

Química de alimentos

Manual de laboratorio

*Carlos H. Herrera R.
Nuria Bolaños V.
Giselle Lutz C.*

Química de alimentos

Manual de laboratorio

*Carlos H. Herrera R.
Nuria Bolaños V.
Giselle Lutz C.*

664.07

H565q Herrera Ramírez, Carlos Hernán.

Química de alimentos : manual de laboratorio / Carlos H. Herrera, Nuria Bolaños V., Giselle Lutz C. – Primera edición digital. – San José, Costa Rica : Editorial UCR, 2021.

1 recurso en línea (xii, 142 páginas) : ilustraciones en blanco y negro, diagrama en blanco y negro, archivo de texto, PDF, 2.82 MB.

ISBN 978-9968-02-031-2

1. ALIMENTOS – ANÁLISIS – MANUALES DE LABORATORIO.
2. COMPOSICIÓN DE LOS ALIMENTOS – MANUALES DE LABORATORIO. I. Bolaños Vives, Nuria, autora. II. Lutz Cruz, Giselle, autora. III. Título.

CIP/3768

CC.SIBDI.UCR

Las opciones de resaltado del texto, anotaciones o comentarios dependerán de la aplicación y dispositivo en que se realice la lectura de este libro digital.

Edición aprobada por la Comisión Editorial de la Universidad de Costa Rica.

Primera edición impresa: 2003.

Segunda reimpresión: 2017.

Primera edición digital (PDF): 2021.

Editorial UCR es miembro del Sistema Editorial Universitario Centroamericano (SEDUCA), perteneciente al Consejo Superior Universitario Centroamericano (CSUCA).

Diseño de portada: *Daniel Villalobos*.

Realización del libro digital: *Everlyn Sanabria R.* • Control de calidad de la versión digital: *Elisa Giacomini V.*

© Editorial de la Universidad de Costa Rica. Todos los derechos reservados. Prohibida la reproducción de la obra o parte de ella, bajo cualquier forma o medio, así como el almacenamiento en bases de datos, sistemas de recuperación y repositorios, sin la autorización escrita del editor.

Edición digital de la Editorial Universidad de Costa Rica. Fecha de creación: octubre, 2021

Universidad de Costa Rica. Ciudad Universitaria Rodrigo Facio. San José, Costa Rica.

Apdo. 11501-2060 • Tel.: 2511 5310 • Fax: 2511 5257

administracion.siedin@ucr.ac.cr • www.editorial.ucr.ac.cr

Un agradecimiento muy especial al *M.Sc. Jenaro Acuña G.*,
Profesor de la Escuela de Química de la Universidad de Costa Rica,
por su dedicación y esfuerzo en la revisión y valiosos aportes
para la publicación de este libro.

ÍNDICE GENERAL

Presentación	xi
I- AGUA	1
1.1- Determinación de la actividad del agua (<i>A_w</i>) de un alimento ...	1
II- CARBOHIDRATOS	4
2.1- Identificación de azúcares por cromatografía de capa fina	4
2.2- Extracción del almidón de diferentes tejidos vegetales y estudio de algunas de sus propiedades	7
2.3- Determinación de la pureza y el grado de ramificación del almidón.	13
2.4- Pardeamiento no enzimático o reacción de Maillard en sistemas modelo.	19
III- ACEITES Y GRASAS	22
3.1- Propiedades generales de los lípidos	22
3.2- Evaluación físico-química de aceites y grasas	27
IV- PROTEÍNAS	33
4.1- Técnicas de separación de proteínas	33
4.2- Determinación de proteínas	36
V- ENZIMAS	39
5.1- Reacción de pardeamiento enzimático: Cinética de la polifenoloxidasa	39
5.2- Cinética enzimática: Determinación de la velocidad de hidrólisis de la grasa de la leche por la lipasa pancreática ...	43
5.3- Inmovilización de enzimas: Inmovilización de invertasa para la obtención de jarabes de azúcar invertido.	45
5.4- Propiedades catalíticas de la ureasa	49
VI- ADITIVOS	54
6.1- Aditivos utilizados en la industria alimentaria	54
6.2- Colorantes naturales y sintéticos	58

VII-	PRODUCTOS CÁRNICOS	61
7.1-	Estructura del tejido muscular.	61
7.2-	Composición química del tejido muscular de diferentes especies animales	64
7.3-	Evaluación física y sensorial de la calidad de la carne.	69
7.4-	Elaboración de un embutido en una planta piloto (salchicha tipo "Frankfurt")	72
VIII-	PESCADOS Y MARISCOS	79
8.1-	Evaluación de la calidad del pescado fresco.	79
8.2-	Evaluación de la calidad del camarón fresco	86
8.3-	Evaluación de la calidad de moluscos bivalvos.	89
IX-	PRODUCTOS LÁCTEOS.	92
9.1-	Composición química y evaluación de la calidad de la leche ...	92
9.2-	Elaboración de productos lácteos (queso fresco).	98
X-	HUEVOS	104
10.1-	Evaluación de la calidad de los huevos de gallina	104
XI-	CEREALES	107
11.1-	Estructura de los granos de cereales y estudio de las propiedades de las harinas de trigo	107
XII-	LEGUMINOSAS	111
12.1-	Separación y cuantificación de los componentes del frijol de soya	111
12.2-	Inhibidores de proteasas presentes en las leguminosas.	114
XIII-	FRUTOS	119
13.1-	Evaluación del proceso de maduración de un fruto	119
13.2-	Reacciones de pardeamiento enzimático.	122
13.3-	Evaluación de la calidad del café	126
13.4-	Evaluación de la calidad de productos a base de cacao	129
XIV-	FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	134
14.1-	Evaluación del proceso de fermentación alcohólica	134
	Índice de cuadros	139
	Índice de figuras	141
	Acerca de los autores	143

PRESENTACIÓN

El propósito fundamental del libro "QUÍMICA DE ALIMENTOS" ha sido el de ofrecer al estudiante un manual de prácticas de laboratorio para que sea utilizado en cursos de Química de Alimentos.

La Química de Alimentos es una disciplina que se basa en los principios de Química Física, Química Orgánica, Química Analítica y Química Biológica, enfatizando en la comprensión de los conceptos químicos necesarios para establecer las relaciones entre la composición química y las propiedades funcionales, nutricionales y organolépticas de los alimentos. Los avances en este campo de la ciencia han tenido un efecto relevante en el entendimiento de diferentes aspectos de la Ciencia y Tecnología de los Alimentos, decisivos en el mejoramiento de la cantidad, calidad y disponibilidad de los diversos grupos de alimentos.

Este libro plantea, primeramente, el estudio de los componentes más usuales en las diferentes matrices encontradas en los alimentos, a saber, agua, carbohidratos, lípidos, proteínas, enzimas, vitaminas, minerales y aditivos. Se da importancia a los cambios físicos, químicos, microbiológicos y organolépticos manifestados por esos componentes durante el procesamiento y manipulación de los alimentos. Posteriormente, se desarrolla la temática alrededor de los grupos de alimentos más comúnmente utilizados por el hombre: carne y productos derivados; pescado y mariscos; huevos; leche y productos derivados; cereales; leguminosas; frutas y productos derivados, verduras y hortalizas. Componentes importantes son las diferentes técnicas de procesamiento y almacenamiento de esos alimentos, los cambios experimentados por estos, el alargamiento de su vida útil y la evaluación de su calidad.

Se ha hecho un esfuerzo para proveer experimentos aplicados, e interesantes, que muestren al estudiante, en forma práctica, los conceptos desarrollados en los cursos teóricos. Dichos experimentos han sido probados y modificados con la experiencia generada por los autores, a través de varios años de labor en el área de los alimentos. El libro "QUÍMICA DE ALIMENTOS Manual de laboratorio" recopila toda esa información, y es interés de los autores que sea una herramienta útil en la formación práctica de los profesionales relacionados con el área de alimentos.

La ejecución de estos experimentos en el laboratorio requiere de un estudiante con una sólida formación en Química General, Orgánica, Analítica y Bioquímica, y con destrezas en el uso de técnicas volumétricas, gravimétricas e instrumentales de análisis.

Cada práctica de laboratorio está precedida de una introducción teórica, que le permitirá al estudiante comprender los conceptos básicos ilustrados en el experimento, así como interpretar los resultados obtenidos. Algunas de las prácticas introducen al estudiante en el uso de técnicas de laboratorio comúnmente utilizadas en el desarrollo de proyectos de investigación básica y aplicada.

Agradeceremos a quienes utilicen este libro, nos ofrezcan recomendaciones que permitan ampliar y actualizar más esta obra.

Muchas gracias.

Carlos H. Herrera R.

Nuria Bolaños V.

Giselle Lutz C.

I. AGUA

1.1- DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DEL AGUA (A_w) DE UN ALIMENTO

OBJETIVOS

- 1- Determinar el contenido de humedad y la actividad del agua de diferentes alimentos.
- 2- Evaluar la variación de la actividad del agua con el contenido de humedad de un alimento.

INTRODUCCIÓN

Los tejidos animales y vegetales contienen agua en diferentes proporciones, distribuida de una manera muy compleja y heterogénea. Las proteínas, los carbohidratos y los lípidos contribuyen a la formación de complejos hidratados de alto peso molecular dentro de estos tejidos y cuya caracterización y cuantificación en un alimento es difícil de efectuar.

En general, el contenido de humedad de un alimento es el agua total que contiene, sin considerar que en la mayoría de los alimentos existen zonas o regiones microscópicas que, debido a su composición química, no permiten la presencia del agua, lo cual provoca una distribución heterogénea a través del producto.

El agua no sólo contribuye a las propiedades reológicas y de textura de un alimento, sino que a través de sus interacciones con los diferentes componentes determina el tipo de reacciones químicas que se pueden suscitar en el alimento.

El término "actividad del agua" establece el grado de interacción del agua con los demás constituyentes de los alimentos, y es una medida indirecta del agua disponible para llevar a cabo las diferentes reacciones a las que están sujetas estas sustancias químicas o para el desarrollo microbiano. Matemáticamente, se define como:

$$A_w = \frac{P}{P^0} = \frac{\% \text{ HR}}{100}$$

P = Presión de vapor del agua del alimento a una temperatura T.

P⁰ = Presión de vapor del agua pura a la misma temperatura.

% HR = Humedad relativa de equilibrio del alimento, a la cual no se gana ni se pierde agua.

2 *I-Agua*

PROCEDIMIENTO

Determinación del contenido de humedad de un alimento (balanza de humedad)

- 1- Subdividir finamente la muestra del alimento por ser analizado. Para tal efecto, utilizar un cuchillo, un mortero con pistilo, o un homogeneizador de alta velocidad.
- 2- Colocar en la balanza de humedad el platillo portamuestras y ajustar el cero de la balanza con la perilla de calibración.
- 3- Pesar 10,0 g del alimento, previamente homogeneizado.
- 4- Ajustar el grado de calentamiento de la lámpara, de modo que el alimento no se caramelize o se calcine. Observar en la escala de la balanza de humedad la disminución gradual en la masa de la muestra (debido a la pérdida de agua) y el aumento en el contenido porcentual de humedad. Este calentamiento puede requerir de 1 a 2 horas y depende de la intensidad del calentamiento y del contenido de agua del alimento.

Determinación de la actividad del agua de un alimento

- 1- Colocar suficiente cantidad de dos sales de referencia, una con alta y otra con baja actividad del agua (*Cuadro 1.1*), en sendos recipientes de 250 mL, con tapa hermética debidamente rotulados con el nombre de la sal de referencia utilizada y su correspondiente actividad del agua. Agregar suficiente agua en cada recipiente hasta obtener, conjuntamente con la sal, una mezcla saturada. Colocar un plato provisto de perforaciones sobre la mezcla de sal más agua, para evitar el contacto de la muestra con la sal de referencia.
- 2- Construir seis "portamuestras" con papel de aluminio y rotularlos en la forma adecuada. Pesar exactamente 0,1-0,2 g ($\pm 0,0001$ g) del alimento en cada portamuestra. Introducir tres de las muestras dentro de cada uno de los recipientes con las sales de referencia escogidas. Taparlos y mantenerlos a temperatura ambiente (25 °C) por un período no menor de 24 horas. Después de este tiempo, la humedad relativa del alimento se ha equilibrado con la humedad relativa de las sales de referencia.
- 3- Pesar de nuevo las muestras y calcular la masa de agua perdida o ganada por cada una de ellas. Calcular el % (m/m) de agua ganado o perdido por el alimento.
- 4- Graficar el A_w de las sales de referencia contra el porcentaje de agua ganado o perdido por la muestra. Trazar una línea recta entre ambos puntos; el intercepto con el eje X es el A_w de la muestra analizada (*Figura 1.1*).
- 5- Recopilar los resultados obtenidos por sus compañeros para los diferentes alimentos analizados y construir un gráfico que muestre la variación de la actividad del agua con el contenido de humedad de cada alimento.
- 6- La actividad del agua (A_w) puede ser medida utilizando un higrómetro en el cual se determina el % H.R. (Humedad Relativa) de la muestra y del agua pura (100% H.R.) a la misma temperatura.

7- Para evaluar la estabilidad del producto al ataque de microorganismos, veáse el Cuadro 1.2 .

BIBLIOGRAFÍA

1. Badui, S. **Química de los Alimentos**. Editorial Alhambra Mexicana, S.A. México. 1981; pp. 28-33.
2. Herrera, C. **Manual de Laboratorio: Evaluación de la calidad de pescado, mariscos y productos pesqueros**. UNA: Heredia. 1989; pp. 64-67.

Cuadro 1.1

Actividad del agua (A_w) de algunas sales de referencia

Sal de referencia	A_w (25° C)	A_w (30° C)
MgCl ₂	0,328	0,324
K ₂ CO ₃	0,432	0,432
NaNO ₃	0,743	0,731
KBr	0,809	0,803
KCl	0,843	0,836
KNO ₃	0,936	0,923
K ₂ SO ₄	0,973	0,970

Cuadro 1.2

A_w mínima requerida para el crecimiento de microorganismos

Microorganismo	A_w
Bacterias	0,91
Levaduras	0,88
Mohos	0,80
Bacterias halófilas	0,75
Mohos xerófilos	0,65
Levaduras osmófilas	0,60

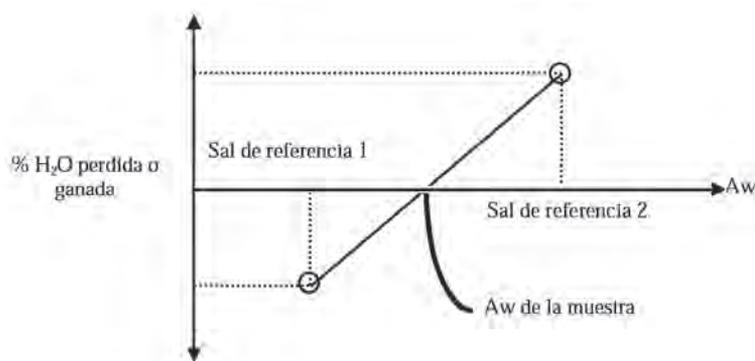


Figura 1.1. Determinación de la actividad del agua en un alimento, utilizando sales de referencia

II. CARBOHIDRATOS

2.1- IDENTIFICACIÓN DE AZÚCARES POR CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA

OBJETIVOS

- 1- Estudiar un método de identificación cualitativa de azúcares por la técnica de cromatografía de capa fina.
- 2- Evaluar la presencia de diversos azúcares en diferentes matrices de productos alimenticios.
- 3- Evaluar el uso de diferentes enzimas de interés comercial utilizadas en la hidrólisis de oligosacáridos y polisacáridos.

INTRODUCCIÓN

La cromatografía en papel o en capa fina son métodos útiles para la separación y caracterización de pequeñas cantidades de compuestos, dada la distribución de los componentes de la mezcla entre dos fases: Una fija (fase estacionaria) y otra móvil (fase móvil). La separación se logra porque algunas sustancias son más fuertemente retenidas por la fase estacionaria, mientras que otras se desplazan mejor en la fase móvil.

La caracterización de los compuestos se realiza comparando la migración (R_f)¹ de sustancias desconocidas con la migración de un compuesto patrón. En un sistema particular de disolventes, el R_f es característico de cada sustancia, y es así posible identificar los compuestos desconocidos en un determinado alimento. Frecuentemente, comparando la migración (R_f) de sustancias desconocidas con la migración de compuestos patrón, en un sistema particular de disolventes, es posible identificar tentativamente los compuestos que se encuentran presentes en un determinado alimento.

En la industria alimentaria, es común el uso de monosacáridos y disacáridos como agentes edulcorantes (*Figura 2.1*), destacando en importancia la glucosa, fructosa y sacarosa. Con menor frecuencia es posible encontrar galactosa, lactosa y maltosa. El uso de polisacáridos, como los almidones, pectinas, derivados de la celulosa, en algunos productos alimenticios es, también, bastante frecuente. En este caso particular, las reacciones de hidrólisis enzimática permiten la obtención de los azúcares correspondientes. Los azúcares mencionados pueden ser identificados por la técnica de cromatografía de papel o capa fina.

Reacciones específicas de color pueden usarse para detectar e identificar compuestos en cromatogramas de papel. Por ejemplo, los azúcares reductores dan productos coloreados cuando reaccionan con ftalato ácido de anilina: Las aldohexosas forman manchas de color café y las aldopentosas manchas rojas.

1. R_f : Distancia recorrida por el soluto/distancia recorrida por el disolvente.

Una mezcla de anisaldehído y ácido sulfúrico es utilizada como revelador universal para productos naturales y por ende en la identificación de azúcares, los cuales pueden ser detectados en cantidades tan pequeñas como 50 nanogramos. Los productos coloreados formados presentan diversas tonalidades: Amarillo, violeta, azul y negro sobre un entorno rojizo.

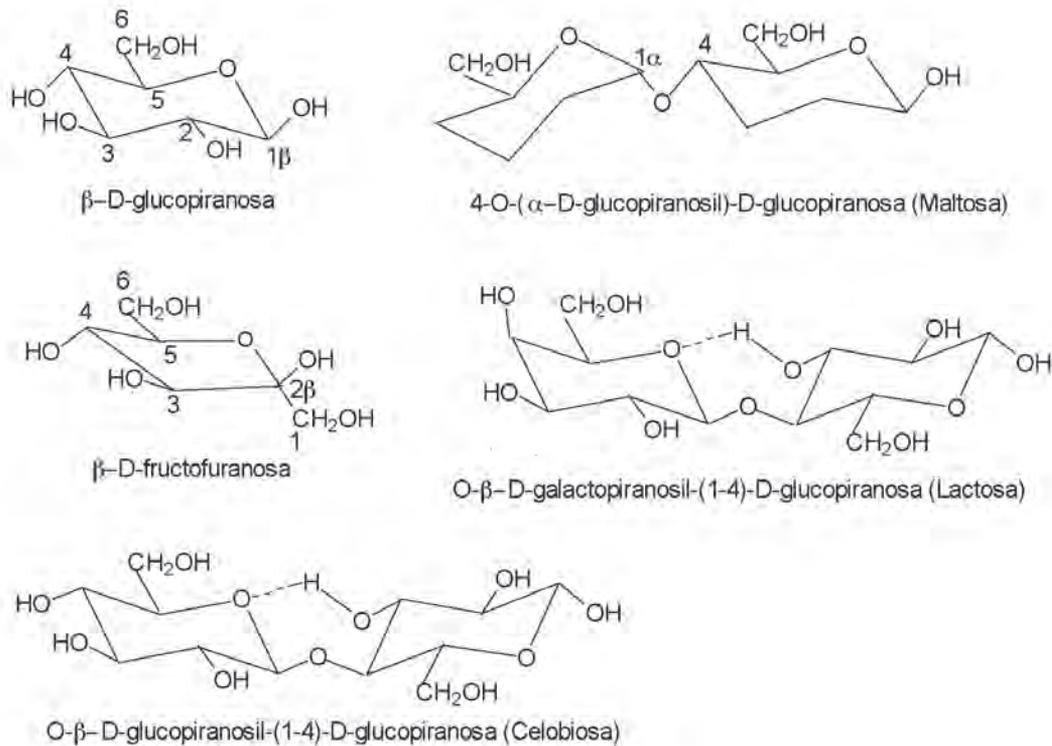


Figura 2.1. Estructura química de algunos monosacáridos y disacáridos

PROCEDIMIENTO

- 1- Colocar en un tanque de cromatografía una mezcla de acetonitrilo: agua (85:15; v/v), para formar una capa de 1 cm de espesor. Tapar el tanque de cromatografía y esperar 30 minutos para que la cámara cromatográfica se sature con la mezcla de disolventes indicada (equilibrio líquido-vapor).
- 2- Utilizar cromatoplacas de 20 x 20 cm, de gel de sílice y con un espesor de 0,2 mm. Trazar suavemente con lápiz una línea a 1 cm del borde inferior, y sobre esa línea marcar puntos equidistantes (separados 1,5 - 2 cm uno de otro). Dejar una distancia de 1 cm a cada borde lateral.
- 3- Utilizar un capilar para aplicar una gota (0,05 mL) de cada una de las disoluciones 0,1 M de los azúcares que se utilizarán como patrones: D-glucosa, D-fructosa, D-galactosa, sacarosa, maltosa y lactosa.
- 4- Aplicar en igual forma, los extractos o preparados de azúcares presentes en las diferentes matrices alimentarias.

6 *II-Carbohidratos*

5- Preparar las diversas matrices en la siguiente forma:

Matriz A: Disolver un confite de su elección en 10 mL de agua.

Matriz B: Verter el contenido interno de dos chocolates rellenos y mezclar con 10 mL de agua.

Matriz C: Enjuagar su boca con agua destilada. Posteriormente, enjuagar su boca con una disolución de almidón al 1% (m/v) (con este procedimiento se incorpora la amilasa de la saliva a la disolución de almidón). Verter esta disolución en un vaso de precipitados y dejarla en reposo por 12 horas a temperatura ambiente (hasta hidrólisis completa del almidón).

Matriz D: Pesar 1 g de miel de abeja y mezclar con 10 mL de agua.

Matriz E: Pesar 1 g de jarabe o sirope de "pancakes" y mezclar con 10 mL de agua.

Matriz F: Mezclar 10 mL de una disolución de sacarosa al 1% (m/v) con 1 mL de una disolución de invertasa (0,2 g/L). Dejar en reposo durante 12 horas a temperatura ambiente.

Matriz G: Pesar 10 g de leche evaporada y descremada. Agregar 1 mL de una disolución de lactasa (0,2 g/L). Dejar en reposo durante 12 horas a temperatura ambiente.

6- Colocar la cromatoplaque en el tanque de cromatografía. Desarrollar el cromatograma, hasta que el frente del disolvente se encuentre a 1 cm del borde superior. Sacar la cromatoplaque de la cámara cromatográfica y marcar el frente del disolvente. Secar la cromatoplaque a temperatura ambiente o en una corriente de aire.

7- Revelar la cromatoplaque por aspersion con el reactivo de anisaldehído y ácido sulfúrico (bajo condiciones de enfriamiento, agregar 8 mL de ácido sulfúrico concentrado y 0,5 mL de anisaldehído a una mezcla de 85 mL de metanol y 10 mL de ácido acético glacial). Realizar esta operación en la capilla o extractor de gases. Evitar una cantidad excesiva de este reactivo sobre la cromatoplaque. Calentar la cromatoplaque en una estufa a 100-105° C por 5-10 minutos para desarrollar las manchas coloreadas.

8- Determinar el R_f de los azúcares utilizados como patrón y por comparación determinar tentativamente la presencia de esos azúcares en las diferentes matrices.

BIBLIOGRAFÍA

1. Acuña, F. **Prácticas de laboratorio para los cursos de Química Orgánica**. Universidad de Costa Rica, Ciudad Universitaria "Rodrigo Facio." 1993. pp. 51-66.
2. Hellmut, J.; Funk, W.; Fischer, W. y H. Wimmer. **Thin-Layer Chromatography: Reagents and Detection Methods**. Volume 1°. VCH. Germany. 1990; pp.195-197.
3. Rodríguez, J. y L. Rojas. **Manual de Prácticas de Bioquímica**. Editorial de la Universidad de Costa Rica. UCR. 1987; pp. 117-121.

2.2- EXTRACCIÓN DEL ALMIDÓN DE DIFERENTES TEJIDOS VEGETALES Y ESTUDIO DE ALGUNAS DE SUS PROPIEDADES

OBJETIVOS

- 1- Extraer y cuantificar el contenido de almidón presente en un tejido vegetal (tubérculos o cereales).
- 2- Estudiar algunas de las propiedades del almidón obtenido.

INTRODUCCIÓN

El almidón es el carbohidrato de reserva más abundante en los tejidos vegetales. Se encuentra en grandes cantidades en los tubérculos y semillas de cereales y leguminosas, de donde puede obtenerse fácilmente en forma de gránulos, característicos por su forma y tamaño (*Figura 2.2*). Después de un proceso de molienda o trituración adecuado, el almidón se extrae por arrastre con agua, aprovechando la diferencia en densidad presentada por los gránulos de almidón respecto a la fibra, lípidos y proteínas del tejido vegetal.

El almidón es un polisacárido que contiene alrededor de un 20% de una fracción insoluble en agua llamada amilosa y un 80% de una fracción soluble denominada amilopectina. Ambas fracciones están constituidas por unidades de α -D-glucosa, pero difieren en el tamaño y la configuración molecular.

Todos los polisacáridos son hidrolizados en sus constituyentes monosacáridos por la acción de ácidos diluidos. Como el almidón es un polímero de la α -D-glucosa, es de esperar que por hidrólisis completa se obtenga D-glucosa como producto final. Esta hidrólisis se puede llevar a cabo en forma enzimática, utilizando α -amilasas y β -amilasas o por la acción de la amilasa presente en la saliva.

La hidrólisis del almidón sucede en varias etapas; primero se obtienen las dextrinas (polisacáridos de menor masa molecular), luego la maltosa y por último la glucosa. Esta hidrólisis se puede demostrar de dos maneras diferentes:

- a) Por la desaparición del color azul característico de la prueba del yodo-yoduro.
- b) Por la aparición de D-glucosa, un azúcar reductor, el cual puede ser detectado con los reactivos de Benedict, Fehling y otros.

8 *II-Carbohidratos*

PROCEDIMIENTO

Extracción y cuantificación del contenido de almidón de un tejido vegetal

- 1- Con un cuchillo, eliminar la cáscara o cubierta externa del tejido vegetal asignado. Cortar el tejido vegetal en trozos pequeños (1 cm).
- 2- Pesar 100 g del tejido vegetal libre de cáscara y colocarlos en un homogeneizador de alta velocidad. Agregar 100 mL de agua destilada y homogeneizar a alta velocidad.
- 3- Filtrar sobre gasa o manta fina (dos dobleces). Lavar en forma exhaustiva con agua las partículas más gruesas retenidas en la gasa, con el fin de arrastrar el almidón presente.
- 4- Dejar en reposo la mezcla filtrada. Decantar el agua y proceder a lavar con agua el sedimento de almidón. En lugar de decantar, puede resuspender el almidón en agua y centrifugar varias veces.
- 5- Hacer en forma sucesiva dos lavados con etanol al 95% (v/v), un lavado con acetona y dos más con éter etílico, en igual forma que con los lavados con agua.
- 6- Resuspender el almidón en la mínima cantidad de éter etílico y transferir, en forma cuantitativa, a una caja de Petri prepesada y seca.
- 7- Secar en una estufa a una temperatura de 50°C. Dejar enfriar. Pesar la caja de Petri y su contenido. Determinar por diferencia la masa de almidón obtenida. Calcular el % (m/m) de almidón en el tejido vegetal asignado.
- 8- Transferir el almidón obtenido a un frasco con tapa (vial) y almacenarlo en un desecador con cloruro de calcio anhidro. El producto obtenido será utilizado en la determinación del grado de pureza y ramificación del almidón.

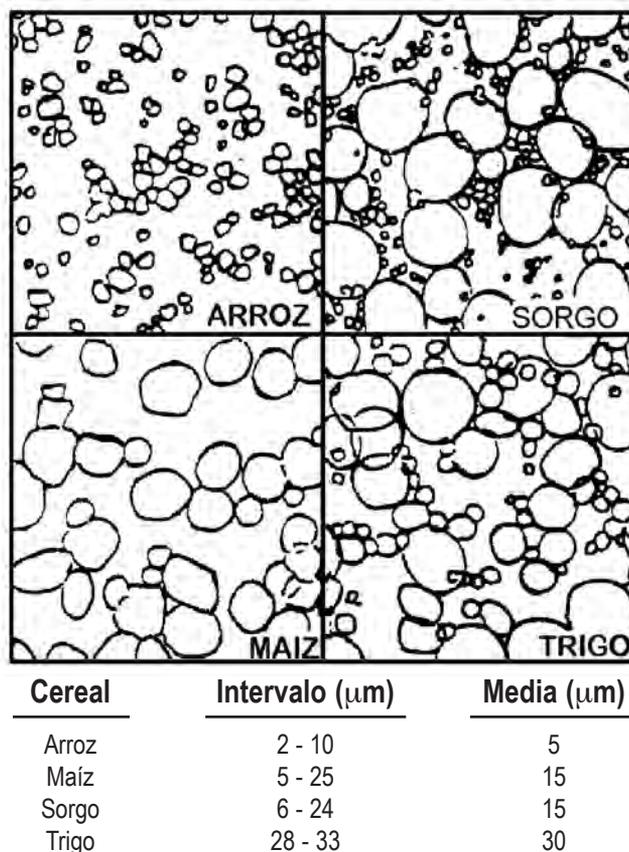


Figura 2.2. Forma y tamaño de los gránulos de diferentes clases de almidón utilizados en la industria alimentaria

Propiedades generales del almidón obtenido

- 1- Pesar 3,0 g del almidón obtenido y agregar con probeta 100 mL de agua. Examinar en el microscopio la forma y el tamaño de los gránulos de almidón. Para facilitar la observación microscópica, puede teñir los gránulos de almidón con una disolución de yodo-yoduro. Observar la apariencia de los gránulos de almidón provenientes de otros tejidos de vegetales preparados por sus compañeros. Anotar sus observaciones.
- 2- Calentar la dispersión anterior, hasta lograr la disolución completa del almidón. Enfriar la dispersión del almidón en agua en un baño de hielo. Observar la formación de un gel. Comparar sus resultados con los obtenidos por sus compañeros y describir sus observaciones en el cuaderno de laboratorio.
- 3- Realizar las pruebas de Molisch, de Benedict y del yodo-yoduro con la dispersión de almidón obtenida anteriormente. Anotar los resultados correspondientes.
- 4- Calentar en baño María el tubo de ensayo que contiene la prueba de yodo-yoduro hasta observar la desaparición del color azul característico. Dejar enfriar a temperatura ambiente. Observar y anotar los cambios en la coloración.

10 *II-Carbohidratos*

Hidrólisis ácida y enzimática del almidón

- 1- Hidrolizar la dispersión de almidón obtenido como se describe a continuación:
 - a) Colocar 25 mL de la dispersión de almidón al 3,0% (m/v) en un frasco cónico de 100 mL y añadir 5,0 mL de disolución de HCl 3 M. Colocar el frasco en un baño de agua hirviendo.
 - b) Colocar 25 mL de la dispersión de almidón al 3,0% (m/v) y añadir 5,0 mL de una disolución de amilasa salival. Colocar este frasco en un baño de agua a 37° C.
- 2- Durante la hidrólisis ácida y enzimática del almidón, debe efectuar la prueba de coloración del yodo-yoduro cada 5 minutos: Añadir a 5 mL de agua contenidos en un tubo de ensayo, una gota de la disolución de yodo-yoduro y 0,5 mL de cada uno de los hidrolizados de almidón. Observar y anotar los cambios de coloración obtenidos. Continuar la hidrólisis del almidón hasta obtener una prueba negativa, con la disolución de yodo-yoduro.
- 3- Cuando la prueba del yodo-yoduro sea negativa, efectuar la prueba de Benedict para azúcares reductores. Comparar el resultado con el obtenido cuando la prueba de Benedict se aplicó al almidón sin hidrolizar. Anotar los resultados correspondientes.

Prueba de Yodo-Yoduro

El almidón y las dextrinas producen color con una disolución de yodo y yoduro de potasio. Este color puede ser azul, púrpura o rojizo, según sea el grado de hidrólisis de la macromolécula.

Las unidades de α -D-glucosa en la amilosa forman una hélice con seis unidades del monosacárido en cada vuelta. El color azul característico desarrollado por el almidón en presencia de yodo-yoduro se cree que es debido a un complejo que se forma cuando se retiene la especie I_3^- en el interior de la espiral del poliglucósido.

Procedimiento

En un tubo de ensayo, colocar 0,5 mL de la disolución de almidón. Posteriormente, adicionar 3 ó 4 gotas del reactivo de yodo-yoduro. Observar el cambio de color.

Prueba de Molisch

Todos los carbohidratos reaccionan con el reactivo de Molisch y producen una disolución color púrpura. Esto ocurre porque el carbohidrato experimenta una serie de reacciones de deshidratación sucesivas catalizadas por el ácido sulfúrico concentrado empleado en este ensayo, produciendo furfural (1) a partir de las pentosas o 5-hidroximetilfurfural (2) a partir de las hexosas (*Figura 2.3*). El reactivo de Molisch es una disolución al 15% de α -naftol en etanol. EL α -naftol reacciona con el furfural o

12 II-Carbohidratos

Prueba de Benedict

El reactivo de Benedict está constituido por una disolución de sulfato de cobre II, citrato de sodio y carbonato de sodio. Al tratar el azúcar con estos reactivos, experimentan una reacción de oxidación. El cobre II en disolución acuosa, de color azul, se reduce a cobre I, el cual precipita como óxido de cobre I, de color rojo. El esquema de la reacción se muestra en la *Figura 2.5*.

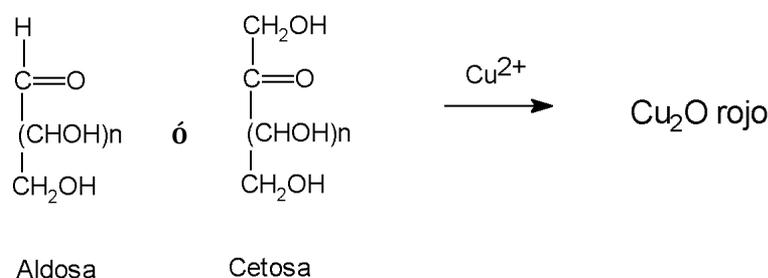


Figura 2.5. Esquema de reacción para una prueba positiva con el reactivo de Benedict.

Procedimiento

En un tubo de ensayo, colocar 0,5 mL de la disolución del carbohidrato. Agregar una disolución de NaOH 3 M, hasta obtener un pH entre 9 y 10. Posteriormente, adicionar 5 mL del reactivo de Benedict y colocar el tubo de ensayo en un baño de agua en ebullición. Observar la formación de un precipitado rojo de óxido de cobre I.

BIBLIOGRAFÍA

1. Acuña, F. **Prácticas de laboratorio para los cursos de Química Orgánica**. Universidad de Costa Rica, Ciudad Universitaria Rodrigo Facio. 1993. pp. 206-219.
2. Belitz, H.D. y W. Grosch. **Química de los Alimentos**. 2.^a edición. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza. España. 1982; pp. 257-262.
3. Rodríguez, J. y L. Rojas. **Manual de Prácticas de Bioquímica**. EUCR. San José, C.R. 1987; pp. 15-30.
4. Solomons, T.W. **Fundamentos de Química Orgánica**. Editorial Limusa S.A. México D.F. 1985, pp. 754-758.

2.3 - DETERMINACIÓN DE LA PUREZA Y EL GRADO DE RAMIFICACIÓN DEL ALMIDÓN

OBJETIVOS

- 1- Determinar el grado de pureza del almidón extraído (en la práctica anterior) utilizando un método colorimétrico basado en la generación de color con el reactivo de antrona.
- 2- Determinar el grado de ramificación y la longitud promedio de las ramificaciones de la amilopectina presente en el almidón extraído.
- 3- Determinar el contenido de amilosa en el almidón extraído.

INTRODUCCIÓN

El almidón es el carbohidrato de reserva de los vegetales y está constituido por dos polisacáridos, la amilosa y la amilopectina (Figura 2.6). La amilosa es un polisacárido lineal, perfecto, formado por unidades de α -D-glucosa con enlaces α -1,4, lo cual favorece la formación de estructuras helicoidales. La amilopectina posee una estructura compleja, de cadenas ramificadas. En las cadenas principales, los monómeros de D-glucosa están unidos por enlaces α -1,4, y las ramificaciones se realizan mediante enlaces α -1,6, con un punto de ramificación cada 15-30 unidades de glucosa.

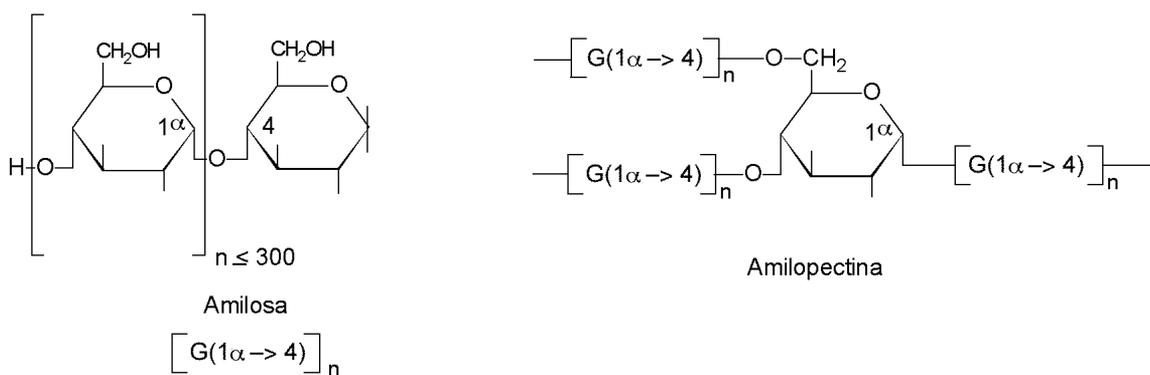


Figura 2.6. Estructura de la amilosa y la amilopectina

Grado de pureza del almidón

Cuando un carbohidrato se calienta en presencia de un ácido fuerte, se lleva a cabo una serie sucesiva de reacciones de deshidratación: Las pentosas producen el furfural y las hexosas el hidroximetilfurfural. Los disacáridos, polisacáridos y glicósidos, en un medio fuertemente ácido, son hidrolizados a los monosacáridos correspondientes y por posterior deshidratación producen el furfural o el hidroximetilfurfural.

14 II-Carbohidratos

La base del método consiste en una medida fotométrica del color, a una longitud de onda de 620 nm, producido por la condensación del grupo carbonilo del furfural o hidroximetilfurfural, con un compuesto fenólico (el reactivo de antrona en medio fuertemente ácido) (Figura 2.7).

Grado de ramificación del almidón

Al tratar la amilopectina, con una disolución de peryodato de sodio, se produce una molécula de ácido fórmico por cada grupo terminal no reductor (a) y por cada grupo reductor inicial (b) del polisacárido (Figura 2.8). La cantidad relativa de grupos reductores iniciales (b) es mínima respecto a los grupos terminales no reductores (a); por lo tanto, la cantidad de ácido fórmico (HCOOH) que se produce a partir de los primeros es despreciable. El número de enlaces -1,6 revela la presencia de una ramificación y es igual al número de grupos terminales no reductores y aproximadamente igual a la cantidad de ácido fórmico formado durante la reacción.

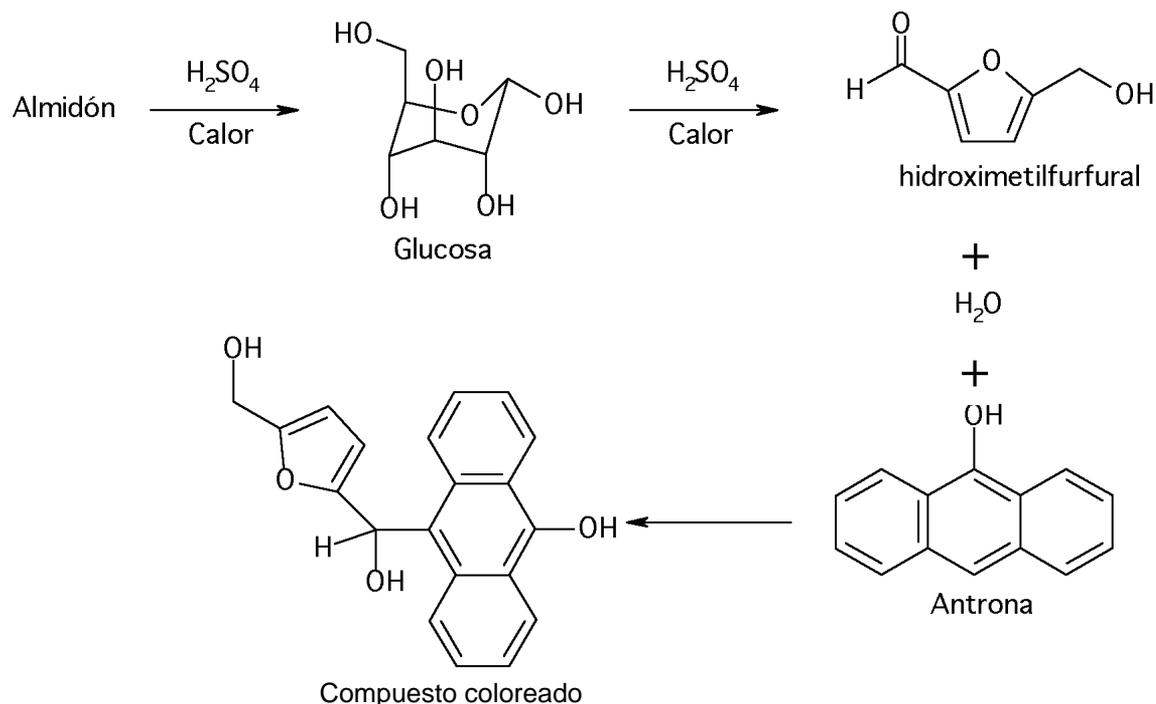


Figura 2.7. Determinación de la pureza del almidón utilizando el reactivo de antrona

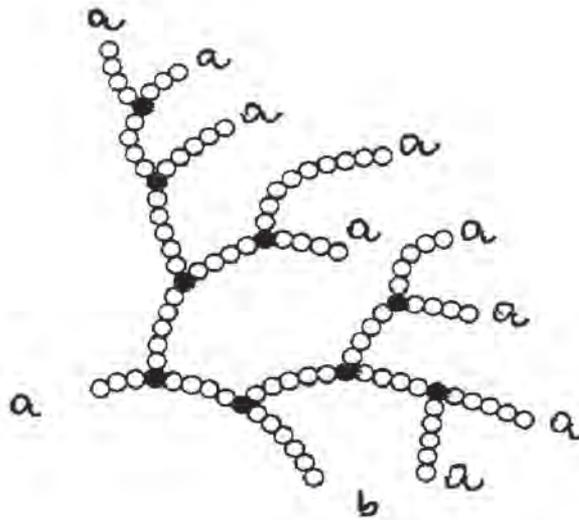


Figura 2.8. Grado de ramificación y número de unidades de glucosa por segmento en la amilopectina (a) Grupo no reductor, (b) Grupo reductor

PROCEDIMIENTO

Determinación de la pureza del almidón por medio de la reacción de la antrona

- 1- Pesar cuantitativamente una muestra de 90,0 mg del almidón extraído en la práctica anterior. Transferir el almidón a un balón aforado de 100 mL. Agregar aproximadamente 50 mL de agua destilada. Calentar y agitar en forma constante la mezcla de almidón y agua, hasta la disolución completa del almidón. Enfriar el balón aforado y su contenido. Adicionar agua destilada hasta la marca de aforo y agitar para obtener una dispersión lo más homogénea posible. Tomar una alícuota de 10,00 mL de esta dispersión y transferir a un balón aforado de 100 mL. Agregar agua destilada hasta la marca de aforo. Agitar. En esta forma se obtiene una disolución de almidón de 9,0 mg% (m/v).
- 2- Curva de calibración de glucosa para la determinación de pureza del almidón por el método de antrona:
 - a) Preparar una disolución patrón de glucosa (100 mg%): Disolver 0,1000 g de glucosa en agua destilada. Transferir cuantitativamente a un balón aforado de 100,0 mL y aforar.
 - b) Tomar alícuotas de 5,00; 6,00; 7,00; 8,00; 9,00; y, 10,00 mL, y diluir cada una de ellas a 100,0 mL en sendos balones aforados.
 - c) Preparar sendos tubos de ensayo de 25 mL con tapa, limpios y secos, agregar a cada uno de ellos una perla de vidrio y 1,00 mL de cada una de las disoluciones preparadas anteriormente (por duplicado). Agregar, lentamente, 5,00 mL de la disolución de antrona. Preparar también un blanco (1,00 mL de agua destilada).

16 *II-Carbohidratos*

- d) Calentar cada tubo en un baño de agua en ebullición durante 10 minutos.
 - e) Colocar los tubos de ensayo en un baño de hielo a 0 °C, para detener la reacción.
 - f) Sacar los tubos de ensayo del baño de hielo. Secar las paredes exteriores de cada uno de los tubos de ensayo y permitir que todos alcancen la temperatura ambiente.
 - g) Transferir, con cuidado, el contenido de cada tubo a las cubetas respectivas y medir la absorbancia de cada disolución a una longitud de onda de 620 nm en un espectrofotómetro. Construir una curva de calibración, graficando la absorbancia (A) contra la concentración de glucosa.
- 3- Agregar 5,00 mL del reactivo de antrona, muy lentamente, a 2 tubos de ensayo que contengan cada uno, 1,00 mL de la disolución de almidón 9,0 mg %. Colocar una perla de vidrio en cada tubo y calentar en un baño de agua en ebullición durante 10 minutos.
 - 4- Proceder de igual forma que en la preparación de los patrones para la curva de calibración.
 - 5- Medir la absorbancia de las disoluciones de almidón y encontrar la concentración de glucosa en el almidón utilizando la curva de calibración.
 - 6- Determinar el porcentaje de pureza del almidón, relacionando la cantidad de glucosa (μmol) determinada para la disolución de almidón de 9,0 mg % con el total de glucosa que debería estar presente suponiendo una pureza del 100%. Debe hacerse una corrección por un factor gravimétrico igual a 1,11. Este factor se obtiene de relacionar la masa molecular de la glucosa (180) y la masa molecular de la glucosa en el almidón (162) (la formación de una unión glicosídica -1,4 o -1,6, entre dos unidades de -D-glucopiranosas, provoca la pérdida de una molécula de agua, por lo cual la masa molecular de la glucosa disminuye en 18 u.m.a. en este polisacárido).
 - 7- Calcular la cantidad de glucosa ($\mu\text{mol}/\text{mg}$) por unidad de masa de almidón, a partir de la concentración ($\mu\text{mol}/\text{mL}$), del volumen (mL) de la alícuota de disolución de almidón y de la masa (mg) de almidón utilizada.

Determinación del grado de ramificación del almidón

- 1- Pesar una muestra de 500 mg del almidón extraído en la práctica anterior. Transferir a un balón aforado de 50 mL. Añadir 20 mL de agua destilada y calentar lentamente y con agitación constante, hasta lograr la disolución completa del almidón. Agregar a la disolución de almidón, una alícuota de 10,00 mL de una disolución de NaIO_4 0,350 M y aforar a 50 mL con agua destilada.
- 2- Preparar un blanco, en igual forma, pero sin almidón.
- 3- Envolver los balones en papel aluminio. Incubar ambos balones en un baño de agua a 50 °C durante una hora. Agitar los balones ocasionalmente.

- 4- Medir tres alícuotas de 10,00 mL de la mezcla almidón-peryodato en frascos cónicos de 100 mL. Proceder en igual forma con el blanco.
- 5- Agregar a cada muestra, tres gotas de etilenglicol y dejar en la oscuridad durante 15 minutos.
- 6- Titular cada muestra con una disolución de NaOH 0,005 M, usando una disolución de fenolftaleína (3 gotas) como indicador.
- 7- Para realizar los cálculos correspondientes, proceder en la siguiente forma:
$$\text{Grado de ramificación (\%)} = (\text{mmol HCOOH formados/mmol totales glucosa})100$$
$$\text{Cantidad total de glucosa (mmol)} = (\% \text{ pureza}) (\text{mg almidón})/162$$
$$\text{Cantidad de HCOOH formado (mmol)} = V_{\text{NaOH}} (\text{mL}) \cdot M_{\text{NaOH}} (\text{mol/L})$$
- 8- Comparar sus resultados, con los obtenidos por sus compañeros, con otras clases de almidón.
- 9- Investigar en la literatura el grado de ramificación promedio de otros almidones de interés industrial.

Determinación del contenido de amilosa

- 1- Preparar la curva de calibración de la siguiente forma:
 - a) Pesar muestras de 0,00100; 0,00200; 0,00300; 0,00400 y 0,00500 g de amilosa y transvasar, cuantitativamente, en sendos balones aforados de 100,0 mL.
 - b) Dispersar la amilosa en 2 mL de agua destilada. Adicionar, gota a gota, 0,50 mL de una disolución de NaOH de concentración 1 mol/L. Calentar en baño María hasta lograr la disolución completa de la amilosa.
 - c) Enfriar. Neutralizar con una disolución de HCl de concentración 1 mol/L. Agregar a cada balón 0,2 g de tartrato ácido de potasio.
 - d) Diluir con agua destilada hasta aproximadamente 95 mL. Adicionar 1,00 mL de una disolución de yodo-yoduro de potasio preparada con 2 g de KI y 0,2 g de I₂ en 100 mL (proteger de la luz). Aforar a 100,0 mL con agua destilada.
 - e) Dejar en reposo por 20 minutos.
 - f) Preparar un blanco, en igual forma, pero sin amilosa.
 - g) Medir la absorbancia de cada disolución a una longitud de onda de 680 nm. Construir una curva de calibración, graficando la absorbancia (A) contra la concentración de amilosa.
- 2- Preparar muestras triplicadas de 0,00500 g de cada almidón en balones aforados de 100,0 mL. Proceder de igual forma que en la preparación de los patrones para la curva de calibración.

18 *II-Carbohidratos*

- 3- Medir la absorbancia de la disolución de almidón y encontrar la concentración de amilosa interpolando en la curva de calibración.
- 4- Calcular el contenido de amilosa (% m/m), en cada una de las muestras de almidón analizadas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Belitz, H.D. y W. Grosch. **Química de los Alimentos**. 2.^a edición. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza. España. 1982; pp. 257-262.
2. Redley, J. **Examination and analysis of starch and starch products**. Applied Sc. Publishers, Ltda. London. England. 1976; pp 156-157.
3. Rodríguez, J. y L. Rojas. **Manual de Prácticas de Bioquímica**. EUCR. San José, C.R. 1987; pp. 31-35.

2.4 - PARDEAMIENTO NO ENZIMÁTICO O REACCIÓN DE MAILLARD EN SISTEMAS MODELO

OBJETIVO

- 1- Estudiar el efecto de diversos factores, entre ellos el tipo de azúcar, el pH, la temperatura y el tiempo de exposición, en la velocidad de reacción de pardeamiento no enzimático, o reacción de Maillard, utilizando sistemas modelo sencillos.

INTRODUCCIÓN

Durante el procesamiento, almacenamiento y preparación de los alimentos, se forman coloraciones pardas u oscuras, las cuales se deben a reacciones de naturaleza enzimática o no enzimática. Entre las últimas se encuentran las reacciones de caramelización de los azúcares y la reacción de Maillard o reacción de pardeamiento no enzimático.

En las etapas iniciales de la reacción de Maillard, el grupo carbonilo de las aldosas o cetosas es capaz de reaccionar con grupos amino libres de moléculas de proteínas o aminoácidos, los que por posterior deshidratación forman una imina, la cual se cicla y produce una glicosilamina o un N-glicósido. Las aldosilaminas, a través de la transposición de Amadori, y las cetosilaminas, a través de la transposición de Heynz, son transformadas, en 1-amino-1-desoxicetosas y 2-amino-2-desoxialdosas, respectivamente. Estos compuestos son inestables y participan en una serie compleja de reacciones que finalmente produce saborizantes, aromatizantes y pigmentos de color pardo, conocidos con el nombre de "melanoidinas".

Diversos factores afectan el grado de pardeamiento que ocurre a través de la reacción de Maillard. En primer lugar, debe estar presente un aldehído o una cetona (los azúcares reductores se encuentran frecuentemente en los sistemas de alimentos) y una amina (sin duda alguna, las proteínas constituyen la fuente más importante de estos grupos). En general, los azúcares pequeños reaccionan con mayor velocidad que los grandes. Las pentosas reaccionan más rápido que las hexosas y estas con mayor rapidez que los disacáridos. La galactosa parece ser la más reactiva de las hexosas; la fructosa reacciona más rápido que la glucosa en las etapas iniciales, pero a medida que la reacción avanza, las velocidades se invierten.

La reacción es extremadamente lenta en alimentos secos y en disoluciones muy diluidas. Las reacciones de pardeamiento que ocurren con mayor velocidad tienen lugar en alimentos con un 10-15 % de humedad, esto porque se requiere de una cierta cantidad de agua para que los reactivos interactúen. Cuando el contenido de humedad es muy elevado, el agua actúa como inhibidor de la reacción ya que varios de los pasos de la serie de complejas reacciones son deshidrataciones.

La velocidad de reacción es directamente proporcional a la temperatura, la reacción es lenta a 37 °C, rápida a 100 °C y violenta a 150 °C.

20 *II-Carbohidratos*

El efecto principal del pH se relaciona con la protonación de los grupos amino. En medio ácido, los grupos amino se encuentran protonados, por tanto no hay nucleófilos disponibles que reaccionen con los grupos carbonilo.

PROCEDIMIENTO

Reacción de pardeamiento no enzimático en un sistema modelo "azúcar-glicina"

- 1- Preparar disoluciones de glicina, glucosa, fructosa, sacarosa y lactosa 0,50 M en disoluciones amortiguadoras, con 0,10 M en fosfatos totales y de pH 5,0 y 8,0.
- 2- Colocar en tubos de ensayo (previamente rotulados) alícuotas de 10 mL de las siguientes disoluciones o mezclas de disoluciones a un pH de 5,0: Glicina, glucosa, fructosa, sacarosa, lactosa, glucosa/glicina, fructosa/glicina, sacarosa/glicina y lactosa/glicina. La concentración de cada sustancia en las disoluciones que contienen uno o dos componentes debe ser 0,25 M. Para tal efecto, en las disoluciones de un solo componente se deben medir alícuotas de 5,00 mL de las disoluciones de glicina, glucosa, fructosa, sacarosa y lactosa 0,50 M y diluir con un volumen igual de la disolución amortiguadora. Para las disoluciones de dos componentes, se deben medir alícuotas iguales (5,00 mL) de cada una de las disoluciones inicialmente preparadas. Por ejemplo, para preparar la disolución glucosa/glicina 0,25 M en cada componente y de pH 5,0; se deben mezclar alícuotas de 5,00 mL de la disolución de glucosa 0,50 M, pH 5,0 y de la disolución de glicina 0,50 M, pH 5,0. Preparar las disoluciones restantes en una forma similar.
- 3- Preparar disoluciones iguales a las indicadas anteriormente, pero a un pH de 8,0.
- 4- Medir el pH de cada una de las disoluciones contenidas en los tubos y ajustarlo a 5,0 y 8,0 (según corresponda), por adición de una disolución de ácido clorhídrico 2 M o de hidróxido de sodio 2 M.
- 5- Colocar todos los tubos en un baño de agua en ebullición por 30 minutos. Enfriar los tubos en un baño de hielo y medir el pH de cada uno de los tubos. Anotar todos los resultados.
- 6- Utilizando un espectrofotómetro, medir la absorbancia de todas las disoluciones a una longitud de onda de 430 nm. Usar agua destilada para calibrar el instrumento. Anotar y discutir los resultados obtenidos.

Determinación de la velocidad de reacción de pardeamiento no enzimático en un sistema modelo "glucosa-glicina"

- 1- Preparar en tubos de ensayo, diez disoluciones de glucosa/glicina 0,25 M en cada componente, en las disoluciones amortiguadoras indicadas anteriormente, de pH 5,0 y 8,0.
- 2- Colocar los tubos en un baño de agua en ebullición y calentar por períodos de 0, 10, 20, 30 y 60 minutos. Enfriar y medir el pH del contenido de cada uno de los tubos. Anotar todos los resultados.

- 3- Medir la absorbancia de las disoluciones anteriores a una longitud de onda de 430 nm. Utilizar agua como referencia. Anotar los resultados obtenidos.
- 4- Utilizando los resultados obtenidos, construir un gráfico de "absorbancia en función del tiempo de reacción", para cada uno de los sistemas glucosa/glicina a pH 5,0 y 8,0. Determinar en cada sistema, la variación en la absorbancia en función del tiempo (pendiente de cada línea recta). Interpretar los resultados en la forma adecuada.

Reacción de pardeamiento no enzimático de la leche en polvo descremada, leche en polvo entera y leche en polvo delactosada

- 1- Colocar, en 5 cajas de Petri debidamente rotuladas, y con tapa, la suficiente cantidad de leche en polvo descremada para llenar completamente hasta su capacidad. Realizar esta misma operación con la leche en polvo entera o íntegra y con la leche en polvo delactosada.
- 2- Colocar las cajas de Petri en una estufa a 125 °C. Observar los cambios de color en cada una de las clases de leche en polvo luego de calentarlas durante 0, 10, 20, 30 y 60 minutos.
- 3- Medir la intensidad del color de cada una de las muestras anteriores, haciendo uso del sistema de color de Hunter, a través de la determinación de los parámetros L, a y b. Anotar los resultados correspondientes.
- 4- Representar la variación en el color (L, a y b) de las muestras anteriores en función del tiempo de reacción a 125 °C. Interpretar los resultados en la forma correcta. Evaluar el efecto del descremado y del delactosado en el proceso de elaboración de la leche en polvo, sobre la velocidad de pardeamiento no enzimático o reacción de Maillard.

BIBLIOGRAFÍA

1. Belitz, H.D. y W. Grosch. **Química de los Alimentos**. 2ª Edición. Editorial Acribia, S.A., Zaragoza, España. 1992.
2. Miller, D.D. **Química de los Alimentos: Manual de Laboratorio**. Editorial Limusa, S.A. de C.V., México. 2001.

III. ACEITES Y GRASAS

3.1- PROPIEDADES GENERALES DE LOS LÍPIDOS

OBJETIVOS

- 1- Definir algunas características importantes de los lípidos.
- 2- Determinar las diferencias existentes entre grasas animales y vegetales.

INTRODUCCIÓN

El término lípido se aplica a una clase de compuestos que son solubles en disolventes orgánicos e insolubles en agua.

Se conocen numerosas clases de lípidos, pero solamente un cierto número limitado de ellos tiene alguna importancia a nivel biológico. Uno de los grupos más importantes de los lípidos son los triacilgliceroles, o sea ésteres de ácidos grasos y el glicerol. Algunos de ellos actúan como hormonas o precursores de hormonas, otros en la digestión, o como proveedores de energía almacenada; también actúan como componentes funcionales estructurales de biomembranas y en la conducción nerviosa.

Algunas de las características fácilmente evaluables de los triacilgliceroles son, entre otras, su punto de fusión y su solubilidad, para lo cual basta ensayar una pequeña cantidad de la sustancia en un pequeño volumen del disolvente deseado. El grado de solubilidad puede ser determinado por simple observación. Otras características, no menos importantes, son:

Saponificación

Cuando un triacilglicerol se somete a un proceso de hidrólisis alcalina, se obtiene glicerol y sales de metales alcalinos de los ácidos grasos; estas últimas se conocen, comúnmente, con el nombre de jabones. Este proceso se denomina saponificación. La reacción tiene lugar en dos etapas: Primero se liberan los ácidos grasos, y luego el álcali y los ácidos grasos se neutralizan; así se forma el jabón (*Figura 3.1*).

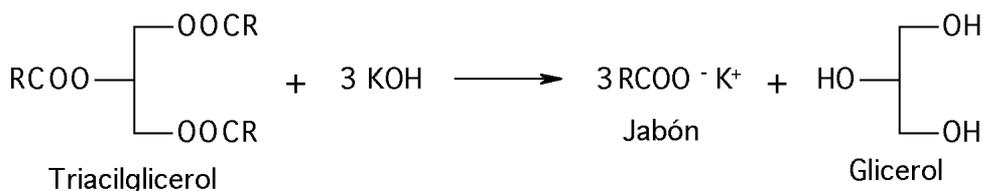


Figura 3.1. Reacción de saponificación de un aceite o una grasa

Las sales de sodio producen jabones duros y las de potasio jabones blandos. Los jabones deben su acción limpiadora a sus propiedades emulsificantes, lo que a su vez se debe a su naturaleza hidrosoluble del extremo hidrofílico y al carácter liposoluble del extremo hidrocarbonado de la molécula.

Formación de acroleína

Cuando se calienta el glicerol, o cualquier otro lípido que contenga el glicerol, se forma acroleína (Figura 3.2), un aldehído responsable de un olor desagradable.

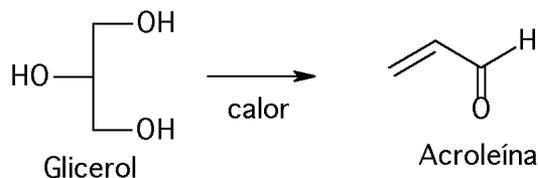


Figura 3.2. Reacción de la formación de acroleína

Presencia de insaturaciones

Los ácidos grasos pueden dividirse en dos grandes grupos: los saturados y los insaturados. Los primeros están formados por enlaces simples carbono-carbono, mientras que los segundos pueden tener enlaces múltiples, que se conocen con el nombre de insaturaciones. Estas uniones no saturadas de los ácidos grasos tienen la propiedad de halogenarse estequiométricamente, en especial con yodo o bromo. La cantidad de halógeno absorbido es un índice del grado de insaturaciones de la grasa o del aceite (Figura 3.3)

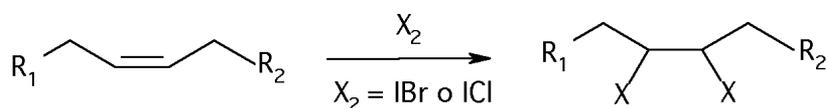


Figura 3.3. Esquema de reacción para la determinación de insaturaciones

Presencia de esteroides

Al esteroide que se le ha dado mayor importancia por su efecto en el sistema circulatorio es el colesterol. De ahí la importancia de determinar su presencia en los productos que el ser humano consume. Se encuentra, exclusivamente, en grasas de animales y por ende, en el hombre. Prácticamente, todas las células del cuerpo humano contienen algo de colesterol. El colesterol es un alcohol sólido, policíclico, de alto peso molecular.

La determinación cualitativa y cuantitativa de colesterol, y de los esteroides en general, consiste en un método rápido, basado en la reacción química de Liebermann-

Burchard, en la cual el colesterol es oxidado en un medio fuertemente ácido, dando origen a un producto coloreado (*Figura 3.4*). La intensidad del color es directamente proporcional a la concentración del colesterol.

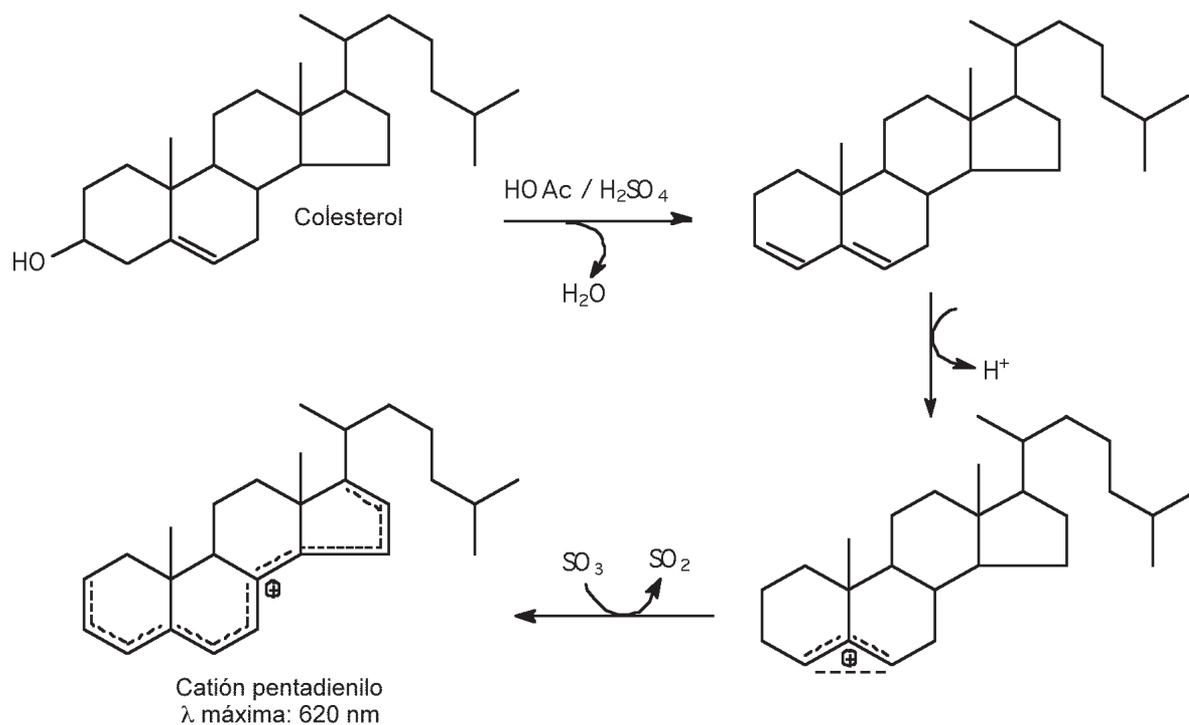


Figura 3.4. Esquema para la reacción de Liebermann-Burchard

PROCEDIMIENTO

Solubilidad de lípidos

1- Determinar la solubilidad de manteca, aceite, ácido esteárico y glicerina, preparando para cada muestra cuatro tubos de ensayo de 10 mL. Colocar en cada tubo 3 mL de los siguientes disolventes:

Tubo 1: Agua

Tubo 2: Alcohol etílico

Tubo 3: Eter etílico

Tubo 4: Cloroformo

2- Adicionar a cada tubo una pequeña cantidad del lípido y agitar fuertemente.

3- Anotar sus observaciones en un cuadro. Clasificar cada sustancia como soluble, parcialmente soluble, o insoluble.

Preparación de un jabón

- 1- Colocar en un frasco cónico de 250 mL, 75 mL de una disolución de NaOH al 10% y 8,0 g de manteca. Calentar a ebullición, durante 1 hora.
- 2- Enfriar la disolución obtenida. Tomar 5 mL y añadir unas gotas de una disolución de CaCl_2 saturada. Anotar los resultados.

Formación de acroleína

- 1- Preparar tres tubos de ensayo secos. Colocar 1 mL del aceite vegetal, 1 mL de glicerol y una punta de espátula de ácido esteárico en cada uno de ellos.
- 2- Calentar con el mechero, y en forma gradual, cada uno de los tubos y notar el olor que se desprende.
- 3- Anotar los resultados.

Prueba de insaturaciones

- 1- Disolver una pequeña cantidad (5 gotas) de ácido oleico en 1 mL de cloroformo. Agregar, gota a gota, el reactivo de Hülb (1,3 g de I_2 en 25 mL de etanol al 95%; 1,5 g de HgCl_2 en 25 mL de etanol al 95%; mezclar ambas disoluciones antes de usar). Agitar. Continuar la adición hasta notar un cambio de color. Anotar los resultados.
- 2- Repetir la prueba utilizando cantidades equivalentes de ácido esteárico, aceite vegetal, mantequilla y manteca vegetal. Disolver cada muestra en 1 mL de cloroformo y añadir, gota a gota, el reactivo de Hülb. Agitar en forma constante.
- 3- Anotar los resultados.

Determinación del punto de fusión

- 1- Colocar mantequilla y manteca vegetal en sendos tubos de ensayo. Introducir el tubo de ensayo en un baño de agua caliente hasta que la muestra se funda.
- 2- Llenar un tubo capilar, para la determinación de punto de fusión. Insertar el extremo del tubo en la grasa fundida hasta llenar a la mitad de su capacidad. Sumergir el tubo capilar en agua con hielo hasta solidificar la grasa.
- 3- Cerrar a la llama del mechero el extremo vacío del tubo. Fijar el tubo a un termómetro con ayuda de una banda de hule. Sumergir el termómetro con los tubos en un vaso de precipitados con agua fría.
- 4- Calentar suavemente el vaso de precipitados. Agitar ocasionalmente. Anotar la temperatura a la que funde cada muestra.

Determinación cualitativa de esteroides

- 1- Preparar 10 mL del reactivo de Liebermann-Burchard, generador de color: Mezclar 18 volúmenes de anhídrido acético y 3,6 volúmenes de una disolución de Na_2SO_4 al 12% en H_2SO_4 concentrado; enfriar en baño de hielo durante la mezcla.

26 *III- Aceites y grasas*

- 2- En un tubo de ensayo, agregar 1 mL de una disolución de colesterol en cloroformo (1 mg/mL) y 1 mL del reactivo de Liebermann-Burchard.
- 3- Incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente. Observar el color obtenido.
- 4- Realizar la misma prueba pero en lugar de la disolución de colesterol utilizar aceites o grasas de origen animal y vegetal, disueltas en relación de 1:4 en cloroformo.
- 5- Anotar los resultados.

BIBLIOGRAFÍA

1. Belitz, H.D. y W. Grosch. **Química de los Alimentos**. 2ª edición. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza. España. 1988.
2. Rodríguez, J.A. y L.F. Rojas. **Manual de Prácticas de Bioquímica**. Editorial Universidad de Costa Rica, San José. 1987.

ACERCA DE LOS AUTORES

Nombre: Carlos H. Herrera Ramírez
Profesión: M.Sc. Química de Alimentos
Dirección electrónica: carlos.herreraramirez@ucr.ac.cr
carlos.herrera@ice.co.cr

Nombre: Nuria Bolaños Vives
Profesión: Bachiller en Química
Dirección electrónica: nuriab@racsa.co.cr

Nombre: Giselle Lutz Cruz
Profesión: M.Sc. en Química
Dirección electrónica: giselle.lutz@ucr.ac.cr
gztul@hotmail.com

Esta es una
muestra del libro
en la que se despliega
un número limitado de páginas.

Adquiera el libro completo en la
[Librería UCR Virtual](#).

LIBRERÍA
UCR

VIRTUAL

Este libro ha sido elaborado para ilustrar en forma práctica los conceptos desarrollados en los cursos teóricos de química de alimentos, en los cuales se enfatiza en el entendimiento de los conceptos químicos necesarios para establecer las relaciones entre la composición química y las propiedades funcionales, nutricionales y organolépticas de los alimentos.

Por lo tanto, se estudian los componentes más usuales encontrados en los alimentos: agua, carbohidratos, lípidos, proteínas, enzimas, vitaminas, minerales y aditivos, así como los diferentes cambios manifestados por estos elementos durante su procesamiento y manipulación. Posteriormente, se analizan los grupos de alimentos más utilizados por el hombre: carnes, pescado, mariscos, huevos, productos lácteos, cereales, leguminosas, frutas, verduras y hortalizas; además, se examinan algunas técnicas de procesamiento, almacenamiento y evaluación de la calidad de esos alimentos.

La ejecución de los experimentos requiere de un estudiante con sólida formación en química y con destrezas en el uso de diferentes técnicas analíticas. Cada experimento está precedido de una introducción teórica, que permitirá comprender los conceptos básicos e interpretar los resultados obtenidos. Algunas de las prácticas introducen al estudiante en el uso de técnicas de laboratorio comúnmente utilizadas en el desarrollo de proyectos de investigación básica y aplicada.