

# MANUAL DE LABORATORIO

NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA

*Por*

*Genisberto Enrique Barreto Rodríguez*

*Nuris Guillermina Morales Pinto*

“

Especialista en Química Universidad Industrial de Santander. Químico Farmacéutico Universidad del Atlántico. Docente Titular de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad del Atlántico. Integrante de los grupos de investigación GITECFAR de la facultad de Química y Farmacia y del GRIINSAN de la Facultad de Nutrición y Dietética. Coordinador del semillero SEDAL (Seguridad Alimentaria).

**GENISBERTO ENRIQUE BARRETO RODRIGUEZ**

AUTOR

“

Doctora en Ciencias Agrarias Universidad del Zulia Venezuela. Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos Universidad de Puerto Rico Recinto Universitario de Mayagüez. Química Farmacéutica Universidad del Atlántico. Docente Tiempo Completo y Coordinadora del Grupo de Investigación Agroindustrial de la Facultad de Ingeniería de la Universidad del Atlántico

**NURIS GUILLERMINA MORALES PINTO**

AUTOR



Sello Editorial  
**UNIVERSIDAD  
DEL ATLÁNTICO**

[www.uniatlantico.com](http://www.uniatlantico.com)  
Universidad del Atlántico  
Puerto Colombia, Colombia  
Carrera 30 Número 8- 49



MANUAL DE LABORATORIO NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA

*Genisberto Barreto Rodríguez, Nuris Morales Pinto*

# MANUAL DE LABORATORIO

NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA

*Por*

*Genisberto Enrique Barreto Rodríguez*

*Nuris Guillermina Morales Pinto*



Sello Editorial  
**UNIVERSIDAD  
DEL ATLÁNTICO**



# Manual de Laboratorio Nutrición y Bromatología



Sello Editorial

**UNIVERSIDAD  
DEL ATLÁNTICO**

*La presente obra es posible gracias a las siguientes autoridades académicas de la Universidad del Atlántico:*

**Danilo Hernández Rodríguez**

*Rector*

**Leonardo Niebles Núñez**

*Vicerrector de Investigaciones, Extensión y Proyección Social*

**Alejandro Urieles Guerrero**

*Vicerrector de Docencia*

**Mary Luz Stevenson**

*Vicerrectora Financiera*

**Josefa Cassiani Pérez**

*Secretaria General*

**Miguel Caro Candezano**

*Jefe del Departamento de Investigaciones*

**Miriam de Rosario Fontalvo Gómez**

*Facultad de Química y Farmacia*

# Manual de Laboratorio Nutrición y Bromatología

*Autor:*

**Genisberto Enrique Barreto Rodríguez  
Nuris Guillermina Morales Pinto**



Impreso por Universidad del Atlántico  
Colombia | Atlántico | Barranquilla

Barreto Rodríguez, Genisberto Enrique. Morales Pinto, Nuris Guillermina

Manual de laboratorio nutrición y bromatología / Genisberto Enrique Barreto Rodríguez ; Nuris Guillermina Morales Pinto. – 1 edición. – Puerto Colombia, Colombia: Sello Editorial Universidad del Atlántico, 2021.

80 páginas. 17x24 centímetros. Incluye bibliografía. Ilustraciones.

ISBN: 978-958-5173-67-5 (Impreso)

1. Bromatología. 2. Nutrición. 3. Alimentos –composición. I. Autor. II. Título.

CDD: 641 B273

Los datos consignados en la catalogación fueron tomados del registro del título en la Cámara del Libro en fecha 2021-11-03, bajo radicado No 420053 [Consultado el 4 noviembre de 2021 según registro adjunto a la solicitud de catalogación].

© Sello Editorial Universidad del Atlántico  
Km 7 vía Puerto Colombia (Atlántico)  
www.uniatlántico.edu.co  
publicaciones@mail.uniatlantico.edu.co

*Coordinación editorial*  
Jorge Armando Navarro Beltran

*Diseño y diagramación*  
Jair Padilla Garcia

*Revisión y corrección*  
Jair Padilla Garcia

Printed and made in Barranquilla, Colombia - 2021

**Nota legal:** Reservados todos los derechos. No se permite la reproducción total o parcial de esta obra, ni su transmisión en cualquier forma o por cualquier medio (electrónico, mecánico, fotocopia, grabación u otros medios conocidos o por conocerse) sin autorización previa y por escrito de los titulares de los derechos patrimoniales. La infracción de dichos derechos puede constituir un delito contra la propiedad intelectual. La responsabilidad del contenido de este texto corresponde a sus autores. Depósito legal según Ley 44 de 1993, Decreto 460 del 16 de marzo de 1995, Decreto 2150 de 1995 y Decreto 358 de 2000.

## **AGRADECIMIENTOS**

*Los autores expresan sinceros agradecimientos a la Universidad del Atlántico, a la Vicerrectoría de Investigación Extensión y Proyección Social y de manera especial a la Facultad de Química y Farmacia a quien le debemos la culminación de este manual.*

## **AUTORES**

### **Genisberto Enrique Barreto Rodríguez**

*Especialista en Química Universidad Industrial de Santander. Químico Farmacéutico Universidad del Atlántico. Docente Titular de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad del Atlántico. Integrante de los grupos de investigación GITECFAR de la facultad de Química y Farmacia y del GRIINSAN de la Facultad de Nutrición y Dietética. Coordinador del semillero SEDAL (Seguridad Alimentaria). Miembro del subcomité de investigación de la facultad de Química y Farmacia. Director técnico de Laboratorio de Alimentos, línea de investigación, Control de calidad de alimentos y Tecnología de nuevos productos alimenticios. Director y Jurado de Trabajos de investigación. Autor de artículos científicos en revistas indexadas nacional e internacional.*

### **Nuris Guillermina Morales Pinto**

*Doctora en Ciencias Agrarias Universidad del Zulia Venezuela. Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos Universidad de Puerto Rico Recinto Universitario de Mayagüez. Química Farmacéutica Universidad del Atlántico. Docente Tiempo Completo y Coordinadora del Grupo de Investigación Agroindustrial de la Facultad de Ingeniería de la Universidad del Atlántico. Director y Jurado de Trabajos de investigación. Autor de artículos científicos en revistas nacional e internacional.*



# CONTENIDO

Introducción.....	16
Instrucciones Al Trabajo De Laboratorio.....	17
1. Análisis De Un Aceite Vegetal .....	23
1.3 Reacciones Cromáticas Generales .....	27
1.4 Reacciones Cromáticas Específicas.....	28
1.5 Prueba Para Enranciamiento .....	29
1.6 Índice De Peróxido.....	30
1.7 Prueba Cualitativa Para Aceites Minerales.....	31
1.8 Listas De Equipo .....	31
2. Análisis De Productos Cárnicos.....	32
2.1 Objetivos .....	32
2.2 Observación De Los Caracteres Organolépticos (Olor, Color, Aspecto).....	32
2.3 Preparación De La Muestra .....	32
2.4 Humedad .....	33
2.5 Cenizas .....	33
2.6 Grasa .....	33
2.7 Sustancias Nitrogenadas Totales Expresadas Como Proteínas .....	33
2.8 Glicógeno En Presencia De Almidón (Cualitativo).....	34
2.9 Almidón.....	34

2.10 Colorantes.....	35
2.11 Conservantes.....	35
2.12 Lista De Equipos.....	36
3. Análisis Físicoquímico De Agua Potable.....	37
3.2 Técnicas Analíticas .....	37
3.3 Lista De Equipos.....	51
4. Análisis De Frutas, Vegetales Y Productos De Frutas.....	52
4.2 Determinación Del Agua En Productos Vegetales .....	52
4.3 Determinación De Hierro En Las Cenizas.....	53
4.4 Análisis De Mermeladas Y Jaleas.....	54
4.5 Análisis De Jugos De Frutas.....	58
4.6 Determinación De Vitamina C Por Iodimetría.....	61
4.7 Lista De Equipos.....	62
5. Análisis De Bebidas Alcohólicas .....	63
5.6 Acidez Fija.....	65
5.7 Extracto Total.....	65
5.8 Cenizas .....	66
5.9 Alcalinidad De Las Cenizas.....	66
5.10 Ésteres .....	66
5.11 Aldehídos.....	67
5.12 Furfural.....	67
5.13 Azúcares Reductores.....	67
5.14 Lista De Equipos .....	68
6. Análisis De Leche Líquida.....	68
6.2 Técnicas Analíticas.....	69
6.3 Listado De Equipos.....	81
7. Análisis De Harinas.....	82
7.2 Técnicas Analíticas.....	82
7.3 Listado De Equipos.....	98
8. Análisis De Margarina .....	99

8.2 Introducción .....	99
8.3 Calcular el contenido de cloruro de sodio (Método De Mohr) .....	100
8.4 Determinación Del Contenido De Agua.....	100
8.5 Determinación Del Porcentaje De Grasas.....	100
8.6 Determinación Del Valor Calórico.....	101
8.7 Determinación de Ceniza .....	101
8.8 Determinación de Índice De Acidez Y Ácidos Grasos Libre .....	101
8.9 Determinación de Humedad .....	102
8.10 Lista De Equipos .....	103
Referencias Bibliográficas.....	103





## **INTRODUCCIÓN**

Dentro de la formación del Químico Farmacéutico, el curso de Nutrición y Bromatología es importante como parte del proceso continuo en el estudio de los alimentos. Así mismo, el estudiante requiere de conocimientos sobre los procesos productivos, las transformaciones, las formas de manejo, su estabilidad y su diseño a lo largo de toda la cadena alimentaria haciendo énfasis en las operaciones unitarias a que son sometidos. Además, la aplicación de la legislación nacional y la normalización internacional como las complicaciones que pueden presentarse por el consumo de alimentos contaminados y deteriorados.

El objetivo de este manual es proporcionar los conocimientos teórico práctico sobre análisis químico de los alimentos al estudiante de Química y Farmacia. Además, conocer los métodos que se aplican para lograr mantener la estabilidad de las materias primas utilizadas para elaborar alimentos y como determinar el valor alimenticio, los factores físicos, químicos y microbiológicos que afectan la calidad de los alimentos y como definir criterios de calidad que deben cumplir los alimentos y aplicar métodos analíticos para comprobar su genuinidad.

Es necesario recalcar que, este manual tiene como finalidad implementar en el Laboratorio de Alimentos de la Universidad del Atlántico pruebas analíticas de mayor interés en la industria alimentaria. Así mismo, se explican los conceptos básicos y aplicaciones que requiere en el desarrollo de métodos analíticos que determinan las características de calidad de los productos alimenticios.

Por otra parte, las prácticas que se describen en este manual proveen la información necesaria para comprender cada paso en el procedimiento. Así mismo, la organización del presente texto está dispuesta en ocho (8) capítulos siguiendo una estructura definida e igual. Cada capítulo se enfoca en un grupo alimenticio, con objetivos de la práctica, técnicas analíticas, materiales, reactivos y procedimiento a realizar teniendo en cuenta el tiempo estimado en la ejecución de las técnicas de laboratorio.

## **INSTRUCCIONES AL TRABAJO DE LABORATORIO**

El trabajo de laboratorio incluye el manejo de aparatos y reactivos que pueden ser peligrosos si no se usan con las debidas precauciones. Por esto, el estudiante debe conocer los peligros inherentes a los reactivos que utiliza y a los procedimientos que lleva a cabo. Así mismo, estar al tanto de todas las medidas que deben tomarse y los primeros auxilios que deben proporcionarse en caso de accidentes.

### ***Algunas medidas de tipo general:***

- Trabaje siempre en forma limpia, metódica y sin interrupciones.
- Realice todos los análisis en estricta conformidad con las instrucciones dadas en las técnicas del Manual de Laboratorio.
- No coma ni fume en el laboratorio.
- Use siempre elementos protectores (Ej. Anteojos de seguridad, Bata de laboratorio, botas de goma, guantes, etc.) cuando trabaje con sustancias corrosivas o cualquier material desconocido que pueda ser corrosivo.
- Cure de inmediato cualquier tipo de herida o cortadura por pequeña que sea, limpiándola con una solución antiséptica apropiada y luego haga el vendaje según corresponda.
- Verifique siempre la etiqueta de un reactivo antes de usarlo, para asegurarse de que tiene la botella o frasco correcto.
- Nunca use la pipeta en la forma normal con líquidos corrosivos o venenosos. Si es necesario pipetear dichos líquidos, use llenador de pipeta apropiada.
- No pipetear los reactivos directamente desde la botella: transfiera una cantidad adecuada de reactivo a un vaso pequeño y pipetear de él.
- Si tiene dudas sobre las reglas básicas de seguridad de cualquier operación en el laboratorio de alimentos, consulte con la persona encargada antes de proceder.

### ***Sustancias químicas corrosivas:***

- Se encontrarán en el laboratorio, entre otros, los siguientes reactivos corrosivos: ácido clorhídrico concentrado, ácido sulfúrico concentrado, ácido nítrico concentrado, ácido crómico, ácido oxálico, ácido acético, hidróxido de sodio concentrado, hipoclorito de sodio, bromo.

- Una salpicadura de cualquiera de estos reactivos en los ojos puede producir: ceguera permanente. También, queman la piel, producen daños graves y fatales al ingerirlos. Se les considera como venenos corrosivos.

**Precauciones:**

- Ponerse todos los elementos de protección necesarios (por ejemplo: Delantal, guantes, anteojos, protectores, etc.) cuando trabaje con estos líquidos.
- Tómelo con cuidado y vacíe suavemente evitando derrames.
- Lave de inmediato cualquier derrame con suficiente agua.
- No succionar jamás ninguno de estos líquidos con pipeta, excepto cuando esta se use con el llenador de pipeta apropiado.
- No agregar agua o soluciones acuosas o envases que contengan ácidos concentrados, excepto cuando así se indique en algún método de análisis y en tales casos se seguirá rigurosamente lo indicado en el manual de laboratorio.
- Nunca mezcle hipoclorito de sodio con ácido o cualquier solución ácida por cuanto podría liberarse cloro gaseoso, el cual es extremadamente irritante y venenoso.

**Primeros auxilios:**

- **Ojos afectados.** Inmediatamente coloque la cabeza de la persona afectada bajo la llave y moje con bastante agua el ojo afectado. Continúe lavando con agua fría por lo menos tres minutos. Mientras tanto llame al doctor y atienda al afectado hasta que él llegue.
- **Piel afectada.** Lave de inmediato con bastante agua fría. Asegurarse que todo el reactivo químico ha sido removido de la piel por lavado con agua en la zona afectada. Si hay cualquier evidencia de piel quemada, lleve al afectado a un método para su tratamiento.
- **Ingestión de sustancias químicas corrosivas.** Enjuagar bien la boca con agua fría y dar bastante agua a beber, y de inmediato leche de magnesia en caso de ácidos.

### **Reactivos venenosos:**

Es común encontrar los siguientes reactivos químicos venenosos:

- Solución de cloruro de Bario. Pesticidas, anilina, Nitrato de plata, Cianuro, Mercurio, Nitrobenceno, Piridina, Trióxido de arsénico, ácido tricloroacético, etc.

Estas sustancias son venenos irritantes y producirán graves daños en la boca al ingerirlos o absorberlos a través de la piel.

### **Medidas de seguridad con equipos y aparatos de laboratorio:**

Use los equipos en aquellas funciones para las que han sido diseñados.

- **Refrigeradores.** Deben estar diseñados a prueba de explosión, cuando se usen para almacenar compuestos altamente volátiles o líquidos inflamables. En este caso no debe tener interrupciones en su interior y cables asociados. Los controles de termorregulación se ubicarán en el exterior del refrigerador.
- **Extinguidores de Incendio.** Los extinguidores con sustancias químicas secas de clase B y C (para líquidos inflamables) deben ubicarse convenientemente en cada laboratorio. Extinguidores de dióxido de carbono deben usarse en fuegos producidos en equipos electrónicos. Así mismo, todo el personal del laboratorio debe conocer el manejo y la ubicación de los extinguidores.
- **Centrifugas.** Antes de colocar los tubos en la centrífuga se debe ajustar el peso de todos los tubos. No abrir la centrífuga hasta que esta se detenga completamente. Antes de retirar los tubos desconecte la centrífuga en lugar de llevar el reóstato a posición cero. Use solo tubos especiales para la centrífuga en uso. Use las velocidades recomendadas por el fabricante en aquellos tubos de materiales como vidrio, nitrato de celulosa, polietileno, etc. Los tubos de nitrato de celulosa pueden romperse en la autoclave. Al calentar los tubos de nitrato de celulosa sobre 60 °C pueden producirse vapores dañinos de óxido de nitrógeno.
- **Destilación Extracción y Evaporación.** Líquidos inflamables. Realice estas operaciones con calentador de agua apropiado, vapor o plato eléctrico. Use sistema eficiente de eliminación de vapores. Asegure las conexiones y soportes. Agregue elementos para ebullición suave antes de comenzar la operación. Use tiestos apropiados para los residuos inflamables.



- **Equipos Eléctricos.** Conectar a tierra todos los equipos eléctricos. Operaciones de instalación, mantenimiento y reparaciones deben ser realizadas por electricistas calificados.
- **Presiones.** No realice operaciones de presión con equipo de vidrio corriente. En ciertas circunstancias pueden usarse materiales de vidrio diseñados específicamente para tales trabajos y en esos casos se deben seguir las recomendaciones de seguridad del fabricante, por ejemplo, bombas calorimétricas, generador de nitrógeno.
- **Vacío.** Proteger los envases o aparatos a usarse con vacío, para reducir los afectados de la presión externa.

#### ***Otras precauciones importantes:***

Radiación ultravioleta U.V. se encuentran en el espectrofotómetro, lámparas germicidas y en lámparas tanto de onda larga y corta U.V. usadas en reparaciones cromatografías. No exponga sus ojos sin protección adecuada a los rayos U.V. por tiempo prolongado.

#### ***Tipos de análisis químicos:***

Hay varias formas de clasificar los métodos aplicados en la química. Los dos grandes grupos son análisis orgánicos y análisis inorgánicos. Dentro de cada uno de ellos pueden hacerse las siguientes clasificaciones:

- **Análisis completo:** Si se determina todos los elementos de un material cuantitativamente, aun los que están en cantidades de trazas.
- **Análisis parcial:** Es la determinación cuantitativa de uno o más constituyentes de una muestra, tal como la determinación del porcentaje de fósforo en una roca fosfórica.
- **Análisis proximal:** Es la determinación del porcentaje de uno o más constituyentes de una muestra cuando todos ellos reaccionan del mismo modo con un cierto tratamiento.
- **Análisis último:** Si se determina el porcentaje de cada elemento en una muestra, el porcentaje se denomina análisis último. Se utiliza sobre todo para el análisis de compuestos orgánicos cuando se va a establecer la fórmula de la sustancia. Raras veces incluye determinaciones del porcentaje de trazas de elementos.

**Clasificación de acuerdo al tamaño de la muestra:**

Las pruebas analíticas algunas veces se clasifican de acuerdo al tamaño de la muestra que se toma para examinar:

- Macro métodos para muestras de 0.1 g. o mayores.
- Semi-micro métodos para muestras de 0.01 g. a 0.1 g.
- Micro métodos para muestras de 0.001 g a 0.01 g.
- Ultra-micro métodos se aplican para muestras de aproximadamente 1 a 10 microgramos, designados por el símbolo  $\mu\text{g}$ . Un microgramo es 0.001 mg.

**Clases de métodos de determinación:**

- **Métodos gravimétricos.** Un constituyente o algún componente de él se pasa para encontrar el porcentaje del constituyente. Se aplican varios métodos generales en los métodos gravimétricos. La precipitación de un sólido, su filtración, secado y pesado proporciona en muchos casos un valor que está relacionado con el peso del constituyente requerido. La volatilización de un material que tiene una presión de vapor relativamente alta o una baja temperatura de descomposición puede ser útil para medir la parte de una muestra que puede perderse por el calor.
- **Métodos volumétricos.** La medida del volumen de una sustancia o de un reactivo se hace a menudo para determinar el porcentaje de un constituyente. El volumen de reactivo que se adiciona a una solución, generalmente se mide con la bureta. El proceso de adicionar el reactivo de la bureta (en presencia de un indicador) en algunos casos se llama titulación. El análisis de gases es también un método volumétrico.
- **Métodos instrumentales.** Son aquellos en que se determina un constituyente midiendo algunas de sus propiedades físicas con un instrumento. Algunas se basan en métodos ópticos; otros se basan en mediciones de fenómenos eléctricos y se llama de distintas maneras dependiendo de la propiedad eléctrica que se mida. Algunos de los mejores métodos eléctricos conocidos son los conductimétricos (medida de la conductancia), polarográficos (medida de la polarización debida a la concentración), y potenciométricos (medida del voltaje o potencial en un electrodo, como en un  $\text{pH}$ - metro).

- **Métodos estándar para muestreo.** Antes de cada análisis debe prepararse cuidadosamente una muestra representativa de la sustancia, La selección de la muestra es un paso importante en el análisis, ya que las condiciones que de ello se produzcan.

***Exactitud:***

Independiente del cuidado que se tenga, a veces ocurren lamentables errores durante el análisis. El movimiento brusco de un desecador es suficiente para que se pierda parte de la ceniza, para que el registro del peso sea defectuoso, etc. Estos accidentes, cuando la causa se desconoce, se pone de manifiesto el error si las determinaciones se hacen por duplicado.

En todos los análisis de componentes mayoritarios que se realizan en los laboratorios de control basta con que en los resultados se indique la primera cifra decimal. Si no se procede de esta forma se pierde mucho tiempo haciendo pesadas con un grado de exactitud que carece de importancia práctica.

# 1. ANÁLISIS DE UN ACEITE VEGETAL

## 1.1 *Objetivos*

- Identificar la procedencia de una muestra de una sustancia grasa desconocida.
- Establecer de qué aceite se trata.
- Comprobar la pureza de una muestra dada o si hay una mezcla de aceites.
- Constatar si el aceite es adecuado para el consumo o si está rancio o adulterado por adición de aceite mineral.
- Identificar en el caso de sustancias grasas sólidas, si es una grasa natural o un aceite hidrogenado (aceite endurecido).
- Interpretar los resultados obtenidos.

## 1.2 *Técnicas analíticas*

### 1.2.1 *Preparación de la muestra.*

Si la muestra es sólida, es necesario fundirla previamente y filtrarla (para separar las impurezas), antes de envasarla como se indicó anteriormente, pero utilizando un frasco de boca ancha. Si la muestra es líquida, envasar 100 gramos en un recipiente seco, provisto de tapa y se guarda en un sitio fresco, al abrigo de la luz. La muestra debe rotularse con los siguientes datos: Nombre del producto; procedencia; fecha y lugar donde fue tomada.

### 1.2.2 *Densidad o gravedad específica*

Determinar la densidad o gravedad específica con un picnómetro a 25°C. Para muestras de grasa sólida se funde antes de llenar el picnómetro. Si la determinación se hace a una temperatura inferior a 25°C hay que corregirla aumentando 0,0064 por cada grado de diferencia entre la temperatura de la determinación y 25°C.

### 1.2.3 Índice de refracción

Determinarlo con el refractómetro Abbé. Si la muestra es una grasa, fundirla y determinar el Índice de refracción. El aparato tiene un sistema de circulación de agua caliente y un termómetro para controlar la temperatura. Para los aceites se hace la observación a la temperatura de 20°C. Para grasas sólidas o muy espesas se emplean temperaturas elevadas: 40°C, 60 °C.

Para convertir los índices de refracción obtenidos a una temperatura cualquiera, a la temperatura requerida. Se emplea la siguiente fórmula:

$$N_1 = N_t - (t - t')F$$

Siendo:

$N_1$  =Índice de refracción a la temperatura deseada

$N_t$ = Índice de refracción obtenido

$t$  y  $t'$ = Factor para aceites 0,00035 y Factor 0,00036 para grasas sólidas o ácidos grasos.

### 1.2.4 Índice de acidez

Reactivos:

- Hidróxido de potasio 0,1 N
- Indicador: Solución alcohólica de fenolftaleína al 1 %
- Alcohol neutralizado.

**Procedimiento:** Pesar en un Erlenmeyer exactamente una muestra vecina de 5 gramos. Agregar 25 cm<sup>3</sup> de alcohol neutralizado y unas gotas de solución alcohólica de fenolftaleína al 1 %. Para disolver los ácidos grasos libres calentar al baño maría con agitación. Por último, valorar con la solución de KOH.

**Calcular el Índice de acidez:** Pueden expresarse también los resultados en ácido oleico sabiendo que su miliequivalente es:

$$\frac{P.M}{1000} = 0,282$$

Reservar el líquido para determinar el Índice de Ésteres.

$$\% \text{ Ácidos} = \frac{(\text{volumen} \cdot \text{Normalidad} \cdot \text{meq Ácido oleico})}{(\text{Peso de muestra})} \times 100$$

### 1.2.5 Índice de saponificación

Reactivos:

- Solución alcohólica 0,5 de potasa caustica.
- Solución de Ácido clorhídrico 0,5 N
- Solución indicadora de fenolftaleína al 1 %

**Procedimiento:** Pesar por diferencia una cantidad exacta de muestra vecina de 2 gramos y pasarla a un Erlenmeyer de 250 cm<sup>3</sup>. Adicionar con una pipeta o probeta 25 cm<sup>3</sup> de la solución alcohólica de potasa. Cerrar el Erlenmeyer con un tapón atravesado por un refrigerante de reflujo y colocarlo por lo menos media hora en un baño María hirviendo, agitando de vez en cuando y observando el líquido para conocer si la saponificación ha sido completa (Hasta cuando desaparezca las "gotas de grasa"). Retirar el Erlenmeyer del baño María, dejar enfriar el líquido y agregar 10 gotas de fenolftaleína. Valorar el exceso de potasa alcohólica con una solución de ácido clorhídrico 0.5N.

Paralelamente conducir un blanco con 25 cm<sup>3</sup> de potasa alcohólica sin adición de la sustancia grasa, trabajando en condiciones iguales a las de la muestra.

$$I.S = \frac{28.05 (\text{título del blanco} - \text{título de la muestra})}{\text{peso tomado en gramos}}$$

Nota: será necesario tomar menos cantidad de muestras, si el índice de saponificación es alto.

De la diferencia entre los cm<sup>3</sup> de ácido clorhídrico gastados en el blanco de la muestra, se puede deducir la cantidad de KOH necesaria para saponificación de la sustancia grasa.

### 1.2.6 Índice de ésteres

El índice de esteres nos da de la diferencia entre el índice de saponificación y el de acidez.

### 1.2.7 Índice de yodo

**Preparación de la solución de yodobromuro (reactivo de WUIGS):** Solución de yodobromuro: Disolver 13,2 gramos de yodo pulverizado en un litro de ácido acético glacial, por porciones y agitando cada vez que se adicionenx, hasta disolución completa de yodo. Agregar 3 cm<sup>3</sup> de bromo. (Reactivo de WUIGS). Solución de yoduro de potasio, al 15% en agua fría recientemente hervida para eliminar el CO<sub>2</sub>. Esta solución no se almacena y por lo tanto es necesario preparar la cantidad requerida en el momento del uso, debido a que se pone el yodo en libertad. Solución de Tiosulfato de sodio 0,1 N exactamente valorada (pesar 25 gramos de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> · 5H<sub>2</sub>O por litro, añadir 1 gramo de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y dejar en reposo un día antes de estandarizar.

Materiales:

- Bureta graduada
- Erlenmeyer con tapa de vidrio esmerilada
- Pipetas
- Probeta
- Vasos precipitados

**Procedimiento:** Pesar 0,1 a 0,2 gramos si es un aceite secante; 0,2 a 0,3 gramos si es un aceite semi-secante; 0,3 a 0,4 gramos si es un aceite no secante (si la muestra es desconocida se le hace el ensayo elaidinico) y 0,4 a 0,8 gramos si se trata de una grasa/sólida, en una pequeña ampolleta (ampolleta para inyectables). Pasarla a un Erlenmeyer con tapa. Añadir 10 cm<sup>3</sup> de cloroformo. Agitar para disolver la muestra. Añadir 25 cm<sup>3</sup> de yodo bromuro; tapar el Erlenmeyer y dejar en la oscuridad por 2 horas agitando a intervalos de 5 minutos. Adicionar 10 cm<sup>3</sup> de la solución de yoduro de potasio con una pipeta. Dejar en reposo, con agitación ocasional por un minuto exacto, añadir 100 cm<sup>3</sup> de agua destilada y titular con la solución de tiosulfato de sodio con agitación constante, hasta casi desaparición del color amarillo; agregar 1 cm<sup>3</sup> del indicador y continuar la valoración hasta desaparición del color azul. Paralelo al análisis correr un blanco de reactivos.

Cálculos:

$$\text{Índice de Yodo } (a - b)N \times \frac{126,9}{1000} \times \frac{100}{c}$$

- N= Normalidad de la solución de tiosulfato
- a= cm<sup>3</sup> de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> para la prueba en blanco
- b= cm<sup>3</sup> de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> gastados en la muestra
- c= Peso de muestra.

### 1.2.8 Residuo insaponificable

El líquido que queda después de determinar el índice de saponificación pasarlo por un embudo de separación y agitar con 50 cm<sup>3</sup> de agua para disolver el jabón. Agregar 30 cm<sup>3</sup> de éter o éter de petróleo y agitar suavemente varias veces. Para que se separen dos capas dejar en reposo; en la superior se encuentra el éter, el cual ha disuelto el residuo insaponificable. Separar la capa inferior acuosa y pasarla a otro embudo de separación. Hacer dos extracciones más con 20 y 10 cm<sup>3</sup> del éter. Reunir los líquidos etéreos en la primera ampolla y lavarlos 2 veces con 10 cm<sup>3</sup> de agua. Pasarlos a un Erlenmeyer que se enlaza con un condensador para destilar la mayor parte del éter (inflamable, cuidado con las llamas). Terminar de eliminar el éter al baño maría. Secar el residuo hasta peso constante en la estufa a 105°C. Calcular el porcentaje de residuo insaponificable.

## 1.3 REACCIONES CROMÁTICAS GENERALES

Estas reacciones permiten distinguir varios grupos de aceites vegetales:

**Reacción de Heydenreich:** Utiliza el ácido sulfúrico concentrado y permite reconocer aceites semisecantes y secantes. Los aceites secantes dan coloraciones pardas o negras y el aceite se espesa. Hay que observar que los aceites viejos o enranciados pueden dar coloraciones anaranjadas o pardas.

**Técnica:** Poner en contacto con una pipeta, unas gotas del aceite con 5 cm<sup>3</sup> de ácido sulfúrico puro; al cabo de unos minutos aparece una coloración que va del anaranjado al pardo si se trata de un aceite semisecante.



**Reacción de Hauchecorne:** Utiliza el ácido nítrico en frío y en caliente, dando con los aceites de sésamo, algodón, linaza y otros una coloración que va del anaranjado al rojo oscuro, la cual se intensifica por el calor (temperatura de un baño maría). El aceite de olivas da una coloración verdosa y los aceites rancios una coloración anaranjada.

**Técnica:** Colocar en un tubo de ensayo 5 cm<sup>3</sup> del aceite con 2 cm<sup>3</sup> de ácido nítrico y agitar. El reactivo se prepara diluyendo 3 partes del ácido con una parte de agua.

## 1.4 REACCIONES CROMÁTICAS ESPECÍFICAS

**Prueba de Halphen-Gastaldi:** Sirve para investigar aceite de algodón. Se basa en la reacción producida por el gosispol en presencia de azufre en bisulfuro de carbono.

**Técnica:** En un tubo de ensayo colocar 5 cm<sup>3</sup> de aceite, una gota de piridina y 4 cm<sup>3</sup> de una solución de azufre en bisulfuro de carbono al 1%. Calentar por media hora en baño maría. Una coloración roja, rosada o amarillo-rosada indica la presencia de aceite de algodón. Hay que observar que un aceite que se halla calentado a más de 200°C no da la reacción por una posible destrucción del gosispol.

**Prueba de Villavecchia - Fabrís:** Se utiliza para identificar aceite de ajonjolí o sésamo. Se basa en la reacción del sesamol con solución furfural en medio alcohólico y clorhídrico.

**Técnica:** En un tubo de ensayo colocar 2 gotas de solución alcohólica de furfural preparada al 2% en alcohol), 5 cm<sup>3</sup> del aceite en examen y 10cm<sup>3</sup> de ácido clorhídrico concentrado. Agitar y dejar en reposo. Una coloración roja indica la presencia de aceite de ajonjolí.

**Prueba de la elaidina:** Esta prueba es muy útil para diferenciar entre aceites no secantes, semisecantes y secantes, lo mismo que para identificar aceites de pescado.

**Técnica:** Colocar en tubo de ensayo 10 cm<sup>3</sup> del aceite problema y 5 cm<sup>3</sup> de ácido nítrico concentrado. Agitar por unos minutos. Adicionar 1 gramo de mercurio y disolverlo por agitación a una temperatura de 25°C. Los aceites no secantes como los de oliva, maní y almendras dan una masa solida blanca o amarillenta. Los sésamos, algodón y otros semisecantes y los de animales marinos dan una masa pastosa y coloreada. Los aceites secantes quedan líquidos y de color anaranjado o pardo.

## 1.5 PRUEBA PARA ENRANCIAMIENTO

Para detectar el enranciamiento de una sustancia grasa, además de la determinación de los caracteres organolépticos (olor, sabor) hay que efectuar en ocasiones pruebas orgánicas cualitativas y cuantitativas. Entre las primeras se utilizan los ensayos de Kreiss y de Fallenberg que ponen de manifiesto el enranciamiento aldehídico autooxidación, que es el más frecuente. Para determinar cuantitativamente el grado de Oxidación de una sustancia grasa, se recurre a la determinación del Índice de Peróxido.

**a) Ensayo de Kreiss:** Colocar en un tubo de ensayo  $1\text{cm}^3$  del aceite problema,  $10\text{ cm}^3$  de ácido clorhídrico concentrado y agitar fuertemente por medio minuto. Añadir  $1\text{ cm}^3$  de una solución al 0,1% de floroglucinol en éter etílico. Agitar por 20 segundos y dejar en reposo. Si la capa ácida toma una coloración rosada o roja, el aceite o la grasa están más o menos rancios.

**b) Ensayo de Fallenber**

Reactivos:

- Fuschina
- Metabisulfito de potasio.
- Solución de Ácido clorhídrico 1 N
- Cloroformo
- Disolver en  $800\text{ cm}^3$  de agua 5 gramos de fuschina, en caliente. Dejar enfriar y añadir 5,4 gramos de metabisulfito de potasio disuelto en  $200\text{ cm}^3$  de agua, agregar  $100\text{ cm}^3$  de solución de ácido clorhídrico 1N y filtrar con ayuda de carbón activado.

**Procedimiento:** Disolver un gramo de la sustancia grasa en  $1\text{ cm}^3$  de cloroformo. Agregar  $2\text{ cm}^3$  de reactivo (que debe estar incoloro) y agitar. Dejar en reposo al abrigo de la luz por 10 minutos. Una coloración violeta indica enranciamiento.

## 1.6 ÍNDICE DE PERÓXIDO

### Materiales:

- Pipetas
- Erlenmeyer con tapa de vidrio esmerilada.

### Reactivos:

- Solución de ácido acético-cloroformo: Mezclar tres partes en volumen de ácido actico glacial con dos partes de cloroformo.
- Solución de yoduro de potasio saturada en agua recientemente hervida y fría. Esta solución no se conserva.
- Solución exactamente valorada de tiosulfato de sodio 0,1 N.
- Solución de almidón al 1 % en agua como indicador.

**Procedimiento:** en un Erlenmeyer de 250 cm<sup>3</sup> pesar 5 gramos de muestra y añadir 30 cm<sup>3</sup> de la solución de ácido acético y cloroformo. Para solubilizar la muestra se debe agitar. Utilizando una pipeta adicionar 2,5 cm<sup>3</sup> de la solución saturada de yoduro de potasio. Con agitación ocasional, Dejar en reposo, por 1 minuto exacto y luego añadir 30 cm<sup>3</sup> de agua destilada. Valorar el yodo puesto en libertad hasta casi desaparición del color amarillo con la solución de tiosulfato. Adicionar 0,5 cm<sup>3</sup> de la solución de almidón y continuar la valoración hasta desaparición del color azul. Si se gastan menos de 0,5 cm<sup>3</sup> de tiosulfato, repetir el análisis usando solución de tiosulfato 0.1 N recién preparada. Correr un blanco de reactivos que no debe gastar más de 0,1 cm<sup>3</sup> de solución 0,1 N de tiosulfato de Sodio.

Cálculos:

$$\text{Valor de peroxido} = \frac{\text{Meq}}{1000g} = \frac{(Vm - Vb) \times N \times 1000}{\text{peso de la muestra}}$$

En donde:

- Vm= cm<sup>3</sup> de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> gastados en la titulación de la muestra
- Vb =cm<sup>3</sup> de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> gastados en el blanco
- N = Normalidad del Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

## 1.7 PRUEBA CUALITATIVA PARA ACEITES MINERALES

Al bajar los índices de saponificación y de yodo proporcionalmente al aceite mineral presente, este puede ponerse en evidencia en la forma siguiente: Colocar en un tubo de ensayo 10 gotas de aceite y 5 cm<sup>3</sup> de potasa alcohólica; calentar en un baño de agua hirviendo por algunos minutos y con agitación frecuente para saponificar completamente la sustancia grasa. Añadir gota a gota 15 cm<sup>3</sup> de agua a la solución caliente del jabón formado, agitando y observando después de cada adición. La formación de un enturbiamiento indica la presencia de aceite mineral.

## 1.8 LISTAS DE EQUIPO

1. Refractómetro



2. Rotaevaporador



3. Estufa de desecación



4. Picnómetro



5. Balanza analítica



6. Viscosímetro



## **2. ANÁLISIS DE PRODUCTOS CÁRNICOS**

### **2.1 OBJETIVOS**

- Familiarizar al estudiante con el control de calidad de la carne y sus derivados.
- Determinar los caracteres organolépticos de la carne y sus derivados.
- Determinar el % de H<sub>2</sub>O de vacunos por ser uno de los constituyentes más importantes.
- Determinar si a un embutido se ha agregado fraudulentamente agua y almidón.
- Comprobar en una carne enlatada su estado de conservación por medio de pruebas sencillas.
- Poner en evidencia si se han utilizado preservativos para la conservación de las carnes.

### **2.2 OBSERVACIÓN DE LOS CARACTERES ORGANOLÉPTICOS (OLOR, COLOR, ASPECTO)**

Esta determinación se efectúa sobre la muestra tal cual llegue al laboratorio ya sea carne fresca, un embutido o un enlatado. En la carne enlatada observe, además, el aspecto de la caja, la cual debe traer los fondos más o menos cóncavos, lo cual indica que se ha mantenido el vacío. Si los fondos son convexos, y más o menos soplados es indicio de la alteración de la carne. En cuanto al olor del contenido al abrir la caja, en caso de alteración va a notarse un olor a amoníaco o hidrógeno sulfurado; el primero se puede comprobar acercando a la superficie de la carne una tira de papel de tornasol rojo, el cual vira al azul en presencia de sustancias alcalinas (amoníaco); el hidrógeno sulfurado se pone de manifiesto acercando una tirilla de papel de acetato de plomo; la tirilla se oscurece por formación de sulfuro de plomo PbS de color negro.

### **2.3 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA**

La muestra, despojada de los huesos, cartílagos y tejido graso se muele con ayuda de una máquina unas tres veces y el jugo que se separa se le incorpora nuevamente. Se envasa en frascos herméticos que se colocan en un lugar fresco. Si no se va a proceder inmediatamente al análisis debe mantenerse refrigerada y efectuarlo lo más rápidamente posible. En el caso poco frecuente de efectuar un análisis completo; se muelen aparte los deben figurar la procedencia de la carne y la fecha de la toma de la muestra. Huesos, cartílagos, etc., y el todo se mezcla mecánicamente.

## 2.4 HUMEDAD

Puede seguirse el método corriente de desecación en la estufa a una temperatura de 75 - 80°C, partiendo de una cantidad exactamente pesada de 5 gramos. Se determina la humedad utilizando el analizador MB35 de halógenos.

## 2.5 CENIZAS

Seguir el método de calcinación en una mufla a la temperatura de 500 - 550°C, partiendo de una cantidad de muestra entre 2 y 5 gramos, exactamente pesada en un crisol de porcelana seco y limpio, es necesario secar la muestra en la estufa para evitar pérdidas antes de colocarla en la mufla. Comenzar la calcinación con ayuda de una pequeña llama hasta carbonización de la muestra.

## 2.6 GRASA

Colocar 2 a 3 gramos de muestra exactamente pesada y desprovista de agua, en un dedal de celulosa. Cubrir la muestra con lana de vidrio para evitar que se salga del dedal y efectuar la extracción de la grasa en un aparato de Soxhlet, utilizando como solvente éter dietílico o éter de petróleo o n-hexano. Después de eliminar el solvente. Secar el residuo hasta peso constante en la estufa a 90 - 95°C.

## 2.7 SUSTANCIAS NITROGENADAS TOTALES EXPRESADAS COMO PROTEÍNAS

Aplique el método de Kjeldahl, pesar entre 0,5 y 1,0 gramos de una muestra de carne. Recuerde que este método se basa en la mineralización del nitrógeno haciendo una digestión del material con ácido sulfúrico concentrado para transformarlo en sulfato ácido de amonio ( $\text{NH}_4$ ) $\text{HSO}_4$  y su posterior destilación, el cual recibe en una solución de ácido bórico que contiene el indicador de Taschiro para transformarlo en borato de amonio, el cual se titula con una solución conocida de un ácido (HCl 0.1 N Y  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.1 N).

$$\% \text{Nitrogeno} = \frac{\text{Volumen} \times \text{Normalidad} \times \text{Meq} \left( \frac{14}{1000} \right)}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

$$\% \text{Proteína} = \% \text{Nitrogeno} \times 6.25$$

## 2.8 GLICÓGENO EN PRESENCIA DE ALMIDÓN (CUALITATIVO)

Tratar unos 20 g, de muestra con 70 cm<sup>3</sup> de solución a 8% de Potasa alcohólica (se prepara disolviendo el KOH en la menor cantidad de agua y diluyendo esta disolución con alcohol de 95%) calentar al baño maría hasta la disolución de la masa carnosa, tapando con un vidrio de reloj y manteniendo el volumen de solución adicionando más alcohol. Enfriar y filtrar al vacío utilizando un crisol de vidrio filtrante, lavar con alcohol de 95%, pasar el residuo a un vaso precipitado y hervir con alcohol de 96% que disuelve parcialmente el glicógeno, pero no el almidón. Filtrar en un vaso de precipitado pequeño, evaporar el alcohol en un baño maría, disolver el residuo con un poquito de agua destilada y añadir unas gotas de solución diluísima de yodo yoduro de potasio; si hay glicógeno la solución toma un color rojo vivo que desaparece por calentamiento 80-90°C y que aparece nuevamente al enfriar la solución. La coloración debe ser neta y bien definida, sin embargo, esta prueba no es concluyente en la determinación del glicógeno y se debe recurrir a la realización de otros ensayos confirmativos.

## 2.9 ALMIDÓN

**Prueba cualitativa:** Se puede reconocer el almidón, vertiendo unas gotas de la solución de lugol (yodo - yoduro de potasio en agua) sobre la superficie recién cortada del embutido. En presencia de almidón aparece una coloración azul característico.

**Ensayo Cuantitativo:** Pesar exactamente 10g. De muestra y pasar a un papel de filtro cualitativo, montado en un embudo. Lavar cuatro veces con porciones de 10 cm<sup>3</sup> de éter etílico y otras cuatro con 10 cm<sup>3</sup> de alcohol de 70° cada vez. Dejar drenar y transferir el papel con el residuo a un vaso de precipitados de 100 cm<sup>3</sup>. Añadir 5 cm<sup>3</sup> de una solución de HCl (1:1), agitar con una varilla de vidrio, añadir otros 10 cm<sup>3</sup> de la misma solución acida en porciones de 1 cm<sup>3</sup>, agitar y una vez finalizada la adición, dejar en reposo durante 30 minutos. Transferir cuantitativamente a un matraz volumétrico de 100 cm<sup>3</sup> usando agua destilada, lavar el vaso y añadir las aguas de lavado al balón aforado y completar a volumen. Agitar durante 5 minutos. Filtrar el contenido del matraz a través de un panel de filtro seco y recibir el filtrado en un vaso limpio y seco. Tomar una alícuota 50 cm<sup>3</sup> y transferirla a un vaso de 250 cm<sup>3</sup> que contiene 115 cm<sup>3</sup> de etanol de 96°, agitar durante cinco minutos, para que precipite cuantitativamente el almidón. Pasar un crisol Goocho de vidrio poroso a 150°C. Pasar cuantitativamente el precipitado al crisol, lavar con 100 cm<sup>3</sup> de alcohol de 70° y luego, con otros 100cm<sup>3</sup> de etanol de 96°. Llevar a la estufa a 105°C y secar hasta peso constante.

## 2.10 COLORANTES

Tratar unos 50 gramos de carne con una solución al 5% de salicilato de sodio en agua y glicerina a partes iguales. Calentar al baño de maría por media hora, agitando con frecuencia. Dejar enfriar y separar el líquido pasando la muestra tratada por una tela y exprimiendo. Filtrar por papel el líquido, hasta que quede claro. Si éste es de color amarillento y no rojizo, no existen sustancias colorantes. Si el filtrado es rojizo, pueden presentes colorantes derivados del alquitrán de hulla o carmín.

Para investigarlos proceder en la siguiente forma: Dividir el líquido en dos partes. Añadir 10 cm<sup>3</sup> de una solución de sulfato ácido de potasio KHSO<sub>4</sub> al 10% y unas gotas de ácido acético. Sumergir en esta solución unas hebras de lana desengrasada y calentar el conjunto en un baño de vapor por algunas horas. En presencia de derivados del alquitrán, la lana se tiñe de rojo y el color persiste después de lavado con agua. A la otra porción que se coloca en una probeta, agregar unas gotas de solución de alumbre ordinario al 10% y un ligero exceso de amoníaco. Si después de unas horas de reposo, el precipitado formado está teñido de rojo, queda comprobada la presencia de carmín.

## 2.11 CONSERVANTES

Entre estos mencionaremos el nitrato de potasio y el anhídrido sulfuroso y sus derivados, los cuales los embutidos.

### 2.11.1 Nitrato de potasio

Para la investigación cualitativa tomar unos 20 gramos de la masa de carne previamente desecada y desengrasada con éter de petróleo. Tratarla con unos 25 cm<sup>3</sup> de agua caliente y filtrar. En un vidrio de reloj colocado sobre un fondo blanco, colocar un cristal de brucina y una gota de ácido sulfúrico concentrado. Añadir una o dos gotas del filtrado. En presencia de nitratos aparece una coloración roja fugaz. Pueden comprobarse los nitratos reemplazando la brucina por difenilamina y procediendo en la misma forma. En presencia del nitrato aparece una coloración azul también fugaz.



### 2.11.2 Anhídrido sulfuroso, sulfitos, bisulfitos

En un Erlenmeyer colocar de 5 a 10 gramos de carne y unos 20 cm<sup>3</sup> de agua destilada. Agregar dos o tres granallas de zinc y unos 2 cm<sup>3</sup> de ácido clorhídrico concentrado. Si existe anhídrido sulfuroso o sus derivados, el hidrógeno que se produce por la acción del zinc sobre el ácido reduce los compuestos del azufre antes nombrados a hidrógeno sulfurado, el cual se pone en evidencia colocando en la boca del Erlenmeyer una tirilla de papel de acetato de plomo, la cual se ennegrece por la formación de sulfuro de plomo. Las tiras de papel de acetato de plomo se preparan cortando tiras de papel de filtro que se introducen en una solución acuosa de acetato de plomo y se dejan secar, guardándolas en recipientes bien tapados.

## 2.12 LISTA DE EQUIPOS.

1. Analizador MB35 de halógenos.



2. Mufla



3. Equipo Soxhlet



4. Estufa de desecación



5. Balanza analítica



6. Kjeldahl Equipo



## 3. ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE AGUA POTABLE

### 3.1 Objetivos

- Evaluar la calidad del agua de consumo humano
- Determinar los parámetros físicoquímicos del agua de consumo humano
- Interpretar los resultados obtenidos y comparar con la normatividad colombiana vigente
- Implementar los controles de calidad del agua de consumo humano
- Comprobar que el agua de consumo reúna las características que garanticen su potabilidad

### 3.2 TÉCNICAS ANALÍTICAS

#### 3.2.1 Color. Standard method APHA. Platino-cobalto

**Fundamento:** El color puede ser expresado como color real o como color aparente. El color se debe a materiales disueltos y materiales en suspensión.

Por filtración o centrifugación el material suspendido puede ser retirado y el color real puede ser determinado.

El programa del equipo es calibrado en color a 455nm unidades basadas sobre el estándar de recomendación de la APHA, una unidad de color equivale a 1 mg/L de platino ion cloro platinato.

**Equipo:** Espectrofotómetro HACH-DR 1900

#### **Procedimiento:**

- Filtrar 50 ml de la muestra
- Ingresar en el equipo el programa número 120 correspondiente a color.
- Colocar una longitud de onda de 455 nm.
- Llenar una celda de 25 ml con muestra filtrada.
- Llenar una celda de 25 ml con agua desionizada y microfiltrada (blanco).
- Calibrar el equipo con el blanco y seguidamente hacer una lectura de la muestra.

### 3.2.2. Sabor:

**Fundamento:** La determinación de este parámetro se basa en la simple percepción del olor.

**Procedimiento:** Se toma la muestra de agua a temperatura ambiente y se lleva al paladar una porción de la muestra y se describen las características del sabor.

### 3.2.3 Olor:

**Fundamento:** La determinación de este parámetro se basa en la simple percepción del olor.

**Procedimiento:** se toma la muestra de agua en un recipiente dotado con su respectiva tapa, después de agitarla fuertemente, se destapa el recipiente y se percibe el olor.

### 3.2.4 Temperatura:

La medición de la temperatura se efectúa en el momento de la toma de la muestra, utilizando un termómetro común y corriente, con escala en grados centígrados.

### 3.2.5 Turbidez: Método nefelométrico:

**Fundamento:** se basa en la comparación de las intensidades de las luces dispersadas en un ángulo de 90° por una muestra de agua y patrón de referencia (formación) en un equipo eléctrico (Nefelómetro). A mayor intensidad de la luz dispersada, mayor será la turbiedad de la muestra.

Actualmente se ha impuesto el procedimiento Nefelométrico especialmente para valores bajos, por su sensibilidad, amplitud, precisión e independencia del operador. Sin embargo, el método estándar para la turbiedad continúa siendo el sistema visual de Jackson.

### Equipo:

- Espectrofotómetro HACH-DR 1900
- Espectrofotómetro Merck move100

**Procedimiento:** Calibrar el espectrofotómetro, para ello se utiliza suspensión patrón, estas suspensiones las vende el fabricante o también se pueden preparar en el laboratorio utilizando un polímero de formacina. La medición de la turbiedad se realiza mediante la introducción de la celda con la muestra en el aparato previamente calibrado y evitando la incidencia de la luz.

### 3.2.6 Potencial de hidrógeno, pH:

**Fundamento:** La mayoría de las fases de tratamiento del agua de consumo y agua de desecho son dependientes del pH, por ejemplo neutralización ácido-base, precipitación, coagulación, desinfección, control de corrosión y ablandamiento de aguas. A temperatura dada la intensidad del carácter ácido o básico de una solución es indicada por el pH o actividad del ion hidrógeno.

Teniendo en cuenta que el  $p^H = -\text{Log} [H^*]$ , esto es la “intensidad” del factor de acidez.

El agua pura es ligeramente ionizada y en equilibrio. El producto iónico es:

$$[H^+][OH^-] = K_w = 1.01 \times 10^{-14} \text{ a } 25^\circ \text{C Y } [H^+] = [OH^-] = 1.005 \times 10^{-7}$$

La cantidad que se mide por medio del potenciómetro en realidad no es la concentración ni la actividad del ion hidrógeno. Por lo tanto, es preferible definir  $p^H$ , en términos de la F.E.M. la celda que es utilizada para la medición, la cual depende de los potenciales normales de dos electrodos que la constituyen al igual que la composición del medio.

**Equipo:**  $p^H$ -metro

**Procedimiento:** Encender el medidor de  $p^H$  y dejar que se caliente varios minutos. Calibrar el equipo con la solución buffer de  $p^H$  7.0, llevar el dial a la posición de normalización y se ajusta el botón apropiado al valor de  $p^H$  del buffer. Colocar la muestra en un vaso de precipitado y sumergir el electrodo, esperar que se establezca la lectura y anotar el valor. Expresar los resultados finales en valores de  $p^H$ .

### 3.2.7 Conductividad. Medición directa:

**Fundamento:** La conductividad eléctrica es la capacidad que tienen los iones de transportar la corriente en una solución y es recíproca a la resistividad de la solución.

La corriente es transportada por sólidos inorgánicos disueltos (ejemplos: cloruros, nitratos, sulfatos y aniones fosfatos) y cationes (ejemplo; sodio, calcio, magnesio, hierro y aluminio). Los materiales orgánicos semejantes a aceites, fenoles, alcoholes y azúcares no transportan bien la corriente eléctrica, de este modo no tienen suficiente conductividad para estimar su concentración.

La medición de la conductividad realizada a través de la medición de la resistencia en un área de la solución problema definida por las pruebas físicas ideadas. El voltaje es aplicado entre dos electrodos inmersos en la solución y la caída del voltaje causada por la resistencia de la solución es usada para calcular la conductividad por centímetro. La unidad básica de medición para la conductividad es el Siemen (o mho), el recíproco del ohm en la medición de la resistencia. Debido a que los rangos normales obtenidos en las soluciones acuosas son pequeños, las unidades utilizadas son milisiemens ( $10^{-3}$  S/cm<sup>3</sup>) y microsiemens/cm<sup>3</sup> ( $10^{-6}$  S/cm<sup>3</sup>) son usados más comúnmente.

**Equipo:** Conductímetro

**Procedimiento:**

- Preparar el equipo para la determinación de conductividad.
- Sumergir el electrodo en un beacker que contenga la muestra a analizar.
- Adecuar el equipo en el modo de conductividad y el valor de la lectura se mostrará en la pantalla.
- Sacar el electrodo y enjugar con agua desionizada.

### **3.2.8 Sólidos Totales. Método Gravimétrico:**

**Fundamento:** El material que permanece en la cápsula de porcelana después de la evaporación a sequedad de la muestra en un baño de vapor y luego de un secado en una estufa de desecación a una temperatura definida.

**Equipos Y Materiales:**

- Estufa
- Baño de maría
- Balanza analítica
- Cápsulas de porcelana

**Procedimiento:** Lavar las cápsulas de porcelana y secar en estufa a la misma temperatura a la cual se va a secar el residuo; después de pesarla, se vierte ella un volumen determinado de la muestra previamente homogenizada. Colocarla (cápsula de porcelana más muestra) en un baño de vapor hasta total evaporación de la muestra. Posteriormente someterla a secado a temperatura de 105 °C por espacio de una hora, Dejar enfriar la cápsula en el desecador después de retirarla de la estufa. Pesarse la cápsula con su contenido (residuo).

Expresar los resultados finales en mg/L por medio de la fórmula:

$$\frac{\text{mg}}{\text{ml}} \text{ sólidos totales} = \frac{A - B}{C} \times 1000$$

A: Peso de la cápsula más residuo en mg.

B: Peso de la cápsula vacía en mg.

C: Volumen de la muestra en ml. 1000: relación de mililitros a litro.

### 3.2.9 sólidos suspendidos. Método fotométrico:

**Fundamento:** Este método de determinación de sólidos suspendidos es simple, directo, no requiere la filtración o ignición y elimina pasos de procedimiento gravimétricos.

#### Procedimiento:

- Homogenizar la muestra durante dos (2) minutos
- Ingresar en el equipo el programa 630 para sólidos suspendidos y ajustar a la longitud de onda de 810 nm
- Llenar una celda de 25 ml con agua destilada (blanco) y calibrar el equipo a cero con el blanco
- Agitar la celda con la muestra, para remover las burbujas de gas que suspenden los residuos uniformemente.
- Realizar la lectura en el equipo.

### 3.2.10 Alcalinidad total. Método volumétrico

#### Fundamento:

La alcalinidad de un agua se debe a la presencia de carbonatos, bicarbonatos e hidróxidos. La alcalinidad total TAC se mide por la valoración con ácido clorhídrico empleando naranja de metilo como indicador. La concentración de álcalis libre y carbonatos TA, se determina empleando fenolftaleína en la valoración con ácido clorhídrico. Es posible evaluar las cantidades de hidróxidos, carbonatos y bicarbonatos a partir de los valores de TAC y TA.

#### Materiales y reactivos:

- Pipetas graduadas
- Probetas
- Bureta de 50 ml
- Erlenmeyer
- Solución estándar de ácido clorhídrico 0.02 N
- Agua destilada
- Solución indicadora de naranja de metilo
- Solución indicadora de fenolftaleína

**Procedimiento:** Añadir 100 ml de agua a analizar y dos gotas de solución indicadora de naranja de metilo en un Erlenmeyer de 250 ml. Valorar con la solución estándar de ácido clorhídrico 0.02 N el viraje del indicador a rojo-naranja (V1), hervir durante 1 a 2 minutos. Enfriar a temperatura ambiente y continuar la valoración hasta viraje del indicador (V2). Sea  $V_3 = V_1 + V_2$ .

**Procedimiento (álcalis libres y carbonatos TA):** En un Erlenmeyer de 250 ml añadir 100 ml de agua a analizar y dos gotas de solución de fenolftaleína. Si no se colorea la disolución, el TA es cero. Valorar con la solución de ácido clorhídrico 0.02 N hasta decoloración del indicador. Sea V4 volumen consumido.

**Cálculos:**

Calcular el TAC y TA en meq/L, como sigue:

$$TAC = \frac{V3 \times N}{VM} \times 1000$$

$$TAC = \frac{V4 \times N}{VM} \times 1000$$

Donde:

V: volumen de muestra tomado

N: normalidad de la solución estándar de ácido clorhídrico

**3.2.11 Dureza cálcica**

**Fundamento:** El principio es idéntico al método de la dureza total. No obstante, con la determinación se efectúa a  $p^H$  elevado (12-13), el magnesio precipita en forma de hidróxido y no interviene, además, el indicador Murexida, sólo se combina con el calcio.

**Materiales y Reactivos:**

- Pipetas graduadas
- Probetas
- Bureta de 50 ml
- Erlenmeyers
- Solución de hidróxido de sodio
- Agua destilada inhibidor DECTS
- Solución indicadora Murexida
- Solución estándar EDTA 0.01 M



**Procedimiento:** Se mide un volumen de muestra de 50 a 100 ml de la muestra y se pasan a un Erlenmeyer, se adiciona un volumen suficiente de hidróxido de sodio para llevar el pH entre 12-13. Se agita la muestra y se agrega una medida del inhibidor DECTS además del indicador Murexida. La muestra se torna de color rosado y se titula con EDTA-Na<sub>2</sub> hasta viraje del indicador a un color púrpura.

**Cálculos:**

$$\text{dureza calcica} = \frac{\text{mgCaCO}_3}{L} = \frac{A \times B \times C}{Vm} \times 1000$$

**Donde:**

A: Volumen gastado de solución EDTA gastado en la titulación

B: Concentración molar de la solución de EDTA 0.01 M

C: Peso fórmula del carbonato de calcio (100 mg/mol) 1000: Factor de conversión (mg/g)

### 3.2.12 Dureza total. Método complejo métrico del EDTA-Na<sub>2</sub>

**Fundamento:** El ácido etilendiaminotetracético (EDTA) y sus sales sódicas, forman un quelato con los cationes metálicos como el calcio y el magnesio; por eso cuando se añade una mínima cantidad del indicador Ericromo negro T a una muestra de agua dura acondicionada a pH 10, se obtiene un color vino tinto que posteriormente al titular con EDTA-Na<sub>2</sub>, cambia a una tonalidad azul, por quelación de los cationes correspondientes. La nitidez del punto final se incrementa con el pH; sin embargo, el pH no puede incrementarse indefinidamente porque es probable que se precipite el carbonato de calcio CaCO<sub>3</sub> o el hidróxido de magnesio Mg(OH)<sub>2</sub> y porque el indicador cambia de color a pH alto. Para minimizar la tendencia a la precipitación del CaCO<sub>3</sub> la titulación debe ser realizada en un tiempo máximo de 5 minutos. Así mismo, la dureza total es la suma de las concentraciones de calcio y magnesio presentes, expresados como miligramos de carbonatos de calcio en un litro de agua.

### **Materiales Y Reactivos:**

- Pipetas graduadas
- Probetas
- Bureta de 50 ml
- Erlenmeyers
- Solución reguladora de amonio
- Agua destilada
- Indicador Eriocromo negro T
- Solución estándar EDTA 0.01 M

### **Procedimiento:**

- En una probeta medir 25 ml de muestra problema de agua y diluirla con agua destilada hasta 50 ml y Transferirla a un Erlenmeyer de 250 ml.
- Añadir 1 ml de solución de amonio y mezclar.
- Agregar una pequeña cantidad de indicador negro de Ericromo T en polvo con una cucharilla de medición a una gota de solución.
- Agitar hasta completar disolución del indicador si aparece un color azul la dureza total es igual a cero, por el contrario, si se torna de color vino tinto continuar con el siguiente paso.
- Titular con la solución de EDTA 0.01 M dispensando gota a gota desde una bureta y con agitación constante hasta la aparición del color azul. Anotar el volumen de la solución EDTA gastado

### **3.2.13 Nitritos 1R. Método de diazotización**

**Fundamento:** En la muestra el nitrito ( $\text{NO}_2$ ) reacciona con el ácido sulfanilico formando una sal de diazonio intermedia, esta reacción en presencia de ácido cromotrópico un complejo de color rojo - naranja, cuya intensidad es proporcional a la cantidad de nitrito ( $\text{NO}_2$ ).

**Procedimiento:**

- Seleccionar en el equipo el programa 371 correspondiente a nitrito (bajo rango). Longitud de onda 507 nm.
- Llenar una celda de 10 ml con la muestra previamente filtrada, adicionar una bolsa de reactivo nitrito Nitriver 3, esperar el tiempo de reacción de 20 minutos
- Llenar una celda de 10 ml con agua destilada (blanco) y calibrar el equipo a cero (0) con el blanco
- Finalizando el tiempo de reacción hacer la lectura correspondiente en el equipo.

**3.2.14 Nitratos. Método de reducción de cadmio**

**Fundamento:** El cadmio metálico reduce los nitratos ( $\text{NO}_3$ ) presentes en nitratos. El ion nitrato reacciona en medio ácido con el ácido sulfanílico hasta formar una sal de diazonio, la reacción se completa con el ácido genticónico hasta formar un producto de color ámbar.

La intensidad del color del compuesto es proporcional a la concentración de nitrato de la muestra.

**Equipo:**

- Espectrofotómetro HACH-DR 1900
- Espectrofotómetro Merck move 100

**Procedimiento:**

- Seleccionar en el equipo el programa 255 correspondiente a nitrato HR (alto rango) a una longitud de onda de 500 nm.
- Llenar una celda de 25 ml con la muestra previamente filtrada, adicionar con papeleta de reactivo Nitraver 5 y esperar el tiempo de reacción 5 minutos.
- Llenar una celda de 25 ml con agua destilada (blanco) y calibrar el equipo a cero con el blanco.
- Finalizado el tiempo de reacción hacer la lectura correspondiente en el equipo.

### 3.2.15 Manganeso. Método oxidación con periodato:

**Fundamento:** El manganeso en la muestra es oxidado al estado de permanganato (púrpura) por el periodato sódico, después la muestra es tamponada con citrato. El color púrpura es directamente proporcional a la concentración del manganeso.



#### Procedimiento:

- Se pulsa el programa 295, el cual corresponde a determinación de manganeso, inmediatamente el equipo indicará que la determinación se realiza a una longitud de onda de 525 nm.
- Se llena una celda de 10 ml con la muestra a investigar
- Se adiciona una píldora de polvo de reactivo buffer (tipo citrato), se agita hasta disolución.
- Posteriormente se agrega una píldora de polvo reactivo de periodato de sodio, se agita hasta disolución (dos minutos, lo indica el espectrofotómetro).
- Después de esto, se monta un blanco con agua destilada y se lleva el equipo a cero; estando el equipo con esta condición se procede a hacer la lectura de manganeso en la muestra.

### 3.2.16 Cobre. Método de Bicinconinato:

**Fundamento:** El cobre es determinado con la reacción de cobre 2,2-biquinolina-4,4 ácido bicarboxílico o bicinconinato. La reacción del ácido binconinico con el cobre (Cu<sup>+1</sup>) produce un complejo coloreado púrpura.

#### Procedimiento:

- Seleccionar en el equipo el programa 135 correspondiente a cobre, colocar a una longitud de onda de 560 nm.
- Llenar una celda de 10 ml con la muestra previamente filtrada, adicionar una bolsa del reactivo de cobre cubre 1, y esperar el tiempo de reacción de 2 minutos.
- Llenar una celda de 120 ml de agua destilada y calibrar el equipo da cero (0) con el blanco.
- Finalizando el tiempo de reacción hacer la lectura correspondiente con el equipo.

### 3.2.17 Cloruros. Métodos Argentométrico:

**Fundamento:** Uno de los aniones inorgánicos que se encuentran en mayor concentración en aguas de desechos y aguas de consumo es el cloruro ( $\text{Cl}^-$ ). Algunas aguas contienen 250 mg/L de cloruros y pueden tener un sabor salino detectable si el principal catión que lo acompaña es sodio. En agua potable el sabor salino producido por la presencia de cloruro es variable y dependiente de la composición química del agua. El típico sabor salino puede estar ausente aun cuando la concentración de cloruros sea de 100 mg/L, si los cationes predominantes son calcio y magnesio.

El método argentométrico, para la determinación de cloruros, es útil en aguas relativamente claras que contienen de 0.15 a 10 mg  $\text{Cl}^-/\text{L}$  en la alícuota de muestra titulada. Un alto contenido de cloruro en el agua puede dañar estructuras y tuberías metálicas, al igual, que afecta el crecimiento de la flora.

El cloro puede titularse con una solución de nitrato de plata utilizando cromato de potasio ( $\text{K}_2\text{CrO}_4$ ) como indicador del punto final, en medio neutro o ligeramente alcalino. El cloruro de plata ( $\text{AgCl}$ ) se precipita cuantitativamente antes de formarse el color rojo del cromato de plata ( $\text{Ag}_2\text{CrO}_4$ ).

#### **Materiales y reactivos:**

- Pipetas graduadas
- Probetas
- Bureta de 50 ml
- Erlenmeyers
- Solución estándar de nitrato de plata 0.05 M
- Agua destilada
- Solución indicadora de cromato de potasio ( $\text{K}_2\text{CrO}_4$ ) 5 % p/v

#### **Procedimiento:**

- Medir 100 ml de la muestra con una probeta y transferir a un Erlenmeyer de 250ml. Agregar 3 ml de suspensión de  $\text{Al}(\text{OH})_3$  si la muestra es altamente coloreada.
- Agitar, dejar decantar y filtrar. Si están presentes los sulfuros, sulfitos o trisulfatos, adicionar 1 ml de  $\text{H}_2\text{O}$  y agitar por un minuto.

- Adicionar 2 gotas de solución de fenolftaleína y ajustar el pH en un rango de 7 a 10 con solución de ácido sulfúrico 1N o hidróxido de sodio, según sea el caso, agregar 1 ml de solución indicadora de cromato de potasio y homogenizar.
- Titular la muestra con solución estándar de nitrato de plata dispensándola gota a gota desde una bureta, hasta un color rojo ladrillo que indicara el punto final de la titulación.
- Titular un blanco de reactivos y ejecutando el procedimiento antes descrito

**Cálculos:**

$$(MgCl^-/L) = (A - B) * N + \frac{35.450 I}{VM}$$

**Donde:**

A= Volumen de solución de AgNO<sub>3</sub> gastados en la titulación de la muestra en ml.

B= Volumen de solución de AgNO<sub>3</sub> gastados en la titulación del blanco en ml.

N= Normalidad de la solución de AgNO<sub>3</sub> 35.450= Peso equivalente de cloruro en mg/eq-q VM= Volumen de muestra de agua titulada en ml.

**3.2.18 Sulfatos. Método Turbidimétrico**

**Fundamento:** Los iones sulfato en la muestra reacciona con el Bario del reactivo sulfato Sulfaver 4 formando sulfato de bario insoluble, la cantidad de turbidez formada es proporcional a la cantidad de sulfato en la muestra. Las aguas de vertimiento tienen grandes cantidades de sulfato en forma de piritita oxidada y como ácido sulfúrico. El sulfato es determinado por su precipitación cuantitativa con el Bario.

Reacción:



**Procedimiento:**

- Seleccionar en el equipo el programa correspondiente para sulfato (680) y ajustar a 450 nm la longitud de onda.
- Llenar la celda de 25 ml con la muestra previamente filtrada y adicionarle el reactivo sulfato Sulfaver 4 y esperar el tiempo de reacción de 5 minutos.
- Llenar la celda de 25 ml con H<sub>2</sub>O destilada (blanco) y calibrar a cero con el blanco.
- Una vez finalizado el tiempo de reacción hacer la lectura correspondiente en el equipo.

**3.2.19 Cloro residual. Método colorimétrico:**

**Fundamento:** El cloro reacciona con el reactivo orto-toluidina, dando una coloración amarillenta, su intensidad dependerá de la concentración de cloro presente en la muestra de agua.

**Procedimiento:**

- Se lava la probeta original del kit, inicialmente con agua desionizada y luego con la muestra de agua a analizar.
- Se toma la muestra directamente de los grifos o de los tanques de almacenamiento y se tapa la probeta
- Se agrega 4-5 gotas de reactivo, y se observa una coloración amarillenta intensa, si se encuentra el cloro. En caso contrario no habrá variaciones de color.
- Leer de acuerdo a la intensidad de la coloración, la cantidad de cloro presente.

**3.2.20 Hierro total. Método de la fenantrolina:**

**Fundamento:** La 1,10 fenantrolina del reactivo hierro Ferrover reacciona con el hierro soluble y la forma más insoluble del hierro en la muestra a producir hierro ferroso libre (Fe<sup>+2</sup>), para formar un complejo de color naranja cuya intensidad es proporcional a la concentración de hierro en la muestra.

**Equipo:**

- Espectrofotómetro HACH-DR 1900

**Procedimiento:**

- Seleccionar en el equipo el programa 265, correspondiente a hierro total y colocar a 510 nm de longitud de onda.
- Llenar una celda de 10 ml con la muestra previamente filtrada.
- Adicionar a la muestra el reactivo hierro Ferrover, esperar un tiempo de reaccionar de 3 minutos.
- Llenar una celda de 10 ml con agua destilada (blanco) y calibrar equipo a cero con el blanco.
- Una vez finalizado el tiempo de reacción hacer la lectura de la muestra en el equipo.

### 3.3 LISTA DE EQUIPOS

1. Espectrofotómetro HACH-DR 1900



2. Balanza Analítica





3. pH-metro



4. Conductímetro



5. Espectrofotómetro UV



## 4. ANÁLISIS DE FRUTAS, VEGETALES Y PRODUCTOS DE FRUTAS.

### 4.1 Objetivos

- Determinar la humedad total
- preparar la muestra para el análisis proximal del vegetal.
- Seleccionar los métodos más comunes para el análisis de mermeladas y jaleas.
- Distinguir las determinaciones que se efectúan en jugo de frutas.
- Aplicar algunos de los métodos descritos en el análisis de un jugo o de un producto de fruto.

### 4.2 DETERMINACIÓN DEL AGUA EN PRODUCTOS VEGETALES

**Aplicable a hortalizas y frutas:** Se requieren cuidados especiales, debido a las pérdidas que sufre el material desde el lugar de la recolección hasta cuando llega al laboratorio,. Así mismo, es necesario pesar la muestra en el sitio donde se toma, anotando el peso obtenido y empacarla en una bolsa de un material adecuado para su transporte, por ejemplo, de polietileno. Volverla a pesar al llegar al laboratorio y anotar la pérdida de peso que haya sufrido. Desechar a baja temperatura (40 a 60°C) durante unas seis horas en una estufa de aire. Pasarla a una bolsa de polietileno y dejarla enfriar. Anotar la pérdida de peso. En un molino de martillo moler la muestra. Pasarla por un tamiz No.40 teniendo el cuidado que no se produzcan recalentamiento. Pulverizar lo que quede sobre el tamiz y volverlo a pasar por el mismo. Luego, determinar la humedad sobre una cantidad de muestra pulverizada, exactamente pesada, vecina de 5 gramos,

secándola en la estufa a 90 - 95°C hasta peso constante. Sumar todas las pérdidas de peso obtenidas. Relacionándolas a ciento, para obtener el dato de agua en el producto vegetal.

El residuo pulverizado y bien mezclado se reduce por cuarteo, si es el caso, a unos 100 gramos y se envasa en frascos bocaes herméticos, para un análisis proximal y el contenido mineral. Recuerde que el frasco debe identificarse convenientemente.

### 4.3 DETERMINACIÓN DE HIERRO EN LAS CENIZAS

Una vez efectuada la determinación de cenizas, proceder a solubilizarlas como lo indicamos en el capítulo 2 y determinar en la solución calcio, fósforo y hierro.

Para la determinación de hierro con orto-fenantrolina, se requieren los siguientes reactivos:

- Ácido clorhídrico concentrado libre de hierro.
- Solución de acetato de sodio. En un litro de agua disolver 350 gramos de  $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ .
- Reactivo de hidroxilamina. En 100  $\text{cm}^3$  de agua destilada disolver 10 gramos de  $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$
- Solución de orto-fenantrolina. Disolver 0.12 gramos de  $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  en 100  $\text{cm}^3$  de agua destilada, con agitación y calentamiento a 80 °C.
- Embotellar en un frasco oscuro.
- Solución patrón de hierro. Pesar 0,2 gramos de alambre de hierro analítico o de limaduras de hierro. Disolver en 20  $\text{cm}^3$  de ácido sulfúrico 1:5 y diluir a 1 litro con agua destilada (solución patrón Y)
- Medir 50  $\text{cm}^3$  de la solución patrón Y y pasarlos a un matraz aforado de 1 litro. Diluir a la marca con agua (solución patrón II).

**1  $\text{cm}^3$  – 10 microgramos de hierro (Fe).**

**Procedimiento:** Medir una alícuota de 0; 2; 5; 10 y 25  $\text{cm}^3$  de la solución patrón II en matraces aforados de 50  $\text{cm}^3$ . Agregar a cada uno 1  $\text{cm}^3$  de ácido clorhídrico y disolver a 20  $\text{cm}^3$  con agua. Adicionar 1  $\text{cm}^3$  de reactivo de hidroxilamina, 5  $\text{cm}^3$  de solución de acetato de sodio y 5  $\text{cm}^3$  de solución de orto-fenantrolina. Completar el volumen con

agua en cada matraz, agitar y dejar en reposo por 15 minutos. Examinar la Absorbancia a 450 nm. Elaborar la curva patrón en ppm de Fe vs. A. Tomar 25 cm<sup>3</sup> de la muestra. Filtrada, acidular con HCl y completar el procedimiento descrito para los patrones. Calcular el contenido de hierro en ppm.

## 4.4 ANÁLISIS DE MERMELADAS Y JALEAS

**Preparación de la muestra:** Tomar del empaque un tercio del centro del material que se va a analizar. Colocarlo en una licuadora o mezclador apropiado y mezclar durante 1 o 2 minutos. Tomar las porciones de análisis de tal forma que se recoja una muestra representativa de toda la sustancia, evitando demasiadas semillas o partículas que se haya separado por flotación.

### 4.4.1 Sólidos insolubles en agua.

Pesar 25 gramos muestra. Traspasar cuantitativamente a un Beaker o vaso de precipitado de 400 cm<sup>3</sup>, utilizando 200 cm<sup>3</sup> de agua destilada. Mezclar y calentar cuidadosamente por 15 minutos. Filtrar a través de un papel de filtro (Wathman No.4 u otro similar previamente secado por 2 horas a 100°C, junto con un pesa sustancias (P), enfriado en desecador pesado. Con pequeñas porciones de agua caliente lavar hasta que una gota de filtrado no haga virar el papel de tornasol azul, recibiendo los filtrados en un matraz volumétrico de 250 cm<sup>3</sup>. Enfriar el líquido y completar el volumen. Guardar el líquido para la determinación de la acidez total. Prolongar el lavando del residuo sobre el papel hasta gastar aproximadamente 80 cm<sup>3</sup> de agua caliente, despreciando las aguas de lavado y tratando de agitar los sólidos insolubles, sobre el papel de filtro. Pesar el papel de filtro junto con el residuo en un pesa sustancias. Secar por unas 10 horas a 100°C, dejar enfriar en un desecador y pesar (P1).

$$\% \text{Sólidos insolubles en agua} = \frac{(p1 - p) \times 100}{\text{Peso de la muestra}}$$

### 4.4.2 sólidos solubles en agua - por refractometría.

Tomar una muestra de mermelada o jalea bien mezclada, libre de semillas y de fibra, colocar sobre los prismas del refractómetro y si éste está equipado con escala de 0,4 de azúcares, leer directamente. Se debe agregar que, se utiliza un equipo llamado refractómetro el cual mide los grados Brix, con lectura directa.

#### 4.4.3 Sólidos totales (Brix verdadero).

Pesar 20 gramos de muestra en una cápsula de porcelana previamente tarada. Evaporar a sequedad en baño de agua. Secar a 70°C en una estufa de vacío. Enfriar en desecador y pesar. Volver a secar en estufa hasta que dos pesadas consecutivas no difieran en más de 3 mg:

$$\% \text{ Sólidos totales} = \frac{\text{Peso de la cápsula deshidratada} - \text{Peso de la cápsula vacía}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

#### 4.4.4 p<sup>H</sup>

Colocar 50 a 75 gramos de muestra bien homogenizada en un Beaker de 100 cm<sup>3</sup> y leer directamente en un pH-metro. Así mismo, para estandarizar el pH-metro se utiliza una solución reguladora de pH4, la lectura se efectúa habitualmente a 20°C..

#### 4.4.5 Acidez Total.

Medir 50 cm<sup>3</sup> del filtrado reservado en la determinación de sólidos insolubles en un Beaker de 100 cm<sup>3</sup>. Titular con solución de NaOH 0,1 N hasta p<sup>H</sup> 8,1 usando un p<sup>H</sup> - metro. Con el volumen que se ha gastado, calcular el contenido de ácido. La acidez puede expresarse en el ácido que predomina ya sea cítrico, málico, tartárico o acético.

A continuación, los pesos equivalentes de los siguientes ácidos:

- Ácido Cítrico (monohidratado) = 70
- Ácido Málico = 67
- Ácido Tartárico = 75
- Ácido Acético = 60

$$\% \text{ Acidez total} = \frac{\text{Volumen} \times \text{Normalidad} \times \text{Meq de ácido cítrico} \left( \frac{70}{100} \right)}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

#### 4.4.6 Colorantes artificiales.

Diluir 2.0 a 40 gr de muestra con 1 a 3 volúmenes de agua destilada añadir 3 ó 4 gotas de HCl concentrado y una pequeña porción de paño de lana virgen desenlosada. Calentar a ebullición y luego enfriar, Lavar el trozo de paño coloreado en un chorro de agua. Exprimir el exceso de agua y cortar en cuatro trozos pequeños. Colocar cada uno de esos trozos en la depresión de una placa de porcelana o sobre una baldosa blanca. Humedecer el primero con HCl concentrado, el segundo con  $H_2SO_4$  concentrado, el tercero con NaOH al 10% y el cuarto con  $NH_4OH$  concentrado. La tabla 1 muestra los cambios de color producidos sobre la lana coloreada con soluciones de algunos colorantes presentes en concentraciones entre 0.5 y al 1%.

**Tabla 1. Cambios de color de algunos colorantes SEWN el medio**

Colorante	HCl	$H_2SO_4$	Solución 10%	$NH_4OH$
Amaranto	Ligeramente Oscuro	Violeta marrón	Marrón opaco a rojo naranja	Poco cambia
erythrosina	Amarillo- naranja	Amarillo- naranja	No cambia	No cambia
Ponceau 3R	Poco cambio	Poco cambio	Naranja opaco	Poco cambio
Ponceau SX	Rojo intenso	Rojo intenso	Amarillo naranja	Amarillo naranja
Tartrazina oscura	Ligeramente oscuro	Ligeramente oscuro	Poco cambio	Poco cambio
Amarillo naftol S	Casi decolorado	Marrón opaco	No cambia	No cambia
Amarillo verdoso	Amarillo- naranja pálido	Marrón amarillento	Decolorado	Decolorado
Azul brillante FCP	Amarillo	amarillo	No cambia	No cambia

#### 4.4.7 Pectina.

##### Reactivos:

- Ácido acético 1,0 Normal. Disolver 30 cm<sup>3</sup> de ácido acético glacial a 500 cm<sup>3</sup> con agua.
- Cloruro de calcio 1,0 Normal aproximadamente. Diluir 27,5 gr. de CaCl<sub>2</sub> anhidro en agua y diluir a 500 cm<sup>3</sup>.
- Nitrato de plata. Solución al 1% P/V en agua.

**Procedimiento:** Pesar 50 gramos de muestra homogenizada. Con la ayuda de 400 cm<sup>3</sup> de agua destilada pasar a un Beaker de 800 cm<sup>3</sup>. Hervir por una hora reemplazando el agua destilada perdida por evaporación. Trasferir a un matraz volumétrico de 500 cm<sup>3</sup>. Dejar enfriar y completar a volumen. Agitar bien y filtrar a través de un papel de filtro seco (Wathman No.4 u otro similar), recibiendo el filtrado en un Erlenmeyer de 500 cm<sup>3</sup>. Así mismo, en un Beaker de 800 cm<sup>3</sup> colocar una alícuota de 100 cm<sup>3</sup>. Disolver con 300 cm<sup>3</sup> de agua destilada. Añadir 10 cm<sup>3</sup> de solución de NaOH, agitando constantemente con una varilla de vidrio, colocar en reposo durante la noche. Agregar 50 cm<sup>3</sup> de ácido acético, con agitación y dejar en reposo 5 minutos, añadir 25 cm<sup>3</sup> de solución de cloruro de calcio, con agitación. Calentar a ebullición y dejar hervir por un minuto. Secar un papel de filtro por 2 horas a 100°C utilizando un pesa sustancia. Dejar enfriar en desecador y pesar (P). Filtrar la solución a través del papel en un Erlenmeyer tarado. Lavar el precipitado con agua hirviendo hasta fin de cloruros. Pasar el precipitado, en el papel de filtro al pesa sustancia original. Secar durante la noche a 100 °C. Enfriar en el desecador y pesar (P1).

$$\%(\text{pectado}) = \frac{P1 - P}{\text{Peso muestra}} \times 100$$

#### 4.4.8 Cenizas.

Pesar en una cápsula de porcelana previamente tarada 5 gramos de muestra y evaporar sobre baño de vapor hasta sequedad. Calentar utilizando una llama pequeña hasta carbonizar la muestra sobre malla de asbesto. Calcinar en una mufla a 525°C hasta obtener cenizas blancas. Enfriar en desecador y pesar.

## 4.5 ANÁLISIS DE JUGOS DE FRUTAS

### 4.5.1 Ácido ascórbico (Vitamina C).

#### 4.5.1.1 Método volumétrico delindofenol. (Aplicables para jugos poco coloreados).

##### Reactivos:

- Ácido oxálico al 0,4% p/V.
- Colorante indofenol al 0,4%. Pesar 0.2 gramos de la sal sódica de diclorolen indofenol. Disolver en 200 cm<sup>3</sup> de agua destilada. Si es necesario, filtrar a través de papel Wathman No.4, u otro similar, recibiendo el filtro en un matraz de 500 cm<sup>3</sup>. Completar a volumen. Guardar en refrigerador.
- Estandarización del colorante. Los miligramos de ácido ascórbico correspondientes al cm<sup>3</sup> de colorante se determinan así: Pesar de 2 a 3 gramos de yoduro de potasio en 5 cm<sup>3</sup> de agua.

**Cálculos:** El peso equivalente del ácido ascórbico en esta reacción es 88.

$$1 \text{ cm}^3 \text{ colorante} = \frac{\text{cm}^3 \text{ tiosulfato} \times n \times \text{eq. ácido ascórbico}}{\text{alícuota del colorante (cm}^3\text{)}} = \text{mg de Ácido ascórbico}$$

Así, por ejemplo, para titular una alícuota de 15 cm<sup>3</sup> se gastaron 3.2 cm<sup>3</sup> de tiosulfato 0,01 entonces: 1 cm<sup>3</sup> colorante -0,188 mg de ácido ascórbico.

**Procedimiento:** En un matraz volumétrico de 100 cm<sup>3</sup> medir 10 cm<sup>3</sup> para jugos rico en vitamina C y 25 cm<sup>3</sup> para jugos pobres en esta vitamina. Completar a volumen con la solución de ácido oxálico. Agitar y filtrar si es necesario. En un Erlenmeyer de 50 cm<sup>3</sup> tomar de 5 a 10 cm<sup>3</sup> para la titulación, dependiendo del contenido de ácido ascórbico. Disolver con 15 cm<sup>3</sup> de solución de ácido oxálico al 0,4% p/V y titular con la solución de colorante hasta que el color rosado permanezca de 5 a 10 segundos. La titulación debe acabar antes de 1 minuto y debe utilizarse una micro-bureta, pues el volumen de colorante utilizado no debe ser mayor de 1,5 cm<sup>3</sup>. Calcular el contenido de ácido ascórbico en mg por 100 cm<sup>3</sup> de jugo.

#### 4.5.1.2 (Método colorimétrico de la 2 -Nitroanilina)

##### Materiales y Reactivos:

- Tubo de ensayo.
- Beaker o Vasos de precipitados de 100 y 10 cm<sup>3</sup>
- Embudo de vidrio pequeño
- Pipetas de 10 y 1 cm<sup>3</sup>
- Grasa
- Espectrofotómetro
- Papel filtro
- Solución de ácido oxálico al 0,15%
- Solución acética clorhídrica de 2 – nitro-anilina al 0,16%
- Solución acuosa de piritro de sodio al 0,08%
- Etanol absoluto o etanol del 96%
- Solución patrón de vitamina C en ácido oxálico del 0,15% en concentración 0,2 mg de vitamina/cm<sup>3</sup>
- Solución de Hidróxido de sodio al 10%
- Jugos de frutas cítricas.

##### Procedimiento:

Las muestras líquidas se tratan (por ejemplo, zumos de frutas) con solución de ácido oxálico en cantidad suficiente para proporcionar una concentración entre 0,2 y 2,0 mg de ácido ascórbico en 5 cm<sup>3</sup> de extracto. Por otra parte, las muestras sólidas se extraen con una solución de ácido oxálico al 0,15%.

**a.) Preparación del extracto problema:** El zumo obtenido de la fruta cítrica (limón, naranja, mandarina, toronja, etc.) filtrarlo sobre una gasa. En un Beaker de 10 cm<sup>3</sup> previamente tarado, medir con una pipeta 5 cm<sup>3</sup> del jugo libre de semillas y pellejos, pesarlo de nuevo. Por diferencia hallar el peso de los 5 cm<sup>3</sup> de jugo y anotarlo. A un cm<sup>3</sup> de jugo agregar 4 cm<sup>3</sup> de solución de ácido oxálico al 0.15 %, agitar y dejar en reposo uno tres minutos. Filtrar con papel filtro seco.



**b.) Preparación de la curva de calibración:** Diez tubos de ensayo se rotulan y en su orden se pipetea los siguientes reactivos (Ver Tabla 2).

**Tabla 2. Preparación de la curva de calibración**

Tubo	B	1	2	3	4	5	6	7	8	9
2-nitroanilina cm <sup>3</sup>	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Nitrito de Na recién preparado	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Mezclar bien y esperar 1min										
Solución patrón de ácido ascórbico	3.8	3.8	3.8	3.8	3.8	3.8	3.8	3.8	3.8	3.8
Extracto de ácido ascórbico		0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.7	0.1		
Ácido oxálico	0.1	0.9	0.8	0.6	0.5	0.25		0.5		
Mezclar bien y dejar en reposo por 5 minutos										
Solución de NaOH 10% cm <sup>3</sup>	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2
H2O destilada cm <sup>3</sup>	3.8	3.8	3.8	3.8	3.8	3.8	3.8	3.8	3.8	3.8

Mezclar el contenido de cada tubo. Luego, leer a 540 nm ajustando el 100% de transmitancia con B.

**Cálculos y expresión de resultados:** Con los valores de Absorbancia en ordenadas y concentraciones en miligramos de vitaminas C/cm<sup>3</sup> en abscisas, construir la curva de calibración. Interpolar el valor de la Absorbancia y hallar la concentración del problema. Hacer los cálculos necesarios para expresar resultados en:

$$\text{Mg de ácido ascórbico/100 cm}^3 \text{ de zumo y mg de ácido ascórbico/100 gr. de zumo.}$$

#### 4.5.2 Acidez Total

Medir con una pipeta una alícuota apropiada del zumo libre de sólidos. Diluir con agua destilada y titular con solución de NaOH 0,1 N utilizando un pH-metro o indicador de fenolftaleína para detectar el punto final. Los resultados se expresan teniendo en cuenta el ácido predominante.

#### **4.5.3 Azúcares Totales y Reductores: (Método De Lane-Eynon).**

**Preparación de la muestra.** Medir 25 cm<sup>3</sup> del jugo filtrado. Pasarlos a un matraz de 250 cm<sup>3</sup>, disolver con 100 cm<sup>3</sup> de agua destilada y neutralizar con solución de NAOH1N, calculando el volumen necesario a partir del dato de acidez total. Adicionar 2 cm<sup>3</sup> solución de acetato de plomo. Agitar y dejar en reposo por 10 minutos. Añadir la cantidad necesaria de oxalato de potasio hasta que no se forme más precipitado. Llevar a volumen con agua y filtrar a través de papel Wathman No.5 plegado u otro similar comprobando en el filtrado la ausencia de plomo. Con esta solución titular el Fehling para obtener el dato de azúcares reductores\*.

Para azucares totales, medir 50 cm<sup>3</sup> de la solución clarificada anteriormente, pasar a un Erlenmeyer de 250 cm<sup>3</sup>. Añadir 5 gr de ácido cítrico y 50 cm<sup>3</sup> de agua; hervir por 10 minutos y enfriar (algunos autores recomiendan efectuar esta inversión con HCL como se expuso en el capítulo correspondiente a azucares). Transvasar cuantitativamente a un matraz volumétrico de 250 cm<sup>3</sup>. Neutralizar con solución de NaOH. Completar a volumen y utilizar esta solución para obtener el dato de azúcares totales.

#### **4.5.4 Gravedad Específica.**

Determinarla sobre el jugo libre de sólidos en suspensión, utilizando un picnómetro o si no se tiene, usar un hidrómetro.

#### **4.5.5 Sólido Solubles.**

Determinarlos por medio de refractometría utilizando el refractómetro de Abbe.

## **4.6 DETERMINACIÓN DE VITAMINA C POR IODIMETRÍA**

### **Materiales:**

- Pipeta volumétrica de 2 ml
- Pipeta graduada de 25 ml.

### **Reactivos:**

- H<sub>2</sub>S<sub>0</sub>4 al 10%
- Yodo 0.01 N F
- Almidón al 1%

**Procedimiento:** Pesar de 11 a 12 gramos, de muestra, agregar 50 mL de agua destilada y 2 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y titular con solución de Iodo 0.1 N, agregando como indicador solución de almidón al 1%.

**Cálculos:**

$$\frac{\% \text{ de ácido ascórbico}}{g \text{ de muestra}} = \frac{0.1 \times ml \text{ iodo} \times 176.23}{2000 \times g \text{ muestra}}$$

## 4.7 LISTA DE EQUIPOS

1. Refractómetro de Abbe



2. Mufla



3. pH-metro



4. Balanza



5. Balanza analítica



6. Picnómetro



7. Halógeno



8. Refractómetro



9. Baño María



10. Bureta digital



11. Espectrofotómetro UV



12. Viscosímetro



## 5. ANÁLISIS DE BEBIDAS ALCOHÓLICAS

### 5.1 Objetivos

- Describir los procedimientos más usados en/el análisis de una bebida alcohólica.
- Realizar las determinaciones más importantes para clasificar un vino.
- Comprobar si los componentes analizados se encuentran dentro de los límites de tolerancia permitidos.

## 5.2 Introducción

Este laboratorio se ha planeado con el objeto de entrenar al estudiante en el análisis de una bebida alcohólica. Como el análisis completo es laborioso y el tiempo limitado, en el laboratorio solo se realizará las determinaciones mínimas necesarias para la clasificación de un vino.

## 5.3 Densidad aparente

Sobre una muestra de vino, filtrada si es necesario, determine la densidad aparente en la siguiente forma:

- Saque un Picnómetro en la estufa a 100°C por una media hora, páselo a un desecador, déjelo enfriar quince minutos y péselo en una balanza de precisión.
- Con agua destilada llene el Picnómetro y por media hora colóquelo en un baño de agua a 20°C, séquelo por fuera con un trapo limpio y vuelva pesar.
- Reemplace el agua por una muestra de vino, cuidando de enjuagar antes varias veces el Picnómetro con pequeñas cantidades de vino y proceda como en el caso anterior.
- La diferencia entre el peso del Picnómetro con agua y el Picnómetro vacío, le da el peso del agua. La diferencia entre el peso del Picnómetro con la muestra de vino y el peso del Picnómetro vacío le da el peso del vino. Para obtener la densidad aparente, divida el peso del vino por el peso del agua.

## 5.4 Acidez total

### Reactivos:

- Solución de NaOH 0,05 N
- Indicador: Solución alcohólica de fenolftaleína al 1%
- Agua destilada

Sobre unos 200 cm<sup>3</sup> de agua destilada, recientemente hervida para eliminar el anhídrido carbónico y neutralizada con solución de NaOH 0,05N en presencia de la solución indicadora de fenolftaleína, agregue 5 cm<sup>3</sup> de vino oscuro o 10 cm<sup>3</sup> de vino blanco y titule con la misma solución de NaOH 0.05N hasta colocación rosada; anote el volumen gastado. Caliente la solución del vino casi hasta el punto de ebullición. Si el color rosado desaparece continúe titulando hasta que el color vuelva a aparecer.

El volumen total de solución de NaOH corresponde a la acidez total representada por los ácidos fijos y volátiles contenidos en el volumen de vino tomado, con excepción del ácido carbónico que fue eliminado antes. Refiera los resultados a 1 litro. Estos se expresan en ácido láctico o ácido tartárico. Para los cálculos recuerde que el peso miliequivalente del ácido láctico es:

*p. m./1000 y el ácido tartárico es p. m./2000*

$$\frac{\text{Volumen} \cdot \text{Normalidad}}{\text{Volumen de la muestra}} \cdot 100$$

### 5.5 Acidez volátil.

Si se necesita determinar la acidez volátil exactamente, tome 25 cm<sup>3</sup> de la misma muestra de vino y destílela con arrastre de vapor. Si no necesita tanta precisión, mida una alícuota de 25 cm<sup>3</sup> del destilado que obtuvo para determinar el alcohol, páselo a un Erlenmeyer. Adicionar unos 100 cm<sup>3</sup> de agua destilada neutralizada y titule con solución de NaOH 0,05N. Relacione a 1 litro expresando los resultados en ácido acético.

$$\text{Peso Meq Ácido acético} = \frac{Pm}{1000} = \frac{60}{1000}$$

$$\frac{\text{Volumen} \cdot \text{Normalidad}}{\text{Volumen de la muestra}} \cdot 100$$

## 5.6 ACIDEZ FIJA

Obténgala por diferencia entre la total y la volátil expresada en la misma unidad (Ácido láctico o tartárico).

## 5.7 EXTRACTO TOTAL

Método indirecto: Llamando D1 a la densidad aparente y D2 a la densidad del destilado, aplicar la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Extracto total} = 1 + D1 - D2$$

Con el valor obtenido se calcula el porcentaje de extracto total utilizando la tabla de Windish que se encuentra en "Química Analítica Aplicada", V. Villavecchia.

## 5.8 CENIZAS

En un crisol de porcelana previamente tarada, medir 25 cm<sup>3</sup> vino y evaporar al baño María. Terminar la desecación colocando la cápsula sobre una malla y calentar con una pequeña llama, hasta principio de carbonización. Pasarla a la mufla a 500 - 550°C para calcinar hasta obtener peso constante.

## 5.9 ALCALINIDAD DE LAS CENIZAS

A las cenizas obtenidas en el paso anterior, añadir 25 cm<sup>3</sup> de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1N humedeciendo con el ácido toda la masa de las cenizas. Añadir agua hasta completar unos 3/4 del volumen de la cápsula. Hervir, por unos minutos. Enfriar. Adicionar unas gotas de solución naranja de metilo al 0,2% en el alcohol. Inmediatamente titular el exceso de ácido con solución 0,1 N de NaOH. (También se usa como indicador el metilpurpura). Expresar los resultados en gramos de SO<sub>4</sub>=po dm<sup>3</sup> de bebidas.

## 5.10 ÉSTERES

Medir 50 cm<sup>3</sup> del destilado anterior en un Erlenmeyer de 500 cm<sup>3</sup>; neutralizar la acidez con solución de NaOH 0,05N y agrega un exceso de 25 cm<sup>3</sup> exactamente medidos; calentar en un baño de agua por 2 horas, cuidado de conectar la boca del Erlenmeyer con un refrigerante de reflujo o una varilla larga de vidrio, que haga sus veces. Conducir un blanco en las mismas condiciones, reemplazando el destilado por agua destilada. Una vez fríos los recipientes con sus contenidos, titular el exceso del NaOH con ácido clorhídrico 0,05N en presencia de fenolftaleína. La diferencia entre el volumen de ácido gastado en el blanco y el consumido en la muestra, corresponde a los esteres. Expresar los resultados en acetato de etilo. El miliequivalente del acetato de etilo.



## 5.11 ALDEHÍDOS

Generalmente se encuentra en los vinos en forma de trazas. Determinación cualitativa. En un tubo de ensayo colocar unos 10 cm<sup>3</sup> del destilado. Añadir 2 cm<sup>3</sup> de reactivo de Schiff, que es una solución de anilina (fenilamina) decolorada con anhídrido sulfuroso. Una coloración roja inmediata demuestra la presencia de aldehídos. En los vinos

apenas se observa ordinariamente una débil coloración rosada, correspondiente a la presencia de trazas de aldehídos.

Nota: En caso de tener que determinarlos cuantitativamente. Se utiliza el método lodimétrico descrito en el AOAC.

## 5.12 FURFURAL

**Determinación Cualitativa:** En un tubo de ensayo colocar unos 10 cm<sup>3</sup> del destilado. Agregar 2 cm<sup>3</sup> de anilina incolora (fenilamina) y 0,05 cm<sup>3</sup> de ácido clorhídrico concentrado. Una coloración roja que adquiere su máximo de intensidad a los 15 minutos, indica la presencia de furfural.

## 5.13 AZÚCARES REDUCTORES

**Preparación de la muestra:** Colocar de 100 a 200 cm<sup>3</sup> de vino seco o semiseco o 10 cm<sup>3</sup> de vino dulce en una cápsula de porcelana. En este último caso añadir 100 a 200 cm<sup>3</sup> de agua destilada; neutralizar con NaOH 0.05N, agregando la cantidad necesaria para la neutralización, la cual se conoce por la determinación de la acidez total. Evaporar a la cuarta parte del volumen en baño maría para eliminar el alcohol, ya que es reductor e interfiere en el análisis.

Dejar enfriar y pasar el líquido a un matraz aforado de 250 cm<sup>3</sup> enjuagando la cápsula varias veces con agua que pasa también al matraz. Clarificar la solución adicionando por fracciones solución saturada de acetato neutro de plomo, hasta que no precipite más. (Proteínas, albúminas, etc.). Completar el volumen con agua. Tapar el matraz y mezclar. Filtrar por papel seco, recibiendo el filtrado en un vaso seco. Agregar oxalato de sodio anhidro en polvo hasta que no se produzca más precipitado para descartar el exceso de plomo oxalato insoluble. Por papel seco filtrar de nuevo. Reservar el filtrado. En éste pueden encontrarse azúcares reductores y sacarosa. Su determinación se lleva a cabo por el método químico de Fehling.



## 5.14 LISTA DE EQUIPOS

1. Balanza analítica



2. Picnómetro



3. Mufla



4. Bureta digital



5. pH-metro



## 6. ANÁLISIS DE LECHE LÍQUIDA

### 6.1 Objetivos

- Comprobar la estabilidad de la leche mediante la prueba de alcohol
- Caracterizar el contenido de grasa en la leche líquida, mediante un método gravimétrico y un método volumétrico.
- Calcular la cantidad de ácido láctico en la leche líquida.
- Medir la densidad de la leche líquida

- Caracterizar los sólidos no grasos presentes en la leche líquida
- Determinar la presencia de agentes neutralizantes en la leche
- Identificar la presencia de la enzima peróxidasa en la leche
- Identificar la presencia de agentes conservantes en la leche líquida (formaldehído y peróxidos)
- Verificar residuos de antibióticos en la leche líquida.
- Evaluar la presencia de antibióticos SL beta-lactamasa en la leche cruda
- Cuantificar las impurezas macroscópicas y sedimento presente en la leche líquida.

## **6.2 TÉCNICAS ANALÍTICAS**

### **6.2.1 Prueba de alcohol**

#### **Materiales:**

- Pipetas volumétricas o graduadas de 2 o 5 ml
- Tubos de ensayos
- Gradillas para tubos de ensayos

#### **Reactivos:**

- Alcohol Etílico al 75%

#### **Procedimiento:**

- En un tubo de ensayo adicionar 5 ml de leche
- Añadir 5 ml de alcohol Etílico al 75%
- Invertir el tubo 1 o 2 veces observar la prueba
- Reportar la prueba como positiva, si se observa presencia de grumos.
- Reportar la prueba como negativa si no hay presencia de grumos.

## **6.2.2 Técnica de materia grasa.**

### **6.2.2.1 Método de Rose Gottlieb (Método Oficial de la IDF)**

#### **Fundamento del método:**

Se determina gravimétricamente el contenido de materia grasa por extracción con éter de petróleo y éter etílico, de una muestra de leche tratada con alcohol etílico y amoníaco, evaporación de los solventes y pesada del residuo.

#### **Materiales y Equipos:**

- Alcohol Etílico de 96%
- Amonio hidróxido, solución al 25% (gravedad específica 0.910)
- Éter etílico r.a, libre de peróxidos
- Éter de petróleo r.a, (punto de ebullición entre 40 y 60°)
- Solvente mixto, Antes de la determinación, se prepara combinando volúmenes iguales de éter de petróleo y éter etílico, Se puede reemplazar la mezcla de solventes por cualquiera de los dos solventes puros.
- Probetas o matraces de extracción apropiados, dotados de tapones de vidrio esmerilado o de otro material inatacable por los solventes utilizados (sería preferible no utilizar tapones de corcho)
- Erlenmeyer de 200 cm<sup>3</sup>
- Estufa de aire
- Balanza analítica
- Baño de vapor
- Material de vidrio.

#### **Procedimientos:**

- La muestra se mezcla, cuidadosamente a una temperatura de 20°C, para lograr una distribución homogénea de la materia grasa. Si resulta difícil esparcir la capa de nata, calentar lentamente a una temperatura entre 35 a 40°C, mezclando cuidadosamente y teniendo la precaución de reincorporar a la muestra la nata que pudiera haberse adherida a las paredes del recipiente. Se deja enfriar, a la temperatura ambiente.

- En cualquier caso, no se debe batir energéticamente, para evitar la formación de espuma en la leche.
- En el recipiente de extracción se coloca unos 10 cm<sup>3</sup> de leche y por pesada directa o indirecta se determina su peso exacto, con aproximación de 1 mg.
- Se añade 1.5 cm<sup>3</sup> de la solución hidróxido de amonio y se mezcla.
- Se agrega 10 cm<sup>3</sup> de alcohol etílico y se mezcla suavemente, pero de modo uniforme, teniendo destapado el recipiente de extracción. Se añade 25 cm<sup>3</sup> de éter etílico, se tapa el recipiente y se agita rigurosamente, invirtiéndolo varias veces, durante 1 minuto. Posteriormente, enfriar con agua corriente.
- Se destapa cuidadosamente y se agregan 125 cm<sup>3</sup> de éter de petróleo, utilizando las primeras porciones para lavar el tapón y el interior del cuello del recipiente.
- Se vuelve a colocar el tapón y se agita, invirtiendo el recipiente, repetidas veces durante 30 segundos.
- Se deja en reposo hasta que la capa líquida superior esté completamente limpia y claramente separada de la acuosa. Podrá efectuarse igualmente la separación utilizando una centrífuga. Debe tenerse cuidado que la centrífuga tenga un motor aislado para que no produzca chispas y evitar así el riesgo de una explosión o un incendio. Se quita el tapón y se enjuaga, al igual que el cuello del recipiente, con algunos centímetros cúbicos de la muestra disolvente. Se traslada la capa superior etérea, utilizando un sifón u otro método adecuado a un Erlenmeyer de 250 cm<sup>3</sup> que ha sido previamente lavado, secado en una estufa y secado. La extracción debe ser lo más completa posible, pero sin pasar nada de la parte acuosa, se lava el sifón o el dispositivo utilizado para aclarar el solvente, con unos cm<sup>3</sup> de la mezcla de solventes que se agregan al recipiente de extracción.
- Se repite las operaciones descritas desde la adición de éter etílico diluyendo el extracto etéreo con el primero, contenido en el Erlenmeyer.
- Se elimina con cuidado, por evaporación en baño de vapor o destilación, la mayor cantidad posible de disolvente de los extractos reunidos. Terminada la evaporación, se traslada el Erlenmeyer a una estufa y se mantiene por una hora a una temperatura de 80 a 90°C. se debe enfriar en un desecador y se pesa con aproximación de 0.1 mg. Se repite la desecación en la estufa hasta obtener el peso constante.
- Paralelo, se efectúa un ensayo en blanco, operando las mismas condiciones, pero sustituyendo la leche por 10 cm<sup>3</sup> de agua y se hacen las correcciones correspondientes. Si el peso del residuo contenido en el ensayo en blanco es

superior a 0.5 mg, abra que comprobar los reactivos y aquel que resulte impuro deberá sustituirse o purificarse.

### **Cálculos y expresión de resultados:**

El contenido de materia grasa expresado como un porcentaje (m/m), se calcula por la fórmula:

$$\text{materia grasa } \left( \frac{m}{m} \right) = \frac{m1 - m2}{s} \times 100$$

En donde:

m1= Peso del Erlenmeyer más la materia grasa

m2= peso del Erlenmeyer vacío

s= Peso de la muestra

La norma internacional prescribe que la diferencia entre los resultados de dos determinaciones repetidas (obtenidos simultáneamente o una inmediatamente después de la otra, o por el mismo analista), no debe ser mayor de 0.03 g de materia prima grasa por 100 g de producto.

### **6.2.2.2 Método Gerber - Método de Rutina.**

**Fundamento:** Se libera la grasa total por disolución de las sustancias proteínicas, se separa por centrifugas y, posteriormente, se determinaron volumétricamente.

### **Reactivos y Equipos:**

- Ácido Sulfúrico: a partir de ácido sulfúrico r.a., se diluye adecuadamente, hasta obtener una gravedad específica de 1.820 a 1.825 (90 a 91%).
- Alcohol isoamilicor.a.
- Pipetas aforadas especiales para Gerber (11 cm<sup>3</sup>)
- Dosificador de embolo de 10 cm<sup>3</sup> (para medir 10cc de ácido sulfúrico)
- Baño termostataado a 65°C
- Butirómetros graduados originales, Gerber.

- Centrifuga Gerber
- Tampones especiales de caucho
- Émbolo metálico

**Procedimiento:**

- Se coloca en el Butirómetros 10 cm<sup>3</sup> de ácido sulfúrico de 90-91% y se agregan con cuidado 11 cm<sup>3</sup> de leche, previamente homogenizada; debe procederse lentamente para que no se mezclen, observándose claramente la separación de las dos capas.
- Se agrega, a continuación, 1 cm<sup>3</sup> exacto de alcohol isoamílico y se tapa el Butirómetros. Se envuelve este en un paño y se agita fuertemente hasta dilución total de la fase proteica de la leche.
- Se deja en reposo por cierto tiempo, para observar mejor si la disolución ha sido completa; a continuación, se centrifuga por 5 minutos, con el tapón hacia abajo, contados a partir del momento en que el centrífugo alcance la velocidad necesaria. (en el caso de leche homogenizada, la centrifugación debe efectuarse por 10 minutos).
- Se pesa el Butirómetros en la misma posición, al baño termostático a 65°C, donde se deja de 5 a 10 minutos, manteniendo el nivel del agua por encima de la columna de grasa del Butirómetros.
- Para leer, se presiona con el émbolo hasta que la base de la columna de grasa quede al nivel de una división principal y se lee la altura de dicha columna.

**Expresión de Resultado:** La altura de la columna grasa da el porcentaje (m/v) de grasa en la leche.

**6.2.3 Prueba de acidez.**

**Fundamento:** Para leche líquida se titula un volumen determinado de muestra, con una solución de hidróxido de sodio 0.1N, en presencia de fenolftaleína como indicador.

**Materiales:**

- Baño María
- Bureta de capacidad de 25 o 50 ml de capacidad, graduada en incrementos de 0.05 ml.
- Erlenmeyer

**Reactivos:**

- Hidróxido de sodio: la solución volumétrica estándar usada, debe ser de una concentración  $[C(\text{NaOH}) = 0.1\text{N}]$  0.0002 N, y libre de carbonato. Esta solución debe estar protegida contra la absorción de dióxido de carbono.
- **Nota:** La absorción de dióxido de carbono se puede evitar conectando una botella de lavado, que contenga la solución de hidróxido de sodio a la bureta que también contiene solución de hidróxido de sodio, o por la conexión del fondo de la bureta a un tubo pequeño de solución de óxido de calcio/hidróxido de sodio para obtener un sistema cerrado. El  $\text{CO}_2$  puede ser confinado en la botella de lavado o en el tubo pequeño para proteger la solución de la bureta contra la absorción, lo que influenciaría la concentración.
- Solución de fenolftaleína: al 1% m/v en alcohol etílico de 96%, previamente neutralizado.

**Preparación de la muestra:** Se lleva de 20 a 25°C. Se mezcla completamente para obtener una distribución homogénea de la grasa a través de la muestra. Se debe evitar la agitación vigorosa de la muestra que puede incorporar burbujas de aire en la leche, afectando la distribución de la grasa en la muestra. Si la grasa es de dincih dispersión se calienta la muestra de 35 a 40°C en un baño maría; se mezcla cuidadosamente, incorporando a la muestra toda la crema adherida a las paredes de recipientes, y se deja enfriar rápidamente de 20 a 25°C.

**Procedimiento:**

Muestra para ensayo: Se mide 10 ml de muestra preparada, directamente en el Erlenmeyer de 125 ml, de acuerdo con lo indicado.

Determinación: A la muestra para ensayo preparada según lo indicado, se le adiciona de 5 a 7 gotas de fenolftaleína al 1%.

Se titula con solución de hidróxido de sodio 0.1 N hasta obtener un color rosa persistente por 30 segundo aproximadamente (p<sup>H</sup> de 8.30 0.01).

**Cálculo:** Acidez expresada como porcentaje de ácido láctico/100 g de producto:

$$\% AC = \frac{v \times 0.1 \times 0.09}{10} \times 100$$

V = Mililitros de solución de hidróxido de sodio 0.1 N gastados en la titulación

0.1= Normalidad de la soda

0.09= Factor de conversión para el ácido láctico

10= Volumen de la muestra

**Observaciones:**

- Antes de medir la leche, purgar la pipeta con esta
- Al aproximarse el punto de viraje dejar caer la solución gota a gota
- No gastar más de 20 segundos en la titulación
- Cuando se emplea el equipo automático con bureta calibrada en porcentaje de acidez, multiplicar el valor obtenido en la escala de la bureta por el valor de f.

**6.2.4 Determinación de densidad a 15/15°C**

**Materiales:**

- Termo lactodensímetro a 15/15°C se expresa mediante la relación de las masas de un volumen de leche a 15°C, respecto al del agua destilada a 15°C.
- Probeta de vidrio o metal, sin pico que permita el libre movimiento del termo lactodensímetro y la total inmersión del vástago graduado. El diámetro de la probeta debe ser por lo menos 1 cm superior al diámetro del flotador del lactodensímetro.



**Preparación de la muestra:** Si la leche fresca y no hay separación visible de la crema mezclar transvasándola totalmente de un recipiente a otro, tres veces como mínimo. Cuando la muestra contenga grumos de grasa, calentar a 38°C en baño termostático antes de homogenizar. Tomar volumen adecuado para determinación de la densidad.

**Procedimientos:**

- Llevar la muestra a una temperatura cercana a los 15°C + 0.5 de aproximación.
- Mezclar la leche evitando la formación de burbujas de aire o espuma, trasvasándola totalmente de un recipiente a otras tres veces como mínimo.
- Agregar la leche a la probeta con esta inclinada para evitar la formación de espuma. Llenar la probeta por lo menos hasta un nivel tal que el volumen libre sea netamente inferior al volumen del cuerpo del lactodensímetro.
- Introducir suavemente el termo lactodensímetro manteniéndolo verticalmente y sosteniéndolo en su descenso hasta un punto cercano a su posición de equilibrio. Provocar un ligero movimiento de rotación. Asegurarse que las oscilaciones mojen el vástago graduado menos de un centímetro por encima de la posición de equilibrio esperado. Evitar el contacto del termo-lactodensímetro con las paredes de la probeta y dejar que flote libremente.
- Dejar en reposo la muestra por un minuto y realizar la lectura del vástago del instrumento.
- Realizar la lectura a 15°C, teniendo presente un rango de  $\pm 5^\circ\text{C}$ .
- En caso de la muestra no esté a 15°C. pueden ocurrir 2 situaciones:
  - a) La situación en que la temperatura excede a los 15°C, se debe sumar 0.2 GL a la lectura por cada °C superior a 15.
  - b) La situación en que la temperatura este por debajo a 15°C se debe restar 0.2 GL a la lectura, por cada °C inferior a 15°C.

$$D_{15^\circ} = \frac{LT \pm CA \pm CT + 1}{1000}$$

LT: Lectura del lactodensímetro, grado lactodensímetro

CA: Corrección de aparato por calibración en grado lactodensímetro CT: Corrección de la temperatura

### 6.2.5 Cálculo de residuos magro: Extracto seco, sin grasa.

**Definición:** El residuo magro corresponde a la diferencia entre los sólidos totales y el contenido de grasa en una muestra de leche líquida.

**Cálculos:** Una forma rápida y aproximada, para calcular el extracto magro (SNG), aceptadas actualmente por las autoridades competentes, se basa en aplicar la siguiente fórmula:

$$250 (D - 1) + 0.2 \times F + 0.14$$

En donde:

D= gravedad específica de la leche

F= porcentaje de grasa

### 6.2.6 Prueba de neutralizantes. Prueba Neutralizante: (Alizarina)

**Fundamento:** Se comprueba la presencia de neutralizantes por cambio de color con una solución alcohólica de alizarina.

Reactivos y Material:

- Solución alcohólica de alizarina: se disuelve 0.5g de alizarina en 1000 cm<sup>3</sup> de alcohol de 75%, previamente neutralizado.
- Tubos de ensayo

#### Procedimiento:

- En un tubo de ensayo colocar 10 cm<sup>3</sup> de leche bien mezclada.
- Agregar 3 cm<sup>3</sup> de la solución de alizarina

**Interpretación de los resultados:** La aparición de la coloración de un rojo violeta indica, presuntivamente, la presencia de neutralizantes.

**Prueba de confirmación**

**Fundamento:** Al agregar fenolftaleína a una muestra de leche previamente hervida y adicionarles oxalato de potasio, una coloración rosada indica la presencia de alcalinizante en la leche.

**Reactivos:**

- Oxalato de potasio, solución acuosa al 30% (m/v)
- Fenolftaleína, solución alcohólica al 2%.

**Procedimientos:**

- En un tubo de ensayo se colocan 5cc de leche y se calienta a ebullición durante 3 minutos con agitación.
- Se deja enfriar, se agregan 5 gotas de solución de oxalato de potasio y se agita.
- Se agregan 5 gotas de la solución de fenolftaleína, sin agitar.
- Se hacen pruebas paralelas con un testigo positivo y un testigo negativo.

**Interpretación De Resultados:**

La aparición de una coloración rosada indica la presencia de alcalinizantes en la leche.

**6.2.7 Prueba de peroxidasa**

**Fundamento:** Las peroxidases (de origen bacteriano), se ponen de manifiesta por la capacidad de descomponer el agua oxigenada liberando oxígeno, lo cual se demuestra por la coloración que comunica a una solución de guayacol.

**Reactivos y Materiales:**

- Solución de agua oxigenada al 0.3%: se diluye 1cm<sup>3</sup> de agua oxigenada estabilizada, de 30% de concentración hasta 100cm<sup>3</sup> con agua. Debe guardarse en un frasco ámbar, en un refrigerador.
- Guayacol, solución:

- Guayacol (con una pureza mínima del 99%) 2g
- Alcohol etílico del 75% 80 cm<sup>3</sup>
- Solución acuosa de fenol al 3% 20 cm<sup>3</sup>
- La solución debe ser incolora. Se conserva en frasco ámbar, en un refrigerador
- Tubos de ensayo

**Procedimiento:**

- Colocar en tubo de ensayo 3 cm<sup>3</sup> de leche.
- Agregar 10 gotas de la solución de guayacol y agitar. Esperar 1 minuto y observar el color.
- Agregar 5 gotas de la solución de agua oxigenada y observar el color.
- 

**Interpretación:** Si en el lapso comprendido entre la adición del primer reactivo y el segundo, aparece coloración rosada, indica la presencia de agua oxigenada y de peroxidasa. Si solamente aparece la coloración después de la adición del segundo reactivo, indica la presencia de peroxidasa. Es aconsejable esperar 5 minutos después de la adición del agua oxigenada

**6.2.8 Determinación de conservantes.****6.2.8.1 Prueba de Peróxidos**

**Fundamento:** En presencia de pentóxido de vanadio en medio sulfúrico, el agua oxigenada da una coloración rosada.

**Reactivos:**

- Solución de pentóxido de vanadio al 1% m/v en ácido sulfúrico diluido.
- Disuelva un gramo de V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> en 100 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- Tubos de ensayos

**Procedimiento:**

- Colocar en un tubo de ensayo 10ml de muestra
- Agregar 10 a 20 gotas de reactivos y observar el color

**Interpretación de Resultados:** La aparición de una coloración rosada a salmón indica la presencia de agua oxigenada. Una coloración amarillenta debe considerarse como negativa.

**6.2.8.2 Determinación de formaldehído prueba tentativa**

**Fundamento:** Se basa en la coloración violeta que produce el formaldehído en presencia de cloruro férrico en medio ácido.

**Reactivos y Equipos:**

- Cloruro férrico, solución acuosa al 1% recién preparada.
- Ácido sulfúrico
- Formaldehído, solución testigo. Diluir una gota de solución de formaldehído de 38- 40% en 100 cm<sup>3</sup> de agua.
- Tubos de ensayos
- Mechero
- Balanza analítica

**Procedimientos:** Se colocan 3 cm<sup>3</sup> de la leche, previamente homogenizada y se agrega 3 gotas de solución de cloruro férrico. Por las paredes del tubo ligeramente inclinado, se añaden lentamente unos 5 cm<sup>3</sup> de ácido sulfúrico concentrado, procurando que no se mezcle con la leche, de modo que al enderezar el tubo queden dos capas.

Se trabaja al mismo tiempo con un testigo negativo, constituido por 5cc de leche pura y fresca y un testigo positivo preparado agregando una gota de solución testigo de formaldehído a 5 cm<sup>3</sup> de la misma leche pura.

**Interpretación De Resultado:** Un anillo violeta en la interfaz entre el ácido y la leche, indica la presencia de formaldehído. Cuando la concentración del formaldehído es alta, la prueba es menos sensible; para hacerla más sensible se deben hacer diluciones de la muestra con la leche pura. Estando prohibida y siendo frecuente la adición de formaldehído a la leche, es aconsejable efectuar una prueba de confirmación.

### 6.3 LISTADO DE EQUIPOS

1. Butirometro



2. Lactodensímetro



3. Estufa de aire



4. Balanza analítica



5. Centrifugadora de gerber



6. Bureta Digital



7. pH-metro



## 7. ANÁLISIS DE HARINAS

### 7.1 Objetivos

- Comprobar la pérdida de masa por desecación
- Calcular el contenido de cenizas por incineración en condiciones determinadas
- Caracterizar el contenido de proteína bruta por el método de Kjendahl
- Cuantificar el contenido de grasa por el método de soxhlet
- Examinar la presencia de los agentes oxidantes en harina
- Determinar la presencia de bromatos e ionatos en harina
- Comprobar la presencia de gluten en harina de trigo y sémola
- Identificar la presencia de vitamina C por el método de colorimetría
- Determinar la presencia de persulfato de amonio en harina
- verificar la presencia de fósforo en harina por espectrofotometría
- Calcular fibra bruta por hidrólisis ácida y básica

### 7.2 TÉCNICAS ANALÍTICAS

#### 7.2.1 Humedad

**Principios:** El contenido en agua en un producto se define como la pérdida de masa que experimenta en condiciones determinadas. Secar el producto a 105°C bajo presión atmosférica normal, durante 2 horas. Este método de desecación a 105°C se aplica a los granos, harinas y otros productos derivados de los cereales, reducidos a partículas de dimensiones inferiores o iguales a 1700  $\mu$ , de las cuales menos de 10 serán superiores a 1000  $\mu$  y más de 50 por 100 inferiores a 500  $\mu$ .

#### Materiales y Equipos:

- Balanza con precisión de 1 mg
- Aparato triturador que no provoque calentamiento. Proporcione partículas de dimensiones especificadas anteriormente. Así mismo, este aparato es fácil de limpiar.
- Pesa filtro metálico de vidrio o con tapadera y con una superficie útil que permita un reparto de la muestra de 0.3 g/cm<sup>2</sup>, como máximo.

- Estufa isoterma de calentamiento eléctrica, regulada de tal manera que la temperatura del aire en su interior sea de 105°C y que tenga aireación superficie. Además, la estufa tendrá una capacidad calórica 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. Por otra parte, la eficacia de la ventilación se determinará con la ayuda de sémola como material de ensayo que tenga 1 mm como máximo de partícula. La ventilación será tal que secando simultáneamente a 105°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 por 1000.
- Desecador dotado de placa de porcelana o metálica perforada, conteniendo un agente deshidratante como anhídrido fosfórico, cloruro de calcio o sílica gel coloreado de azul.

**Procedimiento:** Introducir 5 g de la muestra en el pesafiltro tarado después de permanencia en la estufa y de enfriamiento en el desecador, cerrar el pesafiltro y pesar con aproximación de 1 mg. Debe operarse rápidamente.

Tener en la estufa durante 1.5 horas el pesafiltros destapado con la muestra. Transcurrido este tiempo, y operando rápidamente, retirar el pesafiltros de la estufa una vez tapado y colocarlo en el desecador. Pesar en cuanto se enfríe en el desecador.

**Cálculo:** el contenido de agua de la muestra, en porcentaje es:

$$\text{Humedad} = \frac{(M - m)}{M} * 100$$

En la que:

M = Masa inicial, en gramos, de la muestra

m = masa en gramos del producto seco.

La medida de dos resultados, con una aproximación de 0.05 g por 100, significará la humedad de la muestra.



**Dispersión de los Resultados:** La diferencia resultante no deberá ser mayor que 0.1 por 100 en valor absoluto entre determinaciones duplicadas de la misma muestra. En caso contrario, se repetirá la determinación por duplicado.

### 7.2.2 Cenizas.

#### **Fundamento:**

**Definición.** El contenido de cenizas de un producto es el residuo resultante después de su incineración en condiciones determinadas.

Se debe agregar que, este método es aplicable a los granos, harinas y otros productos derivados de los cereales.

#### **Material Y Equipos:**

- Balanza analítica con precisión de 0.1 mg
- Horno de mufla eléctrico, con circulación de aire suficiente, con mecanismo de regulación y control de temperatura.
- Crisol de incineración redondo de fondo plano, preferiblemente de platino, o bien de cuarzo o de porcelana. El diámetro de las cápsulas será unos 5 cm, y la altura máxima de 3 cm.
- Desecador provisto de llave, con placa perforada de aluminio, conteniendo un agente deshidratante como cloruro de calcio, anhídrido fosfórico o silical gel coloreado en azul.

#### **Procedimiento:**

- Con aproximación de 10 mg pesar 5 g de muestra; Los restantes pesadas deben hacerse con una aproximación de 0.1 mg. Antes de usar los crisoles de incineración, calentarlos en el horno a 500°C durante 15 minutos.
- Enfriarlos en el desecador y pesarlos cuando alcancen la temperatura ambiente.
- Colocar la muestra pesada en el crisol repartiéndola en capa de espesor uniforme, sin comprimirla. Colocar el crisol a la entrada del horno con la puerta abierta, y deje que arda. Cuando las llamas se extingan empujar la crisol al

interior del horno y cerrar la puerta del mismo. Una vez cerrada la puerta del horno debe mantenerse en él una corriente de aire suficiente, que no sea tan fuerte como para arrastrar la sustancia fuera de los crisoles.

- La incineración (a 500°C) 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 es prácticamente blanco o gris del enfriamiento. Sacar los crisoles del horno y dejarlos enfriar en el desecador. Pesar tan pronto alcancen la temperatura ambiente.

**Cálculo:** El porcentaje de cenizas sobre materia natural se obtiene con la siguiente fórmula por la fórmula siguiente:

$$\text{cenizas\% (materia natural)} = \frac{(p1 - p2) - 100}{p - p1}$$

**En la que:**

P = Peso en gramos del crisol con la muestra

P<sup>1</sup> = peso en gramos del crisol con las cenizas

P<sup>2</sup> = Peso en gramos del crisol vacío

El porcentaje de cenizas sobre materia seca se obtiene relacionando el valor del contenido en cenizas obteniendo sobre materia natural con el valor del contenido en humedad, según la siguiente fórmula:

$$\text{cenizas\% (materia seca)} = \frac{\text{Cenizas sobre materia natural} \times 100}{100 - \text{humedad de la harina}}$$

Límite de errores. Cuando el contenido de cenizas no rebasa el 1 por 100 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 por 100, la diferencia no deberá ser superior al 2 por 100 de dicho contenido. Si es superior se repetirá la determinación.

**Expresión de los resultados:** el contenido de cenizas se expresa por 100 partes tenidos de cenizas se expresa por 100 partes de sustancia seca y con dos cifras decimales.

### 7.2.3 Proteína.

**Principio:** El contenido en proteína bruta en un producto es el resultado de multiplicar el contenido de nitrógeno, determinado por el procedimiento de Kjeldahl por un factor de transformación del nitrógeno en proteína.

Hay que mencionar, además, este método es aplicable a los granos, harinas y otro derivado de los cereales.

#### **Materiales y equipos:**

- Matraces kjeldahl de 500 a 800 ml
- Batería de ataque
- Batería de destilación o equipo de destilación

#### **Reactivos:**

- Ácido sulfúrico concentrado
- Sulfato potásico anhidro
- Sulfato de cobre
- Solución de hidróxido sódico al 30 por 100 (P/V) en agua
- Solución de ácido sulfúrico 0.1 N
- Solución de hidróxido sódico 0.1 N
- Solución indicadora: disolver 0.3 g de rojo de metilo en 100 ml de alcohol etílico del 95 por 100.

#### **Procedimiento:**

- Pesar 1g de muestra, molida de forma que las partículas sean inferiores a 500  $\mu$ , e introducirla en un matraz Kjeldahl. Añadir 10 g de sulfato y 0.1 g de sulfato de cobre.
- Adicionar 20 ml de ácido sulfúrico H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado y mezclar hasta que toda la sustancia esté mojada por el ácido. Iniciar el ataque a fuego lento para evitar que la espuma arrastre el producto al cuello del matraz. Cuando desaparezca la espuma hacer hervir vigorosamente hasta que la disolución quede limpia y prolongar todavía el ataque otros 30 minutos.

- Luego enfriar.
- Agregar unos 200 ml de agua destilada. Adicionar 80 ml de hidróxido de sodio al 33 por 100 y proceder al destilado. El líquido que destila se recoge en un vaso que contenga 20 ml de ácido sulfúrico N/10 y una gota de disolución de indicador, añadiéndose nuevamente una cantidad conocida de ácido sulfúrico N/10 si virase de color durante la destilación. La cantidad de destilado a recoger es de unos 150 ml, dándose por acabada la destilación cuando el líquido que se destila no haga virar a azul el papel rojo de tornasol.
- Finalizada la destilación, titular el exceso de ácido sulfúrico con disolución valorada de hidróxido sódico 0.1 N.

Efectuar una prueba en blanco de destilación y valoración para controlar la pureza de los reactivos

**Cálculos:** El porcentaje de proteína bruta sobre sustancia natural es:

$$\% \text{NITROGENO} = \frac{\text{Volumen} \cdot \text{Normalidad} \cdot \text{Meq} \left( \frac{14}{1000} \right)}{\text{Peso de la muestra}} \cdot 100$$

$$\text{proteína bruta} = \% \text{nitrogeno} \cdot 6,25$$

El porcentaje de proteína bruta sobre sustancia seca se determina teniendo en cuenta el contenido en humedad. Dispersión de los resultados. Se consideran concordantes las determinaciones duplicadas cuando los resultados expresados en porcentaje difieran en menos en 0.25.

#### 7.2.4 Grasa.

**Fundamento:** el contenido de grasa bruta de un producto se define como la parte del mismo extraíble por éter etílico en condiciones determinadas. Incluye además de la grasa, otras sustancias solubles en éter etílico, como son: Ceras, pigmentos, vitaminas, etc. Así mismo, este método es aplicable a los granos, harinas y otros productos derivados de los cereales.

**Materiales y Equipos:**

- Extractor tipo soxhlet
- Balanza analítica con precisión de 0.1 mg
- Estufa de desecación, graduada a 100°C
- Desecador con placa de porcelana o metálica perforada, conteniendo un agente deshidratante, como anhídrido fosfórico o silical gel
- Cartuchos de extracción
- Matrazes de 100 a 150 ml, adaptables al extractor
- Batería de extracción con baño de agua

**Reactivos:** Éter etílico**Procedimiento:**

- Pesar 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. Talar el matraz, desecado en la estufa y enfriado en el desecador. Introducir el cartucho en el desecador, añadir éter etílico 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 a 5 gotas/s, y a 16 horas para 2 a 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, Dejar enfriar el matraz en el desecador y, en cuanto alcance la temperatura ambiente, pesarlo.

**Cálculo:** El porcentaje de grasa bruta sobre sustancia seca viene dado por la fórmula:

$$\text{Grasa bruta (materia seca)} = \frac{(p1 - p2) * 100}{p}$$

En la que:

P1 = peso en g del matraz con el extractor etéreo

P2 = peso en gramos del matraz vacío

P = peso en g de la muestra empleada

### **7.2.5 Agentes Oxidantes: Reacción con Yoduro Potásico**

**Fundamentos:** El método revela todos los agentes oxidantes que se adicionan generalmente a la harina, para mejorar sus propiedades de panificación, excepto percloratos y peróxido de benzoilo.

#### **Materiales y Equipos:**

- Matraz Erlenmeyer de 500 ml
- Centrifuga

#### **Reactivos:**

- Yoduro potásico 10 por 100
- Ácido sulfúrico (1 + 10 (v/v))

**Procedimiento:** Colocar 50 g de muestra en un matraz Erlenmeyer de 500 ml, añadir 20 ml de agua a temperatura ambiente, agitar bien y dejar reposar 1 hora, aproximadamente, con agitación frecuente. Filtrar o centrifugar. A 5 ml del filtrado añadir la solución de KI y 5 ml de  $H_2SO_4$  solución (1+10) v/v. Soluciones amarillas o pardas indican la presencia de agentes oxidantes.

### **7.2.6 Bromatos, Iodatos en la harina (Método Cualitativo)**

**Fundamento:** El método usa para determinar la presencia de bromato, iodato en la harina, que actúan como mejorantes.

#### **Materiales y Equipo:**

- Placa de Petri de un área aproximadamente de 100 cm<sup>3</sup>
- Tamiz número 60

**Reactivos:**

- Para el bromato, iodato solución de HCl en agua (1+7) v/v y KI (1 por 100) mezclados a volúmenes iguales.
- Para iodato solución de 1 volumen de KSCN (1 por 100) y 4 volúmenes de solución de HCl en agua (1+32) v/v mezclados.

**Procedimiento Bromatos, Iodatos:** cubrir el fondo del recipiente con el reactivo KI-HCl. Cerner uniformemente el tamiz número 60 sobre el reactivo, aproximadamente 4 g de harina a ensayar. Alternativamente, cerner harina sobre la superficie del recipiente seco y esparcir la mezcla de reactivo sobre la harina con un frasco pulverizador hasta que todas las partículas estén humedecidas. La aparición de manchas negras o púrpuras después de la adición del reactivo indica la presencia de Bromato o Iodato.

**Iodatos:** (aplicable a 10 ppm. o más). Distribuir suavemente, aproximadamente, 1g de harina sobre el fondo de una placa de Petri y cubrir completamente con el reactivo KSCN-HCl recientemente preparado, (Aplicable a 1-10 ppm.). Proceder como para bromatos e iodatos, pero no usar el reactivo KSCN-HCl.

**7.2.7 Gluten**

**Principio:** Complejo de proteínas insolubles en agua que forman, por arrastre del almidón de la harina mediante lavado, una masa gomosa muy extensible. Este método se aplica para la determinación del contenido en gluten de la harina de trigo y sémolas.

**Materiales y Equipos:**

- Balanza con precisión de 0.01 g
- Extractor de gluten con disco excéntrico y mecanismo tensor para gasa de seda; velocidad del disco excéntrico: 80 r.p.m.
- Recipiente para agua con gasto regulable
- Cronómetro
- Tamiz de madera, de 30 X 40 cm, con gasa para sémola número 56.

- Placa de vidrio esmerilado 40 X 40 cm
- Guantes de caucho delgado y de superficie lisa
- Prensa para gluten. Sistema Berliner, con distancia entre placas de 2,4 mm
- Cápsula de porcelana barnizada interiormente o de metal esmaltado, de 10 a 15 cm de diámetro.
- Espátula de 18 a 20 cm de longitud

**Reactivos:**

- Disolución al 2 por 100 de cloruro de sodio (pH 6.2). Disolver 200 g de cloruro de sodio, de calidad reactivo para análisis, en 10 litros de agua destilada. Añadir 7.54 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . La disolución se preparará cada día que se utilice.
- Solución de yodo, aproximadamente N/1000; sirve para comprobar la presencia de almidón.

**Procedimiento:**

- Pesar 10 gramos de harina con una aproximación de  $\pm 0.01$  g y colocarla en una cápsula de porcelana. Añadir gota a gota 5.5 ml de disolución de cloruro sódico removiendo continuamente la harina con la espátula.
- Después de haber añadido a la harina toda la disolución de cloruro sódico, comprimir la mezcla cuidando de no perder nada de harina. La masa adherida a la pared de la cápsula se añade a la bola de masa.
- Homogeneizar la masa enrollándola con la palma de la mano sobre la placa de vidrio esmerilado hasta que tenga una longitud de 7 a 8 cm, volviéndola a dar entonces la forma de bola y se repite el amasado en la misma forma hasta un total de cinco veces. La mano que efectúa la homogeneización estará revestida de un guante de caucho que proteja la masa del calor y de la transpiración de la mano.
- Colocar la bola de masa sobre la gasa de seda ligeramente tensa del extractor del gluten.
- Mojar la masa con unas gotas de solución de cloruro de sodio, colocando luego en su sitio el disco excéntrico. Lavar durante 10 minutos, debiéndose gastar unos 400 ml de solución de cloruro de sodio.



- Cuando se disponga del aparato extractor de gluten, se sustituirá el anterior paso por un lavado a mano. Para ello, dejar caer gota a gota la solución de cloruro sódico, que debe tener una temperatura de 18°C, sobre la palma de la mano. El ritmo de goteo debe ser tal que aproximadamente 0.75 litros de la solución, desagüen en 8 minutos. Durante este tiempo arrollar y prensar alternativamente la masa y estirla siete veces de forma que se parta en dos trozos que se juntan enseguida. La duración de lavado depende del contenido de la masa en gluten; sin embargo, debe ser aproximadamente la misma siempre y no rebasar los 8 minutos.
- Al lavado mecánico de gluten le siguen un lavado a mano cuya duración en general no debe exceder de 2 minutos. Se puede considerar terminada la extracción gluten tan pronto como al amasar la bola de gluten con la disolución fresca de cloruro de sodio no se encuentren más trazas de almidón en agua escurrida. Para comprobar la presencia de almidón en el líquido de lavado, utilizar una disolución de yodo 0.001 N.
- Desprender de la bola de gluten la mayor parte de la disolución de lavado adherente cogiendo el gluten con la punta de los dedos de una mano y sacudiéndolo tres veces brevemente, pero con fuerza. Estirar a continuación, suavemente, el gluten en lámina delgada, manteniéndolo entre los dedos y llevarlo a la prensa, cerrando esta. Abrirla a los 5 segundos y pasar la lámina de gluten posición seca sin deformarla. Prensarla otra vez. Hacer esta operación 15 veces, secando bien las superficies de vidrio después de cada prensada.
- Pesar el gluten en la balanza con aproximación de 0.01 g.

### **Cálculo:**

**Gluten húmedo.** El peso obtenido multiplicado por 10 da el porcentaje de gluten húmedo. Las determinaciones duplicadas se consideran concordantes cuando no difieren en más de 0.5 por 100 de contenido en gluten. Si la desviación es mayor, sé hacer una tercera determinación y tomar la medida de las tres efectuadas como expresión del contenido en gluten. Si la desviación hallada entre los valores más altos y más bajo en los tres ensayos es mayor del 1 por 100, proceder a hacer una cuarta determinación.

**Gluten seco.** La bola de gluten húmedo obtenida en la determinación anterior se deseca en la estufa a temperatura de 100°C hasta peso constante. Dejarla enfriar y pesar. El

peso obtenido multiplicado por 10 da el porcentaje de gluten contenido en la harina.

### **7.2.8 Ácido Ascórbico (Vitamina C) (Método Cualitativo)**

**Fundamento:** Este método sirve para determinar la presencia de vitamina C en harina y consiste en la aparición de puntos blancos sobre fondo rosa del reactivo sal sódica del 2.6 diclorofenol indofenol en medio ácido.

#### **Materiales y Equipos:**

- Caja de Petri de 65 cm<sup>2</sup>

#### **Reactivos:**

- Solución acuosa al 0.05 por 100 de la sal sódica del 2.6 diclorofenol indofenol.
- Solución acuosa al 5 por 100 de ácido metalfosfórico

**Procedimiento:** Extender 10 g de la muestra sobre una placa de vidrio compactándola de forma que quede bien uniforme. Rociar por completo con la disolución de ácido metalfosfórico y a continuación hacer lo mismo con la disolución de la sal sódica del 2.6 diclorofenol indofenol. Al cabo de unos minutos aparecen unos puntos blancos más o menos grandes sobre el fondo rosa.

### **7.2.9 Persulfato de Amonio (Método Cualitativo)**

**Fundamento:** Este método sirve para determinar la presencia de persulfato de amónico en harina y consiste en la aparición de manchas azules con la bencidina.

**Materiales:** Placa de Petri de 65 cm<sup>3</sup>

**Reactivos:** solución de bencidina en etanol al 1 por 100 (p/v)

**Procedimiento:** Extender 6 g de la muestra en la cápsula Petri. Añadir unos 3 ml de reactivo. Al cabo de unos minutos aparecen unas manchas azules.

### 7.2.10 Fósforo

**Fundamento:** Transformación de los compuestos fosforados en ortofosfatos y posterior valoración colorimétrica con fosfomolibdovanadato.

#### **Materiales y Equipos:**

- Espectrofotómetro o colorimétrico que permita lecturas a 430 nm
- Crisoles de porcelana de 35 mm de diámetro y de 45 mm de altura, sin tapadera
- Matraces aforados de 100 y 500 ml de capacidad
- Baño de agua
- Estufa de desecación con sensibilidad de  $\pm 1^\circ\text{C}$

#### **Reactivos:**

- Amoniaco concentrado de densidad  $\rho = 0.910 \text{ g/ml}$
- Solución de molibdato amónico al 10 por 100 (p/v): diluir 100 g de molibdato amónico en agua caliente; agregar 10 ml de amoniaco concentrado de  $\rho = 0.910 \text{ g/cm}^3$  para asegurar su conservación y completar hasta 100 ml con agua destilada.
- Ácido nítrico de densidad  $\rho = 1.38 \text{ g/ml}$
- Ácido nítrico al 10 por 100 (p/v): disolver 16 ml de ácido nítrico  $\rho = 1.38 \text{ g/cm}^3$ , hasta 100 ml con agua destilada.
- Solución de metavanadato de amonio: disolver 2.35g de metavanadato de amonio en 400 ml de agua destilada y caliente—añadir lentamente y agitando 20 ml de la disolución que contiene 7 ml de ácido nítrico  $\rho = 1.381 \text{ g/ml}$  y 13 ml de agua destilada.
- Reactivo nitromolibdonavato: mezclar 200 ml de la disolución de molibdato amónico al 10 por 100 y 200 ml de la solución de metavanadato de amonio con 131 ml de ácido nítrico  $\rho = 1.38 \text{ g/cm}^3$  o en su lugar 192 ml de ácido nítrico  $\rho = 1.331 \text{ g/ml}$
- Ácido clorhídrico concentrado de densidad  $\rho = 1.18 \text{ g/ml}$
- Solución patrón de fosforo: pesar 4.394 g de fosfato monopotásico, previamente desecado en estufa a  $100^\circ\text{C}$  durante unas 12 horas. Disolver en agua destilada y llevar a un volumen de 1000 ml en un matraz aforado 1 ml correspondiente a 1000  $\mu\text{g}$  de fosforo.

- Disoluciones patrones: tomar 10 ml de la solución anterior y diluir con agua destilada hasta enrase en un matraz aforado de 100 ml obteniéndose una concentración de 100 gammas de fósforo por mililitro. Tomar partes alícuotas de 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 y 2.5 y llevar a un volumen de 10 ml con agua destilada. Su concentración será de 5, 10, 15, 20, 25 gammas/ml. Añadir 10 ml de reactivo nitromolibdovanato y proceder como se describe en el método.

**Procedimiento:** Pesar con una aproximación de 10.1 mg de 0.3 a 1.5 g de muestra en un crisol previamente calcinado y tarado. Introducir el crisol en la mufla a una temperatura inferior a 100°C. Aumentar la temperatura paulatinamente hasta alcanzar los 550°C, mantener esta temperatura durante 2 horas. No se debe pasar de 550°C, para evitar decrepitaciones y volatilizaciones, ya que cuando existen cloruros en el producto a analizar, pueden afectar a los resultados. El tiempo que deben permanecer el crisol con la muestra en la mufla es variable y estará de acuerdo con la naturaleza y con la cantidad de la muestra. Suelen ser suficientes 2 horas, pero si transcurridos este tiempo las cenizas del crisol no presentan el color blanco grisáceo deseado, sacar el crisol de la mufla y dejar enfriar dentro de un desecador, añadiendo posteriormente unas gotas de agua o mejor, unas gotas de agua oxigenada de 50 volúmenes. Introducir el crisol en la estufa de desecación a 100°C para eliminar el agua oxigenada. Eliminada la humedad, introducir nuevamente el crisol en la mufla a 550°C. Dejar transcurrir el tiempo necesario hasta que las cenizas contenidas en el crisol alcancen el color deseado. Sacar el crisol de la mufla y llevar a un desecador con sustancias desecadoras. Dejar enfriar hasta la temperatura ambiente.

Obtenidas las cenizas, añadir en el crisol una cantidad de ácido clorhídrico concentrado hasta que las cenizas queden cubiertas. Evaporar el ácido clorhídrico en el baño de agua a ebullición, hasta sequedad, en un dispositivo adecuado para eliminación de vapores ácidos. Disolver el residuo en 3 ml de ácido nítrico al 10 por 100 y hervir en el baño de agua durante 5 minutos, utilizando el dispositivo adecuado para eliminación de los vapores ácidos. No se debe dejar secar el contenido para evitar la hidrólisis de los ortofosfatos que produciría reacciones coloreadas. Filtrar a través de papel, sobre un matraz aforado de 500 ml lavando con agua destilada los crisoles donde estaban contenidas las cenizas y diluir hasta el enrase.

Para desarrollar la reacción del color, colocar, en una cubeta o un tubo de espectrofotómetro o fotocolorímetro, 10 ml de disolución problema y añadir 10 ml de reactivo nitromolibdovanadato. Agitar, dejar reposar durante 10 minutos.

Efectuar la lectura espectrofotométrica o fotocolorimétrica a 430 nm, utilizando como blanco la mezcla de 10 ml de agua destilada y 10 ml de reactivo nitromolibdovanadato. La coloración amarilla desarrollada es estable durante varios días.

**Cálculos:** Leer el espectrofotómetro o fotocolorímetro y buscar su correspondencia en fósforo en la curva patrón.

$$\text{Fósforo\%} = \frac{f * 0.005}{p}$$

**Siendo:**

F= Concentración de fósforo, en gammas, encontrada en la curva patrón/10 ml disolución

P= Peso en gramos de la muestra empleada

### 7.2.11 Fibra bruta

**Fundamento:** Tratar la muestra, desengrasada si es necesario, con soluciones de ácido sulfúrico e hidróxido potásico de concentraciones conocidas. Separar el residuo por filtración, lavar desecar y pesar el residuo insoluble, determinar posteriormente su pérdida de masa por calcinación a 550°C

**Materiales y Equipos:**

- Material de vidrio de uso corriente en el laboratorio
- Crisol filtrante número 2
- Horno de mufla con termostato
- Desecador provisto de un deshidratante eficaz
- Estufa capaz de mantener constante la temperatura de 130°C±1°C
- Equipo filtrante

**Reactivos:**

- Solución de sulfúrico 0.26N: Disolver 1.25 g de ácido sulfúrico de  $d = 1.84$  y riqueza 96 por 100 en 10 ml de agua
- Antiespumante
- Solución de hidróxido potásico 0.23 N: Disolver 1.25 g de hidróxido potásico en 100 ml de agua
- Acetona pura
- Éter dietílico puro

**Procedimiento:**

- Pesar con precisión de un mg de 1 a 3 g de muestra y añadir 200 ml de ácido sulfúrico 0.26N y unas gotas de antiespumante. Llevar a ebullición y mantenimiento.
- Llevar a ebullición y mantenerla durante 30 minutos en un sistema de refrigeración a reflujo.
- Transcurridos los 30 minutos, filtrar sobre el crisol, previamente incinerado y lavar el residuo con agua caliente hasta que no de reacción ácida.
- Transferir cuantitativamente el residuo a un matraz adaptable al sistema de reflujo, añadir 200 ml de solución de hidróxido potásico 0.23 N y unas gotas de antiespumante. Llevar a ebullición y dejar hervir durante 30 minutos. Filtrar sobre crisol filtrante y lavar con agua caliente hasta que no de reacción alcalina.
- Deshidratar lavando tres veces con acetona, usando un volumen total de unos 100 ml.
- Llevar el crisol a la estufa y secarlo a  $130^{\circ}\text{C}$  durante 2 horas.
- Dejar enfriar en desecado y pesar rápido. Introducir a continuación el crisol en el homo y dejar calcinar durante 3 horas como mínimo a  $550^{\circ}\text{C}$ . Dejar enfriar en desecador y pesar rápidamente.

**Cálculos:**

$$\text{fibra bruta}\% = \frac{p_1 - p_2}{p_0} * 100$$

Po= Peso inicial de la muestra

P1= Peso del crisol conteniendo la muestra desecada

P2= Peso del crisol conteniendo la muestra calcinada

**Observaciones:**

Las muestras que contienen más de un 10 por 100 de materia grasa deben desengrasarse con éter etílico antes del análisis.

Para efectuar el procedimiento anterior podrá utilizarse sistemas automáticos o semiautomáticos, adaptándose a las especificaciones del equipo.

**7.3 LISTADO DE EQUIPOS**

1. Estufa isoterma de Calentamiento



2. Mufla



3. Balanza analítica



4. Kjeldahl



5. Soxhleh



6. Espectrofotómetro UV



7. Balanza de precisión



8. pH-metro



## 8. ANÁLISIS DE MARGARINA

### 8.1 Objetivos

- Calcular el contenido de cloruro de sodio mediante el método de Mohr en las margarinas.
- Determinar el contenido de agua, porcentaje de grasa, valor calórico, ceniza, índice de acidez, ácidos grasos libres y humedad en las margarinas.

### 8.2 INTRODUCCIÓN

Las margarinas se obtienen mediante procedimientos industriales a partir de grasas insaturadas de origen vegetal (margarina 100% vegetal) o bien a partir de grasas de origen animal y vegetal mezcladas (margarinas mixtas), con un porcentaje mínimo de materia grasa del 80% y un contenido máximo de agua del 16%. Además, las margarinas son grasas semisólidas con aspecto similar a la mantequilla, pero más untuosas.

Por otra parte, estas pruebas se han planeado con el objeto de entrenar al estudiante en el análisis de las margarinas. Así mismo, estos métodos fisicoquímicos permiten verificar el cumplimiento de las especificaciones de las margarinas.



### 8.3 CONTENIDO DE CLOURO DE SODIO: (MÉTODO DE MOHR)

En una balanza analítica (OHAUS) pesar entre 0.2 a 0.3 g de muestra en un Erlenmeyer. Luego agregar 100 ml de agua destilada agregándole 2 ml de Dicromato de potasio 5%, llevarlo a una titulación con nitrato de plata 0.1N (estandarizado), hasta obtener un viraje de color rojo ladrillo para determinar así el porcentaje de cloruro de sodio en la muestra por medio de la siguiente fórmula:

$$\%NaCl = \frac{Vml * N * meq\ de\ NaCl}{w\ muestra} * 100$$

**Donde:**

Vml = volumen de Nitrato de plata gastado.

N = normalidad del Nitrato de plata.

### 8.4 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE AGUA

El contenido de agua se determina mediante el método tradicional denominado EVAPORACIÓN HASTA PESO CONSTANTES, se pesa la muestra entre 1 a 2 gramos en una termo-balanza (OHAUS MB35 HALOGEN, después se programa el equipo para someterlo a calentamiento a 105°C hasta que el porcentaje de variación de la humedad sea constante se procede a hacer la lectura de la humedad expresada en porcentaje.

### 8.5 DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE GRASAS

Obtenido los resultados de los análisis de la determinación de cloruros y de la determinación de humedad se efectúa el cálculo del porcentaje de grasas por medio de la siguiente fórmula:

$$\% grasas = 100 - (\%de\ humedad + \% de\ cloruro\ de\ sodio)$$

## 8.6 PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE VALOR CALÓRICO

Para efecto de los cálculos del valor energético se considera para las grasas 9 calorías por gramo, y para las proteínas y carbohidratos 4 calorías por gramos entendiéndose que para este tipo de producto el % de proteínas y el % de carbohidratos serán iguales a cero por estar exento a estos. Así mismo, se entiende por caloría, la kilocaloría o calorías grande, equivalente a 4.18 kilocaloría.

## 8.7 CENIZA

Pesar 2 gramos de muestra en un crisol de porcelana previamente tarado. Colocar en una mufla y calcinar al rojo oscuro (500 - 550° C) manteniendo a esta temperatura durante 2 horas. Transferir el crisol directamente al desecador, dejar enfriar y pesar.

$$\%ceniza = \frac{\text{Peso del crisol secada} - \text{Peso del crisol vacío}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

## 8.8 DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE ACIDEZ Y ÁCIDOS GRASOS LIBRE

### Reactivos:

- Hidróxido de potasio 0.1N
- Solución indicadora de Fenolftaleína a 1%
- Alcohol neutralizado
- Agua destilada

**Procedimiento:** pesar 10g de muestra fundida en un Erlenmeyer. A continuación, añadir 100 ml de alcohol neutralizado caliente. Titular la mezcla resultante con hidróxido de potasio 0.1N usando fenolftaleína como indicador. Calcular la cantidad de ácidos grasos libres expresándolo en ácido oleico.

**Nota:** el alcohol neutralizado se prepara hirviendo 50 ml de etanol añadiendo unas gotas de fenolftaleína y titulando frente a hidróxido de potasio 0.1N.

**Cálculos:**

$$\text{índice de acidez} = \frac{Vt + Nt * 0.561}{\text{peso de la muestra}}$$

**Donde:** Vt y Nt son volumen gastado y normalidad de la solución titulante

$$\text{ácido graso libre} = \frac{Vt * Nt * \text{factor}}{\text{peso de la muestra (g)}} * 100$$

**Dónde:** Vt y Nt son volumen gastado y normalidad de la solución titulante.

Factores de los ácidos: ácido láurico: 0.00200 g/ml, ácido palmítico: 0.00256 g/ml, ácido oleico: 0.00282 g/ml.

**8.9 HUMEDAD****Materiales y Equipos:**

- Cápsula de porcelana
- Desecador provisto de un deshidratante eficaz
- Estufa de desecación

**Procedimiento:** pesar 5 g de muestra en una cápsula de porcelana previamente pesada, seguidamente, secar en la estufa a 105°C durante 2 horas hasta peso constante, enfriar en el desecador y pesar.

**Cálculos:**

$$\% \text{humedad} = \frac{B - A}{\text{Peso de la muestra}} * 100$$

**Donde:**

B= peso de la cápsula con la muestra

A= peso de la cápsula con la muestra seca

## 8.10 LISTA DE EQUIPOS

1. OHAUS MB35 HALOGEN



2. Mufia



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOCS CA 5a - 40 Official Method free fatty acid, Method iodine value of fats and oils  
wijijs method. Official Method Saponification value. Copyright The American Oil  
Chemist's Society. Urbana - Illinois. USA (2012)
- Análisis de los alimentos. Métodos analíticos y de control de calidad. Editorial. Acrilees.  
Edición 2003.
- INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS DE CERTIFICACIÓN. Grasas y aceites  
comestibles vegetales y animales, Margarinas y esparcibles para uso en mesa y  
cocina. Bogotá D.C.: ICONTEC, 2009. 10 h: il (NTC 241)
- STANDARD METHODS, 21 st. Edición 2005. Editado por Andrew A. ERTON; Tenores S.  
CLEGSEN; Eugene W. RICE; Arnold E., GREENBERY: Publication Office: American  
Public Health Association 800 I Street N.W. Washington, 2001. 3/10 pig.
- STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER. 22 ND. Edición  
2012.
- Norma del CODEX para aceites especiales especificados, CODEX STAN 2000 6. INSTITUTO  
COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS DE CERTIFICACIÓN. Grasas y Aceites  
vegetales y animales. Determinación del índice de acidez. Bogotá D.C.: ICONTEC,  
2000. (NTC 218)

- Manual de métodos analíticos para el control de calidad de la industria alimentaria 2005.
- Pearson d. Técnicas de laboratorio para el análisis de alimentos. Quinta edición 2013.
- Fennema o.r. Introducción a la ciencia de los alimentos. Tercera edición 2010.
- INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS DE CERTIFICACIÓN, Determinación del contenido de grasas. Bogotá D.C.: ICONTEC, 2000. (NTC 1142)
- Ligia niño., p., Dorys López manual de análisis cárnicos Santa fe de Bogotá 2001
- INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS DE CERTIFICACIÓN. Carnes y productos cárnicos. Métodos para determinar el contenido de nitrógeno Métodos de referencia y de rutina), Bogotá D.C.: ICONTEC, 2008. 9 h: il (NTC 1556)
- COLOMBIA MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. Decreto 1575 (09 MATO 2007). Por el cual se establece el sistema para la protección y control de la calidad SSda para consumo humano. DIARIO OFICIAL. Bogotá D.C 2007: Edición 46623
- COLOMBIA MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL, Resolución número 2115 (22 de JUNIO de 2007). Por medio de la cual se señalan características instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano. Bogotá DC 2007.
- American water Works Association, Standard Methods for the Examination or Water and Waste wather, 21 st Edition, American Public Works Association. Water Enviroment Federation, 2005, 1368 pig. ISBN 0875530478.
- Estándar methods for examination of waste water edition 21 apha-awwa-wpcf 2011
- Análisis de agua para consumo humano. Laboratorio red salud ambiental. Santa Fe de Bogotá, D:C., Colombia, 2000.
- INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS DE CERTIFICACIÓN. Zumos (jugos), néctares, purés (pulpa) y concentrado de frutas. Bogotá D.C.: ICONTEC, 2007. 22 h: il (NTC 5468)
- INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS DE CERTIFICACIÓN. Frutas procesadas. Mermeladas y jalea de frutas. Bogotá D.C.: ICONTEC, 2007. 9 h: il (NTC 285)
- INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS DE CERTIFICACIÓN industrias alimentarias jarabe de glucosa. Bogotá D.C.: ICONTEC, 2001, (NTC 610)
- Valencia F. Enología: Vinos, aguacates y licores. España: 1 edición. Editorial Vértice: 2010.
- INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS DE CERTIFICACIÓN, Bebidas alcohólicas, vinos de frutas. Bogotá D.C.: ICONTEC, 2000. 6 h: il (NTC 708)
- INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS DE CERTIFICACIÓN. Productos lácteos. Mantequilla. Bogotá D.C.:2000 (NTC 734)

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS DE CERTIFICACIÓN. Productos Lácteos. Leches fermentadas. Bogotá D.C.: ICONTEC, 2005. 16 h: il (NTC 805)

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS DE CERTIFICACIÓN. Productos lácteos. Cremas. Bogotá D.C.: ICONTEC, 2008. 13 h: il (NTC 930)

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS DE CERTIFICACIÓN. Industrias alimentarias. Mayonesa, salsa o aderezo tipo mayonesa. Bogotá D.C.: ICONTEC, 2012. 9 h: il (NTC 1756)

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS DE CERTIFICACIÓN. Productos lácteos. Leche en polvo. Bogotá D.C.: ICONTEC, 2002. 21 h: il (NTC 1036)

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS DE CERTIFICACIÓN. Cereales y productos cereales. Determinación del contenido de humedad. Bogotá D.C.: ICONTEC, 2009. 18 h: il (NTC 529)

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS DE CERTIFICACIÓN. Alimentos y materias primas. Determinación de los contenidos de grasa y fibra cruda. Bogotá D.C.: ICONTEC, 2001. (NTC 668)

# MANUAL DE LABORATORIO

NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA

*Por*

*Genisberto Enrique Barreto Rodriguez*

*Nuris Guillermina Morales Pinto*

“

Especialista en Química Universidad Industrial de Santander. Químico Farmacéutico Universidad del Atlántico. Docente Titular de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad del Atlántico. Integrante de los grupos de investigación GITECFAR de la facultad de Química y Farmacia y del GRIINSAN de la Facultad de Nutrición y Dietética. Coordinador del semillero SEDAL (Seguridad Alimentaria).

**GENISBERTO ENRIQUE BARRETO RODRIGUEZ**

AUTOR

“

Doctora en Ciencias Agrarias Universidad del Zulia Venezuela. Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos Universidad de Puerto Rico Recinto Universitario de Mayagüez. Química Farmacéutica Universidad del Atlántico. Docente Tiempo Completo y Coordinadora del Grupo de Investigación Agroindustrial de la Facultad de Ingeniería de la Universidad del Atlántico

**NURIS GUILLERMINA MORALES PINTO**

AUTOR



Sello Editorial  
**UNIVERSIDAD  
DEL ATLÁNTICO**

[www.uniatlantico.com](http://www.uniatlantico.com)  
Universidad del Atlántico  
Puerto Colombia, Colombia  
Carrera 30 Número 8- 49

ISBN 978-958-5173-66-8



9 789585 173668