$  mL para 78% EtOH, y acetona.

b.  $40 \pm 0.5$  mL para buffer.

- Cilindro de 500 mL.
- Agitadores magnéticos o de barras.
- Espátula de gaucho.

Reactivos y soluciones.

- Etanol 95% V-V. PA
- Etanol 78% V-V. Poner 207 mL de agua dentro de un frasco de 1L. Enrasar con etanol 95% V-V.
- Acetona PA
- Enzimas para FDT (Sigma Chemical Co, St, Louis, MO 63178). Almacenar a 0-5°C.

a.  $\alpha$ -Amilasa , estable al calor ( A5426)

b. Proteasa (P3910). Hacer una solución a 50 mg/mL en buffer MES/TRIS refrescar diariamente mientras se enfrían los beaker de la  $\alpha$ -Amilasa, estable al calor (A5426).

c. Amiloglucosidasa (AMG:A9913)

- Agua desionizada.
- Celite, lavado ácido, preincinerado.
- Solución limpiadora, Micro (International Products Corp, Trenton, NJ). Hacer solución al 2% con agua desionizada.
- Buffer MES/TRIS, 0.05 cada uno, pH=8 y temperatura de 2-24°C. Disolver 19.52 g de 2 (N- morfolino) etanosulfónico (MES) (sigma, M8250) y 14.2 g tris (hidroximetil) aminoetano (tris) (sigma, t 1503) en 1.7 L de agua desionizada. Ajustar el pH del buffer a

aproximadamente 8.3 a una temperatura de 20°C y aproximadamente 8.1 de 27-28°C.

- Solución de ácido clorhídrico 0.561 N adicionar 93.5 mL HCl 6N a 700 mL de agua de un frasco de 1L. Enrasar con agua.
- pH estándar, soluciones buffer a pH= 4, 7 y 10.

Procedimiento.

#### 1. Blancos:

En cada ensayo realizar 2 blancos para quitar cualquier contribución de reactivos o residuos.

#### 2. Muestra

a. Pesar por duplicado muestras  $1.000 \pm 0.005$  g de exactitud dentro de un beaker alto de 400 mL.

b. Adicionar 40 mL de mezcla de los buffer MES/TRIS (pH=8.2) a cada beaker adicionar barra agitadora magnética a cada beaker. Agitar con agitador magnético hasta que la muestra esté completamente disuelta para prevenir la formación de grumos, los cuales podrían hacer que la enzima fuera inaccesible a la muestra.

#### 3. Incubación con $\alpha$ -Amilasa estable al calor.

a. Adicionar 200 mL de solución de  $\alpha$ -Amilasa termoestable, mientras agita a baja velocidad.

b. Tapar cada beaker con papel de aluminio.

c. Colocar las muestras tapadas en baño de agua a 95-100°C e incubar por 35 minutos con agitación continua. Comenzar a medir el tiempo una vez que todos los beaker estén en el baño de agua caliente.

#### 4. Enfriar.

- a. Retirar todos los beaker con muestra del baño de agua caliente y enfriar a 60°C.
- b. Quitar las tapas de papel metálico.
- c. Enjuagar las paredes laterales del beaker y la espátula con 10 mL de agua.
- d. Ajustar la temperatura del baño a 60° C por drenaje del agua caliente procedente del baño y adicionar agua fría.

**5. Incubación con proteasa.**

- a. Adicionar 100  $\mu$ L de proteasa de cada muestra.
- b. Recubrir con papel de aluminio.
- c. Incubar en un baño de agua agitada a  $60 \pm 1^\circ\text{C}$ , con agitación continua por 30 minutos. Comenzar a medir el tiempo cuando la temperatura del baño de agua alcance los 60°C.

**6. Chequear pH.**

- a. Quitar los beaker muestra del baño de agua agitada.
- b. Quitar las cubiertas.
- c. Añadir 5 mL de HCl 0.561 dentro de la muestra mientras se agita.
- d. Chequear pH el cual debe estar entre 4.1- 4.8. Ajustar el pH, si es necesario con solución de NaOH 5% o HCl 5%.

**7. Incubación con amiloglucosidasa.**

- a. Adicionar 300  $\mu$ L de amiloglucosidasa mientras agita con agiatador magnético.
- b. Recolocar la tapa de aluminio.

c. Incubar en baño de agua agitada a 60° por 30 min. Con agitación constante. Comenzar a medir el tiempo cuando la temperatura sea de 60°C.

Fibra Dietética Insoluble.

## **8. Filtración**

- a. Tarar el crisol conteniendo celite con precisión de 0.1mg.
- b. Humedecer y redistribuir la capa de celite en crisol usando 3 mL de agua destilada .
- c. Aplicar succión al crisol para secar el celite en vaso frito.

**9.** Filtrar la mezcla de enzima del paso 7 a través de un crisol dentro de un frasco de filtración.

**10.** Lavar el residuo 2 veces con 10 mL de agua destilada precalentada a 70°C, usar agua para enjuagar el beaker antes de lavar residuo en crisol. Salvar el filtrado y el agua de lavado para la determinación de FDS. Pasar la solución para un beaker de 600 mL pretarado. (Para FDS, ir al paso 11 del procedimiento de FDS).

**11.** Lavar el residuo 2 veces con 10 mL de etanol 95% V-V y Acetona.

**12.** Secar el crisol conteniendo el residuo en estufa a 103° durante la noche.

**13.** Enfriar el crisol en una desecadora por aproximadamente 1h. Pesar el crisol conteniendo el residuo.

**14.** Determinación de proteínas y cenizas:

Un residuo de cada tipo de fibra es analizado para proteína y el segundo residuo es analizado para ceniza.

a. Llevar a cabo el análisis de proteínas por método de Kjeldahl. Usar 6.25 como factor para calcular los granos de proteínas en todos los casos.

b. Para el análisis de cenizas, incinerar el segundo residuo por 5 horas a 525°C. Enfriar en desecador y pesar con precisión de 0,1 mg.

Fibra Dietética Soluble.

**10.** Seguir los pasos del 1-10 del método de FDI.

**11.** Pesar la solución combinada de filtrado y el agua de lavado en beaker pretarado del paso 10 de FDS.

**12.** Precipitación de FDS.

a. Adicionar volúmenes de etanol de precalentado a 60°C. Usar una porción de etanol para enjuagar el frasco del filtrado del procedimiento de FDI (paso10). Alternativamente ajustar el peso de la solución combinada de filtrado y agua de lavado a 80 g y adicionar 320 mL de etanol 95% V-V precalentado a 60°C.

b. Permitir precipitar a temperatura ambiente por 60 minutos.

**13.** Filtración.

a. Tarar el crisol conteniendo celite con precisión de 0.1mg.

b. Humedecer y redistribuir la capa de celite en el crisol usando 15 mL de etanol 78% V-V de la botella de lavar.

c. Aplicar succión al crisol para secar el celite en el vaso fritado hasta que quede mate.

**14.** Filtración.

a. Filtrar la enzima precipitada digerida desde el paso 12 en a través del crisol.

b. Usando una botella de lavar con etanol 78% V-V y una espátula rubber, transferir cuantitativamente todas las partículas remanentes al crisol.

**15.** Lavar.

Usando un vacío, lavar el residuo sucesivamente con 2 porciones de 15 mL de etanol 78% V-V, etanol 95% V-V y Acetona.

**16.** Secar el crisol conteniendo el residuo durante toda la noche en estufa a 103°C.

**17.** Proceder con el paso 13 y 14 del método de FDI.

Fibra Dietética Total

**7.** Seguir los pasos del 1-7.

**8.** Precipitación de FD con etanol.

a. A cada muestra, adicionar 25 mL de etanol 95% V-V precalentado a 60°C. Medir el volumen después del calentamiento. La relación volumen de etanol:volumen de muestra debe ser 4:1. Si el etanol 95% es accidentalmente sobrecalentado a 65°C, adicionar 228 mL para ajustar el volumen de alcohol expandido.

b. Cubrir todas las muestras con papel de aluminio.

c. Permitir precipitar a temperatura ambiente por 60 min.

**9.** Proceder con los pasos del 13-17 del procedimiento de FDS.

Cálculos.

$$(\%) \text{ Fibra dietética} = \frac{\frac{R_1 + R_2}{2} - p - A - B}{\frac{m_1 + m_2}{2}} \times 100$$

donde:



R<sub>1</sub>: Masa del residuo 1 de m<sub>1</sub>.

R<sub>2</sub>: Masa del residuo 2 de m<sub>2</sub>.

M<sub>1</sub>: Masa de la muestra 1.

M<sub>2</sub>: masa de la muestra 2.

A: Masa de la ceniza de R<sub>1</sub>.

p: Proteína de R<sub>2</sub>.

B: Blanco.

$$B = \frac{BR_1 + BR_2}{2} - BP - BA$$

donde

BR: Residuo del blanco.

BP: Blanco de proteína de BR<sub>1</sub>.

BA: Blanco de ceniza de BR<sub>2</sub>.

(AACC., 1992).

## BIBLIOGRAFÍA

- INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN). NORMA TÉCNICA ECUATORIANA . (2012). 299, Determinación de la humedad en la leche en polvo. Quito, Ecuador.
- AACC, m. 3.-1. (1992). *Determination of soluble, insoluble and total dietary fiber in food and food products*.
- AACC. ( 1992). Determination of soluble, insoluble and total dietary fiber in food and food products. *AACC method 32-07*.
- AOAC. (2000). *Official Methods Validation Program "AOAC International Official Methods of Analysis"* (Vol. XXIII). 17.
- Arévalo, M. (2015). Elaboración de Yogur a Base de Bacterias Probióticas, Prebióticos y Vitamina A en la Planta Piloto de Lácteos de la Universidad de Cuenca. Cuenca, Ecuador.
- Asp, N. G., & Johansson, C. G. (1984). Dietary fiber analysis. . *Clinical Nutrition*.

- Avendaño, G., & y otros. (2013). Propiedades del alginato y aplicación en alimentos. *Temas*, 87-96. Obtenido de <http://web.udlap.mx/tsia/files/2013/12/TSIA-71-Avendano-Romero-et-al-2013.pdf>
- Carreño, J. (20 de 01 de 2015). <http://covarida.blogspot.com>. Obtenido de <http://covarida.blogspot.com/2011/11/composicion-de-la-leche-de-vaca-vs.html>
- Chasquibol Silva, N. (2008). Extracción y caracterización de pectina obtenidas a partir de frutos de la biodiversidad peruana. *Ingeniería Industrial*, 175-199. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/3374/337428492010.pdf>
- Ecured. (20 de 02 de 2016). <https://www.ecured.cu/Celulosa>. Obtenido de [https://www.ecured.cu/Celulosa#Estructura\\_de\\_la\\_celulosa](https://www.ecured.cu/Celulosa#Estructura_de_la_celulosa)
- FAO. (25 de 12 de 2018). <http://www.fao.org>. Obtenido de <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB489S/AB489S03.htm>
- García Martínez, E. (10 de 03 de 2017). <https://riunet.upv.es>. (U. P. Valencia, Ed.) Obtenido de <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/16338/Determinaci%C3%B3n%20de%20proteinas.pdf?sequence=1>
- INEN. (2012). NTE 299. *Determinación de humedad en leche en polvo*. Quito.
- INEN. (2012). NTE 302. *Leche en polvo. Determinación de las cenizas*. Quito.
- INEN. (2012). NTE 348. *Determinación de Cenizas en Vino*, 4. Quito.
- INEN. (2013). NTE 0012:73. *LECHE. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE GRASA*. Quito.
- INEN. (Septiembre de 2013). NTE INEM-ISO 936. *Carne y Productos Carnicos - Determinación de Ceniza Total. (IDT), I, 5*. Quito.
- INEN. (2013). NTE INEN 522. *HARINAS DE ORIGEN VEGETAL. DETERMINACION DE LA FIBRA CRUDA*. Quito.
- INEN. (Septiembre de 2013). NTE INEN-ISO 3961:2013. *ACEITES Y GRASAS DE ORIGEN ANIMAL Y VEGETAL. DETERMINACION DEL INDICE DE YODO*. Quito.
- INEN. (2013). NTE: 1442. *Determinación de contenido de humedad*. Quito.
- INEN. (2015). NTE INEM 16. *Leche y Productos Lácteos. Determinación de Contenido de Nitrogeno. Método de Kjeldahl*, 14. Quito.
- INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN . (2013). 0348 Bebidas alcoholicas. Determinación de Cenizas. Segunda revisión. Quito, Ecuador .
- INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN. (2012). (L. y lácteos, Productor) Obtenido de <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/ecu139663.pdf>
- INTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN). (2012). *Norma Técnica Ecuatoriana 302. Leche En Polvo. Determinación De Las Cenizas*. Quito-Ecuador: Segunda revisión.
- INTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN). NORMA TÉCNICA ECUATORIANA. (1085). Carnes y productos cárnicos. Determinación de la pérdida de calentamiento. *NTE INEN 0777*. Quito, Ecuador.
- Marchante, P., & col. (2008). *Análisis Químico Farmacéutico Métodos clásicos cuantitativos*. La Habana: Félix Varela.
- Marchante, P., Zumbado, H., González, A., Álavarez , M., & Hernández, L. (2008). *Análisis Químico Farmacéutico. Métodos clásicos cuantitativos*. La Habana: Félix Varela.
- Martínez, J. J. (16 de 02 de 2017). <http://libroelectronico.uaa.mx>. Obtenido de <http://libroelectronico.uaa.mx/capitulo-12-otras-vias/estructura-y-funcion-del.html>

- Martínez, M. J. (2010). *Impacto de la interacción entre lactoglobulina, caseinoglicomacropéptido y polisacáridos en coloides alimentarios*. Buenos Aires: UBA. Obtenido de [file:///D:/correcciones%20libro%20ing.%20Fon%20Fay/correcciones%2025%2007%20%202017/tesis\\_n4570\\_Martinez%20carragento.pdf](file:///D:/correcciones%20libro%20ing.%20Fon%20Fay/correcciones%2025%2007%20%202017/tesis_n4570_Martinez%20carragento.pdf)
- NMX-F-312-1978;. (1978). Determinación de reductores directos y totales en alimentos. Normas mexicanas. . *Method of test for total and direct reducing substances in food*. México.
- Norma, C. (1978). NC77-22-17. Determinación de fibra. Conserva de frutas y vegetales. Métodos de ensayo. Cuba: Dirección general de normas.
- Norma, C. (1981). NC 85-04. Aceites y grasas comestibles. Métodos de ensayo. La Habana, Cuba.
- Norma, C. (2001). NC-ISO.669. Aceites y grasas comestibles. Método de ensayo. La Habana, Cuba.
- Norma, C. (2004). NC-1443. Carne y productos cárnicos. Método de ensayo. La Habana, Cuba.
- Norma, C., & NC 77-22-17. (1982). *Determinación de fibra. Conserva de frutas y vegetales. Métodos de ensayo*.
- Normas Cubanas. (1981). NC 79-06 Carne y productos cárnicos. Métodos de ensayo.
- Panreac . (1999). *Métodos Analíticos en Alimentos. Cereales, derivados de cereales y cerveza*. España: Panreac Química, SA.
- Panreac. (1992). Método oficiales de análisis. Aceites y grasas. España.
- Panreac. (1999). *Métodos Analíticos en Alimentaria. Carne y productos cárnicos. Métodos oficiales de análisis*. España: PANREAC QUÍMICA, SA.
- Panreac. (1999). Métodos Analíticos en Alimentaria. Productos derivados de la Uva, aguardientes y sidras. Métodos oficiales de análisis. España: PANREAC QUÍMICA, SA.
- Panreac. (1999). *Métodos Analíticos en Alimentos, Cereales, derivados de cereales y cerveza. Métodos oficiales de análisis*. España: Panreac Química SA.
- Panreac. (2013). Métodos Analíticos en Alimentos. Leche y productos lácteos. . *Métodos oficiales de análisis*. España, España: PANREAC QUÍMICA, SA. .
- Peso, P., Frontela, C., & y otros. (2012). Polisacáridos de algas como ingredientes funcionales en acuicultura marina: alginato, carragento y ulvano. *Biología Marina y Oceanografía*, 373-381. Obtenido de <https://scielo.conicyt.cl/pdf/revbiolmar/v47n3/art01.pdf>
- Porto, S. (18 de 03 de 2017). <http://www.agargel.com>. Obtenido de <http://www.agargel.com.br/index-es.html>
- Prosky, L., & y , c. (1988). Determination of soluble and insoluble dietary fiber in food and food products. *Publmed*, 23. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2853153>
- Ramírez, G. (11 de 11 de 2017). <http://aprendeenlinea.udea.edu.co>. *Esquema de Weende*. Colombia. Obtenido de [http://aprendeenlinea.udea.edu.co/lms/moodle/pluginfile.php/44570/mod\\_resource/content/0/Esquema\\_Weende\\_moodle.pdf](http://aprendeenlinea.udea.edu.co/lms/moodle/pluginfile.php/44570/mod_resource/content/0/Esquema_Weende_moodle.pdf)
- Rangel, D. (05 de 12 de 2016). <https://es.scribd.com>. Obtenido de <https://es.scribd.com/document/90696073/Acido-alginico>

- Rayas, P., & Romero, B. (2008). Fibra a base de frutas, vegetales y cereales función salud. *Mexicana de Agronegocios*, 613-621. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/141/14102306.pdf>
- Sánchez García, J. M. (15 de 09 de 2017). <https://es.slideshare.net>. Obtenido de <https://es.slideshare.net/DiegoGuzmanSilva/prctica-3-20161123-lab-analisis-determinacin-de-cenizas>
- Segura, F. (2007). Descripción y Discusión acerca de los métodos de análisis de fibra y del valor nutricional de forrajes y alimentos para animales. *Vitae*, 72-81. Obtenido de file:///C:/Users/Flor%20Marina%20Fon%20Fay/Desktop/PORTAFOLIO%20DOCENTE%20ING.%20AGROINDUSTRIA%202018%202019%20FINAL/MAA321%20METODOS%20Y%20TECNICAS%20DE%20ANALISIS/v14n1a11.pdf
- U.T.E.Q. Laboratorio de Bromatología . (2013). Principales Técnicas de Alimentos. *Determinación de Fibra Bruta*. Quevedo.
- U.T.E.Q. Laboratorio de Bromatología. (Abril de 2012). Principales Técnicas de Análisis de Alimentos. *Determinación de Cenizas*. Quevedo.
- U.T.E.Q. Laboratorio de Bromatología. (Septiembre de 2013). Técnicas de Análisis de Laboratorio. *Determinación de Humedad o perdida por calentamiento*. Quevedo, Los Ríos.
- U.T.E.Q. Laboratorio de Bromatología. (2014). Principales Técnicas de Alimentos. *Determinación de Grasa*. Quevedo.
- U.T.E.Q. Laboratorio de Bromatología. (2014). Principales Técnicas de Alimentos. *Determinación de Fibra*. Quevedo.
- Ureña, F. (05 de 01 de 2017). <https://www.uco.es>. Obtenido de <https://www.uco.es/zootecniaygestion/menu.php?tema=146>
- UTEQ. (2014). Equipos, Materiales y Reactivos empleados en Laboratorio de Bromatología. *Reactivos empleados en Determinación de Proteína Bruta*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Materiales empleados en Determinación de Humedad*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de equipos, materiales y reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Equipos empleados en Determinación de Humedad*. . Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Materiales empleados en Determinación de Grasa*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Materiales empleados en Determinación de Grasa*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Reactivos empleados en Determinación de Grasa*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Equipos empleados en Determinación de Fibra por el método de WEENDE*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Materiales empleados en Determinación de Fibra por el Método de WEENDE*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Reactivos empleados en Determinación de Fibra por el Método de WEENDE*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Equipos empleados en Determinación de Proteína Bruta*. Quevedo.

- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Equipos empleados en Determinación de Proteína Bruta*. Quevedo.
- Vásquez, P. (25 de 05 de 2017). <https://es.scribd.com>. Obtenido de <https://es.scribd.com/document/60173156/Determina>
- Zumbado, H. (2002). Análisis Químico de los Alimentos. La Habana, Cuba: Félix Varela.
- Zumbado, H. (2004). *Análisis Químico de los Alimentos; Método Clásico*. La Habana: Universitaria. Obtenido de <file:///C:/Users/Flor%20Marina%20Fon%20Fay/Downloads/Analisis%20quimico%20de%20los%20aliment%20-%20Hector%20Zumbado-Fernandez.pdf>
- Zumbado, H. (2004). <https://es.scribd.com>. Obtenido de <https://es.scribd.com/doc/47639250/Analisis-Quimico-de-los-alimentos>



CAPÍTULO

# **APLICACIÓN TEÓRICO – PRÁCTICO DE LAS PRINCIPALES TÉCNICAS DE ALIMENTOS**



## **CAPÍTULO III. APLICACIÓN TEÓRICO – PRÁCTICO DE LAS PRINCIPALES TÉCNICAS DE ALIMENTOS**

### **INTRODUCCIÓN**

En este capítulo se presenta técnicas y métodos de alimentos para muestras y productos terminados; análisis como son: humedad, ceniza, grasa, fibra, proteína bruta,

Es importante y necesario conocer las técnicas y métodos para realizar análisis que brinden resultados confiables; debido a que la calidad de los alimentos hoy en día se encuentra en todo el auge dentro de la industria alimenticia.

En este capítulo se presenta también las normas INEN referentes a las principales técnicas de alimentos, para brindar una información más amplia y completa y aportar a los principios básicos del control de calidad de los alimentos.

### **DETERMINACIÓN DE HUMEDAD O PÉRDIDA POR CALENTAMIENTO**

Se muestra la siguiente norma aplicada en el laboratorio de Bromatología en la Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

Objeto

Esta norma establece el método para determinar el contenido de Humedad y otras materias volátiles en diferentes tipos de muestras de origen agropecuario y productos terminados.

5. Instrumental

- Balanza analítica, sensible al 0.1 mg.
- Estufa, con regulador de temperatura.
- Desecador, con silicagel u otro deshidratante.

- Crisoles de porcelana
- Espátula
- Pinza

## 6. Preparación de la muestra

Las muestras para el ensayo deben estar acondicionadas en recipientes herméticos, limpios y secos (vidrio, plástico u otro material inoxidable), completamente llenos para evitar que se formen espacios de aire.

La cantidad de muestra extraída de un lote determinado no debe exponerse al aire por mucho tiempo.

Se homogeniza la muestra invirtiendo varias veces el recipiente que la contiene.

## 7. Procedimiento

- La determinación debe efectuarse por duplicado.
- Calentar el crisol de porcelana durante 30 min. en la estufa, en donde va a ser colocada la muestra, dejar enfriar a temperatura ambiente y pesar.
- Homogenizar la muestra y pesar 1 g con aproximación al 0.1 mg.
- Llevar a la estufa a 130° C por dos horas o 105°C por 12 horas.
- Transcurrido este tiempo sacar y dejar enfriar en el desecador por media hora, pesar con precisión.

## 8. Cálculos



$$H = \frac{W_2 - W_1}{W_0} \times 100$$

$W_0$  = Peso de la Muestra (g)

$W_1$  = Peso del crisol más la muestra después del secado.

$W_2$  = Peso del crisol más la muestra antes del secado

%MS = 100 - HT

HT= Humedad Total.

MS= Materia Seca (U.T.E.Q. Laboratorio de Bromatología, 2013).

**CON REFERENCIA A LA SIGUIENTE NORMA: DETERMINACIÓN DE  
CONTENIDO DE HUMEDAD. (IDT). NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE  
INEN-ISO 1442:2013**

1. Objeto

Esta norma especifica un método de referencia para la determinación del contenido de humedad de la carne y productos cárnicos.

2. Definiciones

A los efectos de esta norma, se entenderá por.

Contenido de humedad de la carne y productos de carne: La pérdida de masa obtenida bajo las condiciones especificadas en esta Norma ecuatoriana, dividida por la masa de la muestra problema.

Contenido de humedad se expresa como porcentaje en masa.

Resultado de la prueba: El valor de una característica obtenida llevando a cabo un método específico de ensayo. [ISO 5725-1]

### 3. Principio

Mezclar completamente la porción de ensayo con arena y secar hasta un peso constante a  $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

### 4. Material

4.1. Arena, limpia, lavada con ácido, de un tamaño tal que pasa a través de un tamiz de orificios 1,4 mm y permanecer en un tamiz con orificios de tamaño de 250  $\mu\text{m}$ .

4.2. Seque la arena antes de su uso entre  $150^{\circ}\text{C}$  a  $160^{\circ}\text{C}$  y guardar en un frasco cerrado herméticamente.

NOTA – Si no está disponible arena limpia (lavado con ácido), la arena se puede limpiar mediante el siguiente procedimiento.

Lavar la arena con agua corriente. Hervir la arena con ácido clorhídrico diluido,  $\rho_{20} = 1,19 \text{ g/ml}$ , diluido (1 + 1), durante 30 min mientras se agita continuamente. Repetir la operación de ebullición con otra porción del ácido hasta que el ácido ya no se vuelve amarillo después de la ebullición. Lavar la arena con agua destilada hasta que la prueba de cloruro sea negativa. Para el almacenamiento, seque la arena entre  $150^{\circ}\text{C}$  a  $160^{\circ}\text{C}$ .

### 5. Equipos

5.1 Equipo mecánico o eléctrico capaz de homogeneizar la muestra de laboratorio. Esto incluye un cortador de alta velocidad de rotación, o una picadora equipada con una placa con orificios no superiores a 4,0 mm de diámetro.

5.2 Cápsula plana, de porcelana o de metal (por ejemplo, níquel, aluminio, acero inoxidable), de diámetro de al menos 60 mm y altura aproximadamente 25 mm (INEN, 2013).

**COMO REFERENCIA A LA NORMA TÉCNICA ECUATORIANA INEN 299**  
**“DETERMINACIÓN DE LA HUMEDAD EN LECHE EN POLVO”**

1. Objeto

Esta norma tiene por objeto establecer el método para determinar el contenido de humedad y otras materias volátiles, por calentamiento a 103° C, en la leche en polvo.

2. Alcance.

2.1 Esta norma se aplica a los siguientes tipos de leche:

- a) Tipo I. Leche entera en polvo.
- b) Tipo II. Leche semidescremada en polvo.
- c) Tipo III. Leche descremada en polvo.

3. Resumen

3.1 Calentar el producto a 103°C hasta eliminar completamente la humedad y las materias volátiles, luego pesarlo.

4. Instrumental

4.1 Balanza analítica. Sensible al 0,1 mg.

4.2 Cápsula de metal con tapa (níquel, aluminio o de acero inoxidable), o de otro material inalterable a las condiciones de ensayo, de fondo plano, con diámetro de 75mm y altura de 25 mm.

4.3 Estufa, con ventilación y regulador de temperatura, ajustada a  $102^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ .

4.4 Desecador, con cloruro de calcio anhidro u otro deshidratante adecuado.

## 5. Preparación de la muestra

5.1 La leche en polvo es un producto que absorbe fácilmente la humedad y olores extraños; por tanto, es necesario que todos los utensilios y recipientes, además de limpios y estériles, estén secos.

5.2 La extracción de la muestra debe realizarse en un ambiente seco y exento de polvo y olores, lo más rápidamente posible, procurando reducir al mínimo el tiempo que el producto a ser ensayado permanezca en contacto con el aire.

5.3 Transferir la leche en polvo a un frasco limpio, estéril y bien seco, de capacidad aproximadamente dos veces el volumen de la muestra, e inmediatamente tapar y homogeneizar invirtiendo varias veces el recipiente que lo contiene.

## 6. Procedimiento

6.1 La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra preparada.

6.2 Lavar cuidadosamente y secar la cápsula destapada y su tapa en la estufa ajustada a  $103^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , durante una hora. Tapar la cápsula, sacarla de la estufa, dejarla enfriar en el desecador por 30 min y pesarla con aproximación al 0,1 mg.

6.3 Invertir lentamente la botella que contiene la muestra preparada; inmediatamente, transferir a la cápsula y pesar rápidamente, con aproximación a 0,1 mg, aproximadamente 1 g de muestra, y tapar.

6.4 Quitar la tapa, colocar la cápsula a la estufa ajustada a  $103^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , y calentar durante 2 h.

6.5 Tapar la cápsula y dejar enfriar en el desecador durante 30 min, y pesar con aproximación a 0,1 mg. Repetir el calentamiento por períodos de 1 h, enfriando y pesando hasta que la diferencia entre

los resultados de dos operaciones sucesivas de pesaje no exceda de 0,5 mg.

## 7. Cálculos

7.1 El contenido de humedad en la leche en polvo se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$H = \frac{m_1 - m}{m_2}$$

Siendo:

H = humedad, en porcentaje de masa

m = masa de la cápsula vacía, en g

$m_1$  = masa de la cápsula y la muestra, antes del calentamiento, en g

$m_2$  = masa de la cápsula y la muestra, después del calentamiento, en g.

## 8. Errores de método

8.1 La diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder de 0,05%; en caso contrario, debe repetirse la determinación.

## 9. Informe de resultados

9.1 Como resultado final, debe reportarse la media aritmética de cada una de las dos determinaciones.

9.2 En el informe de resultados, deben indicarse el método usado y el resultado obtenido para cada caso. Deba mencionarse, además, cualquier condición no especificada en esta norma, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre los resultados.

9.3 Deben incluirse todos los detalles necesarios para la completa identificación de la muestra (INEN, 2012).

3.2.2. Otra referencia es la “Determinación de materia seca mediante medición de la pérdida de peso de la muestra”

#### Método y Principio

La humedad y el contenido de materia seca se determinan mediante la medición de la pérdida de peso de la muestra después del tratamiento térmico a 70-130 °C. Se puede hacer por calentamiento en una plancha caliente, horno de aire caliente o un horno de vacío. Las interacciones entre las diferentes sustancias y la evaporación de otras sustancias diferentes al agua pueden ocurrir, y esto puede ser frenado por adsorción sobre arena.

#### Reactivos

Arena de mar brillante (lavada)

#### Equipos y Materiales

- Plato pequeño de aluminio + varilla de vidrio –
- Horno a 105 °C
- Desecador
- Balanza analítica

#### Procedimiento

- Secar una cápsula de porcelana (+ varilla de vidrio) con arena brillante por varias horas en el horno.
- Dejar que la cápsula con arena se enfríe a temperatura ambiente en el desecador (30 min).
- Pesar la cápsula (+ varilla de vidrio) con arena con una precisión de 1 mg.
- Pesar 5 g de muestra en la cápsula y mezclarla con la arena (con la varilla de vidrio).
- Calcular el peso de la muestra por sustracción.
- Secar la cápsula (+ varilla de vidrio) con la muestra durante dos horas a 105 ° C.
- Dejar enfriar en un desecador a temperatura ambiente (20 min.)
- Pesar, con precisión de 1 mg.
- Secar de nuevo durante 30 minutos, enfriar y pesar.
- Repetir este procedimiento hasta alcanzar un peso constante ( $\pm$  1 mg entre dos pesadas consecutivas).

Fórmula

El % P/P de materia seca en una muestra será determinado de acuerdo a la siguiente

$$\% \text{ Materia Seca} = \frac{P_2 \times 100}{P_1}$$

Dónde:

$P_1$  = Peso (g) de la muestra antes de secar

$P_2$  = Peso (g) de la muestra después de secar y llegar a peso constante (materia seca)

Expresión de resultados

Expresar el contenido de materia seca en % de peso. Los porcentajes de materia seca y humedad son complementarios (Arévalo, 2015).

### **DETERMINACIÓN DE CENIZA.**

Esta técnica es aplicada en la Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Laboratorio de Bromatología.

#### **6. Objeto**

Esta norma establece el método para determinar el contenido de ceniza en diferentes tipos de muestras de origen agropecuario y productos terminados.

#### **7. Instrumental**

- Balanza analítica, sensible al 0.1 mg.
- Mufla, con regulador de temperatura, ajustada a 6000 C
- Estufa, con regulador de temperatura.
- Desecador, con silicagel u otro deshidratante.
- Crisoles de porcelana
- Espátula
- Pinza

#### **8. Preparación de la muestra**

Las muestras para el ensayo deben estar acondicionadas en recipientes herméticos, limpios y secos (vidrio, plástico u otro material inoxidable), completamente llenos para evitar que se formen espacios de aire.

La cantidad de muestra extraída de un lote determinado debe ser y no debe exponerse al aire por mucho tiempo.

Se homogeniza la muestra invirtiendo varias veces el recipiente que la contiene.



## 9. PROCEDIMIENTO

- La determinación debe realizarse por duplicado sobre la misma muestra preparada.
- Lavar cuidadosamente y secar el crisol de porcelana en la estufa ajustada a 1000 C durante 30 minutos. Dejar enfriar en el desecador y pesar con aproximación al 0.1 mg
- Sobre el crisol pesar con aproximación al 0.1 mg, aproximadamente 1 g de muestra.
- Colocar el crisol con su contenido cerca de la puerta de la mufla abierta y mantenerlo allí durante unos pocos minutos, para evitar pérdidas por proyección de material que podrían ocurrir si el crisol se introduce directamente en la mufla.
- Introducir el crisol en la mufla a  $600^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$  hasta obtener cenizas libres de partículas de carbón (esto se obtiene al cabo de 3 horas).
- Sacar el crisol con las cenizas, dejar enfriar en el desecador y pesar con aproximación al 0.1 mg.

## 10. Cálculos

$$C = \frac{W_2 - W_1}{W_0} \times 100$$

$W_0$  = Peso de la Muestra (g)

$W_1$  = Peso del crisol vacío.

$W_2$  = Peso del crisol más la muestra calcinada (U.T.E.Q. Laboratorio de Bromatología, 2012).

### ***CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS - DETERMINACIÓN DE CENIZA TOTAL. NTE INEN-ISO 936:2013***

#### 1. Objeto y campo de aplicación

Esta norma nacional especifica un método para la determinación de la ceniza total de todo tipo de carne y la carne productos, incluidos los de aves de corral.

## 2. Normativa de referencia

La siguiente norma contiene disposiciones que, mediante su referencia en este texto, constituyen disposiciones de la presente Norma nacional. En el momento de la publicación, la edición indicada es válida.

Todas las normas están sujetas a revisión, y las partes que basen sus acuerdos en esta norma nacional deben estudiar la posibilidad de aplicar la edición más reciente de la norma que se indica a continuación. Los miembros de CEI e ISO mantienen registros de las Normas Internacionales vigentes.

ISO 3696:1987, Agua para fines analíticos de laboratorio - Especificaciones y métodos de prueba.

## 3. Definición

A los efectos de esta norma, se entenderá por.

Cenizas totales de carne y productos cárnicos.- masa del residuo obtenido después de la incineración a una temperatura de  $(550 \pm 25) ^\circ \text{C}$  bajo las condiciones de operación especificado en esta norma nacional, dividida por la masa de la muestra problema.

NOTA: La fracción de masa de cenizas se expresa generalmente como un porcentaje.

## 4. Principio

Una porción de muestra se seca, carbonizada e incinerados luego a  $(550 \pm 25) ^\circ \text{C}$ . Después de enfriar, se determina la masa del residuo.

## 5. Reactivos

Utilice únicamente reactivos de grado analítico reconocido, salvo que se especifique lo contrario.

- Agua, cumpliendo al menos con grado 3 según la norma ISO 3696
- Peróxido de hidrógeno, 30%.

## 6. Equipos

Aparatos de laboratorio habituales y, en particular, lo siguiente.

- El equipo mecánico o eléctrico capaz de homogeneizar la muestra de laboratorio.

Esto incluye un cortador rotatorio de alta velocidad, o una picadora equipada con una placa con aberturas que no exceda de 4,0 mm en diámetro.

- Picadora mecánica de carne (molino). Tipo de laboratorio provisto de una placa cribada, con orificios de diámetro no mayor a 4 mm, u otro equipo que produzca una pasta homogénea.
- Balanza analítica. Sensible al 0,1 mg
- Crisol de porcelana, o de otro material resistente a las condiciones del ensayo, de fondo plano y aproximadamente 45 mm de altura.
- Mufla, con regulador de temperatura ajustada entre 525°C y 600°C.
- Baño de agua, o de arena.
- Desecador, con cloruro de calcio anhidro u otro deshidratante adecuado.
- Pipeta volumétrica de 1 cm<sup>3</sup>.

## 7. Preparación de la muestra

La preparación de la muestra se realizará de acuerdo a la Norma INEN 776.

## 8. Procedimiento

**8.1.** La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra preparada.

**8.2.** Colocar el crisol de porcelana perfectamente limpio en la mufla y calentarla a 525°C durante 20 min. Dejar que se enfríe en el desecador y pesar con aproximación a 1 mg.

**8.3.** Transferir al crisol pesado, aproximadamente 5 g de muestra y unas pocas gotas de aceite puro de oliva; calentar suavemente sobre un plato eléctrico o bajo la luz de una lámpara infrarroja hasta que su contenido se carbonice.

**8.4.** Transferir el crisol y su contenido a la mufla con la temperatura regulada a 525°C, evitando pérdida de material al inicio de la incineración y mantener el crisol en la mufla, hasta obtener cenizas.

**8.5.** Retirar el crisol de la mufla y colocar en el desecador, dejar enfriar hasta temperatura ambiente. Pesar el crisol con su contenido, con aproximación a 1 mg.

**8.6.** Regresar el crisol a la mufla y calentar a 525°C durante 30 min. Repetir la operación indicada en 5.4.5 y así sucesivamente, hasta que la diferencia entre dos pesadas consecutivas no exceda de 1 mg.

**8.7.** Si la ceniza contiene cantidad de carbón no totalmente quemada, enfriar el crisol, añadir unas gotas de agua, llevar a sequedad sobre un baño de agua o estufa y trasladar nuevamente el crisol a la mufla y terminar la incineración.

## 9. Cálculos

El contenido de cenizas en carne y productos cárnicos se determina mediante la ecuación siguiente:

$$C = \frac{m_2 - m}{m_1 - m} \times 100$$

Siendo:

C = cantidad de cenizas en la muestra, en porcentaje de masa.

m = masa del crisol vacío, en g.

M<sub>1</sub> = masa del crisol con la muestra (antes de la incineración), en g.

M<sub>2</sub> = masa del crisol con las cenizas, (después de la incineración), en g.

## 10. Errores de método

La diferencia entre los resultados de dos determinaciones efectuadas por duplicado no debe ser mayor de 0,1 g de cenizas por 100 g de muestra; en caso contrario, debe repetirse la determinación.

La diferencia entre los resultados de dos determinaciones efectuadas por duplicado no debe ser mayor de 0,1 g de cenizas por 100 g de muestra; en caso contrario, debe repetirse la determinación.

## 11. Informe de resultados

Como resultado final, debe reportarse la media aritmética de los resultados de la determinación.

En el informe de resultados, debe indicarse el método usado y el resultado obtenido. Debe mencionarse, además, cualquier condición no especificada en esta norma o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado.

Deben incluirse todos los detalles para la completa identificación de la muestra (INEN, 2013).

**CON REFERENCIA A LA INEN 302 SE MUESTRA LA SIGUIENTE NORMA:**

**“DETERMINACIÓN DE LAS CENIZAS EN LECHE EN POLVO. NORMA  
TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 302: 2012-11-21”**

1. Objeto

Esta norma tiene por objeto establecer el método para determinar el contenido de cenizas en la leche en polvo.

2. Alcance

Esta norma se aplica a los siguientes tipos de leche:

- a) Tipo I. Leche entera en polvo.
- b) Tipo II. Leche semidescremada en polvo.
- c) Tipo III. Leche descremada en polvo.

3. Resumen

Se incinera a  $530^{\circ} \pm 20^{\circ}\text{C}$  el residuo total proveniente de la determinación de la humedad y se pesa el resto, que corresponde a las cenizas de la leche en polvo.

4. Instrumental

- Balanza analítica. Sensible al 0,1 mg.

- Crisol de platino, o de otro material inalterable a las condiciones del ensayo, de fondo plano, con diámetro de 60 - 80 mm y 25 mm de altura.
- Desecador, con cloruro de calcio anhidro u otro deshidratante adecuado.
- Mufla, con regulador de temperatura, ajustada a  $530^{\circ} \pm 20^{\circ} \text{C}$ .

## 5. Preparación de la muestra

- La leche en polvo es un producto que absorbe fácilmente la humedad y olores extraños; por tanto, es necesario que todos los utensilios y recipientes, además de limpios y estériles, estén secos.
- La extracción de la muestra debe realizarse en un ambiente seco y exento de polvo y olores, lo más rápidamente posible, procurando reducir al mínimo el tiempo que el producto a ser ensayado permanezca en contacto con el aire.
- Transferir la leche en polvo a un frasco limpio, estéril y bien seco, de capacidad aproximadamente dos veces el volumen de la muestra, e inmediatamente tapar y homogeneizar, invirtiendo varias veces el recipiente que lo contiene.

## 6. Procedimiento

**6.1.** La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra preparada.

**6.2.** Lavar el crisol cuidadosamente y secarlo en la mufla ajustada a  $530^{\circ} \pm 20^{\circ} \text{C}$ , durante 1 h. Dejar que se enfríe en el desecador por 60 min y pesarlo con aproximación a 0,1 mg.

**6.3.** Invertir la botella que contiene la muestra preparada; inmediatamente transferir al crisol y pesar, con aproximación a 0,1 mg, aproximadamente 2 g de muestra.

**6.4.** Colocar el crisol cerca de la puerta de la mufla abierta y mantenerlo allí durante unos pocos minutos, para evitar pérdidas por proyección de material, lo que podría ocurrir si el crisol se introduce directamente en la mufla.

**6.5.** Introducir el crisol en la mufla a  $530^{\circ} \pm 20^{\circ}\text{C}$ , hasta obtener cenizas libres de partículas de carbón (esto se obtiene al cabo de 1 h).

**6.6.** Sacar el crisol (con las cenizas), dejarlo enfriar en el desecador y humedecer las cenizas con agua.

**6.7.** Romper los grumos formados valiéndose de una varilla y lavar algunas partículas adheridas a la varilla.

**6.8.** Introducir el crisol con las cenizas húmedas a la estufa ajustada a  $102^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$  por 30 min, hasta evaporar a sequedad, y luego pasar a la mufla calentada a  $530^{\circ} \pm 20^{\circ}\text{C}$  por un tiempo adicional, ósea, hasta que las cenizas estén libres de carbón.

**6.9.** Sacar de la mufla el crisol y su contenido, dejar enfriar en el desecador por 1 h y pesar con aproximación a 0,1 mg.

## 7. Cálculos

El contenido de cenizas en la leche en polvo se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$C = \frac{m_1 - m}{m_2 - m} \times 100$$

Siendo:

C = cantidad de cenizas de la leche en polvo, en porcentaje de masa.

m = masa de la cápsula vacía, en g.



$m_2$  = masa de la cápsula con la leche en polvo (antes de la incineración), en g.

$m_1$  = masa del crisol con las cenizas (después de la incineración), en g.

## 8. Errores de método

La diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder de 0,01%; en caso contrario, debe repetirse la determinación.

## 9. Informe de resultados

Como resultado final, debe reportarse la media aritmética de los dos resultados de la determinación, aproximada a centésimas.

En el informe de resultados, deben indicarse el método usado y el resultado obtenido. Deben mencionarse, además, cualquier condición no especificada en esta norma, o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado.

Deben incluirse todos los detalles necesarios para la completa identificación de la muestra (INEN, 2012).

6.9.1. Otra referencia que se puede tomar en cuenta es la INEN 3487. “Determinación de cenizas en vinos.”

### 1. Objeto

Esta norma tiene por objeto establecer el método para determinar el contenido de cenizas en bebidas alcohólicas en general.

### 2. Terminología

Cenizas. Es el producto resultante de la calcinación del residuo obtenido por evaporación de las bebidas alcohólicas, efectuada de

manera tal, que se logre la totalidad de los cationes (excluyendo el radical amonio), bajo la forma de carbonates y de otras sales minerales anhidros.

### 3. Resumen

Calcinar el extracto de una muestra de bebida alcohólica a una temperatura de  $525^{\circ} \pm 25^{\circ}\text{C}$ , hasta la combustión completa del carbono, enfriar las cenizas en un desecador y pesar.

### 4. Instrumental

- Balanza analítica, sensible al 0,1 mg,
- Mufla, con regulador de temperatura ajustable a  $525^{\circ} \pm 25^{\circ}\text{C}$
- Baño María,
- Cápsula de porcelana, de capacidad equivalente a 50 o 100 cm<sup>3</sup>
- Desecador, con cloruro de calcio anhidro u otro deshidratante adecuado.
- Reverbero eléctrico, o evaporador de rayos infrarrojos.
- Vaso de precipitación, graduado, de 250 cm<sup>3</sup>
- Matraz, de 1000 cm<sup>3</sup>, de fondo redondo y provisto de aditamentos para practicar el vacío: 2g mediante una trompa de agua.

### 5. Reactivos

- Aceite vegetal puro, preferentemente de oliva
- Agua destilada. Exenta de anhídrido carbónico

### 11. Reparación de la muestra

Si la bebida alcohólica analizada contiene anhídrido carbónico (champaña, vinos espumantes, sidras, cervezas), eliminarlo

colocando la muestra en un matraz de 1000 cm<sup>3</sup>, en el cual se practica el vacío mediante una trompa de agua. Debe agitarse el matraz hasta que no se obtenga más desprendimiento de gas (uno o dos minutos).

## 7. Procedimiento

7.1. La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra preparada.

7.2. Colocar la cápsula de porcelana en la mufla calentada a  $525^{\circ} \pm 25^{\circ}\text{C}$ , por un tiempo de 15 min, sacar y mantener en el desecador hasta temperatura ambiente y pesar con aproximación al 0,1 mg.

7.3. Si se trata de bebidas alcohólicas fermentadas, colocar 20 cm<sup>3</sup> de muestra en la cápsula de porcelana y evaporar, cuidadosamente, en baño María hirviente.

7.4. Calentar el extracto obtenido, a temperatura moderada, sobre el reverbero eléctrico o bajo un evaporador de rayos infrarojos, para carbonizar el producto.

7.5. Si se trata de vino rico en azúcares, debe añadirse al extracto, antes de la carbonización, algunas gotas de aceite vegetal puro, a fin de evitar el desborde del contenido de la cápsula.

7.6. Cuando el residuo carbonizado haya dejado de emitir vapores, colocar la cápsula en la mufla y calcinar durante 5 minutos a  $525^{\circ} \pm 25^{\circ}\text{C}$

7.7. Si se añadió aceite vegetal puro (ver 7.3.), la calcinación debe efectuarse durante 15 minutos a  $525^{\circ} \pm 25^{\circ}\text{C}$ .

7.8. Retirar la cápsula y su contenido de la mufla y dejar enfriar; luego, adicionar 5 cm<sup>3</sup> de agua destilada y evaporar inmediatamente en el baño María hirviente.

7.9. Colocar nuevamente la cápsula en la mufla a  $525^{\circ} \pm 25^{\circ}\text{C}$ , por 15 minutos; si luego de este tiempo se observa que la combustión de las partículas carbonosas no ha terminado, repetir las operaciones de lavado con  $5\text{ cm}^3$  de agua destilada, evaporación y calcinación en la mufla.

7.10. Retirar la cápsula de la mufla y colocarla en el desecador para enfriamiento.

7.11. Pesar la cápsula con su contenido, con aproximación al 0,1 mg.

7.3. Si se trata de bebidas alcohólicas destiladas:

- Colocar  $200\text{ cm}^3$  de muestra en un vaso de precipitación y evaporar en el baño María, hasta tener la muestra reducida a  $20\text{ cm}^3$ .
- Transferir cuidadosamente la muestra reducida a la cápsula de porcelana, lavando el vaso de precipitación con pequeñas porciones de agua destilada.
- Evaporar el contenido de la cápsula en el baño María hirviente.
- Continuar como se indica desde el literal 7.

Si se trata de licores:

- Colocar  $50\text{ cm}^3$  de muestra en la cápsula de porcelana y calentar sobre el reverbero eléctrico para eliminar el agua.
- Adicionar algunas gotas de aceite vegetal puro y continuar el calentamiento, hasta que termine la ebullición.

- Colocar la cápsula en la mufla a  $525^{\circ} \pm 25^{\circ}\text{C}$ , hasta que se observen cenizas casi blancas, las que deben humedecerse con una pequeña cantidad de agua destilada.
- Evaporar el contenido de la cápsula en el baño María hirviendo y luego secar utilizando el reverbero eléctrico.
- Calcinar nuevamente en la mufla a  $525^{\circ} \pm 25^{\circ}\text{C}$ , hasta obtener cenizas blancas.
- Pesar la cápsula con su contenido, con aproximación al 0,1 mg.

## 8. Cálculos

El contenido de cenizas en bebidas alcohólicas se determina mediante la ecuación siguiente:

$$C = 1000 \frac{m_2 - m_1}{V}$$

Siendo:

$C$  = contenido de cenizas, en gramos por 1 000 cm<sup>3</sup> de muestra.

$m_1$  = masa de la cápsula vacía, en gramos.

$m_2$  = masa de la cápsula con cenizas, en gramos.

$V$  = volumen de la muestra analizada, en cm<sup>3</sup>.

## 9. Errores de método

La diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder del 2%; en caso contrario, debe repetirse la determinación.

#### 10. Informe de resultados

Como resultado final, debe reportarse la media aritmética de los resultados de la determinación.

En el informe de resultados, deben indicarse el método usado y el resultado obtenido. Debe mencionarse, además, cualquier condición no especificada en esta norma, o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado.

Deben incluirse todos los detalles para la completa identificación de la muestra (INEN, 2012).

### **DETERMINACIÓN DE GRASA**

Esta norma es aplicada en la Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Laboratorio de Bromatología y tiene como objetivo lo siguiente:

#### Objeto

Esta norma establece el método para determinar el contenido de grasa o extracto etéreo en diferentes tipos de muestras de origen agropecuario y productos terminados.

## 5. Instrumental

- Vasos Beacker para grasa
- Aparato Golfish
- Dedales de Extracción
- Portadedales
- Vasos para recuperación del solvente
- Balanza analítica
- Estufa (105°C)
- Desecador
- Espátula
- Pinza Universal
- Algodón Liofilizado e Hidrolizados

## 6. Reactivos

- Éter de Petróleo

## 7. Preparación de la muestra

Las muestras para el ensayo deben estar acondicionadas en recipientes herméticos, limpios secos (vidrio, plástico u otro material inoxidable), completamente llenos para evitar que se formen espacios de aire.

La cantidad de la muestra extraída dentro de un lote debe ser representativa y no debe exponerse al aire mucho tiempo.

Se homogeniza la muestra invirtiendo varias veces el recipiente que lo contiene.

## 8. Procedimiento:

- La determinación debe realizarse por duplicado sobre la misma muestra preparada.
- Secar los vasos beakers en la estufa a  $1000 \pm C$ , por el tiempo de una hora. Transferir al desecador y pesar con aproximación al 0,1 mg, cuando haya alcanzado la temperatura ambiente.
- Pesar aproximadamente 1 gr. de muestra sobre un papel filtro y colocarlos en el interior del dedal, taponar con suficiente algodón hidrófilo, luego introducirlo en el portadedal.
- Colocar el dedal y su contenido en el vaso beaker, llevar a los ganchos metálicos del aparato de golfish.
- Adicionar en el vaso beaker 40 ml. de solvente, al mismo tiempo abrir el reflujo de agua.
- Colocar el anillo en el vaso y llevar a la hornilla del aparato golfish, ajustar al tubo refrigerante del extractor. Levantar las hornillas y graduar la temperatura a 5.5 (550 C)
- Cuando existe sobre presión abrir las válvulas de seguridad 2 o 3 veces.
- El tiempo óptimo para la extracción de grasa es de 4 horas, mientras tanto se observa que éter no se evapore caso contrario se colocará más solvente.
- Terminada la extracción, bajar con cuidado los calentadores, retirar momentáneamente el vaso con el anillo, sacar el portadedal con el dedal y colocar el vaso recuperar del solvente.
- Levantar los calentadores, dejar hervir hasta que el solvente este casi todo en el vaso de recuperación, no quemar la muestra.

Bajar los calentadores, retirar los beaker, con el residuo de la grasa, el solvente transferir al frasco original.

El vaso con la grasa llevar a la estufa a  $105^{\circ} C$  hasta completa evaporación del solvente por 30 minutos.



Colocar los vasos beaker que contiene la grasa, durante 30 min, en la estufa calentada a  $100 \pm 5^{\circ}\text{C}$ , enfriar hasta temperatura ambiente en desecador, Pesar y registrar.

Calcular el extracto etéreo por diferencia de pesos.

$$G = \frac{W_2 - W_1}{W_0} \times 100$$

G = Porcentaje de grasa

$W_0$  = Peso de la muestra

$W_1$  = Peso del vaso beaker vacío

$W_2$  = Peso del vaso más la grasa (U.T.E.Q. Laboratorio de Bromatología, 2014).

## **LECHE. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE GRASA. MÉTODO DE RÖSE-GOTTLIEB. NTE INEN 0012:73**

### **1. OBJETO**

1.1 Esta norma tiene por objeto establecer los métodos para determinar el contenido de grasa de la leche.

### **2. ALCANCE**

2.1 Esta norma se aplica a los siguientes tipos de leche:

- a) Leche fresca.
- b) Leche homogeneizada (pasteurizada o esterilizada).

c) Leche descremada o semidescremada.

2.2 En esta norma se describen el método de Gerber y el método de Röse-Gottlieb.

### 3. TERMINOLOGIA

3.1 Contenido de grasa de la leche. Es la cantidad, expresada en porcentaje de masa, de sustancias, principalmente grasas, extraídas de la leche mediante procedimientos normalizados.

3.2 Otros términos relacionados con esta norma están definidos en la norma INEN 3.

### 4. DISPOSICIONES GENERALES

4.1 Para determinar el contenido de grasa en los productos considerados por esta norma, podrá usarse cualquiera de los dos métodos descritos en esta norma. En casos de discrepancia o litigio deberá usarse el método de Röse-Gottlieb.

4.2 Las pipetas aforadas y los butirómetros, usados para aplicar el método de Gerber, deberán estar debidamente estandarizados e inspeccionados.

### 5. METODO DE GERBER

#### 5.1 Resumen

5.1.1 Separar, mediante acidificación y centrifugación, la materia grasa contenida en el producto analizado, y determinar el contenido de grasa mediante lectura directa en un butirómetro estandarizado.

#### 5.2 Instrumental

5.2.1 Pipeta aforada de 10 cm<sup>3</sup> de seguridad, para ácido sulfúrico,

5.2.2 Pipeta aforada de 1 cm<sup>3</sup>, para alcohol amílico.

5.2.3 Pipeta aforada de 10,94 cm<sup>3</sup>, para medir la muestra.

5.2.4 Butirómetros Gerber, para leche y para leche descremada

5.2.5 Centrífuga, con velocidad de  $1100 \pm 100$  r/min.

5.2.6 Baño de agua, con regulador de temperatura, ajustado a  $65^{\circ} \pm 2^{\circ}$  C.

5.2.7 Baño María.

### 5.3 Reactivos

5.3.1 Ácido sulfúrico, concentrado para análisis, con densidad  $1,815 \pm 0,003$  g/cm<sup>3</sup> a 20°C.

5.3.2 Alcohol amílico, compuesto principalmente de 3-metil-butanol y 2-metil-butanol y prácticamente exento de alcoholes amílicos secundarios o terciarios y furfural; deberá tener una densidad de  $0,811 \pm 0,002$  g/cm<sup>3</sup> a 20°C.

5.3.3 Agua destilada.

### 5.4 Preparación de la muestra

5.4.1 Llevar la muestra a una temperatura de aproximadamente 20°C, y mezclarla mediante agitación suave hasta que esté homogénea, cuidando que no haya separación de grasa por efecto de la agitación.

5.4.2 Si se forman grumos de crema y éstos no se dispersan, calentar la muestra en baño María hasta 35°- 40°C, mezclando cuidadosamente e incorporando cualquier partícula de crema adherida al recipiente, y enfriar rápidamente hasta 18°-20°C. Si quedan partículas blancas o grumos de grasa adheridos a las paredes del recipiente, la determinación no dará resultados exactos.

### 5.5 Procedimiento

5.5.1 Para la determinación del contenido de grasa en la leche fresca u homogeneizada (pasteurizada o esterilizada) debe usarse el butirómetro Gerber para leche, mientras que para la leche descremada debe usarse el butirómetro Gerber para leche descremada.

5.5.2 Verter  $10\text{ cm}^3$ , exactamente medidos, de ácido sulfúrico en el butirómetro respectivo, cuidando de no humedecer con ácido el cuello del butirómetro.

5.5.3 Invertir lentamente, tres o cuatro veces, la botella que contiene la muestra preparada, y pipetear  $10,94\text{ cm}^3$  de leche, de tal manera que el borde inferior del menisco coincida con la línea de calibración de la pipeta después de limpiar con papel absorbente la parte exterior de su punta de descarga. Luego, sosteniendo la pipeta con su punta pegada al borde inferior del cuello del butirómetro, descargar cuidadosamente la leche en el mismo hasta que el menisco se detenga, dejar transcurrir 3 segundos y frotar la punta de la pipeta contra la base del cuello del butirómetro.

5.5.4 Verter  $1\text{ cm}^3$ , exactamente medido, de alcohol amílico en el butirómetro, cuidando de no humedecer con el alcohol el cuello del butirómetro, El alcohol amílico debe añadirse siempre después de la leche.

5.5.5 Tapar herméticamente el cuello del butirómetro y agitar en una vitrina de protección, invirtiendo lentamente al butirómetro dos o tres veces durante la operación, hasta que no aparezcan partículas blancas.

5.5.6 Inmediatamente después de la agitación, centrifugar el butirómetro con su tapa colocada hacia afuera. Si no hay un número suficiente de butirómetros para llenar completamente la centrífuga,

colocarlos simétricamente, equilibrándolos con uno que contenga igual volumen de agua en caso de ser necesario. Una vez que la centrífuga alcanza la velocidad necesaria, continuar la centrifugación durante un tiempo no menor de 4 min ni mayor de 5 min, a tal velocidad.

5.5.7 Retirar el butirómetro de la centrífuga y colocarlo, con la tapa hacia abajo, en el baño de agua a  $65^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$  durante un tiempo no menor de 4 min ni mayor de 10 min, manteniendo la columna de grasa completamente sumergida en el agua.

5.5.8 Luego, dependiendo del tipo de leche analizada, proceder de acuerdo con 5.5.9, 5.5.10 ó 5.5.11.

5.5.9 Leche fresca. Antes de proceder a la lectura, colocar el nivel de separación entre el ácido y la columna de grasa sobre la marca de una graduación principal de la escala; esto se consigue presionando o aflojando adecuadamente la tapa del butirómetro. Leer las medidas correspondientes a la parte inferior del menisco de grasa y al nivel de separación entre el ácido y la columna de grasa; la diferencia entre las dos lecturas da el contenido de grasa de la leche. Al realizar las lecturas, debe mantenerse la escala en posición vertical y el punto de lectura al mismo nivel de los ojos. La lectura del menisco debe aproximarse a 0,05%, (ver 5.5.12).

5.5.10 Leche homogenizada (pasteurizado o esterilizada). Realizar una primera lectura de acuerdo con lo indicado en 5.5.9. Luego, ajustar la tapa si es necesario e, inmediatamente. Repetir por segunda vez la centrifugación, el calentamiento a  $65^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$  y la lectura. Si la segunda lectura difiere de la primera, repetir por tercera vez la centrifugación, el calentamiento a  $65^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$  y la lectura; la medida válida corresponde a la segunda o tercera lectura, según el caso, (ver 5.5.12).

5.5.11 Leche descremada. Repetir por segunda vez la centrifugación y el calentamiento a  $65^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , y realizar la lectura de acuerdo con lo indicado en 5.5.9, (ver 5.5.12).

5.5.12 Instrucciones adicionales. Si existe formación de una capa esponjosa o no definida en la base de la columna de grasa, debe repetirse el ensayo teniendo cuidado de añadir el volumen correcto de alcohol amílico y de disolver completamente cualquier partícula blanca de la leche, Si la columna de grasa presenta una coloración muy oscura que dificulta la lectura, o hay carbonización en la interfase, debe repetirse el ensayo luego de verificar la densidad del ácido sulfúrico, El butirómetro debe lavarse perfectamente al final de la operación (Ver Anexo A.1).

## 6. METODO DE RÖSE – GOTTLIEB

### 6.1 Resumen

6.1.1 Extraer con éter dietílico y éter de petróleo la grasa contenida en una solución etanólica amoniacal de leche; evaporar los solventes y pesar el residuo.

### 6.2 Instrumental

6.2.1 Balanza analítica. Sensible al 0,1 mg.

6.2.2 Centrífuga, provista con motor trifásico (El motor trifásico evita la formación de chispas que pueden producir explosión con los solventes), apropiada para colocar los tubos de extracción y capaz de mantener una velocidad de  $550 \pm 50$  r/min. El uso de la centrífuga es opcional (ver 6.5.6).

6.2.3 Estufa, con ventilación y regulador de temperatura, ajustada a  $102^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , o estufa al vacío, ajustada a una temperatura de  $70^{\circ}$  a  $75^{\circ}\text{C}$  y presión menor de 66 kPa, (50 mm Hg).

6.2.4 Matraces Erlenmeyer, de 150 a 250 cm<sup>3</sup> de capacidad.

6.2.5 Tubos o matraces de extracción. Pueden usarse tubos de Rohring o matraces de Mojonnier, con tapones herméticos de vidrio esmerilado, neopreno u otro material que no sea afectado por los solventes usados.

---

6.2.6 Material para facilitar la ebullición, exento de grasa, no poroso, Pueden usarse perlas de vidrio o de otro material adecuado.

6.2.7 Desecador, con cloruro de calcio anhidro u otro deshidratante adecuado.

6.2.8 Baño María.

6.3 Reactivos

6.3.1 Solución al 25 % de amoníaco, con densidad aproximada de 0,91 g/cm<sup>3</sup> a 20°C.

6.3.2 Alcohol Etílico. Solución al 94-97 % (V/V).

6.3.3 Eter dietílico, exento de peróxido. (Ver Anexo A.2)

6.3.4 Eter de petróleo, con cualquier intervalo de detilación comprendido entre 30° y 60°C.

6.4 Preparación de la muestra

6.4.1 Llevar la muestra a una temperatura de aproximadamente 20°C y mezclarla mediante agitación suave hasta que esté homogénea, cuidando que no haya separación de grasa por efectos de la agitación.

6.4.2 Si se forman grumos de crema y éstos no se dispersan, calentar la muestra en baño María hasta 35°-40°C, mezclando

cuidadosamente e incorporando cualquier partícula de crema adherida al recipiente, y enfriarla rápidamente hasta 18°-20°C. Si quedan partículas blancas o grumos de grasa adheridos a las paredes del recipiente, la determinación no dará resultados exactos.

## 6.5 Procedimiento

6.5.1 La determinación debe realizarse por duplicado sobre la misma muestra preparada, (ver 6.5.13).

6.5.2 Secar un matraz Erlenmeyer (que puede contener, si se desea, el material para facilitar la ebullición) en la estufa durante 30 a 60 min. Dejarlo enfriar en el desecador y pesarlo con aproximación a 0,1 mg.

6.5.3 Invertir lentamente, tres o cuatro veces, la botella que contiene la muestra preparada e, inmediatamente, transferir al matraz o tubo de extracción y pesar con aproximación a 0,1 mg, de 10 a 11 g de muestra.

6.5.4 Agregar a la porción de ensayo 1,5 cm<sup>3</sup> de solución al 25 % de amoníaco y mezclar completamente. Agregar 10 cm<sup>3</sup> de alcohol etílico y agitar el contenido del matraz o tubo de extracción, manteniéndolo abierto.

6.5.5 Añadir 25 cm<sup>3</sup> de éter dietílico y, después de cerrar el matraz o tubo de extracción con el tapón humedecido, mezclar el contenido agitándolo enérgicamente e invirtiéndolo repetidamente durante 1 minuto; si es necesario enfriar en corriente de agua. Quitar cuidadosamente el tapón y agregar 25 cm<sup>3</sup> de éter de petróleo, empleando parte de Colocar nuevamente el tapón y mezclar el contenido agitándolo e invirtiéndolo repetidamente durante 30 segundos. No debe agitarse enérgicamente si no se usa centrífuga.



6.5.6 Dejar en reposo el matraz o tubo de extracción hasta que la capa superior etérea llegue a separarse totalmente de la capa acuosa quedando completamente límpida. Puede acelerarse la separación mediante el uso de una centrífuga adecuada.

6.5.7 Quitar cuidadosamente el tapón y enjuagar con unos pocos mililitros de éter de petróleo el interior del cuello del matraz o tubo de extracción. Transferir lo más completamente posible, mediante decantación o con ayuda de un sifón, la capa superior etérea al matraz Erlenmeyer tarado (ver 6.5.2), teniendo cuidado de no arrastrar ninguna porción de capa acuosa. A continuación, enjuagar el tapón del matraz o tubo de extracción y el sifón con una pequeña porción de éter de petróleo, incorporando esta porción al contenido del matraz Erlenmeyer.( Cuando la transferencia se realiza por decantación, puede ser necesario añadir un poco de agua destilada para elevar el nivel de separación entre las dos capas y facilitar así la decantación)

6.5.8 Repetir la extracción dos veces más siguiendo el procedimiento indicado en 6.5.5 a (Para leche descremada en máquina, es suficiente repetir la extracción una sola vez).

6.5.7, pero usando cada vez 15 cm<sup>3</sup> de éter dietílico y 15 cm<sup>3</sup> de éter de petróleo y omitiendo el enjuague final en la última extracción.

6.5.9 Evaporar o destilar cuidadosamente los solventes contenidos en el matraz Erlenmeyer y secar el residuo en la estufa durante una hora, colocando el matraz en posición horizontal.

6.5.10 Dejar enfriar el matraz Erlenmeyer en el desecador, pesarlo con aproximación a 0,1mg. Repetir el calentamiento por períodos, de 30 a 60 min, enfriando y pesando hasta que no haya disminución en la masa.

6.5.11 Agregar 15 a 25 cm<sup>3</sup> de éter de petróleo para verificar si el material extraído es completamente soluble. Calentar suavemente y agitar hasta que toda la grasa se haya disuelto. Si el material extraído es completamente soluble en el éter de petróleo, la masa de grasa es la diferencia entre la masa final del matraz con el extracto y la masa original del matraz vacío (ver 6.5.2).

6.5.12 Si el material extraído no es completamente soluble en el éter de petróleo, o en caso de duda y siempre en caso de discrepancia o litigio (ver 4.1), extraer la grasa del matraz mediante lavados sucesivos con éter de petróleo tibio, dejando que el material insoluble se asiente antes de cada decantación.

---

Enjuagar la parte exterior del cuello del matraz tres veces. Calentar el matraz con el material insoluble durante una hora en la estufa, colocándolo en posición horizontal. Enfriarlo en el desecador y, procediendo de acuerdo con lo indicado en 6.5.10, pesarlo con aproximación a 0,1 mg.

La masa de grasa, en este caso, es la diferencia entre la masa del matraz con el extracto total y la masa del matraz con el material insoluble.

6.5.13 Debe realizarse un solo ensayo en blanco sobre 10 cm<sup>3</sup> de agua destilada, usando el mismo instrumental, los mismos reactivos en las mismas cantidades y el mismo procedimiento, en igual forma que para la muestra. Si la materia extraída excede de 0,5 mg, los reactivos deberán purificarse o desecharse y el ensayo deberá repetirse.

## 6.6 Cálculos

6.6.1 El contenido de grasa en la leche se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$G = \frac{(m_1 - m_2) - (m_3 - m_4)}{m} \times 100$$

Siendo:

**G** = contenido de grasa, en porcentaje de masa.

**m** = masa de la muestra analizada, en g.

**m<sub>1</sub>** = masa del Erlenmeyer con el extracto, en g.

**m<sub>2</sub>** = masa del Erlenmeyer vacío, o del Erlenmeyer con el material insoluble, en g.

**m<sub>3</sub>** = masa del Erlenmeyer con el extracto resultante en la determinación en blanco, en g

**m<sub>4</sub>** = masa del Erlenmeyer vacío empleado en la determinación en blanco, o del

Erlenmeyer con material insoluble, en g.

## 6.7 Errores de método

6.7.1 La diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado, no debe exceder de 0,03 %, en caso contrario debe repetirse la determinación.

## 6.8 Informe de resultados

6.8.1 Como resultado final debe reportarse la media aritmética de los dos resultados de la determinación.

6.8.2 En el informe de los resultados debe indicarse el método usado y el resultado obtenido. Debe mencionarse además, cualquier condición no especificada en esta norma, o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado, y debe incluirse la identificación de la muestra.

## ANEXO A

### A.1 LIMPIEZA DE LOS BUTIROMETROS

A.1.1 Es conveniente limpiar los butirómetros mientras están calientes para mayor, facilidad de la limpieza.

A.1.2 Quitar los tapones y, luego de verter el ácido en una cápsula, lavar los butirómetros llenándolos parcialmente con una solución a 40°-50°C de carbonato de sodio o fosfato trisódico al 2% (o con algún detergente adecuado) y agitándolos enérgicamente para conseguir la limpieza de la ampolla graduada. Repetir la operación tres o cuatro veces.

A.1.3 Enjuagar inmediatamente con agua caliente, dos o tres veces, con agitación enérgica y, finalmente, aclararlos con agua fría y colocarlos, con el cuello hacia abajo, en una gradilla para que gocen y se sequen.

A.1.4 Inmediatamente antes de usar los butirómetros es indispensable verificar que se encuentren completamente secos.

### A.2 DETERMINACION DE PEROXIDOS EN EL ETHER DIETILICO

A.2.1 Para determinar la presencia de peróxidos en el éter dietílico, agregar a 10 cm<sup>3</sup> de éter, contenidos en una pequeña probeta provista de tapón de vidrio esmerilado y previamente lavada con éter, 1 cm<sup>3</sup> de solución de yoduro de potasio al 10%, recién preparada. Agitar bien y dejar en reposo durante un minuto. No debe aparecer coloración amarilla en ninguna de las capas.

A.2.2 El éter dietílico puede mantenerse exento de peróxidos añadiéndole tiras de zinc formadas de una lámina que previamente ha sido sumergida en una solución, diluida y acidificada, de sulfato de cobre durante 1 minuto y luego lavada en agua. Deben usarse aproximadamente 80 cm<sup>2</sup> de lámina de zinc para cada litro de éter, y debe cortarse la lámina en tiras de una longitud suficiente para llegar desde el fondo hasta, por lo menos, la mitad del envase (INEN, 2013).

36ACEITES Y GRASAS DE ORIGEN ANIMAL Y VEGETAL.  
DETERMINACION DEL INDICE DE YODO. NTE INEN-ISO  
3961:2013

## 1. OBJETO

1.1 Esta norma tiene por objeto establecer el método de Wijs para la determinación del índice de yodo en los aceites y grasas vegetales o animales.

## 2. TERMINOLOGIA

2.1 Índice de yodo. Es una medida del grado medio de insaturación de ciertas sustancias orgánicas, expresado como centigramos de yodo absorbidos, bajo condiciones determinadas, por cada gramo de sustancia.

## 3. DISPOSICIONES GENERALES

3.1 Todo el material de vidrio usado en esta determinación deberá estar completamente limpio y seco.

3.2 La determinación deberá efectuarse por duplicado sobre la misma muestra preparada. Además, deberán realizarse dos ensayos en blanco, uno antes y otro después de la determinación. Es conveniente realizar simultáneamente los cuatro ensayos y efectuar las titulaciones en el orden indicado.

#### 4. RESUMEN

4.1 Se somete una cantidad de sustancia a la acción del reactivo de Wijs, se libera el yodo en exceso con yoduro de potasio y se lo titula con tiosulfato de sodio.

#### 5. INSTRUMENTAL

5.1 Matraces de 500 cm<sup>3</sup> provistos de tapón esmerilado, para titulación de yodo.

5.2 Pipetas aforadas de 20 cm<sup>3</sup>

5.3 Pipetas aforadas de 25 cm<sup>3</sup>

5.4 Buretas de 50 cm<sup>3</sup>, con divisiones de 0,1 cm<sup>3</sup>

5.5 Matraz aforado de 100 cm<sup>3</sup>

5.6 Balanza analítica, sensible a 0,1 mg.

#### 6. REACTIVOS

6.1 Solución de Wijs. Preparada y controlada de acuerdo con la norma INEN 36.

6.2 Tetracloruro de carbono. Reactivo para análisis.

6.3 Solución al 15 % de yoduro de potasio. Disolver 150 g de yoduro de potasio (KI) en aproximadamente 400 cm<sup>3</sup> de agua destilada y diluir la solución hasta 1000 cm<sup>3</sup>

6.4 Solución 0,1 N de tiosulfato de sodio, debidamente estandarizada,

6.5 Solución indicadora de almidón. Formar una pasta homogénea con 1 g de almidón soluble y agua destilada fría, añadir 100 cm<sup>3</sup> de agua hirviendo, agitar rápidamente la solución y enfriarla. Pueden añadirse 125 mg de ácido salicílico como preservados. En caso de que la solución deba almacenarse durante un período de tiempo relativamente largo, debe guardarse en refrigerador a temperatura de 4°C a 10°C.

6.6 Sulfato de sodio anhidro. Reactivo para análisis.

## 7. PREPARACION DE LA MUESTRA

7.1 Si la muestra es líquida y presenta aspecto claro y sin sedimento, homogeneizarla invirtiendo varias veces el recipiente que la contiene.

7.2 Si la muestra es líquida y presenta aspecto turbio o con sedimento, colocar el recipiente que la contiene en una estufa a 50°C; mantenerlo allí hasta que la muestra alcance tal temperatura, y proceder de acuerdo con lo indicado en 7.1. Si luego de calentar y agitar, la muestra no presenta aspecto claro y sin sedimento, filtrarla dentro de la estufa a 50°C. El filtrado no debe presentar ningún sedimento.

7.3 Si la muestra es sólida o semisólida, proceder de acuerdo con lo indicado en 7.2 pero calentándola (y filtrándola si es necesario) a una temperatura comprendida entre 40°C y 60°C (la suficiente para fundir la muestra completamente).

7.4 A continuación, desecar la muestra tratada de acuerdo con 7.1, 7.2 ó 7.3, añadiendo sulfato de sodio anhidro en la proporción de 1 g a 2 g por cada 10 g de aceite o grasa. Calentar la mezcla en la

estufa a 50°C; agitarla enérgicamente y filtrarla dentro de la misma estufa.

## 8. PROCEDIMIENTO

8.1 Pesar, con aproximación a 0,2 mg, una masa de muestra tal, que el volumen de solución de Wijs que se añada, asegure un exceso de 100 a 150 % con respecto a la cantidad de yodo que sea absorbida por la muestra.

8.2 La masa de la muestra que permite cumplir la condición establecida en 8.1 puede calcularse, en forma aproximada, mediante la siguiente ecuación:

$$m = \frac{26}{i}$$

Siendo:

m = masa de muestra para la determinación, en g.

i = índice de yodo que se espera encontrar, en cg/g.

8.3 Transferir la cantidad pesada de la muestra a un matraz Erlenmeyer de 500 cm<sup>3</sup> (o pesar directamente la muestra en el matraz) y añadir 20 cm<sup>3</sup> de tetracloruro de carbono. Luego, usando una pipeta aforada, agregar 25 cm<sup>3</sup> de solución Wijs, tapar el matraz y agitarlo para conseguir una mezcla íntima de su contenido.

8.4 Guardar el matraz en un lugar oscuro durante 1 h a una temperatura comprendida entre 20°C y 30°C.

8.5 Añadir 20 cm<sup>3</sup> de solución de yoduro de potasio y 100 cm<sup>3</sup> de agua destilada recién hervida y enfriada, titular el yodo libre con la



solución 0,1 N de tiosulfato de sodio (con agitación constante y enérgica), hasta que el color amarillo haya casi desaparecido; añadir de 1 cm<sup>3</sup> a 2 cm<sup>3</sup> de solución indicadora de almidón y continuar la titulación hasta que el color azul desaparezca completamente. Cerca del punto final de la reacción, el matraz debe taparse y agitarse enérgicamente para que cualquier remanente de yodo que se encuentre presente en la capa de tetracloruro de carbono pase a la solución acuosa de yoduro de potasio.

8.6 Deben realizarse dos ensayos en blanco para cada determinación (ver 3.2) usando todos los reactivos y siguiendo el mismo procedimiento pero sin añadir la muestra.

## 9. CALCULOS

9.1 El índice de yodo se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$i = \frac{12,69(V - V_1)N}{m}$$

Siendo:

i = índice de yodo de la muestra, en cg/g.

V = media aritmética de los volúmenes de solución de tiosulfato de sodio empleados en la titulación de los ensayos, en cm<sup>3</sup>

V<sub>1</sub> = volumen de solución de tiosulfato de sodio empleado en la titulación de la muestra en, cm<sup>3</sup>

N = normalidad de la solución de tiosulfato de sodio.

m = masa de la muestra analizada, en g.

## 10. ERRORES DE METODO

10.1 La diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder de 0,5 cg/g; en caso contrario debe repetirse la determinación.

## 11. INFORME DE RESULTADOS

11.1 Como resultado final debe reportarse la media aritmética de los dos resultados de la determinación, aproximada a unidades enteras.

11.2 En el informe de los resultados debe indicarse el método usado y el resultado obtenido. Debe mencionarse además, cualquier condición no especificada en esta norma o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado.

11.3 Deben incluirse todos los detalles necesarios para la completa identificación de la muestra (INEN, 2013).

### 3.3. DETERMINACIÓN DE LA FIBRA POR EL MÉTODO DE WEENDE

#### 1. Objeto

Esta norma establece el método para determinar el contenido de fibra en diferentes tipos de muestras de origen agropecuario y productos terminados.

#### 2. Instrumental

- Equipo Dosi-Fider.
- Tropa o bomba de vacío.
- Crisoles porosos.
- Estufa

#### 3. Reactivos necesarios:

- Ácido sulfúrico  $\text{H}_2\text{SO}_4$  o. 180M (7.1ml 96% en 1 litro con agua destilada)
- Hidróxido potasio KOH 0.223 (12.5g en litro con agua destilada)
- Antiespumante, por ejemplo Octanol

- Acetona

#### 4. Preparación de la muestra

- Moler la muestra de tamiz de 1mm
- Calentar el reactivo en la placa calentadora (accesorios 4000634 o similar) entre 95 -1000 °C.
- Llenar los crisoles con las muestras molidas y situarlo en la “gradillas porta-crisoles “(4). Esta gradilla se puede figar en la parte frontal de la unidad principal. Recoger los crisoles e introducirlos en la unidad principal frente a la resistencia (6). Bajar la palanca de fijación (5) y bajar la palanca reflectora.
- Situar los mandos de la válvula (5) en posición “OFF”.
- Abrir el grifo de entrada de agua refrigerante. Caudal entre 1 y 2 litros/minuto.
- Accionar el interceptor principal (POWER) (9), el piloto ámbar se iluminara. El potenciómetro (7) en posición “OF”

#### Proceso de extracción caliente

- Levantar la tapa superior (1) y añadir el reactivo en cada columna. (10) determinar la cantidad de reactivos mediante la escala graduada de cada columna.
- Girar el potenciómetro de ajuste (7) (sentido horario) hasta la posición 80-90%. La resistencia se pone en marcha.
- Añadir antiespumante en cada columna.
- Cuando el reactivo empiece a hervir disminuir la potencia de calor girando el potenciómetro (7) (sentido anti horario) hasta el 20-30%.
- Mientras dura la extracción puede aprovecharse de calentar el segundo reactivo o agua destilada.

- Finalice la extracción apagando el calentador por el instructor (9).
- Abrir el grifo de la trompa de agua (si se ha utilizado este sistema para producir presión de vacío). Situar los mandos de la válvula (5) en la posición “Aspirar”. Una vez completada la filtración cerrar la válvula.
- Si durante la filtración es necesario disolver el residuo, accionando el interruptor de la bomba de aire (8) (PRESSURE) y situar el mando de la válvula en la posición soplar volviendo luego a la posición espiral. La potencia de la bomba de soplar es ajustable interiormente. Ver “MANTENIMIENTO”
- No para la bomba (pressure) con las válvulas en posición “Soplar”
- Lave la muestra con agua destilada caliente utilizando un bote pulverizado. El agua se introduce por la entrada de cada columna. Situar los mandos de la válvulas en la posición espirar para dejar las muestra seca. Cerrar de nuevo las válvulas. Si el método precisa de varias extracciones repetir el proceso.
- Para sacar los crisoles de la unidad de extracciones utiliza el “asa porta-crisoles” encajando en los crisoles y librando los desbloqueados de la palanca de la izquierda.
- Trasladarlos a la gradilla.

## 5. Procedimiento

- Pesar (con una presión de +1mg) de 1 a 1.5g de muestra en un crisol poroso. La cantidad de muestra es W0.
- Introducir los crisoles en el Dosi-Fiber

Hidrólisis ácida en caliente:

- Asegurarse que las válvulas están en la posición “cerrado”
- Añadir 100-150 de  $H_2SO_4$  caliente en cada columna y unas gotas de anti-espumante
- Añadir el círculo de refrigeración y activar las resistencias calefactoras. (potencial 90%)
- Esperar a que hierva, reducir la potencial al 30% y dejar hervir durante el tipo de extracción (30min a 1h. dependiendo del material). Para una hidrólisis más efectiva accionar la bomba de aire en la posición “Soplar”
- Para la calefacción Abrir el circuito de vacío y poner los mandos de las válvula en posición “Adsorción”. Lavar con agua destilada y filtrar. Repetir este proceso tres veces.

Hidrólisis básica en caliente

- Repetir los pasos 3 y 7 pero utilizando KOH en lugar de  $H_2SO_4$
- No realizar las extracciones en frío con acetona en el equipo Dosi-Fiber
- Preparar el fisco “kitasatos” con las trompas de vacío. Situar el crisol en la entrada del kitasatos y añadir acetona a la vez que el circuito de vacío esta adsorbiendo hacia el frasco. Repetir esta operación 3 veces
- Poner las muestras a secar en la estufa a  $150^{\circ}C$  durante 1h
- Dejar enfriar en desecador.
- Pesar con una precisión de  $\pm 0.1$  mg. La cantidad pesada es  $w_1$
- Incinerar las muestras de los crisoles. En el Horno de mufla a  $500^{\circ}C$  durante un tiempo de 3h

- Dejar enfriar en desecador. Tener en cuenta las recomendaciones dadas para la manipulación de los crisoles (U.T.E.Q. Laboratorio de Bromatología, 2014).

Realizar el siguiente cálculo:

$$\% \text{ Fibra Bruta} = \frac{W_2 - W_1}{W_0} \times 100$$

3.3.1. Harinas de origen vegetal. Determinación de la fibra cruda. NTE INEN 0522.

#### 1. OBJ ETO

1.1 Esta norma establece el método para determinar el contenido de fibra cruda en harinas de origen vegetal.

#### 2. TERMINOLOGÍA

2.1 Fibra cruda. Es el residuo insoluble obtenido después del tratamiento de la muestra de harina de origen vegetal y determinada mediante procedimientos normalizados.

#### 3. RESUMEN

3.1 Digerir la muestra sin grasa con solución de ácido sulfúrico, lavar y nuevamente digerir con solución de hidróxido de sodio, lavar, secar y pesar. Calcinar hasta destrucción de la materia orgánica. La pérdida de peso después de la calcinación es el contenido de fibra cruda en la muestra.

#### 4. INSTRUMENTAL

4.1 Estufa, con regulador de temperatura, ajustada a  $130 \pm 2^\circ\text{C}$ .

4.2 Desecador, con sulfato de calcio anhidro u otro deshidratante adecuado.

- 4.3 Aparato de extracción tipo Soxhlet u otro similar.
- 4.4 Cápsula de porcelana o de sílice.
- 4.5 Mufla con regulador de temperatura ajustado a  $600 \pm 15^{\circ}\text{C}$ .
- 4.6 Embudo de 12 cm de diámetro, con una tela de algodón de tejido fino (tela de lino) para filtración.
- 4.7 Matraz Erlenmeyer de  $1\,000\text{ cm}^3$
- 4.8 Filtro de succión, compuesto de crisol de Gooch, colocado sobre un frasco de succión conectado a una trampa, y éste, a su vez, a cualquier aparato para efectuar el vacío. Debe estar dotado de una válvula para romper el vacío.
- 4.9 Pipeta volumétrica, de  $25\text{ cm}^3$
- 4.10 Aparato de digestión, compuesto por un condensador adaptado a la boca de balón de precipitación de  $600\text{ cm}^3$ , con diámetro de 82 mm y altura de 151 mm, y una plancha eléctrica de calentamiento con regulador de temperatura ajustado en tal forma que eleve la temperatura de  $200\text{ cm}^3$  de agua, desde  $25^{\circ}\text{C}$  hasta la ebullición durante  $15 \pm 2\text{ min}$ .
- 4.11 Balanza analítica, sensible al 0,1 mg.

## 5. REACTIVOS

5.1 Eter anhidro. Preparar lavando éter etílico comercial con dos o tres porciones de agua; agregar hidróxido de sodio o hidróxido de potasio sólidos y dejar en reposo hasta que todo el agua sea extraída del éter. Transferir a un frasco seco que previamente ha sido limpiado con cuidado y agregar pequeños pedazos de sodio metálico; cuando ya no se observe desprendimiento de hidrógeno, guardar el éter deshidratado sobre sodio metálico, en el mismo frasco, sin ajustar la tapa.

5.2 Solución 0,255 N de ácido sulfúrico. Disolver 1,25 g de ácido sulfúrico, reactivo para análisis, en 80 cm<sup>3</sup> de agua destilada y completar a 100 cm<sup>3</sup>

5.3 Solución 0,313 N de hidróxido de sodio. Disolver 1,25 g de hidróxido de sodio, libre de carbonato de sodio, en 80 cm<sup>3</sup> de agua destilada y completar a 100 cm<sup>3</sup>

5.4 Alcohol etílico al 95%. (Puede usarse alcohol metílico o alcohol isopropílico).

5.5 Antiespumante, apropiado, a base de silicones.

5.6 Perlas de vidrio.

5.7 Asbesto preparado. Colocar en la cápsula de porcelana las fibras de asbesto tratadas para usarse en análisis (ver Anexo B), calentar 16 h a 600 °C en la mufla, sacar de la mufla y transferir a un balón de precipitación, hervir durante 30 min con solución 0,255 N de ácido sulfúrico, filtrar, lavar con agua destilada y transferir a un balón de precipitación para hervir durante 30 min con solución 0,313 N de hidróxido de sodio, filtrar, lavar con la solución 0,255 N de ácido sulfúrico, lavar nuevamente con abundante agua, secar e incinerar a 600°C en la mufla, por un tiempo de dos horas.

## 6. PREPARACION DE LA MUESTRA

6.1 Las muestras para el ensayo deben estar acondicionadas en recipientes herméticos, limpios, secos (vidrio, plástico u otro material inoxidable), completamente llenos para evitar que se formen espacios de aire.

6.2 La cantidad de muestra de la harina de origen vegetal extraída dentro de un lote determinado debe ser representativa y no debe exponerse al aire mucho tiempo.



6.3 Se homogeniza la muestra invirtiendo varias veces el recipiente que la contiene.

## 7. PROCEDIMIENTO

7.1 La determinación debe realizarse por duplicado sobre la misma muestra preparada.

7.2 Pesar, con aproximación al 0,1 mg, 3 g de muestra y transferir a un dedal de porosidad adecuada, tapar con algodón, colocar en la estufa calentada a  $130 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , por el tiempo de una hora.

7.3 Transferir al desecador el dedal que contiene la muestra, dejar enfriar hasta temperatura ambiente.

7.4 Colocar en el aparato Soxhlet y llevar a cabo la extracción de la grasa, con una cantidad suficiente de éter anhidro; el tiempo de extracción será de cuatro horas, si la velocidad de condensación es de 5 a 6 gotas por segundo, o por un tiempo de 16 h, si dicha velocidad es de 2 a 3 gotas por segundo.

7.5 Sacar el dedal con la muestra sin grasa, dejar en el medio ambiente para que se evapore el solvente, colocarlo en la estufa y llevar a una temperatura de  $100^{\circ}\text{C}$ , por el tiempo de dos horas. Transferir al desecador y dejar enfriar a la temperatura ambiente.

7.6 Pesar, con aproximación al 0,1 mg, aproximadamente 2 g de la muestra desengrasada y transferir al balón de precipitación de  $600\text{ cm}^3$ , con mucho cuidado.

7.7 Agregar aproximadamente 1 g de asbesto preparado,  $200\text{ cm}^3$  de solución hirviendo, 0,255 N de ácido sulfúrico, una gota de antiespumante diluido o perlas de vidrio. (Un exceso de antiespumante puede dar resultados altos, por lo que se debe usar solamente, si es necesario, para controlar la espuma).

7.8 Colocar el balón de precipitación y su contenido en el aparato de digestión, dejar hervir durante 30 min exactos, girando el balón periódicamente, para evitar que los sólidos se adhieran a las paredes.

7.9 Filtrar a través de la tela de tejido fino puesta en el embudo, el que, a su vez, se coloca en el Erlenmeyer de 1 000 cm<sup>3</sup>, lavar el residuo con agua destilada caliente, hasta que las aguas de lavado no den reacción acida.

7.10 Colocar el residuo en el balón de precipitación, agregar 200 cm<sup>3</sup> de solución 0,313 N de hidróxido de sodio hirviendo, colocar en el aparato de digestión y llevar a ebullición durante 30 min exactos.

7.11 Filtrar a través de la tela de tejido fino, lavar el residuo con 25 cm<sup>3</sup> de la solución 0,255 N de ácido sulfúrico hirviendo y luego con agua destilada hirviendo, hasta que las aguas de lavado no den reacción alcalina.

7.12 El residuo es transferido cuantitativamente al crisol de Gooch que contiene asbesto, y previamente pesado, agregar 25 cm<sup>3</sup> de alcohol etílico poco a poco y filtrar aplicando el vacío.

7.13 Colocar el crisol Gooch y su contenido en la estufa calentada a  $130 \pm 2^{\circ}\text{C}$  por el tiempo de dos horas, transferir al desecador, dejar enfriar a temperatura ambiente y pesar.

7.14 Colocar el crisol con la muestra seca en la mufla e incinerar a una temperatura de  $500 \pm 50^{\circ}\text{C}$ , por el tiempo de 30 min; enfriar en desecador y pesar.

---

7.15 Realizar un solo ensayo en blanco con todos los reactivos, sin la muestra y siguiendo el mismo procedimiento descrito a partir de 7.7 para cada determinación o serie de determinaciones.

## 8. CALCULOS

8.1 El contenido de fibra cruda en muestras de harina de origen vegetal se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$F_c = \frac{(m_1 - m_2) - (m_3 - m_4)}{m} \times 100$$

Siendo:

$F_c$  = contenido de fibra cruda, en porcentaje de masa.

$m$  = masa de la muestra desengrasada y seca, en g.

$m_1$  = masa de crisol conteniendo asbestos y la fibra seca, en g.

$m_2$  = masa de crisol contiendo asbesto después de ser incinerado, en g.

$m_3$  = masa de crisol del ensayo en blanco conteniendo asbestos, en g.

$m_4$  = masa de crisol del ensayo en blanco conteniendo asbesto, después de ser incinerado, en g.

## 9. ERRORES DE METODO

9.1 La diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder de 0,1%; en caso contrario, debe repetirse la determinación.

## 10. INFORME DE RESULTADOS

10.1 Como resultado final, debe reportarse la media aritmética de los dos resultados de la determinación, aproximada a centésimas.

10.2 En el informe de resultados, deben indicarse el método usado y el resultado obtenido. Debe mencionarse, además, cualquier condición no especificada en esta norma o considerada como

opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado.

10.3 Deben incluirse, además, todos los detalles necesarios para la completa identificación de la muestra.

## ANEXO B

### PREPARACION DEL ASBESTO

A.1 La fibra del asbesto en bruto se desmenuza con una navaja que se desliza sobre las fibras, sujetando éstas por un extremo; en esta forma se separan las pequeñas fibrillas unas de otras. Luego hervirlas en ácido sulfúrico concentrado, por el tiempo de dos horas, y lavar completamente con suficiente agua corriente; colocar en una cápsula de porcelana, calentar durante 16 h en la mufla calentada a  $600 \pm 1^\circ\text{C}$  y proceder como en 5.7 (INEN, 2013).

### 3.4. DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA BRUTA

#### MATERIALES Y EQUIPOS

- Balanza analítica, sensible al 0. 1 mg
- Unidad de Digestión Tecator 2006
- Unidad de Digestión Tecator 1002
- Plancha de calentamiento con agitador mecánico
- Tubos de destilación de 250 ml
- Matraz Erlenmeyer de 250 ml
- Gotero

- Bureta graduada y Accesorios
- Espátula
- Gradilla

## REACTIVOS

- Ácido sulfúrico concentrado ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ )
- Solución de Hidróxido de Sodio al 40% ( $\text{NaOH}$ )
- Solución de Ácido Bórico al 2% ( $\text{HBO}_3$ )
- Solución de Ácido Clorhídrico 0. 1 N ( $\text{HCl}$ ), Debidamente Estandarizada
- Tabletas Catalizadoras
- Indicador Kjeldahl
- Agua destilada

## PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

1. Moler aproximadamente 100 g de muestra, en un micro molino que contenga un tamiz de abertura de 1 mm y que se recupere un 95 % del producto.
2. Transferir rápidamente la muestra molida y homogenizada a un recipiente herméticamente cerrado, hasta el momento de análisis.
3. Se homogeniza la muestra interviniendo varias veces el recipiente que lo con- tiene.

## PROCEDIMIENTO

### DIGESTIÓN:

1. Pesar aproximadamente 0.3 g de muestra prepara sobre un papel exento de nitrógeno y colocarle en el tubo digestor.
2. Adicionar una tableta catalizadora y 10 mL de ácido sulfúrico concentrado.
3. Encender el digestor y colocar los tapones.
4. Encender el digestor, calibrar a 420 °C y dejar la muestra hasta su clarificación (color verde claro).
5. Dejar enfriar la temperatura ambiente.

#### DESTILADOR:

1. En cada tubo adicionar 35 ml. De agua destilada
2. Colocar el tubo y el Matraz de recepción con 50 mL. de ácido Bórico al 2 % en el sistema kjeltec.
3. Encender el sistema y adicionar 50 mL de hidróxido de sodio al 40 %, cuidado que exista un flujo normal de agua.
4. Recoger aproximadamente 200 mL de destilado, retirar del sistema los accesorios y apagar.

#### TITULACIÓN:

1. Del destilado recogido en el matriz colocar tres gotas de indicador.
2. Titular con ácido clorhídrico 0.1 N utilizando un agitador mecánico.
3. Registrar el volumen de ácido consumido.

#### CÁLCULOS:

1. El contenido de proteínas bruta en los alimentos se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$\%PB = \frac{(V_{HCI} - V_b) \times 1.401 \times NHCL \times F}{g \text{ muestra}}$$

Siendo:

14.01= Peso atómico del nitrógeno

HHCL= Normalidad de Ácido Clorhídrico 0.1 N

F = Factor de conversión (6.25)

VHCI = Volumen del ácido clorhídrico consumido en la titulación

Vb = Volumen del Blanco (0.1) (U.T.E.Q. Laboratorio de Bromatología , 2013).

3.8.1. Leche y Productos Lácteos. Determinación De Contenido de Nitrógeno. Método Kjeldahl. NTE INEN 16 Segunda revisión 2015-01.

## 1. OBJETO

Esta norma describe el método para determinar el contenido de nitrógeno en la leche.

## 2. ALCANCE

Esta norma se aplica a la leche cruda, pasteurizada y en polvo, ya sea entera, semidescremada o descremada y otros productos lácteos

## 3. DEFINICIONES

Para efectos de esta norma, se adoptan las definiciones contempladas en la NTE INEN 3 y la que a continuación se detalla:

Contenido de nitrógeno. Fracción de masa de nitrógeno determinada por el procedimiento establecido en esta norma (El contenido de nitrógeno se expresa como porcentaje en masa).

#### 4. PRINCIPIO

Una porción de ensayo se lleva a digestión con una mezcla de ácido sulfúrico concentrado y sulfato de potasio, usando sulfato de cobre (II) como catalizador para que de este modo se convierta el nitrógeno orgánico presente en sulfato de amonio. La función del sulfato de potasio es elevar el punto de ebullición del ácido sulfúrico y proporcionar una mezcla oxidante más fuerte para la digestión.

---

A la muestra fría luego de la digestión, se añade hidróxido de sodio en exceso para liberar amoníaco. El amoníaco liberado es destilado en un exceso de solución de ácido bórico para luego ser titulado con ácido clorhídrico. El contenido de nitrógeno se calcula a partir de la cantidad de amoníaco producido.

#### 5. MATERIALES Y EQUIPOS

5.1 Equipos y materiales usuales de laboratorio, en particular, los siguientes:

5.1.1. Baño de agua, capaz de mantenerse a  $38\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

5.1.2. Matraces Kjeldahl, de 500 mL y 800 mL de capacidad.

5.1.3. Balanza analítica, capaz de pesar con una aproximación de 0,1 mg.



5.1.4. Núcleos de ebullición, por ejemplo, las esferas de vidrio de material poroso, granallas de zinc, piezas duras de porcelana, gránulos de óxido de aluminio fundido, anfótero de alta pureza, tamaño normal de malla 10. (las esferas de vidrio de aproximadamente 5 mm de diámetro son utilizadas a veces, pero estas no promueven la eficiencia de la ebullición como los gránulos de óxido de aluminio y pueden causar problemas de formación de espuma durante la digestión. No se deben reutilizar).

5.1.5. Bureta o pipeta automática, capaz de suministrar 1,0 mL de la solución de sulfato de cobre.

5.1.6. Probetas graduadas, de 50 mL, 100 mL y 500 mL de capacidad.

5.1.7. Aparato de digestión, para sostener los matraces Kjeldahl en una posición inclinada (aproximadamente 45°), con calentadores eléctricos o quemadores a gas que no calienten los matraces por encima del nivel de su contenido, y con un sistema de extracción de vapor.

5.1.8. La fuente de calor debe ser ajustable para controlar la configuración máxima del calentador que se utilizará durante la digestión. Precalentar la fuente de calor hasta establecer la temperatura de evaluación. En el caso de los calentadores a gas, el período de precalentado será de 10 min y para calentadores eléctricos debe ser de 30 min. Para cada uno de los calentadores, determinar el punto de ajuste del calentador, que permita llevar 250 mL de agua incluyendo de 5 a 10 núcleos de ebullición a una temperatura inicial de 25 °C entre 5 min a 6 min hasta su punto de ebullición. Este es el ajuste máximo del calentador que se debe utilizar durante la digestión.

5.1.9. Aparato de destilación, hecho de vidrio de borosilicato u otro material adecuado para que pueda acoplarse a un matraz Kjeldahl que conste de una cabeza difusora eficiente conectada a un condensador eficaz de tubo interior recto y un tubo de salida conectado a su extremo inferior.

---

5.1.10. Los tubos de conexión y el (los) tapón(es) deben ser ajustados y preferiblemente deben ser de neopreno.

5.1.11. Matraces cónicos, de 500 mL de capacidad, graduados cada 200 mL.

5.1.12. Bureta de 50 mL de capacidad, graduado por lo menos cada 0,01 mL, cumpliendo con los requisitos, (ISO 385-1, class A. Laboratory glassware – Burettes – Part 1: General requirements).

5.1.13. Por otra parte, se puede utilizar una bureta automática, si se cumplen con los mismos requisitos.

5.1.14. Titulador automático provisto de un pH-metro. El pH-metro debe ser correctamente calibrado en un rango de pH de 4 a 7, siguiendo los procedimientos de calibración normalmente utilizados en un laboratorio.

## 6. REACTIVOS Y MATERIALES

Utilizar únicamente reactivos de grado analíticamente reconocido, a menos que se especifique lo contrario, agua destilada, desmineralizada o de pureza equivalente.

6.1. Sulfato de potasio ( $K_2SO_4$ ), libre de nitrógeno.

6.2. Solución de sulfato de cobre (II),  $Cu (SO_4)$ , 5,0 g por 100 mL. Disolver 5,0 g de sulfato de cobre (II) pentahidratado ( $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ )

en agua, en un matraz volumétrico de 100 mL. Diluir hasta la marca y mezclar.

6.3. Ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), con una fracción de masa de por lo menos 95 % a 98 %, libre de nitrógeno ( $p_{20} = 1,84 \text{ g / mL}$  aproximadamente).

6.4. Solución de hidróxido de sodio ( $\text{NaOH}$ ), libre de nitrógeno, que contiene 50 g de hidróxido de sodio por 100 g de solución.

6.5. Solución indicadora. Disolver 0,1 g de rojo de metilo en etanol al 95 % (fracción en volumen) en 50 mL de etanol. Disolver 0,5 g de verde de bromocresol en etanol al 95 % (fracción en volumen) en 250 mL de etanol. Mezclar una parte de la solución de rojo de metilo con cinco partes de la solución verde de bromocresol o combinar y mezclar ambas soluciones.

6.6. Solución de ácido bórico, c ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ), 40,0 g / L. Disolver 40,0 g de ácido bórico en 1 litro de agua caliente, dejar enfriar a  $20^\circ\text{C}$  y aforar en un matraz volumétrico a 1000 mL, añadir 3 mL de solución indicadora (ver 5.1.6) y mezclar. Almacenar la solución, hasta que esté presente un ligero color naranja, en una botella de vidrio de borosilicato. Proteger la solución de la luz y fuentes de vapor de amoníaco durante el almacenamiento.

---

6.7. Si se utiliza el pH-metro electrónico para el punto final de la titulación, la adición de la solución indicadora a la solución de ácido bórico puede ser omitida.

6.7.1. Por otro lado, el cambio de color también se puede utilizar como una verificación de los procedimientos adecuados de titulación.

6.8.A menudo, los errores sistemáticos que pueden evitarse que son introducidos por un analista al diluir un ácido concentrado y luego determinar la molaridad del ácido, puede reducir la reproducibilidad del método. El analista no debe usar una solución para titulación que tenga una concentración superior a 0,1 mol/L, ya que esto podría reducir el volumen total por titulación de la muestra y la incertidumbre en la legibilidad de la bureta que podría convertirse en un porcentaje mayor del valor. Esto tendrá un impacto negativo sobre la repetibilidad y reproducibilidad del método. Las mismas situaciones y otras fuentes de error se presentan cuando otro ácido (por ejemplo, ácido sulfúrico) se sustituye por ácido clorhídrico. Así, estas sustituciones no son recomendables.

El ácido clorhídrico solución estándar (HCl),  $(0,1 \pm 0,0005)$  mol / L. Para preparar 1 litro de solución de HCl 0,1 M, tomar 8,60 mL de HCl de pureza 36,5 % a 38 % y aforar a 1 litro con agua libre de  $\text{CO}_2$ .

6.8.1. Se recomienda que el material pueda ser comprado previamente estandarizado por el fabricante para que cumplan las especificaciones anteriores.

6.9. Sulfato de amonio  $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$ . Ensayo de pureza mínimo del 99,9 % (fracción de masa) en material seco.

6.10. Inmediatamente antes de su uso, secar el sulfato de amonio a  $102^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$  durante no menos de 2 h. Enfriar a temperatura ambiente en un desecador.

6.11. El triptófano ( $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$ ) o clorhidrato de lisina ( $\text{C}_6\text{H}_{15}\text{ClN}_2\text{O}_2$ ). Ensayo de pureza mínimo 99 % (fracción de masa).

6.12. No secar estos reactivos en una estufa antes de su uso.

6.13. Sacarosa, con un contenido de nitrógeno de no más de 0,002 % (fracción de masa).

6.14. No secar la sacarosa en una estufa antes de su uso.

## 7. MUESTREO

Es importante que el laboratorio reciba una muestra que sea realmente representativa y no haya sido dañada o cambiada durante el transporte o almacenamiento.

## 8. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Calentar la muestra para el ensayo a 38°C en baño de agua. Mezclar suavemente la muestra en varias ocasiones, invirtiendo el frasco sin provocar formación de espuma por el batido. Enfriar la muestra a temperatura ambiente inmediatamente antes de pesar la porción de ensayo. (Se aconseja este tamaño de la muestra para la aplicación de este método para productos lácteos diferentes).

---

## 9. PROCEDIMIENTO

### 9.1. Porción de ensayo y tratamiento previo.

En un matraz Kjeldahl limpio y seco, añadir 5 a 10 núcleos de ebullición, 15,0 g de sulfato de potasio (ver 6, 1,0 mL de solución de sulfato de cobre (II) (ver 6.3), y aproximadamente 5 mL  $\pm$  0,1 mL de la muestra preparada, pesar con una aproximación de 0,1 mg y 25 mL de ácido sulfúrico. Usar el ácido sulfúrico para lavar cualquier solución de sulfato de cobre (II), sulfato de potasio o porción remanente en el cuello del matraz. Si algún residuo carbonizado aún queda en el cuello, enjuagar con una pequeña cantidad de agua. Mezclar suavemente el contenido del matraz Kjeldahl.

### 9.2 Determinación

9.2.1. Digestión. Encender el sistema de extracción de vapor del aparato de digestión antes de comenzar. Calentar el matraz Kjeldahl y su contenido (ver 9.1) en el equipo de digestión, estableciendo la temperatura lo suficientemente baja de tal manera que la espuma no suba hasta el cuello del matraz Kjeldahl. Digerir con este ajuste del calentador hasta que aparezca vapor blanco en el matraz después de aproximadamente 20 min. Aumentar la temperatura del calentador a la mitad del ajuste máximo determinado en el numeral 5.1.7.1 y continuar su calentamiento durante 15 min. Al final del período de 15 min, aumentar el calor a la posición máxima determinada en el numeral. Después de la digestión se presenta un color (azul – verde claro), continuar la ebullición durante 1 hora a 1,5 horas al ajuste máximo. Si el líquido no hierve, puede ser que el ajuste del quemador este demasiado bajo. El tiempo total de digestión debe ser entre 1,8 h y 2,25 h.

9.2.1.1. Para determinar el tiempo específico necesario de ebullición para las condiciones de análisis en un laboratorio que utiliza un conjunto particular de aparatos, seleccionar una muestra de leche de alto contenido de proteínas y grasa para determinar su contenido de proteínas usando diferentes tiempos de ebullición (1 hora a 1,5 horas) después de la clarificación. El resultado medio de proteína se incrementa al aumentar el tiempo de ebullición, se vuelve constante y luego disminuye cuando el tiempo de ebullición es demasiado largo. Seleccionar el tiempo de ebullición que produce el resultado máximo de proteína.

9.2.1.2. Al final de la digestión, esta debe ser clara y libre de material no digerido. Se debe permitir que la muestra digerida se enfríe a temperatura ambiente en un matraz descubierto y separado de la fuente de calor durante un período de aproximadamente de 25 min.

Si el matraz se deja sobre los quemadores calientes para enfriar, se necesitará más tiempo para llegar a la temperatura ambiente. La muestra después de la digestión, enfriada debe ser líquida o líquida con pocos cristales pequeños en la parte inferior del matraz al final del período de 25 min. de enfriamiento. Después de la digestión no dejar la muestra sin diluir en los matraces durante toda la noche. La muestra, después de la digestión no diluida, puede cristalizarse durante este período y será muy difícil conseguir que se diluya de nuevo en solución.

La cristalización excesiva después de 25 min es el resultado de la pérdida de ácido indebida durante la digestión y puede resultar valores bajos en la prueba. La excesiva pérdida de ácido es causada por la aspiración excesiva de vapor o por un tiempo prolongado de la digestión causada por un ajuste máximo incorrecto del quemador.

9.2.1.3. Añadir 300 mL de agua en los matraces Kjeldahl de 500 mL o 400 mL de agua cuando se utilizan matraces Kjeldahl de 800 mL. Utilizar también agua para lavar el cuello del matraz. Mezclar bien el contenido para asegurarse que los cristales se separen y disuelvan. Añadir 5 a 10 núcleos de ebullición (ver 5.1.4). Dejar que la mezcla se enfríe de nuevo a temperatura ambiente antes de la destilación. Las muestras después de la digestión se pueden tapar y mantener para la destilación para un momento posterior.

9.2.2. Destilación. Abrir el suministro de agua al condensador del aparato de destilación. Añadir 75 mL de solución de hidróxido de sodio (ver 6.4) a la muestra diluida de la digestión verter cuidadosamente la solución por el cuello inclinado del matraz Kjeldahl para formar una capa en la parte inferior del bulbo del matraz. Debe haber una interfaz limpia entre las dos soluciones. Para reducir la posibilidad de pérdida de amoníaco, inmediatamente

después de la adición de la solución de hidróxido de sodio al matraz Kjeldahl, conectar rápidamente al aparato de destilación. La punta del tubo de salida del condensador sumergir en 50 mL de la solución de ácido bórico contenida en un matraz cónico. Agitar vigorosamente el matraz de Kjeldahl para mezclar su contenido completamente hasta que no sean visibles capas separadas de solución en el matraz. Poner el matraz sobre el calentador. Encender el quemador a un ajuste lo suficientemente alto como para hervir la mezcla. Continuar la destilación hasta que comience la ebullición irregular, a continuación, desconecte inmediatamente el matraz de Kjeldahl y apague la hornilla. Apagar el condensador de agua. Enjuagar el interior y exterior de la punta del tubo de salida de agua y recoger el lavado en un matraz cónico y mezclar.

9.2.2.1. La tasa de destilación debe ser de tal manera, que se reúna aproximadamente 150 mL de destilado antes que la ebullición irregular inicie. El volumen total de contenido en el matraz cónico será de aproximadamente 200 mL. Si el volumen de destilado recogido es inferior a 150 mL, entonces es probable que se haya añadido menos de 300 mL de agua para diluir la muestra después de la digestión. La eficiencia del condensador debe ser tal, que la temperatura del contenido del matraz cónico no sea superior a los 35 °C durante la destilación cuando se utiliza un punto final colorimétrico.

---

9.2.3. Titulación Titular el contenido del matraz cónico con el ácido clorhídrico utilizando una bureta. El objetivo es alcanzar la primera traza de color rosa en el contenido. Estimar la lectura de la bureta



que debe tener una aproximación a 0,05 mL. Una placa iluminada y un agitador magnético pueden ayudar a visualizar el punto final.

La primera traza de color rosa se observa entre pH 4,6 y 4,3 para el sistema indicador y 4% de solución de ácido bórico que se especifica en este método. En la práctica la tasa de cambio de pH en función de la adición de 0,1 mol/L de HCl es muy rápida dentro de rango de pH. Esta toma 0,05 mL de 0,1 mol/L de HCl para cambiar el pH en 0,3 unidades en el rango de pH de 4,6 a 4,3 en este sistema.

Estadísticas de rendimiento dentro y entre laboratorios de este método fueron determinadas usando un punto final de color en la titulación. Comparando los resultados de las pruebas finales, incluyendo sus pruebas en blanco, obtenidas con un punto final de pH a 4,6 con el punto final colorimétrico por titulación, se mostró satisfactoriamente y estadísticamente que no hubo diferencia significativa entre ellos

9.2.3.1. Alternativamente, titular el contenido del matraz (ver 9.2.2) con el ácido clorhídrico utilizando un titulador adecuadamente calibrado provisto de un medidor de pH. El punto final de pH de la titulación se alcanza a pH 4,6, al conseguir el punto final de la curva de titulación (punto de inflexión). Leer en el valorador automático la cantidad del titulante utilizada.

9.3. Ensayo en blanco. Siempre se titula los blancos con el mismo ácido clorhídrico y bureta o un titulador automático provisto de un pH-metro como el que se utiliza en las etapas del ensayo. Sustituir la porción de ensayo con 5 mL de agua y aproximadamente 0,85 g de sacarosa

El propósito de la sacarosa en un blanco o un estándar de recuperación es la de actuar como material orgánico para consumir una cantidad de ácido sulfúrico, durante la digestión que es aproximadamente equivalente a una porción de ensayo. Si la cantidad de ácido sulfúrico residual libre al final de la digestión es demasiado baja, la recuperación de nitrógeno por ambas pruebas de recuperación en el 9.4.2 y 9.4.3 será baja. Sin embargo, si la cantidad de ácido residual presente al final de la digestión es suficiente para retener todo el nitrógeno, pero las condiciones de temperatura y el tiempo durante digestión no fueron suficientes para liberar todo el nitrógeno de una muestra, la recuperación de nitrógeno en 9.4.2 será aceptable y la recuperación de nitrógeno en 9.4.3 será baja.

9.3.1. Mantener un registro de los valores en blanco. Si los valores de los blancos cambian, identificar la causa.

9.3.2. La cantidad del titulante utilizada en el blanco debe ser siempre mayor que cero. Los blancos dentro del mismo laboratorio deben ser consistentes a través del tiempo. Los valores típicos en blanco son iguales o inferiores a 0,2 mL

Si el blanco ya es color rosa antes del comienzo de la titulación, algo está mal. Por lo general, en estos casos, los matraces cónicos no están limpios o el agua proveniente del vapor puede condensarse en el exterior del aparato condensador y gotear en el matraz de recogida causando contaminación.

#### 9.4 Pruebas de recuperación

9.4.1. La precisión del procedimiento debería ser revisada periódicamente por medio de las pruebas de recuperación siguientes.

---

9.4.2. Compruebe que no haya pérdida de nitrógeno mediante el uso de una porción de muestra de 0,12 g de sulfato de amonio, junto con 0,85 g de sacarosa. La verificación de la recuperación de sulfato de amonio no da información sobre la capacidad de las condiciones de la digestión de liberar nitrógeno, que está enlazado en las estructuras de proteína.

9.4.2.1. El porcentaje de nitrógeno recuperado será entre 99,0% y 100,0% para todas las posiciones en el aparato. Para recuperaciones de menos de 99%, la concentración del titulante es mayor que el valor declarado, o la pérdida de nitrógeno pudo haberse producido en la digestión o destilación. Es posible utilizar una mezcla de sulfato de amonio y una pequeña cantidad de ácido sulfúrico (la cantidad de residuo que queda al final de una digestión) en un matraz Kjeldahl. Diluir en un volumen normal de agua, añadir la cantidad normal de hidróxido de sodio y destilar. Si la recuperación de nitrógeno es todavía baja con la misma cantidad, la pérdida de nitrógeno está en el aparato de destilación y no en el de la digestión. La probable causa podría ser un tubo con fuga en un sistema tradicional o las puntas de los condensadores no fueron sumergidos bajo la superficie del ácido bórico al inicio de la destilación. El aparato debe pasar estas pruebas.

9.4.2.2. En el caso de que la recuperación de nitrógeno sea superior al 100%, y no se observe pérdida de nitrógeno, las posibles causas podrían ser las siguientes:

- a) el sulfato de amonio está contaminado;
- b) la concentración real del titulante es inferior a su valor declarado;
- c) la calibración de la bureta para la titulación está mal;
- d) la temperatura del titulante está por encima de la temperatura de calibración de la bureta; o
- e) el flujo de salida del titulante de la bureta excede la velocidad máxima a la que la calibración de la bureta es válida.

9.4.3. Verificar la eficiencia del procedimiento de la digestión utilizando 0,16 g de clorhidrato de lisina o 0,18 g de triptófano junto con 0,67 g de sacarosa.

9.4.3.1. Por lo menos una fracción de masa de 98% de nitrógeno debe ser recuperada. Si la recuperación es inferior a 98%, después de haber recuperado una fracción de masa del 99% al 100% en sulfato de amonio, entonces el tiempo o la temperatura de digestión es insuficiente o hay una muestra de material que no está digerida (es decir, muestra carbonizada) en el interior del matraz Kjeldahl. La evaluación final del desempeño se hace mejor por la participación en un programa de ensayos de aptitud dentro y entre laboratorios, los parámetros estadísticos se calculan con base en el análisis de muestras de ensayo de leche.

---

9.4.4. Resultados más bajos en cualquiera de las pruebas de recuperación (o superior a 100,0%) indican fallas en el procedimiento o una incorrecta concentración de la solución de ácido clorhídrico.

## 10. CÁLCULOS

### 10.1. Cálculo del contenido de nitrógeno

10.1.1. Calcular el contenido en nitrógeno de la muestra,  $w_N$ , utilizando la siguiente ecuación:

$$w_n = \frac{1,4007(V_s - V_b)M_r}{m}$$

Donde:

$w_n$  Es el contenido de nitrógeno de la muestra, expresado como porcentaje en masa;

$V_s$  Es el valor numérico del volumen, en mililitros, del ácido clorhídrico (ver 6.8) utilizado en la determinación, expresado por lo menos con una aproximación de 0,05 mL;

$V_b$  Es el valor numérico del volumen, en mililitros, del ácido clorhídrico (ver 6.8) utilizado en el ensayo en blanco, expresado por lo menos con una aproximación de 0,05 mL.

$M_r$  Es el valor numérico de la molaridad exacta del ácido clorhídrico (ver 6.8), expresado con cuatro decimales

$m$  Es el valor numérico, en gramos, de la porción de la masa de ensayo (ver 9.1), expresado con una aproximación de 0,1 mg.

10.1.2. Expresar los resultados obtenidos con cuatro decimales, si es necesario para los cálculos posteriores. En el caso de resultados finales, expresar el contenido de nitrógeno con tres decimales y para el contenido de proteína con dos decimales. Los resultados obtenidos no se deben redondear aún más hasta que el uso final del valor del ensayo sea hecho. Esto es particularmente cierto para los valores que se van a utilizar en cálculos posteriores.

Un ejemplo se presenta cuando los valores de ensayos individuales obtenidos del análisis de muchos materiales de muestra son usados

para el cálculo estadístico de desempeño del método para la variación dentro y entre laboratorios. Otro ejemplo, se presenta cuando los valores se utilizan como una referencia para la calibración del instrumento (por ejemplo, analizador infrarrojo de leche) donde los valores de muchas muestras se utilizan en un cálculo de regresión simple o múltiple. En tal caso, los resultados obtenidos no deben ser redondeados antes de que se utilicen para los cálculos posteriores.

## 10.2. Cálculo del contenido de proteína cruda

10.2.1. Calcular el contenido en proteína cruda de la muestra, utilizando la siguiente ecuación:

$$W_p = W_N \times 6,38$$

Donde:

**$W_p$**  Es la proteína cruda de la muestra, expresada como un porcentaje de la masa;

**$W_N$**  Es el contenido de nitrógeno de la muestra, expresado como un porcentaje de la masa con cuatro decimales;

6,38 es el factor de multiplicación generalmente aceptado para expresar el contenido de nitrógeno como contenido de proteína cruda. También llamada factor de conversión utilizado para los productos lácteos.

10.2.2. Expresar los resultados obtenidos para el contenido de proteína cruda con tres decimales, si es necesario para cálculos

posteriores. En el caso de ser resultados finales, éstos se expresan con dos decimales.

## 11. PRECISIÓN

11.1. Ensayos entre laboratorios. Los valores de los límites de repetibilidad y reproducibilidad se deriva del resultado de un estudio entre laboratorios llevado a cabo de acuerdo con ISO 5725 1986 se utilizó para obtener los datos de precisión. Los valores derivados de esta prueba no pueden ser aplicables a rangos de concentración y matrices diferentes a las indicadas.

Los detalles de la prueba entre laboratorios del método se resumen en BARBANO, D.M. CLARK, J.L., DUNHAM, C.E. and FLEMING, J.R. Kjeldahl methods for determination of total nitrogen content. Of milk: collaborative study. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 73, 1990, pp 849-859. LYNCH, J.M., BARBANO, D.M. and FLEMING, J.R. Performance evaluation of direct forced-air total solids and Kjeldahl total nitrogen methods: 1990 through 1995. J. Assoc. Off. Anal. Chem. Int., 80, 1997, pp, 1038-1043-

11.2. Repetibilidad. La diferencia absoluta entre dos resultados de pruebas independientes e individuales, obtenidas utilizando el mismo método, con idénticos materiales de prueba en el mismo laboratorio por el mismo operador con el mismo equipo dentro de un intervalo corto de tiempo, no será más de 5% de los casos mayores que 0,006% de contenido de nitrógeno (0,038% de contenido de proteína cruda).

11.3. Reproducibilidad. La diferencia absoluta entre dos resultados individuales, obtenidos utilizando el mismo método, con idéntico material de prueba en laboratorios diferentes, con distintos operadores y utilizando equipos diferentes, no será más de 5% de los casos mayores que 0,007 7% de contenido de nitrógeno (0,049% de contenido de proteína cruda).

## 12. INFORME DE RESULTADOS

12.1. El informe del ensayo debe especificar:

- Toda la información necesaria para la completa identificación de la muestra;
- El método de muestreo utilizado, si se conoce;
- El método de ensayo utilizado;
- Todos los detalles operativos no especificados en esta norma o considerados como opcionales, junto con los detalles de cualquier incidente que pueda haber influido en el (los) resultado(s);
- El resultado de la (las) prueba(s) obtenido;
- Si la repetibilidad se ha comprobado, citar el resultado final obtenido;
- Si la recuperación se ha comprobado, citar el resultado final obtenido (INEN, 2015).



## BIBLIOGRAFÍA

- INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN). NORMA TÉCNICA ECUATORIANA . (2012). 299, Determinación de la humedad en la leche en polvo. Quito, Ecuador.
- AACC, m. 3.-1. (1992). *Determination of soluble, insoluble and total dietary fiber in food and food products*.
- AACC. ( 1992). Determination of soluble, insoluble and total dietary fiber in food and food products. *AACC method 32-07*.
- AOAC. (2000). *Official Methods Validation Program "AOAC International Official Methods of Analysis"* (Vol. XXIII). 17.
- Arévalo, M. (2015). Elaboración de Yogur a Base de Bacterias Probióticas, Prebióticos y Vitamina A en la Planta Piloto de Lácteos de la Universidad de Cuenca. Cuenca, Ecuador.
- Asp, N. G., & Johansson, C. G. (1984). Dietary fiber analysis. . *Clinical Nutrition*.
- Avendaño, G., & y otros. (2013). Propiedades del almidón y aplicación en alimentos. *Temas*, 87-96. Obtenido de <http://web.udlap.mx/tsia/files/2013/12/TSIA-71-Avendano-Romero-et-al-2013.pdf>
- Carreño, J. (20 de 01 de 2015). <http://covarida.blogspot.com>. Obtenido de <http://covarida.blogspot.com/2011/11/composicion-de-la-leche-de-vaca-vs.html>
- Chasquibol Silva, N. (2008). Extracción y caracterización de pectina obtenidas a partir de frutos de la biodiversidad peruana. *Ingeniería Industrial*, 175-199. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/3374/337428492010.pdf>
- Ecured. (20 de 02 de 2016). <https://www.ecured.cu/Celulosa>. Obtenido de [https://www.ecured.cu/Celulosa#Estructura\\_de\\_la\\_celulosa](https://www.ecured.cu/Celulosa#Estructura_de_la_celulosa)
- FAO. (25 de 12 de 2018). <http://www.fao.org>. Obtenido de <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB489S/AB489S03.htm>
- García Martínez, E. (10 de 03 de 2017). <https://riunet.upv.es>. (U. P. Valencia, Ed.) Obtenido de <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/16338/Determinaci%C3%B3n%20de%20proteinas.pdf?sequence=1>
- INEN. (2012). NTE 299. *Determinación de humedad en leche en polvo*. Quito.
- INEN. (2012). NTE 302. *Leche en polvo. Determinación de las cenizas*. Quito.
- INEN. (2012). NTE 348. *Determinación de Cenizas en Vino*, 4. Quito.
- INEN. (2013). NTE 0012:73. *LECHE. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE GRASA*. Quito.
- INEN. (Septiembre de 2013). NTE INEM-ISO 936. *Carne y Productos Carnicos - Determinación de Ceniza Total. (IDT), I, 5*. Quito.

- INEN. (2013). NTE INEN 522. *HARINAS DE ORIGEN VEGETAL. DETERMINACION DE LA FIBRA CRUDA*. Quito.
- INEN. (Septiembre de 2013). NTE INEN-ISO 3961:2013. *ACEITES Y GRASAS DE ORIGEN ANIMAL Y VEGETAL. DETERMINACION DEL INDICE DE YODO*. Quito.
- INEN. (2013). NTE: 1442. *Determinación de contenido de humedad*. Quito.
- INEN. (2015). NTE INEM 16. *Leche y Productos Lácteos. Determinación de Contenido de Nitrogeno. Método de Kjeldahl*, 14. Quito.
- INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN . (2013). 0348 Bebidas alcoholicas. *Determinación de Cenizas*. Segunda revisión. Quito, Ecuador .
- INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN. (2012). (L. y. lácteos, Productor) Obtenido de <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/ecu139663.pdf>
- INTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN). (2012). *Norma Técnica Ecuatoriana 302. Leche En Polvo. Determinación De Las Cenizas*. Quito-Ecuador: Segunda revisión.
- INTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN). NORMA TÉCNICA ECUATORIANA. (1085). *Carnes y productos cárnicos. Determinación de la pérdida de calentamiento. NTE INEN 0777*. Quito, Ecuador.
- Marchante, P., & col. (2008). *Análisis Químico Farmacéutico Métodos clásicos cuantitativos*. La Habana: Félix Varela.
- Marchante, P., Zumbado, H., González, A., Álavarez , M., & Hernández, L. (2008). *Análisis Químico Farmacéutico. Métodos clásicos cuantitativos*. La Habana: Félix Varela.
- Martínez, J. J. (16 de 02 de 2017). <http://libroelectronico.uaa.mx>. Obtenido de <http://libroelectronico.uaa.mx/capitulo-12-otras-vias/estructura-y-funcion-del.html>
- Martínez, M. J. (2010). *Impacto de la interacción entre lactoglobulina, caseinoglicomacropéptido y polisacáridos en coloides alimentarios*. Buenos Aires: UBA. Obtenido de [file:///D:/correcciones%20libro%20ing.%20Fon%20Fay/correcciones%2025%2007%20%202017/tesis\\_n4570\\_Martinez%20carragento.pdf](file:///D:/correcciones%20libro%20ing.%20Fon%20Fay/correcciones%2025%2007%20%202017/tesis_n4570_Martinez%20carragento.pdf)
- NMX-F-312-1978;. (1978). *Determinación de reductores directos y totales en alimentos. Normas mexicanas. . Method of test for total and direct reducing substances in food*. México.
- Norma, C. (1978). NC77-22-17. *Determinación de fibra. Conserva de frutas y vegetales. Métodos de ensayo*. Cuba: Dirección general de normas.
- Norma, C. (1981). NC 85-04. *Aceites y grasas comestibles. Métodos de ensayo*. La Habana, Cuba.
- Norma, C. (2001). NC-ISO.669. *Aceites y grasas comestibles. Método de ensayo*. La Habana, Cuba.
- Norma, C. (2004). NC-1443. *Carne y productos cárnicos. Método de ensayo*. La Habana, Cuba.
- Norma, C., & NC 77-22-17. (1982). *Determinación de fibra. Conserva de frutas y vegetales. Métodos de ensayo*.
- Normas Cubanas. (1981). NC 79-06 *Carne y productos cárnicos. Métodos de ensayo*.
- Panreac . (1999). *Métodos Analíticos en Alimentos. Cereales, derivados de cereales y cerveza*. España: Panreac Química, SA.
- Panreac. (1992). *Método oficiales de análisis. Aceites y grasas*. España.

- Panreac. (1999). *Métodos Analíticos en Alimentaria. Carne y productos cárnicos. Métodos oficiales de análisis*. España: PANREAC QUÍMICA, SA.
- Panreac. (1999). *Métodos Analíticos en Alimentaria. Productos derivados de la Uva, aguardientes y sidras. Métodos oficiales de análisis*. España: PANREAC QUÍMICA, SA.
- Panreac. (1999). *Métodos Analíticos en Alimentos, Cereales, derivados de cereales y cerveza. Métodos oficiales de análisis*. España: Panreac Química SA.
- Panreac. (2013). *Métodos Analíticos en Alimentos. Leche y productos lácteos. . Métodos oficiales de análisis*. España, España: PANREAC QUÍMICA, SA. .
- Peso, P., Frontela, C., & y otros. (2012). Polisacáridos de algas como ingredientes funcionales en acuicultura marina: alginato, carragento y ulvano. *Biología Marina y Oceanografía*, 373-381. Obtenido de <https://scielo.conicyt.cl/pdf/revbiolmar/v47n3/art01.pdf>
- Porto, S. (18 de 03 de 2017). <http://www.agargel.com>. Obtenido de <http://www.agargel.com.br/index-es.html>
- Prosky, L., & y , c. (1988). Determination of soluble and insoluble dietary fiber in food and food products. *Publmed*, 23. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2853153>
- Ramírez, G. (11 de 11 de 2017). <http://aprendeonline.udea.edu.co>. *Esquema de Weende*. Colombia. Obtenido de [http://aprendeonline.udea.edu.co/lms/moodle/pluginfile.php/44570/mod\\_resource/content/0/Esquema\\_Weende\\_moodle.pdf](http://aprendeonline.udea.edu.co/lms/moodle/pluginfile.php/44570/mod_resource/content/0/Esquema_Weende_moodle.pdf)
- Rangel, D. (05 de 12 de 2016). <https://es.scribd.com>. Obtenido de <https://es.scribd.com/document/90696073/Acido-alginico>
- Rayas, P., & Romero, B. (2008). Fibra a base de frutas, vegetales y cereales función salud. *Mexicana de Agronegocios*, 613-621. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/141/14102306.pdf>
- Sánchez García, J. M. (15 de 09 de 2017). <https://es.slideshare.net>. Obtenido de <https://es.slideshare.net/DiegoGuzmanSilva/prctica-3-20161123-lab-analisis-determinacin-de-cenizas>
- Segura, F. (2007). Descripción y Discusión acerca de los métodos de análisis de fibra y del valor nutricional de forrajes y alimentos para animales. *Vitae*, 72-81. Obtenido de <file:///C:/Users/Flor%20Marina%20Fon%20Fay/Desktop/PORTAFOLIO%20DOCENTE%20ING.%20AGROINDUSTRIA%202018%202019%20FINAL/MAA321%20METODOS%20Y%20TECNICAS%20DE%20ANALISIS/v14n1a11.pdf>
- U.T.E.Q. Laboratorio de Bromatología . (2013). Principales Técnicas de Alimentos. *Determinación de Fibra Bruta*. Quevedo.
- U.T.E.Q. Laboratorio de Bromatología. (Abril de 2012). Principales Técnicas de Análisis de Alimentos. *Determinación de Cenizas*. Quevedo.
- U.T.E.Q. Laboratorio de Bromatología. (Septiembre de 2013). Técnicas de Análisis de Laboratorio. *Determinación de Humedad o perdida por calentamiento*. Quevedo, Los Ríos.
- U.T.E.Q. Laboratorio de Bromatología. (2014). Principales Técnicas de Alimentos. *Determinación de Grasa*. Quevedo.
- U.T.E.Q. Laboratorio de Bromatología. (2014). Principales Técnicas de Alimentos. *Determinación de Fibra*. Quevedo.

- Ureña, F. (05 de 01 de 2017). <https://www.uco.es>. Obtenido de <https://www.uco.es/zootecniaygestion/menu.php?tema=146>
- UTEQ. (2014). Equipos, Materiales y Reactivos empleados en Laboratorio de Bromatología. *Reactivos empleados en Determinación de Proteína Bruta*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Materiales empleados en Determinación de Humedad*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de equipos, materiales y reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Equipos empleados en Determinación de Humedad*. . Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Materiales empleados en Determinación de Grasa*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Materiales empleados en Determinación de Grasa*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Reactivos empleados en Determinación de Grasa*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Equipos empleados en Determinación de Fibra por el método de WEENDE*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Materiales empleados en Determinación de Fibra por el Método de WEENDE*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Reactivos empleados en Determinación de Fibra por el Método de WEENDE*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Equipos empleados en Determinación de Proteína Bruta*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Equipos empleados en Determinación de Proteína Bruta*. Quevedo.
- Vásquez, P. (25 de 05 de 2017). <https://es.scribd.com>. Obtenido de <https://es.scribd.com/document/60173156/Determina>
- Zumbado, H. (2002). Análisis Químico de los Alimentos. La Habana, Cuba: Félix Varela.
- Zumbado, H. (2004). *Análisis Químico de los Alimentos; Método Clásico*. La Habana: Universitaria. Obtenido de <file:///C:/Users/Flor%20Marina%20Fon%20Fay/Downloads/Analisis%20quimico%20de%20los%20alimento%20-%20Hector%20Zumbado-Fernandez.pdf>
- Zumbado, H. (2004). <https://es.scribd.com>. Obtenido de <https://es.scribd.com/doc/47639250/Analisis-Quimico-de-los-alimentos>

# CAPÍTULO IV.

## PLANIFICACIÓN DE REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS



## **CAPÍTULO IV. PLANIFICACIÓN DE REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS**

## **INTRODUCCIÓN**

En este capítulo predomina la información de requerimientos para la gestión de la retroalimentación de materiales, reactivo y equipos con la finalidad de planificar con eficiencia el desarrollo de cada práctica, además se transforma en una herramienta de la planificación de materiales, reactivos y equipos, para la verificación del stock existente al final de cada semestres, el mismo que permitirá una retro provisión de requerimientos de materiales y reactivos, para lograr el cumplimiento de las practicas que se declaran en el silabo. Teniendo en cuenta la especificación de cada material y equipo utilizado.

En este capítulo predomina la información de requerimientos para la gestión de la retroalimentación de materiales, reactivo y equipos.

## HUMEDAD O PÉRDIDA POR CALENTAMIENTO

### Equipos

| Imagen                                                                              | Nombre                                      | Especificación                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    | <b>Balanza analítica</b>                    | <p>Rango de pesado máx. de la balanza analítica: 3.000 g</p> <p>Capacidad de lectura balanza de la balanza analítica [d]: 0,01 g</p> <p>Valor de verificación de la balanza analítica [e]: 0,1 g</p> <p>Linealidad de la balanza analítica: 0,015 g</p> <p>Reproducibilidad de la balanza analítica: <math>\pm 0,03</math> g</p> <p>Superficie de pesado de la balanza analítica: 165 x 165 mm</p> |
|  | <b>Estufa, con regulador de temperatura</b> | <p>Calefacción por resistencias envainadas en acero inoxidable de alta temperatura.</p> <p>Control de temperatura por termostato hidráulico</p> <p>Rango de trabajo desde temperatura ambiente hasta 200 °C</p> <p>Sensibilidad optimizada a 0,15 °C</p> <p>Interruptor bipolar de 10 A</p> <p>Indicador piloto de larga duración</p> <p>Alimentación 220 VCA 50 HZ</p>                            |

Fuente: (UTEQ, 2014).



## Materiales

| Imagen                                                                              | Nombre                       | Especificación                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                     | <b>Crisoles de porcelana</b> | <p>Composición de arcilla, cuarzo y feldespato asegura una alta temperatura de reblandecimiento. Trabaja con artículos sin vidriar hasta 1.350°C y con artículos vidriados hasta 1.100°C.</p> <p><b>Diámetro:</b> 35 mm<br/> <b>Altura:</b> 28 mm<br/> <b>Capacidad:</b> 12 ml</p> |
|   | <b>Espátula</b>              | <p>Lamina plana angosta, adherida a un mango hecho de madera, plástico o metal.</p> <p>Utilizada para tomar pequeñas cantidades de compuestos o sustancias sólidas, especialmente las granulares.</p>                                                                              |
|  | <b>Pinza</b>                 | <p>De acero inoxidable, su función es sostener y manipular capsulas de evaporación, crisoles y otros objetos.</p> <p>Utilizados como medida de seguridad cuando estos son calentados o poseen algún grado de peligrosidad al manipularlos directamente.</p>                        |

Fuente: (UTEQ, 2014)

## DETERMINACIÓN DE CENIZA

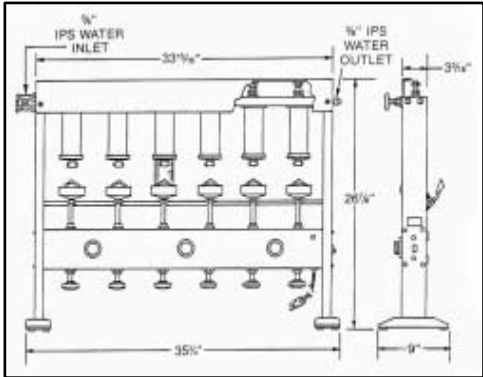
### Equipos

| Imagen                                                                              | Nombre                                      | Especificación                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    | <b>Balanza analítica</b>                    | <p>Rango de pesado máx. de la balanza analítica: 3.000 g</p> <p>Capacidad de lectura balanza de la balanza analítica [d]: 0,01 g</p> <p>Valor de verificación de la balanza analítica [e]: 0,1 g</p> <p>Linealidad de la balanza analítica: 0,015 g</p> <p>Reproducibilidad de la balanza analítica: <math>\pm 0,03</math> g</p> <p>Superficie de pesado de la balanza analítica: 165 x 165 mm</p> |
|  | <b>Estufa, con regulador de temperatura</b> | <p>Calefacción por resistencias envainadas en acero inoxidable de alta temperatura.</p> <p>Control de temperatura por termostato hidráulico</p> <p>Rango de trabajo desde temperatura ambiente hasta 200 °C</p> <p>Sensibilidad optimizada a 0,15 °C</p> <p>Interruptor bipolar de 10 A</p> <p>Indicador piloto de larga duración</p>                                                              |

|               |                                                               |                            |
|---------------|---------------------------------------------------------------|----------------------------|
|               |                                                               | Alimentación 220 VCA 50 HZ |
| <b>Imagen</b> | <b>Nombre</b>                                                 | <b>Especificación</b>      |
|               | <b>Mufla, con regulador de temperatura, ajustada a 600° C</b> |                            |

## DETERMINACIÓN DE GRASA

### Equipos

| Imagen                                                                                                                                                               | Nombre                     | Especificación                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|   | <b>Aparato<br/>Golfish</b> | <p>908.05 mm de ancho x 228.6 mm de fondo x 682.63 de altura. La armazón está construida de aluminio anodizado.</p> <p><b>Calentadores eléctricos.</b> La unidad incluye seis elementos de calor de 100 vatios.</p> <p><b>Condensadores.</b> Seis condensadores de metal con cabezas de acero inoxidable tipo 304 tienen forma de cono con puntos como corona. Seis válvulas automáticas de liberación de presión están incluidas.</p> <p><b>Cristalería y accesorios.</b> Doce vasos de precipitados de 100 ml; 6 dedales de alundum de extracción, cubiertas para los calentadores eléctricos, empaques de corcho, anillos para vaso de precipitados y tubos de depuración.</p> <p><b>Conexión de plomería.</b> Válvula de control de 3/8" IPS en el lado superior izquierdo para la</p> |

|  |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|--|--|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  |  | <p>conexión a una toma de agua fría. Una salida de agua de 3/8" IPS en el lado derecho superior que permite la conexión a una línea de desagüe de al menos 3/4" IPS.</p> <p><b>Artículos eléctricos.</b></p> <p>Ensamblada y cableada de fábrica para una operación de 115 voltios, 50/60 Hz, 5.2 amperes. Una luz piloto prende una luz roja cuando la unidad está encendida. Se proporciona un interruptor, un cable de 3 alambres de seis pies y un enchufe. Peso de embarque 68 lbs.</p> |
|--|--|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

Fuente: (UTEQ, 2014).

| Imagen | Nombre | Especificación |
|--------|--------|----------------|
|--------|--------|----------------|

|                                                                                     |                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    | <p><b>Balanza analítica</b></p>                    | <p>Rango de pesado máx. de la balanza analítica: 3.000 g</p> <p>Capacidad de lectura balanza de la balanza analítica [d]: 0,01 g</p> <p>Valor de verificación de la balanza analítica [e]: 0,1 g</p> <p>Linealidad de la balanza analítica: 0,015 g</p> <p>Reproducibilidad de la balanza analítica: <math>\pm 0,03</math> g</p> <p>Superficie de pesado de la balanza analítica: 165 x 165 mm</p> |
|  | <p><b>Estufa, con regulador de temperatura</b></p> | <p>Calefacción por resistencias envainadas en acero inoxidable de alta temperatura.</p> <p>Control de temperatura por termostato hidráulico</p> <p>Rango de trabajo desde temperatura ambiente hasta 200 °C</p> <p>Sensibilidad optimizada a 0,15 °C</p> <p>Interruptor bipolar de 10 A</p> <p>Indicador piloto de larga duración</p> <p>Alimentación 220 VCA 50 HZ</p>                            |

Fuente: (UTEQ, 2014).

## Materiales

| Imagen                                                                             | Nombre                                                     | Especificación                                                                                        |
|------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|   | <p><b>Porta<br/>dedales</b></p>                            |                                                                                                       |
|  | <p><b>Vasos para<br/>recuperación<br/>del solvente</b></p> | <p>Este vaso sirve para la extracción de lípidos de equipo goldfish.<br/><b>Poner las medidas</b></p> |

Fuente: (UTEQ, 2014).

| Imagen                                                                             | Nombre                                                       | Especificación                                                                                                                                                                                                                                              |
|------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|   | <p><b>Pinza</b></p>                                          | <p>Utilizados como medida de seguridad cuando estos son calentados o poseen algún grado de peligrosidad al manipularlos directamente.</p> <p>De acero inoxidable, su función es sostener y manipular capsulas de evaporación, crisoles y otros objetos.</p> |
|  | <p><b>Desecador, con silicagel u otro deshidratante.</b></p> | <p>Con esmerilados planos trabajados con precisión.</p> <p>Superficie anular de apoyo granulada para elevar la estabilidad y como protección frente al rayado.</p> <p>Tapa intercambiable.</p>                                                              |
|                                                                                    | <p><b>Algodón Liofilizado e Hidrolizados</b></p>             |                                                                                                                                                                                                                                                             |



| Imagen                                                                            | Nombre                         | Especificación                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|-----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | <p><b>Éter de Petróleo</b></p> | <p><b>Estado físico:</b> Líquido<br/> <b>Apariencia:</b> Incoloro<br/> <b>Olor:</b> leve olor a hidrocarburos<br/> <b>pH:</b> No disponible<br/> <b>Temperatura de ebullición:</b> 35 – 60°C<br/> <b>Temperatura de fusión:</b> -40°C<br/> <b>Densidad a 20°C:</b> 0.65 kg/lit<br/> <b>Presión de vapor a 20°C:</b> 400 mmHg (aprox.)<br/> <b>Densidad de vapor:</b> 3.0 (aprox.)<br/> <b>Solubilidad:</b> Insoluble en agua. Soluble en la mayoría de los solventes.</p> |

Reactivos



## DETERMINACIÓN DE LA FIBRA POR EL MÉTODO DE WEENDE

### Equipos

| Imagen                                                                              | Nombre                 | Especificación                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    | Equipo Dosi-Fiber      | <p><b>Tamaño de la muestra:</b> de 0,5 a 3 g (normalmente 1 g).</p> <p><b>Reproductibilidad:</b> aproximadamente <math>\pm 1\%</math> para el nivel de fibra entre el 5 al 30%.</p> <p><b>Rango de medición:</b> de 0,1 al 100%.</p> <p><b>Consumo de agua de refrigeración:</b> 1 litro/min.</p> |
|   | Tropa o bomba de vacío | <p>De material metálico</p> <p><b>Presión:</b> 2 Kg</p> <p><b>Caudal:</b> 5 l/min</p> <p><b>Aspiración:</b> 1 l/min</p>                                                                                                                                                                           |
|  | Estufa                 | <p>Calefacción por resistencias envainadas en acero inoxidable de alta temperatura.</p> <p>Control de temperatura por termostato hidráulico</p> <p>Rango de trabajo desde temperatura ambiente hasta 200 °C</p> <p>Sensibilidad optimizada a 0,15 °C</p> <p>Interruptor bipolar de 10 A</p>       |

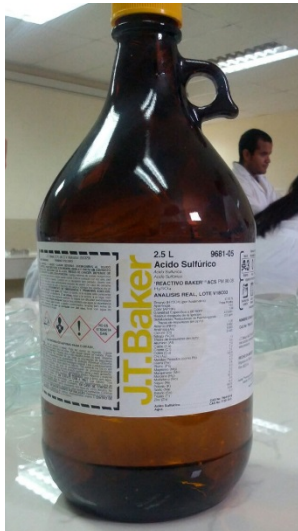
|                                                                                   |                         |                                                                                                                                                                                                          |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                   |                         | Indicador piloto de larga duración                                                                                                                                                                       |
| <b>Imagen</b>                                                                     | <b>Nombre</b>           | <b>Especificación</b>                                                                                                                                                                                    |
|  | <b>Crisoles porosos</b> | Alimentación 220 VCA 50 HZ<br>Hecho de grafito con cierto contenido de arcilla. Diseñado para para calentar, fundir, quemar, y calcinar sustancias a altas temperaturas (llegando incluso a los 1500°C). |
|                                                                                   |                         |                                                                                                                                                                                                          |

Fuente: (UTEQ, 2014).

**Fuente:** (UTEQ, 2014).

**Materiales**

**Reactivos**

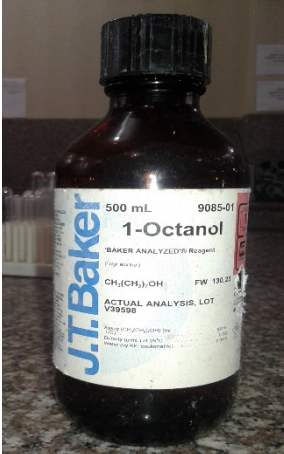
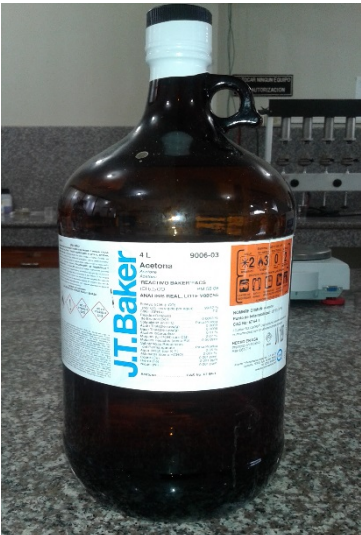
| Imagen                                                                              | Nombre                                                       | Especificación                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | <b>Ácido sulfúrico</b><br><b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b> | <b>Producto:</b> Ácido Sulfúrico<br><b>Descripción General:</b> Líquido transparente viscoso<br><b>Formula:</b> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub><br><b>Peso formula:</b> 98.08<br><b>N° de CAS:</b> 7664-93-9<br><b>UN:</b> 1830<br><b>NFPA:</b> 3 0 2 W<br><b>Peligro a la Salud:</b> Severo,<br><b>Inflamabilidad:</b> Ninguna, |

|  |  |                                                                                                                                     |
|--|--|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  |  | <b>Reactividad:</b><br>Extrema<br><b>Peligro</b> al<br><b>Contacto:</b> Extremo.<br><b>Color</b> de<br><b>Almacenaje:</b><br>Blanco |
|--|--|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

**Fuente:** (UTEQ, 2014).

Fuente: (UTEQ, 2014).

| Imagen                                                                              | Nombre                                 | Especificación                                                                                                                                                                                                                                                          |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | <b>Hidróxido potasio</b><br><b>KOH</b> | <b>Producto:</b> Hidróxido de Potasio<br><b>Formula:</b> KOH<br><b>Peso formula:</b> 56.11<br><b>Peligro a la Salud:</b> Severo<br><b>Inflamabilidad:</b> Ninguna<br><b>Reactividad:</b> Moderada<br><b>Peligro al Contacto:</b> Extremo.<br>olor de Almacenaje: Blanco |

|                                                                                    |                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|   | <p><b>Antiespumante,<br/>por ejemplo<br/>Octanol</b></p> | <p><b>Pureza (GC):</b> <math>\geq 99.0 \%</math><br/> <b>Identidad (IR) cumple</b><br/> <b>Ácido libre como</b><br/> <b>(C<sub>8</sub>H<sub>16</sub>O<sub>2</sub>):</b> <math>\leq 0.005 \%</math><br/> <b>Densidad ( 20 °C/ 4 °C):</b><br/>           0.824 - 0.827<br/> <b>Alcoholes extraños (GC):</b><br/> <math>\leq 1.0 \%</math><br/> <b>Sustancias fácilmente</b><br/> <b>carbonizables:</b> Cumple<br/> <b>Agua:</b> <math>\leq 0.1 \%</math></p>                                                                                          |
|  | <p><b>Acetona</b></p>                                    | <p><b>Concentración:</b> 99.5% min.<br/> <b>Aldehídos (HCHO):</b> 0.002%<br/> <b>Color (APHA):</b> 10<br/> <b>Residuo por evaporación:</b><br/>           0.001%<br/> <b>Solubilidad en agua:</b> pasa<br/>           prueba<br/> <b>Ácido Titulable:</b><br/>           0.0003meq/g<br/> <b>Base Titulable:</b><br/>           0.0006meq/g<br/> <b>Aldehído como (HCHO):</b><br/>           0.002%<br/> <b>Alcohol Isopropílico:</b> 0.05%<br/> <b>Metanol:</b> 0.05<br/> <b>Sustancias reducidas de</b><br/> <b>Permanganato:</b> pasa prueba</p> |

Fuente: (UTEQ, 2014)

#### 4.1. DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA BRUTA

| Imagen                                                                              | Nombre                            | Especificación                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    | <p><b>Balanza analítica</b></p>   | <p>Rango de pesado máx. de la balanza analítica: 3.000 g</p> <p>Capacidad de lectura balanza de la balanza analítica [d]: 0,01 g</p> <p>Valor de verificación de la balanza analítica [e]: 0,1 g</p> <p>Linealidad de la balanza analítica: 0,015 g</p> <p>Reproducibilidad de la balanza analítica: <math>\pm 0,03</math> g</p> <p>Superficie de pesado de la balanza analítica: 165 x 165 mm</p> |
|  | <p><b>Unidad de Digestión</b></p> | <p>Los sistemas de digestión de la línea Tecator se basan en una unidad de digestión y un soporte de tubos, que posibilitan una digestión completamente automatizada para un análisis Kjeldahl práctico, seguro y flexible.</p>                                                                                                                                                                    |



### 4.1.1. Equipos

Fuente: (UTEQ, 2014).

| Imagen                                                                              | Nombre                                                       | Especificación                                                                                                                                                                                                               |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|   | <p><b>DESTILADOR</b></p>                                     | <p>Estos sistemas de digestión versátiles pueden manipular 8, 20 o 40 tubos en volúmenes de 100 ml, 250 ml o 400 ml, en función de la configuración que se haya seleccionado.</p>                                            |
|  | <p><b>Plancha de calentamiento con agitador mecánico</b></p> | <p>Plataforma de aluminio Resistente a la corrosión química y fácil de limpiar Calentamiento de superficie rápido con excelente distribución térmica. Plato de calentamiento separado del cuerpo principal por placas de</p> |



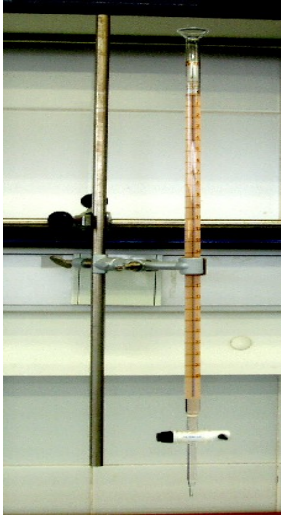
|  |  |                                                                                                                                                                    |
|--|--|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  |  | resistencias de<br>calentamiento para<br>proteger las partes<br>electrónicas y al<br>controlador<br>Tamaño de plato:180 x<br>180 mm<br>Temperatura: Hasta<br>380°C |
|--|--|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

**Fuente:** (UTEQ, 2014).

**Fuente:** (UTEQ, 2014).

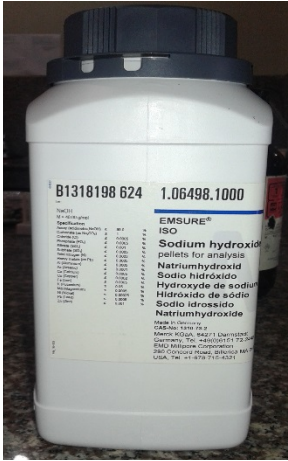
| Imagen                                                                             | Nombre                             | Especificación                                                                                                                   |
|------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|   | <b>Matraz Erlenmeyer de 250 ml</b> | <p>Boca estrecha<br/>Vidrio borosilicato<br/>Superficie rotulación<br/><b>Capacidad:</b> 250 mL<br/><b>Graduación:</b> 50 MI</p> |
|  | <b>Gotero</b>                      | <p>Los materiales de los cuales pueden estar hechos los goteros son: aluminio o plástico, plástico, vidrio, <u>silicio</u>.</p>  |

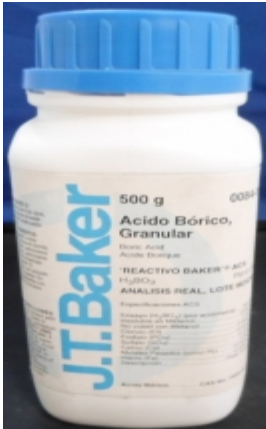
## Materiales

| Imagen                                                                              | Nombre                 | Especificación                                                                                                                                                           |
|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    | <b>Bureta graduada</b> | <p>Vidrio borosilicato transparente, graduados cada 0,1 mL.</p>                                                                                                          |
|  | <b>Gradilla</b>        | <p>Una gradilla es un utensilio utilizado para dar soporte a los tubos de ensayos o tubos de muestras. Este se encuentra hecho de madera, plástico o metal. Gradilla</p> |

**Fuente:** (UTEQ, 2014).

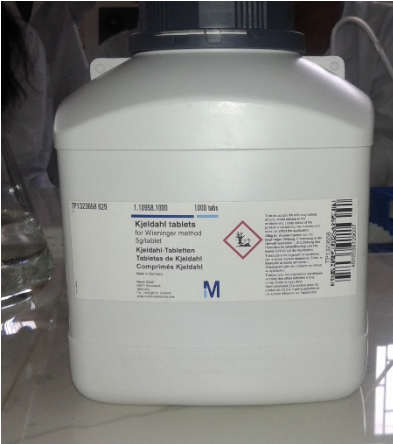
## Reactivos

| Imagen                                                                              | Nombre                                                                  | Especificación                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    | <p><b>Ácido sulfúrico concentrado (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)</b></p> | <p><b>Producto:</b> Ácido Sulfúrico<br/> <b>Descripción General:</b> Líquido transparente viscoso<br/> <b>Formula:</b> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub><br/> <b>Peso formula:</b> 98.08<br/> <b>Nº de CAS:</b> 7664-93-9<br/> <b>UN:</b> 1830<br/> <b>NFPA:</b> 3 0 2 W<br/> <b>Peligro a la Salud:</b> Severo,<br/> <b>Inflamabilidad:</b> Ninguna,<br/> <b>Reactividad:</b> Extrema<br/> <b>Peligro al Contacto:</b> Extremo.<br/> <b>Color de Almacenaje:</b> Blanco</p>                                 |
|  | <p><b>Solución de Hidróxido de Sodio al 40% (NaOH)</b></p>              | <p><b>Estado físico a 20°C:</b> Sólido<br/> <b>Color:</b> Incoloro, transparente.<br/> <b>Olor:</b> Inodoro<br/> <b>Punto de fusión [°C]:</b> 323 °C<br/> <b>Punto de ebullición [°C]:</b> 1390 °C<br/> <b>Densidad:</b> 2,1 g/cm<sup>3</sup><br/> <b>pH :</b> 13 a 14 (0,5% disoln.)<br/> <b>Solubilidad en agua:</b> 111 g/100 ml (20 °C)<br/> <b>Limites de explosión - Inferior [%]:</b> N.A.<br/> <b>Limites de explosión - Superior [%]:</b> N.A.<br/> <b>Peso Molecular:</b> 39,99713 g/mol</p> |

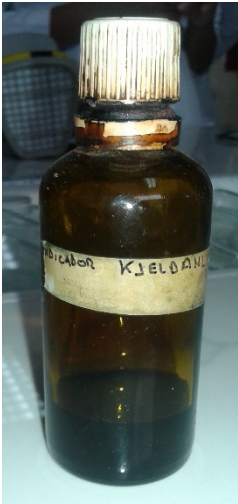
|                                                                                   |                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | <p><b>Solución de<br/>Ácido Bórico al<br/>2% (<math>\text{HBO}_3</math>)</b></p> | <p><b>Aspecto:</b> Polvo o cristales blancos<br/> <b>Color:</b> Blanco<br/> <b>Olor:</b> Inodoro<br/> <b>Solubilidad:</b> En agua, Alcohol y Glicerina<br/> <b>Densidad relativa:</b> 1.513 g/cm<sup>3</sup><br/> <b>Concentración:</b> 98.5% - 100.39%<br/> <b>Humedad (KF):</b> Menor de 0.1% p/v</p> |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

Fuente: (UTEQ, 2014).

| Imagen                                                                             | Nombre                                                                                             | Especificación                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | <p><b>Solución de<br/>Ácido Clorhídrico<br/>0.1 N (HCl),<br/>Debidamente<br/>Estandarizada</b></p> | <p><b>Producto:</b> Ácido Clorhídrico<br/> <b>Descripción General:</b> Líquido claro ligeramente amarillento<br/> <b>Formula:</b> HCL<br/> <b>Peso formula:</b> 36.46<br/> <b>Peligro a la Salud:</b> Severo,<br/> <b>Inflamabilidad:</b> Ninguna,<br/> <b>Reactividad:</b> Moderada,<br/> <b>Peligro al Contacto:</b> Severo<br/> <b>Color de Almacenaje:</b> Blanco</p> |

|                                                                                   |                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | <p style="text-align: center;"><b>Tabletas<br/>Catalizadoras</b></p> | <p>Pastillas que contienen sulfato de potasio y un catalizador (cobre, selenio o cobre/titanio). En el pasado, se ha utilizado mercurio como el catalizador más eficiente. Hoy en día, se ha sustituido en gran parte por cobre, u otros metales, debido a aspectos relacionados con la seguridad y el medio ambiente. Las pastillas catalizadoras se suministran en diversos tamaños, normalmente 3,5 g y 1,5 g para distintas necesidades. Una o más pastillas se combinan con el ácido para obtener una relación óptima sal/ácido. El tamaño inferior de 1,5 g se ha concebido para los tubos de 100 ml.</p> |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

**Fuente:** (UTEQ, 2014).

| Imagen                                                                             | Nombre                               | Especificación                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | <p><b>Indicador<br/>Kjeldahl</b></p> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|                                                                                    | <p><b>Agua<br/>destilada</b></p>     | <p><b>Aspecto:</b> Líquido transparente e incoloro.<br/> <b>Reacción neutra con azul de bromotimol:</b> Corresponde.<br/> <b>Reacción neutra con rojo de metilo:</b> Corresponde<br/> <b>Sulfatos:</b> Negativo<br/> <b>Cloruros:</b> Negativo<br/> <b>Amonio:</b> Negativo<br/> <b>Calcio:</b> Negativo</p> |

|  |  |                                                                                                              |
|--|--|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  |  | <b>CO<sub>2</sub>:</b> Negativo<br><b>Conductividad:</b><br>Máx. 10.5 $\mu$ s<br><b>pH 25°C:</b> 5.07 - 7.00 |
|--|--|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

**Fuente:** (UTEQ, 2014).



## BIBLIOGRAFÍA

- INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN). NORMA TÉCNICA ECUATORIANA . (2012). 299, Determinación de la humedad en la leche en polvo. Quito, Ecuador.
- AACC, m. 3.-1. (1992). *Determination of soluble, insoluble and total dietary fiber in food and food products*.
- AACC. ( 1992). Determination of soluble, insoluble and total dietary fiber in food and food products. *AACC method 32-07*.
- AOAC. (2000). *Official Methods Validation Program "AOAC International Official Methods of Analysis"* (Vol. XXIII). 17.
- Arévalo, M. (2015). Elaboración de Yogur a Base de Bacterias Probióticas, Prebióticos y Vitamina A en la Planta Piloto de Lácteos de la Universidad de Cuenca. Cuenca, Ecuador.
- Asp, N. G., & Johansson, C. G. (1984). Dietary fiber analysis. . *Clinical Nutrition*.
- Avendaño, G., & y otros. (2013). Propiedades del almidón y aplicación en alimentos. *Temas*, 87-96. Obtenido de <http://web.udlap.mx/tsia/files/2013/12/TSIA-71-Avendano-Romero-et-al-2013.pdf>
- Carreño, J. (20 de 01 de 2015). <http://covarida.blogspot.com>. Obtenido de <http://covarida.blogspot.com/2011/11/composicion-de-la-leche-de-vaca-vs.html>
- Chasquibol Silva, N. (2008). Extracción y caracterización de pectina obtenidas a partir de frutos de la biodiversidad peruana. *Ingeniería Industrial*, 175-199. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/3374/337428492010.pdf>
- Ecured. (20 de 02 de 2016). <https://www.ecured.cu/Celulosa>. Obtenido de [https://www.ecured.cu/Celulosa#Estructura\\_de\\_la\\_celulosa](https://www.ecured.cu/Celulosa#Estructura_de_la_celulosa)
- FAO. (25 de 12 de 2018). <http://www.fao.org>. Obtenido de <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB489S/AB489S03.htm>
- García Martínez, E. (10 de 03 de 2017). <https://riunet.upv.es>. (U. P. Valencia, Ed.) Obtenido de <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/16338/Determinaci%C3%B3n%20de%20proteinas.pdf?sequence=1>
- INEN. (2012). NTE 299. *Determinación de humedad en leche en polvo*. Quito.
- INEN. (2012). NTE 302. *Leche en polvo. Determinación de las cenizas*. Quito.
- INEN. (2012). NTE 348. *Determinación de Cenizas en Vino*, 4. Quito.
- INEN. (2013). NTE 0012:73. *LECHE. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE GRASA*. Quito.
- INEN. (Septiembre de 2013). NTE INEM-ISO 936. *Carne y Productos Carnicos - Determinación de Ceniza Total. (IDT), I, 5*. Quito.
- INEN. (2013). NTE INEN 522. *HARINAS DE ORIGEN VEGETAL. DETERMINACION DE LA FIBRA CRUDA*. Quito.
- INEN. (Septiembre de 2013). NTE INEN-ISO 3961:2013. *ACEITES Y GRASAS DE ORIGEN ANIMAL Y VEGETAL. DETERMINACION DEL INDICE DE YODO*. Quito.
- INEN. (2013). NTE: 1442. *Determinación de contenido de humedad*. Quito.

- INEN. (2015). NTE INEM 16. *Leche y Productos Lácteos. Determinación de Contenido de Nitrogeno. Método de Kjeldahl*, 14. Quito.
- INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN . (2013). 0348 Bebidas alcoholicas. Determinación de Cenizas. Segunda revisión. Quito, Ecuador .
- INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN. (2012). (L. y. lácteos, Productor) Obtenido de <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/ecu139663.pdf>
- INTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN). (2012). *Norma Técnica Ecuatoriana 302. Leche En Polvo. Determinación De Las Cenizas*. Quito-Ecuador: Segunda revisión.
- INTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN). NORMA TÉCNICA ECUATORIANA. (1085). Carnes y productos cárnicos. Determinación de la pérdida de calentamiento. *NTE INEN 0777*. Quito, Ecuador.
- Marchante, P., & col. (2008). *Análisis Químico Farmacéutico Métodos clásicos cuantitativos*. La Habana: Félix Varela.
- Marchante, P., Zumbado, H., González, A., Álavarez , M., & Hernández, L. (2008). *Análisis Químico Farmacéutico. Métodos clásicos cuantitativos*. La Habana: Félix Varela.
- Martínez, J. J. (16 de 02 de 2017). <http://libroelectronico.uaa.mx>. Obtenido de <http://libroelectronico.uaa.mx/capitulo-12-otras-vias/estructura-y-funcion-del.html>
- Martínez, M. J. (2010). *Impacto de la interacción entre lactoglobulina, caseinoglicomacropéptido y polisácaridos en coloides alimentarios*. Buenos Aires: UBA. Obtenido de [file:///D:/correcciones%20libro%20ing.%20Fon%20Fay/correcciones%2025%2007%20%202017/tesis\\_n4570\\_Martinez%20carragento.pdf](file:///D:/correcciones%20libro%20ing.%20Fon%20Fay/correcciones%2025%2007%20%202017/tesis_n4570_Martinez%20carragento.pdf)
- NMX-F-312-1978;. (1978). Determinación de reductores directos y totales en alimentos. Normas mexicanas. . *Method of test for total and direct reducing substances in food*. México.
- Norma, C. (1978). NC77-22-17. Determinación de fibra. Conserva de frutas y vegetales. Métodos de ensayo. Cuba: Dirección general de normas.
- Norma, C. (1981). NC 85-04. Aceites y grasas comestibles. Métodos de ensayo. La Habana, Cuba.
- Norma, C. (2001). NC-ISO.669. Aceites y grasas comestibles. Método de ensayo. La Habana, Cuba.
- Norma, C. (2004). NC-1443. Carne y productos cárnicos. Método de ensayo. La Habana, Cuba.
- Norma, C., & NC 77-22-17. (1982). *Determinación de fibra. Conserva de frutas y vegetales. Métodos de ensayo*.
- Normas Cubanas. (1981). NC 79-06 Carne y productos cárnicos. Métodos de ensayo.
- Panreac . (1999). *Métodos Analíticos en Alimentos. Cereales, derivados de cereales y cerveza*. España: Panreac Química, SA.
- Panreac. (1992). Método oficiales de análisis. Aceites y grasas. España.
- Panreac. (1999). *Métodos Analíticos en Alimentaria. Carne y productos cárnicos. Métodos oficiales de análisis*. España: PANREAC QUÍMICA, SA.
- Panreac. (1999). Métodos Analíticos en Alimentaria. Productos derivados de la Uva, aguardientes y sidras. Métodos oficiales de análisis. España: PANREAC QUÍMICA, SA.
- Panreac. (1999). *Métodos Analíticos en Alimentos, Cereales, derivados de cereales y cerveza. Métodos oficiales de análisis*. España: Panreac Química SA.

- Panreac. (2013). Métodos Analíticos en Alimentos. Leche y productos lácteos. . *Métodos oficiales de análisis*. España, España: PANREAC QUÍMICA, SA. .
- Peso, P., Frontela, C., & y otros. (2012). Polisacáridos de algas como ingredientes funcionales en acuicultura marina: alginato, carragento y ulvano. *Biología Marina y Oceanografía*, 373-381. Obtenido de <https://scielo.conicyt.cl/pdf/revbiolmar/v47n3/art01.pdf>
- Porto, S. (18 de 03 de 2017). <http://www.agargel.com>. Obtenido de <http://www.agargel.com.br/index-es.html>
- Prosky, L., & y , c. (1988). Determination of soluble and insoluble dietary fiber in food and food products. *Publmed*, 23. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2853153>
- Ramírez, G. (11 de 11 de 2017). <http://aprendeenlinea.udea.edu.co>. *Esquema de Weende*. Colombia. Obtenido de [http://aprendeenlinea.udea.edu.co/lms/moodle/pluginfile.php/44570/mod\\_resource/content/0/Esquema\\_Weende\\_moodle.pdf](http://aprendeenlinea.udea.edu.co/lms/moodle/pluginfile.php/44570/mod_resource/content/0/Esquema_Weende_moodle.pdf)
- Rangel, D. (05 de 12 de 2016). <https://es.scribd.com>. Obtenido de <https://es.scribd.com/document/90696073/Acido-alginico>
- Rayas, P., & Romero, B. (2008). Fibra a base de frutas, vegetales y cereales función salud. *Mexicana de Agronegocios*, 613-621. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/141/14102306.pdf>
- Sánchez García, J. M. (15 de 09 de 2017). <https://es.slideshare.net>. Obtenido de <https://es.slideshare.net/DiegoGuzmanSilva/prctica-3-20161123-lab-analisis-determinacin-de-cenizas>
- Segura, F. (2007). Descripción y Discusión acerca de los métodos de análisis de fibra y del valor nutricional de forrajes y alimentos para animales. *Vitae*, 72-81. Obtenido de <file:///C:/Users/Flor%20Marina%20Fon%20Fay/Desktop/PORTAFOLIO%20DOCENTE%20ING.%20AGROINDUSTRIA%202018%202019%20FINAL/MAA321%20METODOS%20Y%20TECNICAS%20DE%20ANALISIS/v14n1a11.pdf>
- U.T.E.Q. Laboratorio de Bromatología . (2013). Principales Técnicas de Alimentos. *Determinación de Fibra Bruta*. Quevedo.
- U.T.E.Q. Laboratorio de Bromatología. (Abril de 2012). Principales Técnicas de Análisis de Alimentos. *Determinación de Cenizas*. Quevedo.
- U.T.E.Q. Laboratorio de Bromatología. (Septiembre de 2013). Técnicas de Análisis de Laboratorio. *Determinación de Humedad o perdida por calentamiento*. Quevedo, Los Ríos.
- U.T.E.Q. Laboratorio de Bromatología. (2014). Principales Técnicas de Alimentos. *Determinación de Grasa*. Quevedo.
- U.T.E.Q. Laboratorio de Bromatología. (2014). Principales Técnicas de Alimentos. *Determinación de Fibra*. Quevedo.
- Ureña, F. (05 de 01 de 2017). <https://www.uco.es>. Obtenido de <https://www.uco.es/zootecniaygestion/menu.php?tema=146>
- UTEQ. (2014). Equipos, Materiales y Reactivos empleados en Laboratorio de Bromatología. *Reactivos empleados en Determinación de Proteína Bruta*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Materiales empleados en Determinación de Humedad*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de equipos, materiales y reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Equipos empleados en Determinación de Humedad*. . Quevedo.

- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Materiales empleados en Determinación de Grasa*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Materiales empleados en Determinación de Grasa*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Reactivos empleados en Determinación de Grasa*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Equipos empleados en Determinación de Fibra por el método de WEENDE*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Materiales empleados en Determinación de Fibra por el Método de WEENDE*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Reactivos empleados en Determinación de Fibra por el Método de WEENDE*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Equipos empleados en Determinación de Proteína Bruta*. Quevedo.
- UTEQ. (2014). Manejo de Equipos, Materiales y Reactivos en Laboratorio de Bromatología. *Equipos empleados en Determinación de Proteína Bruta*. Quevedo.
- Vásquez, P. (25 de 05 de 2017). <https://es.scribd.com>. Obtenido de <https://es.scribd.com/document/60173156/Determina>
- Zumbado, H. (2002). Análisis Químico de los Alimentos. La Habana, Cuba: Félix Varela.
- Zumbado, H. (2004). *Análisis Químico de los Alimentos; Método Clásico*. La Habana: Universitaria. Obtenido de <file:///C:/Users/Flor%20Marina%20Fon%20Fay/Downloads/Analisis%20quimico%20de%20los%20alimento%20-%20Hector%20Zumbado-Fernandez.pdf>
- Zumbado, H. (2004). <https://es.scribd.com>. Obtenido de <https://es.scribd.com/doc/47639250/Analisis-Quimico-de-los-alimentos>

ISBN: 978-9942-814-28-9

