



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD IZTAPALAPA

Microcomponentes y aditivos alimentarios



Edith Ponce Alquicira

Yenizey Merit Álvarez Cisneros

Mariel Calderón Oliver



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

Dr. Salvador Vega y León
Rector General

Mtro. Norberto Manjarrez Álvarez
Secretario General

UNIDAD IZTAPALAPA

Dr. José Octavio Nateras Domínguez
Rector de Unidad

Dr. Miguel Ángel Gómez Fonseca
Secretario de Unidad

Dra. Edith Ponce Alquicira
Directora de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Dra. Milagros Huerta Coria
Coordinadora de Extensión Universitaria

Lic. Adrián Felipe Valencia Llamas
Jefe de la Sección de Producción Editorial

Primera Impresión 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA

Av. San Rafael Atlixco No. 186, Col. Vicentina,
Del. Iztapalapa, C.P 09340, México D.F. Tel.: 5804 4600

Impreso y hecho en México/*Printed in Mexico*

Presentación

Este Manual tiene la finalidad de servir como guía en el desarrollo de las actividades prácticas dentro del proceso de enseñanza-aprendizaje de la UEA de Microcomponentes y Aditivos Alimentarios. UEA que forma parte del plan de estudios de la Licenciatura en Ingeniería de los Alimentos, cuya modificación fue aprobada en la sesión 344 del Colegio Académico, celebrada el 19 de Abril del 2012.

La presente obra se basa en la experiencia profesional y docente de las autoras. Se presentan diez prácticas que cubren la totalidad del contenido sintético de la UEA, donde se revisan conceptos sobre la evaluación del color, clasificación y estabilidad de pigmentos naturales y artificiales, vitaminas y minerales, el uso de hidrocoloides, de agentes antioxidantes, antimicrobianos y emulsificantes, entre otros, además se evalúan las funciones tecnológicas que desempeñan los aditivos analizados. En concordancia con el Codex Alimentarius (CODEX STAN 192-1995) que expresamente señala que el uso de aditivos se justifica únicamente si ofrece alguna ventaja y no presenta riesgos apreciables para la salud de los consumidores, no induce a error, y cumple una o más de las funciones tecnológicas siempre que no puedan alcanzarse por otros medios que son factibles económica y tecnológicamente. El manual cuenta con seis anexos donde se incluye el formato para la presentación de informes, material para preparación de soluciones, el funcionamiento del colorímetro, del viscosímetro de rotación tipo Brookfield y del texturómetro, así como cuadros de seguridad y manejo de reactivos, conforme al *Instructivo del funcionamiento interno y operativo para regular el uso de los servicios e instalaciones de los laboratorios de docencia*, aprobado por el Consejo Académico de la Unidad Iztapalapa (Sesión número 314, del 9 de Noviembre del 2009).

El alumno encontrará información que le permitirá comprender el fundamento de cada práctica, además de un cuestionario y bibliografía actualizada para ampliar la información y discutir los resultados obtenidos. Se hace énfasis en la consulta a las normas nacionales e internacionales que enmarcan el uso responsable de aditivos en la industria de alimentos. Por lo que el presente manual constituye una buena base para la formación académica de los profesionales en el área de la ciencia e ingeniería de los alimentos.

Índice

Recomendaciones generales	7
Práctica 1. Extracción y cuantificación de pigmentos naturales mediante la determinación instrumental del color.	6
Práctica 2. Estabilidad al pH y tratamiento térmico de pigmentos naturales y artificiales.	15
Práctica 3. Extracción de colorantes sintéticos a partir de productos comerciales e identificación cualitativa	21
Práctica 4. Efecto del tratamiento térmico y del pH en la generación de compuestos volátiles y color	27
Práctica 5. Estabilidad y cuantificación de vitaminas y minerales en productos fortificados y enriquecidos	33
Práctica 6. Evaluación de agentes antioxidantes y quelantes	39
Práctica 7. Determinación de la actividad antimicrobiana de conservadores	45
Práctica 8. Selección de almidones, evaluación de viscosidad y gelificación	49
Práctica 9. Hidrocoloides con propiedades gelificantes	53
Práctica 10. Emulsificantes y reafirmantes de textura	63
Anexo I. Formato para la presentación de informes	69
Anexo II. Preparación de soluciones	71
Anexo III. Colorímetro	75
Anexo IV. Viscosímetro de rotación tipo Brookfield	77
Anexo V. Texturómetro	79
Anexo VI. Cuadro de seguridad en el manejo de reactivos	83

Recomendaciones generales

El trabajo que se lleva a cabo en el laboratorio implica la observación de medidas de seguridad e higiene, debido a que se trabaja con aditivos y compuestos químicos que pueden ser potencialmente tóxicos; de igual forma, el manejo inadecuado del equipo puede ser causa de accidentes, por lo que se recomienda observar las siguientes reglas:

1. Leer cuidadosa y completamente las instrucciones de cada práctica antes de llegar al laboratorio.
2. Destinar una bitácora de trabajo donde se incluyan: un diagrama de trabajo, los resultados y cálculos, así como las observaciones en el desarrollo de las prácticas.
3. Es obligatorio el uso de bata en todas las sesiones de laboratorio.
4. Mantener limpia y ordenada la mesa de trabajo y rotular las muestras con el nombre de la misma, fecha y número de equipo.
5. Consultar al profesor en el manejo de las sustancias químicas, así como en la operación de los equipos.
6. Rotular los reactivos (nombre del compuesto, concentración, fecha de elaboración y nombre del responsable) y mantenerlos siempre tapados para evitar contaminaciones y accidentes, ya que muchas sustancias orgánicas son volátiles e inflamables.
7. Usar siempre una propipeta para el manejo de cualquier líquido y evitar el contacto directo con la piel mediante el uso de guantes.
8. Emplear estrictamente la cantidad de reactivo que se requiera, y no devolver reactivos sobrantes a los recipientes originales, en su caso, tratarlos como materiales de desecho.
9. Manejar los solventes y ácidos concentrados siempre dentro de la campana de extracción, portando guantes y lentes protectores. Los residuos de solventes y reactivos deberán colocarse en recipientes exclusivos para ello y tratarse acorde con las fichas de manejo respectivas.
10. Colocar los residuos de muestras y materias primas en una bolsa de plástico para su posterior desecho en los contenedores destinados para ello.
11. En la preparación de soluciones, siempre agregar el ácido al agua.
12. En caso de derrame de algún ácido o una base se deberá limpiar la zona con papel toalla y lavar la superficie con suficiente agua. Es primordial el uso de guantes para evitar el contacto directo con la piel y consultar el anexo para el manejo de reactivos.
13. En caso de que alguna sustancia se haya derramado sobre una persona, enjuagar la zona con abundante agua para lavar cualquier residuo. Las quemaduras por calor deberán ser tratadas de la misma forma.
14. Localizar los extinguidores, mantas contra incendios, así como las salidas de emergencia.
15. Comunicar al profesor cualquier anomalía que a su criterio pueda ser peligrosa en el laboratorio.

Práctica 1

Extracción y cuantificación de pigmentos naturales mediante la determinación instrumental del color

1.1 Introducción

La percepción del color es una respuesta al estímulo físico que la radiación luminosa visible produce en la retina; la cual depende del objeto, del observador y del entorno, por lo que se le considera un concepto psicofísico. Cuando la luz blanca incide en un alimento, los compuestos cromóforos o pigmentos presentes en el producto absorben parte de la energía y reflejan el resto; por lo que desde el punto de vista físico, el color corresponde a la distribución de energía de la luz reflejada o transmitida por un objeto dentro del espectro electromagnético continuo.

La radiación electromagnética (RE) que refleja o emite un objeto entre los 380 y 700 nm es captada por las células sensitivas de la retina, los bastones y los conos, esta región también se conoce como región del espectro visible. Los bastones son sensibles a la iluminación y oscuridad, en tanto que los conos son sensibles al color. El nervio óptico se encarga de transmitir esta señal al cerebro donde el estímulo es interpretado como color, el ojo humano es capaz de identificar unos 10 millones de colores distintos.

El color dependerá de la longitud de onda emitida por la excitación de los pigmentos presentes en el alimento. Así, la distribución espectral de la luz transmitida o reflejada por el alimento entre los 380 a 400 nm corresponde a la percepción del color violeta, entre los 400 a 475 nm se tiene el color azul, de 500 a 570 el verde, de 570 a 590 el amarillo y de 700 a 770 el rojo. En la mayoría de los alimentos la absorción y reflexión de la luz se acompañan de otros fenómenos como la dispersión y reflexión múltiple acorde a la uniformidad o rugosidad de la superficie del producto. Además, el iluminante, la geometría óptica, el área, el fondo, el brillo y temperatura pueden modificar el color percibido.

En la industria alimentaria, el color es un parámetro de calidad que se puede evaluar por diversas técnicas tanto subjetivas como objetivas. Las primeras consisten en la comparación visual del producto con patrones de color específicos, como las guías de color sólido Pantone. Los métodos objetivos miden la intensidad de la luz absorbida o reflejada, ya que ésta es proporcional al color percibido, estos métodos son más exactos e independientes de la capacidad de percepción del ojo humano.

La legislación mexicana permite el uso de más de 50 colorantes o pigmentos, siendo la mayoría de origen natural. Estos pigmentos naturales pueden ser de origen vegetal, como la clorofila, las antocianinas y las betalainas; de origen animal como la cochinilla, o de origen mineral como el dióxido de titanio de color blanco.

1.2 Objetivo

Que el alumno se familiarice con las técnicas de espectrofotometría de reflectancia y absorción UV-Vis para evaluar el color y la concentración de algunos pigmentos naturales.

1.3 Materiales

Reactivos

- Frutos: jitomate y betabel
- Extracto de carmín al 52% o al 12%
- Metanol al 80% v/v
- Acetona
- Etanol
- Hexano

- Butilhidroxitolueno (BHT)
- HCl 2N
- HCl 0.06N
- Agua destilada

Materiales

- 1 Pipeta de 5mL
- 1 Vaso de precipitados de 250 mL
- 2 Celdas para espectrofotómetro
- 2 Embudos de vidrio
- 2 Matraces Erlenmeyer de 125 mL
- 2 Pipetas de 10 mL
- 2 Tubos de 16 x 150 con tapa de rosca
- 2 Tubos de centrifuga de 30-50 mL
- 2 Vasos de precipitados de 100 mL
- Barra magnética
- Cuchillo
- Espátula
- Gasa
- Gradilla para tubos
- Matraz aforado de 1L
- Matraz aforado de 50 mL
- Matraz Erlenmeyer de 250 mL
- Papel aluminio
- Papel Whatman No. 4 y No. 1
- Piseta
- Pinza para tubos
- Pipeta Pasteur y bulbo
- Plástico autoadherible
- Probeta graduada de 100 mL
- Propipeta
- Tabla para picar
- Varilla de vidrio

Equipo

- Balanza
- Centrífuga
- Colorímetro
- Espectrofotómetro
- Licuadora con vaso de vidrio
- Parrilla de calentamiento con agitación

1.4 Metodología**1.4.1 Determinación color por espectrometría de reflectancia en el sistema CIE-LAB**

La determinación del color a través de la espectrofotometría de reflectancia tiene una estrecha correlación con la percepción visual humana. El Comité Internacional de la Iluminación (CIE) estableció un sistema de color universal denominado CIE-LAB que está basado en la teoría de la percepción tricromática. El espacio de color CIE-LAB es un espacio cromático con coordenadas cilíndricas de claridad (L^*), croma o saturación (C^*) y tonalidad (H^*), además de las coordenadas rectangulares adimensionales L^* , a^* y b^* .

1. Cortar por la mitad un fruto (betabel o jitomate), envolver una porción con película plástica auto adherente. Reservar la otra porción para la extracción de pigmentos (Sección 1.4.2).
2. Calibrar el espectrofotómetro 45/0 Hunter-Lab con las cerámicas blanca y negra, seleccionando una apertura 19.1 mm, ángulo 10° e iluminante D_{65} (Ver Anexo III).
3. Colocar el fruto en la celda del colorímetro, realizar la determinación por triplicado, girando el fruto 90° en cada lectura y obtener los valores promedio de L^* , a^* , b^* , hue y croma, así como el espectro de reflectancia de 400 a 700nm.

1.4.2 Extracción y cuantificación espectrofotométrica de pigmentos naturales

La espectrofotometría de absorbancia es una técnica analítica que permite determinar la concentración de un compuesto en solución. Cuando un rayo de luz de una determinada longitud de onda de intensidad (I_0) incide perpendicularmente sobre una disolución de un compuesto que absorbe luz (cromóforo), el compuesto absorberá una parte de la radiación incidente (I_a) y dejará pasar el resto (I_t), por lo que $I_0 = I_a + I_t$.

En esta técnica se emplea un espectrofotómetro, en el que se puede seleccionar la longitud de onda de la luz que pasa por una disolución y medir la cantidad de luz absorbida por la misma, ya que la longitud de onda de la radiación que una molécula puede absorber depende de su estructura atómica y de las condiciones del medio. La absorción que a distintas longitudes de onda presenta una molécula, representa su espectro de absorción y constituye una señal de identidad de la misma, por lo que esta técnica permite medir la concentración e identidad de los pigmentos presentes en un alimento, acorde con la ley de Lambert-Beer, que expresa la relación entre absorbancia de luz monocromática (de longitud de onda fija) y la concentración de un cromóforo en solución mediante la siguiente ecuación:

$$A = \log I_0/I = \epsilon c l$$

Donde:

A = absorbancia del cromóforo en solución

ϵ = constante de proporcionalidad o coeficiente de extinción

l = distancia que atraviesa la luz a través de la solución del cromóforo en cm

c = concentración en moles

I = intensidad de la luz transmitida

I_0 = intensidad de la luz incidente

1.4.2.1 Extracción y cuantificación espectrofotométrica de betalainas

1. Picar finamente, empleando un cuchillo, la segunda mitad del betabel.
2. Pesar 5 g y adicionar 40 mL de metanol al 80 % (v/v).
3. Filtrar a través de gasa colectando el filtrado en un matraz aforado de 50 mL (previamente cubierto con papel aluminio) y llevar al aforo con metanol al 80 %.
4. Tomar 10 mL y centrifugar a 3000 rpm por 10 min, recuperar el sobrenadante, en caso necesario filtrar a través de papel Whatman Núm. 4.
5. Obtener el espectro de absorción del sobrenadante en un espectrofotómetro en el intervalo de 400 a 700 nm.
6. Determinar el contenido de betacianinas y betaxantinas midiendo la absorbancia a 538 y 483 nm, respectivamente. Emplear como blanco la solución de metanol al 80%. Realizar las diluciones pertinentes para que el valor de absorbancia sea inferior a 0.6 unidades.
7. Para la conversión de las unidades de absorbancia en unidades equivalentes de concentración utilizar la siguiente expresión:

$$B \text{ (mg/g)} = \frac{A * Fd * PM * V}{e * P * L}$$

Donde:

B = concentración equivalente de betacianinas o betaxantinas

A = absorbancia a 538 nm para betacianinas y 483 nm para betaxantina

Fd = factor de dilución al momento de leer en el espectrofotómetro

PM = peso molecular (Betanina = 550 g/mol o Indicaxantina = 308 g/mol)

V = volumen del extracto

e = coeficiente de extinción molar (60,000 L/mol.cm para betaninas y 4,8000 L/mol.cm para betaxantinas)

L = longitud de la celda (1 cm)

P = peso de muestra (g)

1.4.2.2 Extracción y cuantificación espectrofotométrica de licopeno

1. Picar 150g de jitomates frescos, retirar las semillas y homogenizar en una licuadora. Opcionalmente se puede emplear como material puré de tomate, cátsup o pasta de tomate.
2. Forrar un matraz Erlenmeyer de 125 mL con papel aluminio y adicionar 5 mL de Butilhidroxitolueno (BHT) 0.05 % (w/v) en acetona, 7.5 mL de etanol y 15 mL de hexano.
3. Depositar 15g del homogenizado de jitomate, tapar y agitar durante 15 minutos. Adicionar 6 mL de agua destilada, mezclar suavemente y dejar reposar 3 minutos para permitir la separación de las fases.
4. Con ayuda de una pipeta Pasteur colectar la capa superior de hexano que contiene los compuestos liposolubles (anaranjado), depositar en un tubo de vidrio previamente recubierto con papel aluminio y mantener tapado.
5. Obtener el espectro de absorción en un espectrofotómetro UV/Vis en el intervalo de 400 a 700nm, utilizando hexano como blanco. Realizar las diluciones pertinentes para que el valor de absorbancia sea inferior a 0.6 unidades.
6. Determinar el contenido de licopeno midiendo la absorbancia a 503 nm con la siguiente ecuación:

$$\text{licopeno (mg/100g)} = \frac{A * PM * V * 100}{e * P * L}$$

A = absorbancia leída a 503 nm

V = volumen total la fase superior (15 mL)

PM = peso molecular del licopeno (536.9 g/mol)

P = peso de muestra que se utilizó para hacer la extracción (15g)

e = coeficiente de extinción molar del licopeno en hexano (17.2×10^4 M/cm)

L = longitud de la celda (1 cm)

1.4.2.3 Determinación de ácido carmínico

1. En un matraz Erlenmeyer de 250 mL pesar 100mg de carmín al 52%, o en su caso 1 g de carmín al 12%.
2. Adicionar 100 ml de agua y 30 mL de HCl 2N, llevar a ebullición hasta total disolución agitando constantemente, preferentemente en una parrilla con agitación y con ayuda de una barra magnética.
3. Enfriar a temperatura ambiente.
4. Transferir a un matraz aforado de 1L y aforar hasta la marca con agua destilada.
5. Obtener el espectro de absorción en un espectrofotómetro UV/Vis en el intervalo de 300 a 600 nm usando HCl 0.06N como blanco.
6. Calcular la concentración de ácido carmínico a partir de la lectura de absorbancia a 494 nm. Si es necesario, diluir la muestra para obtener una lectura entre 0.650 y 0.830 unidades de absorbancia.

$$\% \text{ Ácido Carmínico} = (10000 \times A_{494}) / (1.39 \times \text{peso muestra en g})$$

Cuestionario

1. Describa la estructura química y el proceso de obtención industrial de los pigmentos extraídos en esta práctica.
2. Investigue las posibles aplicaciones de éstos pigmentos como aditivos en alimentos, así como el código de clasificación en las normas mexicanas y en la Unión Europea.
3. ¿Qué información se obtiene a partir de los espectros de absorción y reflectancia?
4. ¿Cuál es la diferencia entre el espacio de color Hunter-Lab y Cie-Lab?
5. ¿Qué iluminantes y observadores se pueden emplear en la determinación del color? y ¿cuál es el criterio de selección?

Bibliografía

-  Alvarado JD, Aguilera JM. (2001). Métodos para medir propiedades físicas en industrias de alimentos. Editorial Acribia, Zaragoza, España.
-  Azeredo HMC. (2009). Betalains: properties, sources, applications, and stability – a review. *Int J Food Sci and Technol*.44: 2365–2376.
-  Castellanos-Santiago E, Yahia EM. (2008). Identification and quantification of betalains from the fruits of 10 Mexican prickly pear cultivars by high-performance liquid chromatography and electrospray ionization mass spectrometry. *J AgricFoodChem*. 56: 5758-5764.
-  Díaz NA, Bárcena Ruiz JA, Galván Cejudo A, Novo JJ, Peinado J, Meléndez-Valdés FT, Túnez Fiñana I. Espectrofotometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas. *Prácticas Generales de Bioquímica y Biología Molecular*. Universidad de Córdoba, España.
http://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/08_ESPECTROFOTOMETR%C3%8DA.pdf (Consulta febrero, 2014).
-  Galicia Cabrera RM. (2009). Extracción de pigmentos carotenoides en jitomate (*Lycopersiconesculentum*Mill.) y su aplicación en sistemas alimentarios modelo. Tesis de Doctorado en Biotecnología UAM-I
-  Galicia RM, Verde R, Ponce E, González RO, Saucedo C, Guerrero I. (2008).Estabilidad de licopeno en tomates cv. Saladette (*Lycopersiconesculentum*Mill.) sujetos a distintas condiciones de almacenamiento.Revista Mexicana de Ingeniería Química, 7(3): 253-262.
-  García-Barrera FA, Reynoso CR, González Mejía E. (1998). Estabilidad de la betalainas extraídas del garmbullo (*Myrtillocactus geometrizans*). *FoodSci and TechnolInt*. 4:115.
-  Juárez-López P, Castro-Brindis R, Colinas-León T, Ramírez-Vallejo P, Sandoval-Villa M, Reed DW, Cisneros-Zevallos L, King S. (2009). Evaluación de calidad de frutos de siete genotipos nativos de jitomate (*Lycopersiconesculentum*var. cerasiforme). *Rev Chapingo Serie Horticultura* 15(2): 5-9.
-  Plummer DT. (1981) Colorimetría y espectrofotometría. Capítulo 4 en *Introducción a la bioquímica práctica*. Ed. McGraw Hill Latinoamericana S.A., México, D.F. 94-111
-  Sharma SK, Le MM. 1996. Lycopene in tomatoes and tomato pulp fractions. *It J Food Sci*, 2: 107–113.
-  Urfalino DL, Quiroga A, Worlock Y. (2011).Efecto del deshidratado en el contenido de licopeno en distintos cultivares de tomate. INTA EEA Rama Caída. El vivero S/N. Rama Caída. San Rafael. Mendoza. C.P. 5600. INTA Argentina. <http://inta.gob.ar/documentos/efecto-del-deshidratado-en-el-contenido-de-licopeno-en-distintos-cultivares-de-tomate/> (Consulta febrero, 2014).
-  USDA (1976). United States Standards for Grade of Fresh Tomatoes. US Dept. Agric., Mktg., Serv., Washington DC p. 10.
-  Wilson E. Betalainas: colorants naturales con actividad antioxidante. <http://www.profitocoop.com.ar/articulos/Betala%EDnas.pdf> (Consulta abril, 2013)

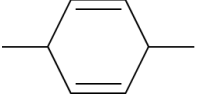
Práctica 2

Estabilidad al pH y tratamiento térmico de pigmentos naturales y artificiales

2.1 Introducción

El color es una respuesta al fenómeno de absorción, dispersión y reflexión de la luz, que se presenta cuando un objeto absorbe selectivamente ciertas longitudes de onda de la luz visible y transmite otras. Los grupos funcionales capaces de absorber energía en la región de la luz visible del espectro electromagnético se denominan cromóforos (Tabla 2.1). Los cromóforos fuertes son directamente responsables de la absorción de la luz; pero los débiles producen color sólo cuando varios de ellos se encuentran dentro de la estructura de los pigmentos.

Tabla 2.1 Estructura de grupos funcionales de cromóforos fuertes y débiles

Cromóforos fuertes		Cromóforos débiles	
Quinoide		Doble enlace carbono-carbono	$\text{>C} = \text{C}<$
Azo	$-\text{N}=\text{N}-$	Compuestos nitro	$-\text{NO}_2$
Nitroso	$-\text{N}=\text{O}$	Carbonilo (aldehídos, cetonas y ésteres)	$\text{>C} = \text{O}$

Por otra parte, los grupos auxócromos actúan en combinación con un grupo cromóforo modificando la tonalidad del color, dentro de ellos se encuentran los hidroxilos, las aminas primarias, secundarias y terciarias, así como los grupos sulfónico y carboxilo.

Los pigmentos se clasifican en inorgánicos y orgánicos; los primeros son de origen mineral y se obtienen de tierras y fósiles, como silicatos, carbonatos y sales de diferentes metales, entre los que el más importante es el hierro. En tanto que los pigmentos orgánicos pueden ser productos naturales o sintéticos. Los pigmentos naturales son extraídos de tejidos vegetales o animales y de microorganismos. Este grupo de pigmentos son muy apreciados por los consumidores, pero son de mayor costo y su eficiencia tintórea varía con las condiciones de pH y temperatura; a diferencia de los pigmentos de origen sintético que presentan altos rendimientos, son más estables y de bajo costo de producción. Acorde con su estructura, los pigmentos naturales se clasifican en: antocianinas, betalainas carotenoides, clorofilas, flavonoides y taninos, cuyo contenido varía entre especies vegetales, con estado de madurez y con las condiciones de cultivo. Asimismo, por su naturaleza química, éstos se dividen en hidrosolubles y liposolubles.

2.2 Objetivo

Que el alumno se familiarice con los procesos de extracción de pigmentos naturales y discuta sobre el efecto del pH y del tratamiento térmico en la estabilidad de estos pigmentos en comparación con pigmentos artificiales.

2.3. Materiales

Reactivos

- Espinacas, col morada o flores de Jamaica
- Solución amortiguadora universal de citrato-fosfato-borato-HCl, pH 3, 5 y 8 (*Anexo II*)
- Solución amortiguadora de acetona-fosfato pH 8 al 80% v/v (*Anexo II*)

- Buffers de referencia pH 4 y 7
- Colorante artificial verde
- Vinagre
- Bicarbonato de sodio
- Agua destilada

Material de vidrio

- 12 Tubos de vidrio de 16 x 150 mm con tapa de rosca
- 2 Embudos de vidrio
- 2 Pipetas de 5mL
- 2 Probetas graduadas de 100 mL
- 2 Tubos de centrifuga de 30-50 mL
- 3 Celdas para espectrofotómetro
- 3 vidrios de reloj
- 5 Vasos de precipitados de 250 mL
- Barra magnética
- Cuchillo
- Espátula
- Gasa
- Gradilla para tubos
- Papel Whatman No. 4 y No. 1
- Pinza para tubos
- Piseta
- Propipeta
- Recipiente para baño de hielo
- Recipiente para Baño María
- Tabla para picar
- Varilla de vidrio

Equipo

- 2 Parrillas de calentamiento con agitación
- Balanza
- Centrifuga
- Espectrofotómetro
- Potenciómetro

2.4 Metodología

2.4.1 Extracción de clorofila

Las clorofilas son pigmentos verdes que tienen un anillo de porfirina unido a un átomo de magnesio. Se reconocen dos tipos principales de clorofilas, a y b, que difieren por la presencia de un grupo metilo y aldehído, respectivamente. Ambas clorofilas se degradan en condiciones ácidas a feofitina por la pérdida del magnesio generando un color pardo olivo.

1. Picar finamente 50g hojas de espinaca y colocarlos en un vaso de precipitados de 250 mL.
2. Adicionar 100 mL de solución amortiguadora de acetona-fosfato (pH 8 al 80% v/v), mezclar con una varilla de vidrio durante 10 minutos.
3. Filtrar a través de gasa para retirar las partículas de mayor tamaño, centrifugar por 10 minutos a 3000 rpm y recuperar el sobrenadante. De ser necesario filtrar a través de papel Whatman No.1.
4. Reportar el contenido de pigmentos en relación al contenido de clorofilas a, b y total, midiendo la absorbancia a 664 y 647 nm, si es necesario diluir la muestra para obtener una lectura entre 0.6 y 0.8 en ambas absorbancias.

$$\text{Clorofila } a \text{ (mg/g)} = [(12.7 \times A_{664}) - (2.69 \times A_{647})] / (10 \times \text{peso de muestra en gramos})$$

$$\text{Clorofila } b \text{ (mg/g)} = (22.9 \times A_{647} - 4.68 \times A_{664}) / (10 \times \text{peso de muestra en gramos})$$

$$\text{Clorofila total (mg/g)} = (20.2 \times A_{647} - 8.02 \times A_{664}) / (10 \times \text{peso de muestra en gramos})$$

5. Obtener el espectro de absorción en el intervalo de 400 a 700nm, empleando la solución amortiguadora de acetona-fosfato como blanco.
6. Conservar el extracto para las pruebas de pH y tratamiento térmico.

2.4.2 Efecto del pH y tratamiento térmico en la estabilidad de pigmentos naturales y artificiales

1. Etiquetar 12 tubos de ensaye como se muestra en la Tabla 2.2.
2. Colocar en cada tubo 5 mL de la solución amortiguadora indicada y 2 mL del extracto de clorofila obtenido (inciso 2.4.1) o 2 mL de una disolución al 0.01% de un colorante artificial verde, acorde a la Tabla 2.2.
3. Mezclar y tapar sin roscar.
4. Aplicar un tratamiento térmico a los tubos numerados del 7 al 12, colocándolos dentro de un baño de agua en ebullición por 5 minutos. **Esta operación debe realizarse en la campana de extracción, empleando una parrilla eléctrica.**
5. Enfriar los tubos por inmersión en un baño de hielo.
6. Comparar las características de color y discutir los cambios observados por efecto del pH y del tratamiento térmico para los dos pigmentos estudiados.

Tabla 2.2 Etiquetado y arreglo de los tubos para evaluar el efecto del pH y el tratamiento térmico en los pigmentos naturales y artificiales

No. de tubo	pH de la solución Amortiguadora (5 ml)	Colorante (2 ml)	Tratamiento Térmico	Observaciones
1	3	Extracto de clorofila	--	
2	5	Extracto de clorofila	--	
3	8	Extracto de clorofila	--	
4	3	Color artificial	--	
5	5	Color artificial	--	
6	8	Color artificial	--	
7	3	Extracto de clorofila	Sí	
8	5	Extracto de clorofila	Sí	
9	8	Extracto de clorofila	Sí	
10	3	Color artificial	Sí	
11	5	Color artificial	Sí	
12	8	Color artificial	Sí	

2.4.4 Efecto del pH y tratamiento térmico en la estabilidad de antocianinas

Las antocianinas son glucósidos de las antocianidinas, pertenecen a los flavonoides, el grupo flavilo está formado por dos anillos aromáticos A y B unidos por una cadena de 3 carbonos, con sustituciones glicosídicas en las posiciones 3 y/o 5 con mono, di o trisacáridos como la glucosa, galactosa, xilosa, ramnosa y arabinosa; además los residuos de azúcares pueden estar acetilados con ácidos orgánicos alifáticos o aromáticos. Se caracterizan por ser pigmentos solubles en agua y su color varía desde el rojo, azul y morado intenso hasta el rojo naranja. Se encuentran en flores, frutas y cereales, como el rábano, berenjena, col morada, arándanos, frambuesas, fresas y papa roja. Estos compuestos participan en la atracción de insectos polinizadores y brindan protección a las plantas contra los efectos de la radiación ultravioleta, tienen efecto antimicrobiano y antioxidante. Las antocianinas tienden a ser rojas en un medio ácido, incoloras en un pH cercano a 4, y azules a pH neutro.

1. Picar finamente 30g de col morada o de flor de Jamaica, colocar 10g del producto y 100 mL de agua destilada en cada uno de los tres vasos de precipitados de 250 mL, previamente rotulados: *a*, *b* y *control*.
2. Adicionar 0.5g de bicarbonato de sodio al vaso *a* y 15 mL de vinagre al vaso *b*.
3. Cubrir cada vaso con un vidrio de reloj y llevar a ebullición por 3 minutos.
4. Observar y reportar el cambio de color.
5. Obtener el espectro de absorción de las tres soluciones en el intervalo de 400 a 700nm, empleando agua destilada como blanco.
6. Reportar el contenido de antocianinas totales midiendo la absorbancia a 529 nm.

$$\text{Antocianinas totales (mg / g)} = \frac{A_{329} * 100\text{mL} * 449.2}{23900 * \text{peso muestra}}$$

Cuestionario

1. Dibuje la estructura general e investigue las características fisicoquímicas de los pigmentos extraídos.
2. Explique cómo influye el pH y la temperatura en las características e intensidad del color en los pigmentos evaluados en la práctica?
3. Investigue cómo influye el grado de madurez en el perfil de pigmentos y los mecanismos asociados a la síntesis de clorofilas, carotenoides y antocianinas?
4. ¿Cuáles son las ventajas y desventajas del uso de pigmentos naturales?

Bibliografía

-  Astrid-Garzón G. (2008). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: Revisión. Acta BiolColomb. 13(3):27-36.
-  Miller DD. (2001). Química de Alimentos. Manual de Laboratorio. Editorial Limusa México.
-  García-Cruz L, Salinas-Moreno Y, Valle-Guadarrama S. (2012). Determinación de fenoles solubles totales (FST). Rev. Fitotec. Mex. Vol. 35:1-5.
-  Badui S. (2013). Química de los Alimentos 5ª Edición Editorial Pearson, México. pp 379-418.

Práctica 3

Extracción de colorantes sintéticos a partir de productos comerciales e identificación cualitativa

3.1 Introducción

Los pigmentos se clasifican en: naturales, idénticos a los naturales y sintéticos. Los pigmentos sintéticos son producidos por síntesis química, en tanto que los idénticos a los naturales se pueden producir por modificación química de precursores naturales, o bien a partir de procesos biotecnológicos empleando bacterias, mohos o levaduras. Los pigmentos o colorantes sintéticos se emplean para intensificar el color perdido durante el procesamiento de alimentos y para asegurar la intensidad y uniformidad del producto, sin embargo su uso en alimentos ha sido siempre una fuente de controversia debido a su posible toxicidad. Los colorantes artificiales son en general, más resistentes a los tratamientos térmicos, a pH extremos y no se decoloran por exposición a la luz.

La NOM-118-SSA1-1994, define como colorantes a los materiales que imparten color, obtenidos por un proceso de síntesis, extracción o separación, a partir de una fuente animal, vegetal o mineral y que posteriormente se someten a pruebas fehacientes de seguridad que lo liberan para su aplicación en alimentos y que directamente o a través de su reacción con otras sustancias son capaces de impartir el color que les caracteriza. El Acuerdo por el que se determinan los aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, su uso y disposiciones sanitarias, publicado por Diario Oficial el 16 de julio de 2012, describe a los colorantes como cualquier sustancia que genera o restituye color a un producto, e incluye a 23 pigmentos, colorantes y lacas con límites de ingesta diaria aprobada (IDA), dentro de los cuales se encuentran siete colorantes sintéticos, además señala que la suma de los colorantes artificiales no debe exceder de 500 mg/kg de producto respetando la concentración máxima de uso para cada uno de ellos.

La Dirección de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés) señala que los colorantes artificiales deben ser certificados para su uso en alimentos. Los colorantes sintéticos aprobados para su aplicación en alimentos reciben un número FD&C (Food and Drug&Cosmetic) que se refiere a compuestos aprobados para su uso en alimentos y medicamentos, para diferenciarlos de aquellos colorantes aprobados para otras aplicaciones, como también lo requiere la Ley General de Salud y el Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios (Tabla 3.1). Estos compuestos son sales del ácido sulfónico, que es relativamente fuerte, por lo que se ionizan formando aniones a los valores de pH de la mayoría de los alimentos. El carácter iónico es responsable de su solubilidad en agua y permite establecer las bases de su extracción y el desarrollo de sus aplicaciones en líquidos y materiales pastosos.

Aunque los colorantes sintéticos se pueden usar en solución, acorde con la naturaleza del producto se prefiere el uso de pigmentos insolubles o lacas colorantes. Las lacas colorantes alimentarias son pigmentos obtenidos por precipitación de un colorante sintético alimentario con hidróxido de aluminio para formar una sal aluminica, de esta forma se obtienen pigmentos insolubles en agua, pero solubles de grasas. Las lacas son de fácil dispersión en productos en polvo, presentan mayor estabilidad a la luz y al calor, generan tonalidades más intensas y brillantes y pueden dispersarse en vehículos grasos sin que se observe la migración del color.

Tabla 3.1 Colorantes sintéticos aprobados para su uso en alimentos¹

FD&C	UE	Nombre común	Clase química
FD&C Amarillo 5	E102	Tartrazina	Azo
FD&C Amarillo 6	E110	Amarillo ocaso	Azo
FD&C Azul 1	E133	Azul brillante	Trifenilmetano
FD&C Azul 2	E132	Indigotina	Indigoide
FD&C Rojo 3	E122	Eritrosina	Xantenos
FD&C Rojo 40	E124	Rojo Allura	Azo
FD&C Verde 3	E143	Verde rápido	Trifenilmetano

¹ El límite máximo varía acorde con el tipo de producto. Acuerdo por el que se determinan los aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, su uso y disposiciones sanitarias, publicado por Diario Oficial el 16 de julio de 2012.

3.2 Objetivo

Que el alumno se familiarice con la extracción de colorantes presentes en alimentos procesados y aplique la cromatografía en papel para su identificación cualitativa.

3.3 Materiales

Reactivos

- Sobre para preparar gelatina o agua en polvo, y/o refrescos o bebidas de distintos colores (morado o rojo)
- Paquete de lunetas 50g
- Colores FD&C como estándares: Rojo 3 y 40, Azul 1 y 2, Amarillo 5 y 6, Verde 3
- Estambre blanco de lana purificado por ebullición por 5 min con NaOH 0.01N y tres lavados con agua destilada
- Ácido acético 5N
- Hidróxido de amonio 0.5N
- Fase móvil (2 g acetato de sodio en 20 mL de hidróxido de amonio)
- Agua destilada

Materiales

- 1 Vaso de precipitados de 100 mL
- 1 Vaso de precipitados de 250 mL
- 1 Vaso de precipitados de 50 mL
- 1 Vaso de precipitados de 500 mL
- 2 Celdas para espectrofotómetro
- 2 Pipetas de 10 mL
- 2 Probetas graduadas de 100 mL
- 3 Pipetas Pasteur y bulbo

- Espátula
- Matraz aforado de 10 mL
- Papel filtro del No. 1 o 4 en pliego 3 x 15 cm
- Perlas de ebullición
- Pinzas de disección
- Piseta
- Propipeta
- Varilla de vidrio

Equipo

- Balanza
- Espectrofotómetro
- Horno de secado
- Parrilla de calentamiento con agitación

3.4 Metodología

3.4.1 Extracción y concentración de colorantes de productos comerciales

Una de las aplicaciones primarias de los colorantes es en el teñido de la lana, el color se fija mediante interacciones iónicas a las proteínas de la lana. En condiciones ácidas, las proteínas adquieren una carga neta positiva que se unen a los colorantes ionizados mediante interacciones iónicas, aunque también se desarrollan puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas que ayudan a la retención del color después del lavado. Proceso que se puede revertir al calentar la lana teñida en un álcali diluido. Esta característica es la base del procedimiento de extracción descrito en esta sección.

1. Pesar 10 g del producto en polvo en un vaso de precipitados de 250 mL. Adicionar 100 ml de agua destilada y agitar hasta completa disolución. En su caso, emplear 100 mL de la bebida seleccionada.
2. Acidificar con 2 mL de ácido acético 5N.
3. Colocar 20 cm de estambre blanco de lana purificado (revisar reactivos), adicionar 4 perlas de vidrio y llevar a ebullición durante 15 a 20 minutos para que el estambre absorba el color.
4. Retirar el estambre con unas pinzas de disección y lavar con agua fría.
5. Colocar el estambre en un vaso de precipitados de 100 mL, agregar 4 perlas de vidrio y 10 mL de hidróxido de amonio 0.5N, hervir suavemente hasta que el color pase a la solución.
6. Retirar el estambre y transferir la solución a un matraz aforado de 10 mL, llevar al aforo con agua.
7. Obtener el espectro de absorción en el intervalo de 400 a 700nm, empleando agua destilada como blanco.



Figura 3.1. Extracción de colorantes artificiales.

3.4.2 Extracción de lacas colorantes de productos confitados

1. Separar las lunetas por color.
2. Colocar 5 lunetas de un solo color en un vaso de precipitados y adicionar 20 ml de agua destilada, agitar suavemente para extraer el color del confitado y retirar inmediatamente la fracción insoluble de las lunetas.
3. Discutir las características de intensidad y turbidez de la fracción soluble obtenida del confitado.



Figura 3.2. Extracción de colores artificiales de lunetas

3.4.3 Separación e identificación de colorantes artificiales por cromatografía en capa fina.

1. Cortar un rectángulo de papel filtro de 10 x 17 cm. Marcar con lápiz una línea a una distancia de 1 cm de la base del papel filtro, dibujar sobre la línea 14 marcas separadas por un espacio de 1 centímetro.
2. Depositar en cada marca, con ayuda de una micropipeta, 20 mL de uno de los estándares FD&C y cada uno de los extractos que obtuvo en las secciones 3.4.1 y 3.4.2. Dejar secar (en horno a 70°C por 10 minutos). Repetir la operación anterior hasta formar un círculo de color intenso de aproximadamente 4 mm para cada muestra.
3. Colocar 10 mL de la fase móvil (acetato de sodio e hidróxido de amonio) en un vaso de precipitados de 500 mL y posteriormente coloque el papel filtro, formando un cilindro, dejándolo caer de forma uniforme sobre la fase móvil y donde la base del papel toque el fondo del vaso.
4. Permita que la fase móvil recorra el papel filtro hasta que el frente se encuentre a 1 cm de la parte superior.
5. Calcule los valores R_f para todas las manchas; el valor de R_f es la relación de la distancia que recorre el compuesto (D_c) de interés con respecto al disolvente (D_d)

$$R_f = D_c/D_d$$

6. Compare los valores de R_f obtenidos en las muestras con los estándares conocidos para hacer su identificación cualitativa.

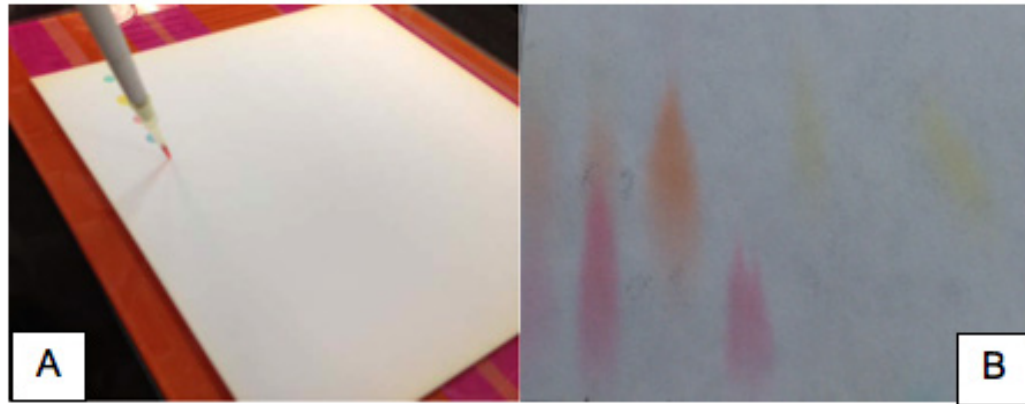


Figura 3.3. Cromatografía en capa fina. A) colocación de los colorantes en el rectángulo de papel filtro.
B) Cromatograma de estándares y colores artificiales extraídos.

Cuestionario

- 1 Investigue en qué consiste la certificación y los requisitos que deben cubrir los colorantes sintéticos para su uso en alimentos, acorde con la normatividad nacional, la FDA y la Comunidad Europea.
- 2 ¿Cuál es el fundamento de la cromatografía en capa fina y qué significado tiene el valor R_f ?
- 3 Busque información sobre los procedimientos para la extracción y purificación de colorantes artificiales.
- 4 Dibuje la estructura de los colorantes de la Tabla 3.1 y discuta las ventajas y desventajas del uso de colorantes artificiales.
- 5 ¿Qué tipo de colorante artificial emplearía para la elaboración de bebidas a base de agua y para el confitado de chocolates?

Bibliografía

-  Acuerdo por el que se determinan los aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, su uso y disposiciones sanitarias. Diario Oficial (Tercera Sección) Lunes 16 de julio de 2012.
-  FDA Dirección de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos. <http://www.fda.gov/Forindustry/ColorAdditives/default.htm> (Febrero, 2014).
-  Miller DD. (2001). Química de Alimentos. Manual de Laboratorio. Editorial Limusa México.
-  NOM-118-SSA1-1994. Bienes y servicios. Materias primas para alimentos, productos de perfumería y belleza. Colorantes y pigmentos inorgánicos. Especificaciones sanitarias.

Práctica 4

Efecto del tratamiento térmico y del pH en la generación de compuestos volátiles y color

4.1 Introducción

El aroma y sabor generados por efecto del tratamiento térmico son el resultado de varios mecanismos como la pirólisis o degradación térmica, la caramelización, la reacción de Maillard, así como la degradación de ribonucleótidos y tiamina. Las reacciones de caramelización y de oscurecimiento no enzimático o de Maillard, producen pigmentos oscuros responsables de la formación de gran número de compuestos. Por ejemplo, la descomposición térmica de la glucosa genera unos 80 compuestos orgánicos de bajo peso molecular, tales como aldehídos, cetonas, dicetonas, lactonas, furanos y dihidrofuranos.

La reacción de caramelización ocurre al calentar azúcares por arriba de la temperatura de fusión, o bien al aplicar un tratamiento térmico a soluciones de azúcares en presencia de catalizadores ácidos o básicos, formando pigmentos oscuros denominados caramelos, los cuales pueden ser de diferente intensidad y aromas agradables, que se emplean para impartir color en bebidas y otros alimentos. Los caramelos son mezclas complejas de compuestos de diversos pesos moleculares derivados de reacciones de deshidratación, fragmentación y fusión, que se clasifican en tres grupos: caramelano ($C_{24}H_{36}O_{18}$), carameleno ($C_{38}H_{50}O_{25}$) y caramelina ($C_{125}H_{188}O_{80}$).

La reacción de Maillard inicia con la condensación de azúcares reductores y grupos amino libres de aminoácidos o proteínas, seguida de diversas vías que resultan en la formación de pigmentos oscuros denominados melanoidinas y de gran número de compuestos volátiles, como aldehídos, cetonas, dicetonas y compuestos heterocíclicos que contienen oxígeno, nitrógeno y azufre. Un esquema simplificado de la generación de compuestos volátiles se presenta en la figura 4.1. Los compuestos volátiles generados por la reacción de Maillard se pueden dividir en tres grupos: a) productos de la fragmentación de azúcares: furanos, pironas, ciclopentanos carbonilos y ácidos; b) productos de la degradación de aminoácidos: aldehídos y compuestos azufrados, y c) productos de reacciones secundarias: pirroles, piridinas, imidazoles, oxasoles, tiazoles y compuestos de condensación aldólica.

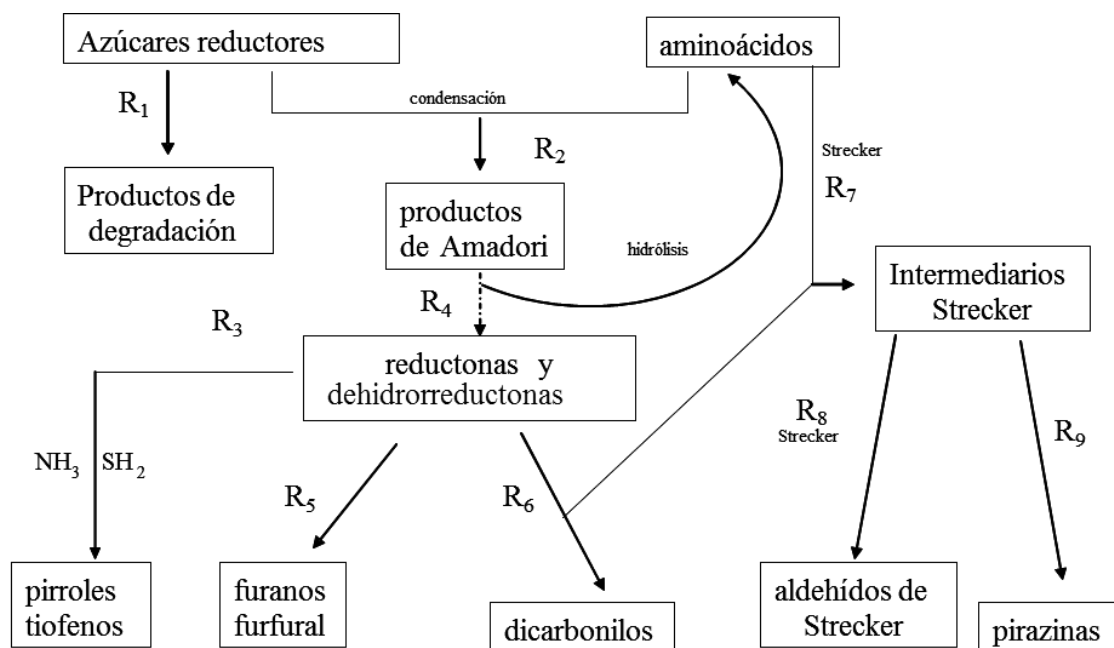


Figura 4.1. Esquema de las principales reacciones involucradas en la síntesis del aroma y el sabor por efecto de tratamiento térmico (Fuente: Jousse y cols., 2002).

Factores como el tipo y concentración de azúcares y aminoácidos, así como la temperatura y el pH influyen en el grado de pardeamiento y en el perfil de compuestos volátiles. Es muy importante resaltar el papel que desempeña la temperatura, ya que cada posible ruta de síntesis tiene una determinada energía de activación y, por lo tanto, su velocidad está en función de la temperatura. El pH modifica la protonación de los grupos amino, a valores bajos de pH, los grupos amino en su mayoría se encuentran protonados y no están disponibles para reaccionar. Condiciones de pH ligeramente alcalino inducen cambios en la estructura de los azúcares reductores, los cuales pasan rápidamente de su forma hemiacetal a la forma carbonilo, es decir, a aldehídos y cetonas reactivas, que se condensan rápidamente con los grupos amino libres de aminoácidos y proteínas.

4.2 Objetivo

Que el alumno comprenda los principios químicos y el efecto del pH y temperatura en la síntesis de compuestos volátiles mediante las reacciones de caramelización y Maillard.

4.3 Materiales

Reactivos

- 50 mL por equipo de cada una de las siguientes soluciones:
 - o Glucosa 0.5M
 - o Fructosa 0.5M
 - o Sacarosa 0.5M
 - o Glicina 0.5M
 - o Solución amortiguadora de fosfatos (pH 8, 0.1M)
 - o Solución amortiguadora de fosfatos (pH 5, 0.1M)
- Buffers de referencia pH 4 y 7
- Leche en polvo baja en grasa
- Agua destilada

Materiales

- 1 Vaso de precipitados de 1000 mL
- 1 Vaso de precipitados de 500 mL
- 14 Tubos de vidrio con tapa de 16x150 mm
- 2 Celdas de espectrofotómetro
- 4 Pipetas de 5 mL
- 5 Charolas de papel aluminio
- Espátula
- Gradilla para tubos
- Perlas de vidrio
- Pinzas para tubo
- Piseta
- Propipeta

Equipo

- Cronómetro
- Espectrofotómetro
- Horno
- Parrilla de calentamiento
- Potenciómetro

4.4 Metodología**4.4.1 Preparación del sistema modelo azúcar-glicina**

1. Preparar un baño de agua colocando 400 mL de agua destilada en un vaso de precipitados de 1L, llevar a ebullición y añadir algunas perlas de vidrio.
2. Etiquetar 14 tubos de ensaye, colocar en cada tubo 5 mL del amortiguador y 2.5 mL de las soluciones A y B como se muestra en la Tabla 4.1.
3. Mezclar y tapar los tubos sin roscar.
4. Colocar los tubos preparados dentro del baño y mantener en ebullición por 30 minutos.
5. Cerrar los tubos ajustando la rosca y enfriar por inmersión en agua fría.
6. Comparar la intensidad del color y aroma empleando una escala hedónica del 1 al 5 para estos dos atributos.
7. Determinar el índice de pardeamiento.

4.4.2 Determinación del índice de pardeamiento

1. Ajustar el espectrofotómetro a una longitud de onda de 430 nm, empleando agua destilada como blanco.
2. Medir la absorbancia de las soluciones de los 14 tubos obtenidos en la sección 4.4.1, si es necesario diluya la muestra con agua destilada para que la lectura de absorbancia sea inferior a 0.80 y reportar el índice de pardeamiento como sigue:

$$IP = A_{430} * F_D$$

Donde:

IP= índice de pardeamiento

F_D = factor de dilución (aforo / alícuota)

A_{430} = Absorbancia medida a 430 nm

Tabla 4.1. Rotulo y preparación de tubos

No. de tubo	pH del Amortiguado (5ml)	Solución A (2.5 ml)	Solución B (2.5ml)	Abs _{430 nm}	Observaciones Aroma y color
1	pH 5	Glicina	<i>Agua destilada</i>		
2	pH 5	Glicina	Glucosa		
3	pH 5	Glicina	Sacarosa		
4	pH 5	Glicina	Fructosa		
5	pH 8	Glicina	<i>Agua destilada</i>		
6	pH 8	Glicina	Glucosa		
7	pH 8	Glicina	Sacarosa		
8	pH 8	Glicina	Fructosa		
9	pH 5	<i>Agua destilada</i>	Glucosa		
10	pH 5	<i>Agua destilada</i>	Sacarosa		
11	pH 5	<i>Agua destilada</i>	Fructosa		
12	pH 8	<i>Agua destilada</i>	Glucosa		
13	pH 8	<i>Agua destilada</i>	Sacarosa		
14	pH 8	<i>Agua destilada</i>	Fructosa		

4.4.3 Demostración del pardeamiento de leche en polvo

1. Coloque 10 g de leche en polvo baja en grasa en 5 charolas de papel aluminio.
2. Coloque las muestras dentro de un horno a 120°C.
3. Retire una muestra a los 10, 20, 30 y 60 minutos, respectivamente; dejando una charola sin tratamiento como control.
4. Compare todas las muestras y describa su aroma y color, empleando una escala hedónica del 1 al 5 para estos dos atributos.

Cuestionario

1. Señale en cada caso el tipo de reacción y el mecanismo de reacción que tiene lugar en la serie de tubos de prueba.
2. ¿Cuál es el efecto que tiene el pH y la temperatura en la velocidad de las reacciones de Maillard y caramelización?
3. Busque ejemplos de los principales compuestos volátiles generados por estas dos reacciones.
4. Describa que otras reacciones térmicas pueden influir en las características de aroma, sabor y color de alimentos.

Bibliografía

-  Badui S. (2013). Química de los Alimentos 5ª Edición Editorial Pearson, México. pp 379-418.
-  Jousse F, Jongen T, Russel S, Bratt P. (2002). Simplified kinetic of flavor formation by the Mallard Reaction. J Food Sci. 67:2534.
-  Miller DD. (2001). Química de Alimentos. Manual de Laboratorio. Editorial Limusa México.

Práctica 5

Estabilidad y cuantificación de vitaminas y minerales en productos fortificados y enriquecidos.

5.1 Introducción

Las vitaminas son nutrientes que ayudan al metabolismo de otros nutrimentos y participan en importantes procesos fisiológicos de los seres vivos, al funcionar como coenzimas y en la prevención de enfermedades como el escorbuto, el raquitismo y la pelagra, entre otras. El ser humano no puede sintetizar las vitaminas esenciales, por lo que tiene que consumirlas de otras fuentes como son: los alimentos y los suplementos alimenticios.

En los alimentos, las vitaminas se encuentran en concentraciones bajas desde microgramos hasta miligramos, las cuales son suficientes para satisfacer las necesidades diarias si se tiene una dieta balanceada que incluya frutas, verduras y semillas, de acuerdo a la ingesta diaria recomendada o sugerida para la población mexicana (Tabla 5.1).

Tabla 5.1. Valores nutrimentales de referencia para la población mexicana (NOM-051-SCF1/SSA1-2010)

Nutrimento	Índice Diaria Sugerida
Vitamina A μg (equivalentes de retinol)	568
Vitamina B1 μg (Tiamina)	800
Vitamina B2 μg (Riboflavina)	840
Vitamina B6 μg (Piridoxina)	930
Vitamina C mg (Ácido ascórbico)	60 (Ingesta diaria recomendada)
Vitamina E mg (equivalente de tocoferol)	11
Calcio	900
Hierro mg	17
Magnesio mg	248
Yodo μg	99
Zinc mg	10

La presencia de las vitaminas en alimentos procesados puede ser mucho menor, que en los productos naturales, debido a los tratamientos térmicos y procesamiento a los que son sometidos. Por ejemplo algunas vitaminas hidrosolubles como la C, se destruyen (biológicamente inactivas) a temperaturas de esterilización, pasteurización y escaldado. Así mismo algunas vitaminas de la leche como la tiamina, B6, B12 y C se pierden al elaborar los derivados lácteos como leche evaporada y condensada.

Debido a esta disminución en el contenido de vitaminas, algunos productos son enriquecidos para compensar la pérdida de vitaminas durante su procesamiento, es decir se le incorpora una cantidad adicional de las mismas vitaminas que ya contiene el alimento.

Por otra parte para evitar la deficiencia de algunos requerimientos nutrimentales básicos, para el desarrollo y funcionamiento del organismo, se le adicionan a los alimentos minerales o vitaminas que de manera natural no los contienen, en otras palabras se suplementan para ayudar a alcanzar la ingesta diaria recomendada de vitaminas y minerales.

Los minerales o nutrimentos inorgánicos participan en procesos metabólicos importantes como la formación de tejidos rígidos (Ca, P, F y Mg), cofactor de enzimas (Mn, Zn, Cu, Na), integrante de vitaminas, hormonas, mioglobina y hemoglobina (Co,

I, Fe); control de presión osmótica y pH (Na, K, Cl) y parte constitutiva de proteínas (S, P, Fe), entre otras funciones. De ahí que sean indispensables para llevar a cabo funciones vitales pero además se adicionan en alimentos para evitar déficit de ellos, por ejemplo el yodo se incorpora a la sal de mesa para evitar bocio o un mal funcionamiento de la glándula tiroides.

5.2 Objetivo

Que el alumno comprenda la diferencia entre un producto enriquecido y un producto fortificado, así como el efecto del tratamiento térmico sobre las vitaminas en ambos productos.

5.3 Materiales

Reactivos

- 500 mL de jugo de naranja enriquecido
- 500 mL de jugo de naranja fortificado
- 500 mL de jugo de naranja natural (exprimido de naranjas)
- Ácido acético 5 %
- Ácido ascórbico
- Ácido clorhídrico concentrado
- Agua destilada
- Buffer de acetatos 3M, pH 4.2
- Clorhidrato de hidroxilamina al 10%
- Ortofenantrolina (0.1g en 80 mL de agua destilada a 80°C, enfriar y aforar a 100 mL)
- Solución de 2, 6-dicloroindofenol al 25% y bicarbonato de sodio al 2% en agua destilada
- Sulfato ferroso amoniacal (3.512 g en agua con unas gotas de HCl y aforar a 500mL, diluir hasta llegar a la concentración de 0.02 mg/mL)

Materiales

- 1 vaso de precipitados de 250 mL
- 6 crisoles medianos de porcelana
- Pinzas para crisol
- 5 matraces Erlenmeyer de 50 mL
- Espátula
- Bureta
- Pinzas y soporte para bureta
- Propipeta
- Embudo
- Papel Walthman del No. 4
- Papel aluminio
- 1 Matraz aforado de 50 mL

- 1 Matraz aforado de 100 mL
- 5 Pipetas graduadas de 5 mL
- 1 Probeta de 500 mL
- 1 Varilla de vidrio
- 8 Vasos de precipitados de 100 mL
- 2 Celdas para espectrofotómetro
- 1 Desecador

Equipo

- Autoclave
- Balanza analítica
- Campana de extracción
- Espectrofotómetro
- Mufla

5.4 Metodología

5.4.1 Determinación del contenido de vitamina C

Existen varios métodos para determinar el contenido de vitamina C en alimentos, uno de los más utilizados es el propuesto por la AOAC (Método 967.21) que involucra la titulación de la muestra con 2,6-dicloroindofenol (DCIP). Durante la titulación el DCIP oxida a la vitamina C sin cambio de coloración en la solución. Al final de la titulación un exceso de DCIP (no reducido y en medio ácido) produce una coloración rosa tenue.

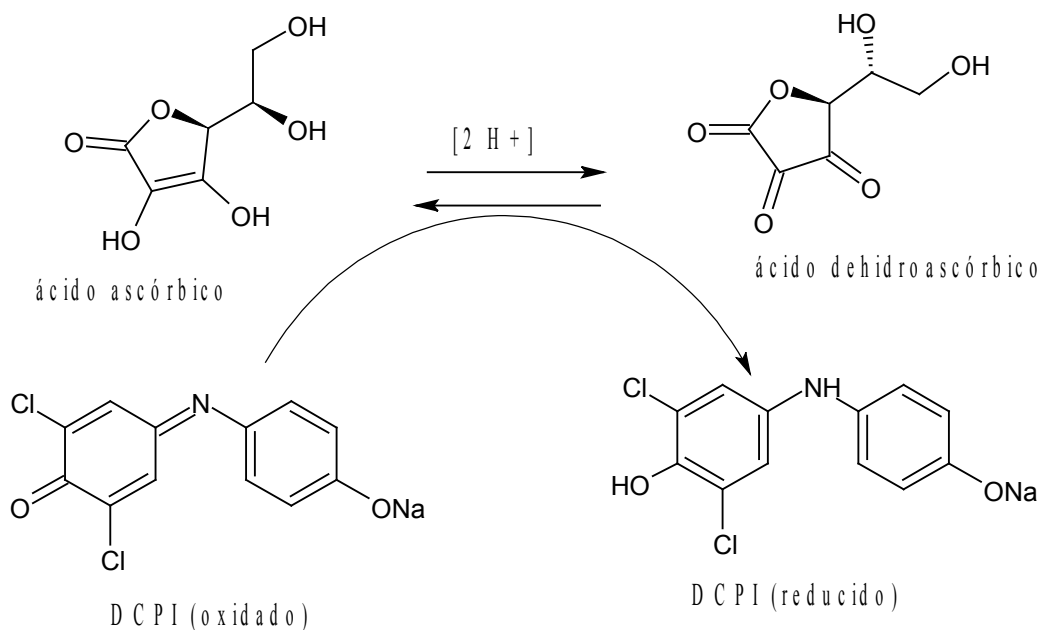


Figura 5.1 Reacción entre la vitamina C y el DCPI.

1. La preparación del estándar de ácido ascórbico debe realizarse el mismo día de la práctica. Pesar exactamente 100 mg de ácido ascórbico, colocarlo en un matraz aforado de 100 mL (previamente forrado con aluminio) y aforar con la solución de ácido acético al 5%.
2. Las muestras se deben filtrar con papel Whatman N° 4 para eliminar la pulpa o el precipitado formado en el fondo del envase.
3. Colocar 5 mL de la solución de ácido acético 5% en un matraz Erlenmeyer de 50 mL y adicionar 2 mL de la muestra de jugo filtrado a evaluar (2 mL del estándar o 2 mL de ácido acético al 5% como blanco).
4. Titular cada muestra con la solución de indofenol hasta la aparición y persistencia durante 10 s de una coloración rosada en la solución.
5. Anotar el volumen gastado de la solución de indofenol. Calcule la cantidad de vitamina C presente en la muestra.
6. Repita la misma operación por duplicado para cada muestra, blanco y estándar.

$$\text{Vitamina C} \left(\frac{\text{mg}}{100 \text{ mL}} \right) = \frac{1 \text{ mg vitC} * (\text{mL muestra} - \text{mL blanco})}{(\text{mL estándar} - \text{mL blanco}) * 2 \text{ mL}} * 100$$

5.4.2 Curva patrón de sulfato ferroso amoniacal.

1. Preparar 6 tubos con diferentes concentraciones de sulfato ferroso amoniacal de acuerdo a la tabla 10.2.
2. Tomar 10 mL de los diferentes tubos y colocarlos en un vaso de precipitados de 100 mL. Adicionar en el siguiente orden los reactivos (agitando entre cada reactivo): 1 mL de solución de clorhidrato de hidroxilamina, 5 mL de buffer de acetatos, 1 mL de ortofenantrolina.
3. Incubar la reacción por 15 minutos a temperatura ambiente y medir la absorbancia a 530 nm, utilizando como blanco agua destilada tratada de la misma manera que los estándares.
4. Realizar un gráfico donde relacione las diferentes concentraciones de sulfato ferroso amoniacal contra la absorbancia obtenida para cada concentración.
5. Obtener la ecuación de la línea recta y el coeficiente de correlación.

Tabla 5.2 Curva patrón de sulfato ferroso amoniacal

Tubo	Volumen (mL) tomado del estándar (0.02 mg/mL)	Cantidad de agua (mL)	Concentración final en ensayo (mg/mL)
1	0	10	0
2	0.5	9.5	0.001
3	1.5	8.5	0.003
4	2.5	7.5	0.005
5	3.5	6.5	0.007
6	5	5	0.01

5.4.3 Determinación de hierro

1. Pesar el crisol vacío y colocar 50 mL de cada muestra.
2. Evaporar la mayor cantidad de agua posible de cada muestra (si es posible eliminar el total del agua).
3. Calcinar la muestra (utilizando un mechero en la campana hasta que no se desprendan humos) y posteriormente llevar a la mufla por dos horas a 550°C. Repetir la operación anterior si es necesario, hasta conseguir unas cenizas blancas o ligeramente grises y homogéneas (NOTA: Recuerde manipular los crisoles en todo momento con las pinzas).

4. Pesar el crisol nuevamente, y calcular el contenido de cenizas por diferencia de pesos (peso del crisol con cenizas menos el peso del crisol vacío).
5. Añadir 1 mL de HCl concentrado sobre el crisol con cenizas frío y 3.5 mL de agua destilada para disolver las cenizas, agitar con cuidado con una varilla de vidrio.
6. Colocar la disolución anterior en un matraz aforado de 50 mL. Lavar el crisol con agua destilada por lo menos tres veces para disolver y arrastrar todas las cenizas al matraz, llevar al aforo con agua destilada y filtrar utilizando papel Whatman N°4.
7. Tomar 10 mL del filtrado y colocarlos en un vaso de precipitados de 100 mL. Adicionar en el siguiente orden los reactivos (agitando entre cada reactivo): 1 mL de solución de clorhidrato de hidroxilamina, 5 mL de buffer de acetatos, 1 mL de ortofenantrolina.
8. Incubar la reacción por 15 minutos a temperatura ambiente y medir la absorbancia a 530 nm, utilizando como blanco agua destilada tratada de la misma manera que los filtrados de las muestras.
9. Determinar la concentración de hierro interpolando sus resultados en la curva patrón preparada con sulfato ferroso amoniacal (ver Tabla 5.2).
10. Calcular el contenido de hierro por 100 mL de jugo.

Cuestionario

1. ¿Cuál es la diferencia entre un producto fortificado y uno enriquecido?
2. ¿Qué vitaminas y minerales se encuentran de forma natural en un jugo de naranja? y ¿en qué concentración?
3. ¿Qué significa la ingesta diaria recomendada? ¿Y su diferencia con la ingesta diaria sugerida?
4. Mencione las funciones de una vitamina hidrosoluble, de una vitamina liposoluble y de un mineral.

Bibliografía

-  Badui S. (2013). Química de los Alimentos 5ª Edición Editorial Pearson, México. pp 379-418.
-  Norma Oficial Mexicana NOM-051-SCFI/SSA1-2010, Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados-Información comercial y sanitaria.
-  NMX-F-503-1987. Ingenios azucareros. Determinación de fierro en muestras de azúcares.
-  Zumbado H. (2002). Análisis químico de los alimentos métodos clásicos. Instituto de farmacia y Alimentos. Universidad de la Habana. Consultado en internet (Febrero 2014) http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/AnalisisdeAlimentos-Libro_22821.pdf

Práctica 6

Evaluación de agentes antioxidantes y quelantes

6.1 Introducción

La rancidez oxidativa o autooxidación de los lípidos es la segunda causa del deterioro de los alimentos, se acompaña de la modificación en el perfil de aroma y sabor, así como de cambios en el color y la textura, pérdida de algunos nutrientes y la formación de compuestos potencialmente tóxicos. La velocidad en la que se sucede este deterioro depende directamente de la composición lipídica, del área de contacto con el oxígeno y de la presencia de agentes pro- y antioxidantes. En general la autooxidación se favorece a medida que aumenta el contenido de ácidos grasos insaturados. Además, la velocidad de reacción se duplica por cada 15 °C de aumento en la temperatura; sin embargo, aun la refrigeración y congelación no necesariamente inhiben esta reacción, por lo que la oxidación lipídica constituye un gran problema en la industria alimentaria.

Los ácidos grasos ya sean en su forma libre o como parte de estructuras más complejas son muy susceptibles a la oxidación mediante una reacción de propagación en cadena de radicales libres. La primera fase de esta reacción en cadena se denomina etapa de iniciación, en la que los ácidos grasos reaccionan con el oxígeno formando hidroperóxidos que tienen una estructura de dienos conjugados. La formación de hidroperóxidos ocurre por la acción de la luz, a través de fotoactivadores, o por la acción de enzimas como las lipoxigenasas. Esta fase de iniciación se caracteriza por la formación de radicales libres donde un ácido graso insaturado cede un hidrógeno o protón (adyacente al doble enlace) para formar un radical libre del ácido graso, que en presencia del oxígeno generan los correspondientes radicales hidroperóxidos. La luz, algunos metales de transición como el cobre y el hierro, el calor y el oxígeno actúan como catalizadores en esta primera etapa. La segunda etapa constituye una reacción en cadena, en la que un radical hidroperóxido remueve un H de un carbono vecino a un doble enlace, formando otro radical libre. El ciclo de propagación es interrumpido por las reacciones de terminación, en las cuales hay consumo de los radicales y formación de productos no-radicales muy estables. Los hidroperóxidos a través de reacciones de fragmentación se descomponen en una serie de compuestos oxidados como cetonas, aldehídos, alcanos y alquenos de bajo peso molecular y de alta volatilidad como el hexanal, pantanal y malonaldehído, que modifican el perfil sensorial del alimento. Los hidroperóxidos además pueden reaccionar en cadena con las proteínas, vitaminas y algunos pigmentos generando grupos carbonilo y alteraciones en las características de aroma, sabor y textura, con la consecuente pérdida del valor nutricional.

La reacción de oxidación de los lípidos puede retrasarse mediante el uso combinado de varias estrategias de conservación como: (1) la eliminación del oxígeno, mediante el envasado al vacío o en atmósfera modificada con bajo contenido de oxígeno; (2) por el empleo de envases opacos o laminados que filtren la radiación UV; (3) inactivación de enzimas oxidantes mediante el escaldado y (4) por la incorporación de antioxidantes que frenan esta reacción. Los antioxidantes actúan de varias formas, algunos reaccionan directamente con el oxígeno presente en el envase, otros reaccionan con los radicales libres deteniendo la reacción de propagación en cadena y otros actúan como quelantes.

La eficacia de los antioxidantes depende de su naturaleza y de las condiciones de uso. Los más polares como el galato de propilo se emplean para la protección de aceites, dado que tienden a situarse en la superficie de contacto con el aire. En cambio, en materiales con alto contenido de agua son preferibles los antioxidantes como los tocoferoles y el butilhidroxitolueno (BHT). La oxidación lipídica y la eficiencia de los antioxidantes puede ser evaluada por diferentes métodos como el índice de peróxidos (IP), la determinación de dienos y trienos por espectroscopia UV y la determinación de sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS), entre otros. Estos métodos son simples, sensibles y reproducibles cuando se llevan a cabo bajo condiciones normalizadas. Sin embargo, existen nuevas metodologías de validez comparable a las tradicionales, como la medición de compuestos volátiles en el espacio-cabeza (headspace) por cromatografía de gases y la aplicación de la espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR), entre otras.

Los agentes quelantes forman complejos de coordinación con iones de metales impidiendo su actividad catalítica, dentro de este grupo se incluyen los ácidos cítrico, málico, tartárico, oxálico, fosfórico y succínico, así como las sales del ácido etilendiaminotetracético (EDTA) y los hexametafosfatos. Estos agentes son de amplio interés en la industria de alimentos ya que

actúan en sinergia con los antioxidantes al atrapar iones prooxidantes como el cobre y hierro, además tienen cierta actividad antimicrobiana e inhiben la acción de enzimas como la lipoxigenasa y la polifenol oxidasa, por lo que previenen la degradación del color, sabor y la oxidación. En particular la polifenol oxidasa (PPO, conocida también como monofenol monooxigenasa) cataliza la oxidación de mono-fenoles a O-difenoles para formar O-quinononas, que se polimerizan rápidamente produciendo pigmentos de color negro, marrón o rojo, responsables del oscurecimiento o pardeamiento enzimático en diversos tejidos.

6.2 Objetivo

Que el alumno compare la eficiencia de antioxidantes y agentes quelantes comúnmente empleados en la industria de alimentos, y discuta el efecto de agentes antioxidantes y pro-oxidantes en la estabilidad de aceite.

6.3 Materiales

Reactivos

- Aceite de soya
- 1 papa cruda
- Acetona
- Ácido 2-tiobarbitúrico 0.02 M en ácido acético 90%
- Alambre de cobre lavado con ácido nítrico 3N
- Butilhidroxianisol (BHA)
- Butilhidroxitolueno (BHT)
- Ácido etilendiaminotetra-acético (EDTA)
- Extracto de licopeno (Práctica 1)
- Hexano
- Solución de ácido acético-cloroformo (60:40)
- Ácido ascórbico al 5%
- Ácido cítrico al 5%
- EDTA al 0.5%

Material de laboratorio

- 1 Pipeta de 5
- 2 Celdas de vidrio para espectrofotómetro
- 2 Pipetas de 1 mL
- 1 Pipeta de 10 mL
- 2 Tubos de centrifuga graduados de 20 mL
- 5 Frascos de boca ancha (Tipo Gerber)
- 5 Matraces Erlenmeyer con tapa de vidrio
- 8 Tubos de vidrio 16 x 150 mm con tapón de rosca
- 5 cajas Petri
- Pelador de papas
- Cuchillo y tabla para picar

- Bureta
- Espátula
- Gradilla para tubos de ensaye
- Matraz aforado de 25 mL
- Papel aluminio
- Pinzas para tubo
- Pinzas y soporte para bureta
- Pipeta Pasteur y bulbo
- Piseta
- Plástico auto adherible
- Probeta graduada de 100 mL
- Propipeta
- Recipiente para Baño María
- 3 Vasos de precipitados de 100 mL
- 3 Vasos de precipitados de 250 mL

Equipo de laboratorio

- Balanza de precisión
- Balanza granataria
- Licuadora
- Centrífuga para 10,000 rpm
- Espectrofotómetro UV-Vis
- Parrilla de calentamiento

6.4 Metodología

6.4.1 Evaluación de antioxidantes

6.4.1.1 Preparación de muestras

1. Preparar 5 frascos de boca ancha tipo Gerber con 25 g de aceite de soya y rotular con las letras A, B, C, D, y E.
2. Agregar a cada frasco el material que corresponda:
 - A. 0.025g de BHT o BHA disuelto en 1 mL de acetona,
 - B. 2.5 mL de extracto de licopeno (Práctica 1),
 - C. 0.025 g de BHT o BHA disuelto en 1 mL de acetona y 0.025 g de EDTA,
 - D. 1 cm de alambre de cobre lavado con ácido nítrico 3N,
 - E. Control sin aditivos.
3. Cubrir los frascos con una película plástica auto-adherible permeable al oxígeno, y almacenar por 4 semanas en un lugar iluminado.
4. Al término del periodo de almacén, detectar los cambios en el color y aroma comparando con el control sin aditivos.

- Determinar las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (TBAR's) y/o el contenido de dienos conjugados de los cinco frascos.
- Calcular el factor protector (F_p) que resulta de dividir el resultado de los índices de cada tratamiento con respecto a la muestra control sin aditivos. Si $F_p > 1$, el aditivo tiene efecto antioxidante; si $F_p < 1$, entonces se considera que es pro-oxidante.
- Discutir el efecto de los antioxidantes, EDTA y el alambre de cobre.

6.4.1.2 Determinación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBAR's)

Se basa en la formación de un compuesto rojo resultante de la condensación de 2 mol de ácido 2 tiobarbitúrico con 1 mol de malonaldehído o de sus tautómeros (epihidral y oxiacroleína), derivados de la oxidación del lípido o provenientes de la hidrólisis u oxidación de otros productos de la rancidez, cuya concentración se determina espectrofotométricamente a 532 nm (Figuras 6.1 y 6.2).

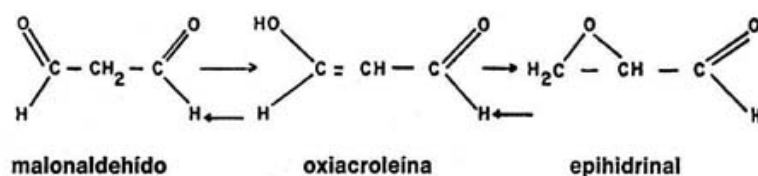


Figura 6.1 Estructura del malonaldehído y sus tautómeros

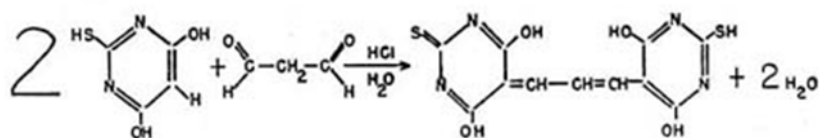


Figura 6.2 Síntesis del complejo colorido por la reacción de 2 moles de ácido-2-tiobarbitúrico con malonaldehído

- Pesar 0.5 g de aceite en un tubo con tapa de rosca, adicionar 5 mL de ácido 2-tiobarbitúrico 0.02M en ácido acético glacial al 90%. Realizar esta operación para cada frasco preparado en el punto 5.4.1.1.
- Preparar un blanco sin aceite.
- Tapar y colocar los tubos en un baño con agua hirviendo durante 30 minutos.
- Enfriar a temperatura ambiente y centrifugar a 3000 rpm por 10 minutos
- Con ayuda de una pipeta Pasteur, tomar aproximadamente 3 mL del fondo del tubo, hasta completar el volumen necesario de la celda del espectrofotómetro y medir la absorbancia a 532 nm, utilizar ácido 2-tiobarbitúrico como blanco.

$$\text{TBAR's} = 7.0 * \text{Abs}_{532}$$

Donde:

Abs_{532} = Absorbancia medida a 532 nanómetros

TBAR's (mg malonaldehído /kg muestra)

6.4.1.3 Determinación de dienos y trienos conjugados por espectroscopía UV

El método se basa en la detección de dienos y trienos conjugados que se generan como consecuencia de cambios en las posiciones de los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados (figura 6.3).

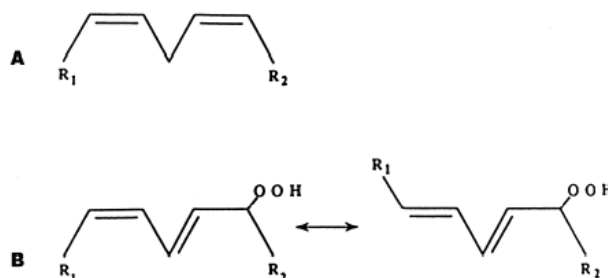


Figura 6.3 Estructura de (A) dienos conjugados y (B) hidroperóxidos

1. Colocar 20 μ L de aceite en un matraz aforado de 25 mL.
2. Disolver el aceite en hexano mezclando vigorosamente y llevar al aforo.
3. Obtener la absorbancia a 233 y 268 nm respectivamente, utilizando celdas de cuarzo y empleando como blanco el hexano.
4. Realizar las diluciones correspondientes con el solvente para obtener una absorbancia menor a 1.
5. Reportar la concentración de dienos con el coeficiente de extinción de $25,000 M^{-1} cm^{-1}$ y expresar los resultados en micromoles equivalentes (μ mol).

6.4.2 Evaluación de quelantes en la reacción de oscurecimiento enzimático

1. Rotular 5 cajas Petri con las letras (A, B, C, D y E), adicionar en cada una los aditivos como se indica :
 - A. 1 mL de ácido cítrico 5%
 - B. 1 mL de ácido ascórbico 5%
 - C. 1 mL de EDTA 0.5%
 - D. 0.5 mL de ácido cítrico al 5% y 0.5 mL de EDTA al 0.5%
 - E. Agua destilada
2. Homogenizar en una licuadora 100 g de papa (previamente pelada y picada) con 100 mL de agua destilada.
3. Inmediatamente colocar 10 mL del homogenizado en cada una de las placas, agitar la placa con movimientos circulares sobre la mesa para que se mezclen las soluciones y dejar en reposo por hasta 1 hora.
4. Comparar el efecto de cada uno de los aditivos a los 30 y 60 minutos, ordenándolas 1 al 5 acorde con la intensidad del color. El 1 corresponderá a la placa con el menor color y el 5 a la placa con mayor intensidad de color.
5. Anote sus observaciones.

Cuestionario

1. Esquematice la reacción de autoxidación de lípidos señalando las etapas de iniciación, propagación y terminación.
2. Señale los posibles productos de fragmentación de los hidroperóxidos derivados del ácido oleico.
3. ¿Cuál es la clasificación y características de los antioxidantes aprobados para su uso en alimentos?
4. ¿Cuáles son las ventajas y desventajas de las técnicas empleadas en la práctica para la determinación de la oxidación?
5. Describa el efecto de la reacción del oscurecimiento enzimático en la estabilidad de alimentos.
6. Describa la función de los agentes quelantes en alimentos, así como los niveles permitidos.

Bibliografía

-  Acuerdo por el que se determinan los aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, su uso y disposiciones sanitarias. Diario Oficial (Tercera Sección) Lunes 16 de julio de 2012.
-  Badui S. (2013). Química de los Alimentos 5ª Edición Editorial Pearson, México. pp 379-418.
-  FDA Dirección de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos. <http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/LabelingNutrition/ucm063064.htm> (Febrero, 2014).
-  García-Cruz L, Salinas-Moreno Y, Valle-Guadarrama S. (2012). Determinación de fenoles solubles totales (FST). Rev. Fitotec. Mex. Vol. 35:1–5.
-  Miller DD. (2001). Química de Alimentos. Manual de Laboratorio. Editorial Limusa México.

Práctica 7

Determinación de la actividad antimicrobiana de conservadores

7.1 Introducción

La presencia de microorganismos, en los alimentos, provoca un indeseable deterioro en alimentos frescos, cosechados y procesados, parte de estos cambios pueden disminuir el valor nutricional e incluso volverse tóxicos. De ahí, que se han implementado estrategias como la pasteurización, esterilización, refrigeración, congelación y adición de conservadores, para disminuir la cantidad de microorganismos indeseables sin perjudicar las características sensoriales y nutritivas de los alimentos.

Los conservadores son un grupo de aditivos que poseen un efecto inhibitorio directo sobre el desarrollo y crecimiento de microorganismos. Forman parte de una estrategia para retardar o reducir algunos procesos de fermentación o de putrefacción indeseables en productos alimenticios. En otras palabras los conservadores ayudan a mantener la estabilidad, calidad y seguridad de un alimento. Existen diversos agentes químicos clasificados como conservadores, como: los ácidos carboxílicos y sus sales, epóxidos, nitritos, parabenos, dióxido de carbono y sustancias antifúngicas, etcétera. La selección del agente antimicrobiano depende de factores como: la composición y pH del alimento, solubilidad, inocuidad, costo y el efecto directo que tenga sobre un microorganismo en específico.

Dentro de los ácidos carboxílicos y sus sales se encuentran el ácido acético-acetato, ácido benzoico-benzoato, ácido propiónico-propionato, ácido sórbico-sorbato, ácido láctico-lactato. Los cuales, a pesar de ser ácidos carboxílicos, tienen efectos y funcionalidades diversas. Por ejemplo el ácido acético actúa contra bacterias, levaduras y mohos, y su pH máximo de acción es de 4.5, sin embargo no se usa en muchos productos por el sabor que provoca. En cambio el ácido benzoico no inhibe hongos, su pH máximo de acción varía de 2.5 a 4 y es más utilizado en mermeladas, jarabes, bebidas y concentrados de jugos.

También son utilizados algunos extractos naturales como conservadores por su actividad antibacteriana. Algunos de estos conservadores naturales son: el eugenol (clavo), cinamaldehído (canela), propóleo (miel), quitosano (crustáceos), lisozima (huevo), etcétera, los cuales también tienen un amplio y diverso uso y funcionalidad.

7.2 Objetivo

Que el alumno comprenda el efecto antimicrobiano que ejercen algunos conservadores naturales y artificiales contra microorganismos causantes de alteración en alimentos.

7.3 Materiales

Reactivos

- Ácido acético
- Ácido cítrico
- Ácido láctico
- Benzoato o ácido benzoico
- Caldo nutritivo adicionado con 1.5% de agar
- Caldo nutritivo adicionado con 0.8% de agar
- Agua destilada
- Cultivo de *E.coli* de menos de 12 horas
- Cultivo de *Leuconostoc mesenteroides* de menos de 12 horas
- Cultivo de *Listeria innocua* de menos de 12 horas
- Opcionales: Extractos de las prácticas anteriores (licopeno, clorofila, antocianinas)

Material de vidrio

- 1 Matraz de 250 mL
- 3 Cajas Petri para cultivo microbiano de 100 x10 mm
- 3 Pipetas Pasteur estériles
- 3 Tubos de 16 x 150 mm con tapa de rosca
- Agitador magnético
- Espátula
- Micropipeta de 20-200 microlitros
- Probeta
- Puntas para micropipeta, estériles
- Recipiente para desechos bacteriológicos (vaso con agua y cloro, una lata, bolsa o bote de plástico)

Equipo

- Autoclave
- Balanza
- Parilla de calentamiento
- Incubadora a 37°C

7.4 Metodología

1. Preparar tres placas Petri con 15 mL del caldo nutritivo adicionado con 1.5% de agar.
2. Realizar una estría simple con un hisopo estéril de la cepa de interés (*E. coli*, *Listeria innocua* o *Leuconostoc mesenteroides*) en las tres diferentes cajas. Repetir esta operación tres veces girando la caja 45° entre cada estría.
3. Esterilizar 3 tubos con 12 mL del medio de caldo nutritivo con 0.8% de agar. Fundir y llevar a 45°C en un baño María y vaciar sobre cada una de las placas anteriormente estriadas, para formar una doble capa de agar.
4. Dejar solidificar la capa de agar semisólido y realizar 5 pozos, perforando la capa superior de agar con la base de una pipeta Pasteur. El número de pozos dependerá del número de conservadores a evaluar.
5. Rotular la caja identificando los diferentes pozos y colocar en cada uno 30 µL del conservador a evaluar en el pozo correspondiente, dejando un pozo sin antimicrobiano como control.
6. Sin invertir las cajas, incubar a 35°C durante 16 a 24 horas.
7. Reportar el diámetro de los halos de inhibición (diámetro del halo de inhibición menos el diámetro del pozo) y comparar las diferencias encontradas con los diferentes antimicrobianos y los diferentes microorganismos en estudio (Figura 7.1).



Figura 7.1. Halos de inhibición generados por extractos naturales empleados como antimicrobianos en un cultivo de *Listeria innocua*

Cuestionario

1. ¿Cuál es la clasificación y características de los antimicrobianos aprobados para su uso en alimentos?
2. Investigue las pruebas que deben realizarse para otorgar la aprobación de los antimicrobianos en alimentos.
3. Mencione 2 ejemplos de conservadores naturales y artificiales, sus usos en alimentos y su mecanismo de acción.

Bibliografía

-  Acuerdo por el que se determinan los aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, su uso y disposiciones sanitarias. Diario Oficial (Tercera Sección) Lunes 16 de julio de 2012.
-  Jay, JM. (2009) Microbiología moderna de los alimentos. Editorial Acribia, Zaragoza España.
-  Msagati T. (2013). Chemistry of food additives and preservatives. Wiley-Blackwell.USA. Pp 216-332.
-  Ray B. (2011). Fundamental Food Microbiology, Fourth Edition, CRC Press. USA

Práctica 8

Selección de almidones Evaluación de viscosidad y gelificación

8.1 Introducción

El almidón es un polisacárido de origen vegetal, con pesos moleculares de hasta 200 millones de daltones. Las principales fuentes industriales de este polisacárido son el maíz, el trigo, la papa y el arroz; aunque también se puede obtener de la yuca, la avena, el centeno, el sorgo y el chícharo, entre otros. El almidón es una mezcla de dos polisacáridos (15-30% del polímero lineal llamado amilosa y 70-85% del polímero ramificado denominado amilopectina), ambos constituidos por unidades de glucosa unidas por enlaces glucosídicos α -1,4 y en menor proporción por enlaces α -1,6 y α -1,3. Estos polisacáridos se encuentran compactados en forma de gránulos concéntricos, cuya forma y tamaño varía con la especie de origen. El yodo reacciona con la amilosa formando un complejo de color azul por la inclusión de una molécula de yodo en la hélice de la amilosa, en tanto que la amilopectina acompleja una menor cantidad de yodo generando coloraciones rojas.

Los gránulos de almidón son insolubles en agua fría, sin embargo cuando se calientan en presencia de agua, el gránulo empieza a hincharse y aumentar de volumen. Las zonas amorfas donde se encuentra la amilopectina son las primeras en absorber agua, seguidas por las zonas cristalinas constituidas por la amilosa, hasta que el gránulo alcanza su máximo volumen, pierde la birrefringencia y se rompe parcialmente, quedando la amilosa y la amilopectina altamente hidratadas y dispersas en el seno del líquido. Este proceso, se denomina gelatinización y se acompaña de un incremento en la viscosidad por la transición de un estado ordenado y cristalino en el gránulo a un estado hidratado. La viscosidad de la dispersión dependerá de la concentración de almidón y de la temperatura de transición o gelificación de cada almidón. La presencia de sales y el pH modifican la temperatura de gelatinización así como la viscosidad de la dispersión debido a que pueden favorecer o inhibir la formación de puentes de hidrógeno entre los polisacáridos y el seno acuoso.

Las disoluciones de almidón concentradas pueden formar un gel firme al enfriarse rápidamente, pero con el tiempo este gel puede presentar sinéresis debido a la retrogradación o insolubilización de la amilosa y amilopectina. La tendencia a la retrogradación varía principalmente en función de la concentración de amilosa y de la longitud de las porciones lineales de la amilopectina.

Desde el punto de vista industrial además de ser uno de los principales polisacáridos de reserva, se utiliza por su capacidad para absorber agua como agente espesante y gelificante, así como para estabilizar emulsiones, como sustituto de grasa, como humectante, antiaglomerante, acarreador de pigmentos, agente de encapsulado o como materia prima para la obtención de glucosa y fructosa.

Los almidones se pueden someter a varios procesos químicos para reducir la retrogradación y aumentar su estabilidad a tratamientos térmicos, a la presencia de ácidos, a la agitación y a la congelación, o para alargar o acortar el tiempo de gelatinización. Como ejemplos se incluyen al almidón pregelatinizado, el almidón tratado con ácido o fluidizado (E1401), el almidón alcalino (E1402), el almidón blanqueado (E1403), el almidón oxidado (E1404), almidón tratado enzimáticamente (INS: 1405), almidón acetilado (E1420) y el almidón oxidado (E1451), entre otros.

8.2 Objetivo

Evaluar el efecto del pH y la presencia sales y azúcares en la viscosidad de suspensiones de almidón y los observar los cambios en la morfología de los gránulos de almidón al aplicar un tratamiento térmico, como criterios para la selección y caracterización de almidones.

8.3 Materiales

Reactivos

- Almidón nativo
- Almidón pre-gelatinizado u otro almidón modificado

- Mezcla de fosfatos alcalinos (hamine)
- Sal de mesa
- Ácido cítrico
- Azúcar
- Solución de Lugol
- Agua destilada

Material de laboratorio

- 12 portaobjetos
- 2 Probetas graduadas de 250 mL
- 2 varillas de vidrio
- 2 Vasos de precipitados de 250 mL
- 6 Vasos de precipitados de 600 mL
- Buffer de referencia pH 4 y 7
- Espátula
- Guantes
- Pipeta Pasteur y bulbo
- Piseta
- Termómetro
- Tina para baño con hielo

Equipo

- Balanza
- Microscopio óptico
- Parrilla de calentamiento con agitación
- Potenciómetro
- Viscosímetro

8.4 Metodología

8.4.1 Efecto de aditivos en la viscosidad de dispersiones de almidón

1. Rotular cinco vasos de precipitado de 600 mL con las letras A, B, C, D y E. Preparar 500 mL de cada una de las cinco suspensiones de almidón descritas en la Tabla 8.1, como se indica a continuación:
 1. Depositar los aditivos (sales y/o el azúcar) en los vasos, acorde con la Tabla 8.1, adicionar 100 mL de agua destilada y mezclar hasta total disolución.
 2. Agregar el almidón, agitando constantemente para evitar la formación de agregados y adicionar 400 mL de agua destilada.
 3. Anotar el peso del vaso con la disolución y calentar a 70°C por 5 min, agitando continuamente, con una varilla de vidrio, para evitar que el almidón se pegue en el fondo del vaso.

4. Enfriar en baño de hielo hasta alcanzar temperatura ambiente.
5. Volver a pesar y adicionar el agua necesaria para recuperar el agua que se perdió por evaporación.
6. Determinar el pH y la viscosidad con un viscosímetro rotacional (Anexo IV).
7. Comparar los resultados obtenidos entre las diferentes suspensiones de almidón nativo (opcionalmente se pueden emplear almidones modificados, acorde con la disponibilidad del material).

Tabla 8.1. Composición de las suspensiones para evaluar el efecto del pH, sales y azúcares en la viscosidad de dispersiones de almidón.

Solución	Almidón Nativo	Aditivos
A	15 g	--
B	15 g	10 g de azúcar
C	15 g	7.5 g sal de mesa
D	15 g	7.5 g sal de mesa 2.5 g hexametáfosfato de sodio (hamine)
E	15 g	2.5 g ácido cítrico

8.4.2 Cambios en la morfología de los gránulos de almidón función de la temperatura.

1. Preparar 150 mL de una suspensión al 5% de un almidón nativo y un almidón modificado.
2. Tomar una gota de la suspensión y colocarla en un portaobjetos, adicionar dos a tres unas gotas de lugol. Observar inmediatamente en el microscopio con los objetivos de 10X y 20X, anotar sus observaciones.
3. Calentar la solución anterior hasta alcanzar la temperatura de 30°C, nuevamente tomar una gota de la suspensión y realizar el mismo procedimiento que en el punto anterior.
4. Repetir la misma operación para las temperaturas de 50°C, 60°C, 70°C y 80°C, respectivamente.
5. Comparar los resultados obtenidos entre un almidón nativo y un almidón modificado.

Cuestionario

1. Explique; ¿cómo están conformados los gránulos de almidón y la diferencia estructural entre la amilosa y amilopectina?
2. Investigue los procesos industriales y las características funcionales de los almidones pregelatinizados, fluidizados, esterificados, cruzados y oxidados.
3. ¿Cuál es el efecto del pH y la adición de sales y azúcares en la viscosidad de disoluciones de almidón?
4. ¿Cuál es la definición de viscosidad y el fundamento de la determinación de esta propiedad?
5. Investigue el fundamento de operación del viscosímetro rotacional.

Bibliografía

-  Acuerdo por el que se determinan los aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, su uso y disposiciones sanitarias. Diario Oficial (Tercera Sección) Lunes 16 de julio de 2012.
-  Brookfield. <http://www.brookfieldengineering.com/>
-  Miller DD. (2001). Química de Alimentos. Manual de Laboratorio. Editorial Limusa México.
-  Badui S. (2013). Química de los Alimentos 5ª Edición Editorial Pearson, México. pp 379-418.

Práctica 9

Hidrocoloides con propiedades gelificantes

9.1 Introducción

Los hidrocoloides son moléculas de alto peso molecular con características hidrofílicas, que usualmente, tienen propiedades coloidales con capacidad de producir geles al combinarse con el solvente apropiado. El término goma se aplica a una gran variedad de sustancias con características gomosas. Sin embargo, es más común la utilización del término goma para referirse a polisacáridos o sus derivados, de origen vegetal, microbiano o químicamente modificados, además de los polisacáridos de origen animal, que al dispersarse en el agua fría o caliente, producen soluciones o mezclas viscosas y que en la concentración apropiada producen sólidos viscoelásticos o geles, por lo que pueden actuar como estabilizantes y/o gelificantes. Esta definición excluye proteínas y polímeros sintéticos que también pueden gelificar. La tabla 9.1 describe las características de las principales gomas empleadas en alimentos; todas ellas son muy utilizadas en el procesamiento de muchos alimentos ya que poseen propiedades funcionales como emulsificantes, estabilizantes, gelificantes y espesantes. Algunas gomas actúan en sinergia por combinación con proteínas.

La funcionalidad de las gomas o hidrocoloides depende de varios factores como el peso molecular, el pH y la concentración. En las mismas concentraciones, las gomas cuya estructura molecular es relativamente lineal, como la goma tragacanto, forman soluciones de alta viscosidad en comparación con aquellas gomas cuya estructura es esférica, como la goma arábiga. La concentración recomendada de uso en alimentos varía en un intervalo 0.25 a 1.0% acorde con la funcionalidad que se busque. Un estabilizante alimenticio es cualquier material que al ser adicionado a un alimento aumenta su tiempo de almacén y que reduce la velocidad en la cual suceden algunos cambios dentro de un producto durante su almacenamiento, transporte y manipulación; Los hidrocoloides actúan como estabilizantes debido a que retardan o evitan cualquiera de los siguientes procesos:

- Cristalización, usualmente del agua o del azúcar.
- Sedimentación gravitacional de partículas en suspensión.
- Ruptura de espumas.
- Floculación, coagulación o coalescencia de emulsiones.
- Desagregación de agregados.
- Sinéresis en geles.

Tabla 9.1 Características de las principales gomas empleadas en alimentos

Nombre	Principales constituyentes	Fuente	Usos
Goma Guar	Cadena de D-manopirosa y D-galactopiranosas, en proporción 2:1, unidos por enlaces glicosídicos	Semillas de <i>Cyamopsis tetragonoloba</i>	Espesante y estabilizante para helados, salsas y lácteos
Goma Locus o goma de Algarrobo o garrofín	Cadena D-manopiranosas ligada a residuos de D-galactopiranosas	Obtenido de la <i>Ceratonia siliqua</i> de la familia Leguminosae	Estabilizante de emulsiones, espesante de helados y lácteos. Encapsulante
Goma Arábiga	D-galactopiranosas, L-ramnosa, L-arabinofuranosa y ácido D-glucurónico	Exudado de <i>Acacia Senegal</i> (L) Willd, y otras especies de la familia Leguminosae	Estabilizante de emulsiones y encapsulante
Goma tragacanto: • tragantina • basorín	Fracción soluble en agua: residuos de ácido D-galacturónico y D-xilopiranosas. Fracción insoluble en agua: L-arabinopiranosas, D-xilopiranosas y ácido D-galacturónico	Exudado de <i>Astragalus gummifer</i> Labillardier o de especies asiáticas de <i>Astragalus</i> de la familia Leguminosae	Estabilizante de emulsiones y espesante
Agar	Agarosa: D-galactopiranosas 3,6-anhidro-L-galactopiranosas. Agarpectina: D-galactopiranosas, 3,6-anhidro-L-galactopiranosas, ácido D-glucurónico, ácido pirúvico, sulfato	Algas marinas del género <i>Gelidium</i>	Gelificante para dulces, masas y carnes
Carrageninas	D-galactopiranosas y 3,6-anhidro-D-galactosa, esterificados con H_2SO_4	Algas rojas de la familia Rhodophyceae: <i>Chondrus crispus</i> y <i>Gigartina mamillosa</i>	Gelificante para lácteos. Espesante y estabilizante en salsas y sopas
Alginato	Cadenas de ácido D-manurónico y ácido L-gulurónico	Algas marrón como <i>Laminaria digitata</i> y <i>Macrocystis pyrifera</i>	Gelificante en lácteos, estabilizante y espesante
Goma Karaya	Ácido D-galacturónico, residuos de L-ramnopiranosas, D-galactopiranosas y una cetohexosa	Exudado de planta <i>Stercuttaurens</i>	Espesante de lácteos. Estabilizante de emulsiones
Goma Xantana	D-glucopiranosas, D-manopiranosas y ácido D-glucurónico en proporción de 2.8:3.0:2.0. Además contiene grupos acetílicos y residuos de ácido pirúvico	Producto de la fermentación de un sustrato conteniendo D-glucosa con <i>Xanthomonas campestris</i>	Estabilizante y espesante. Muy usada en salsas para ensaladas

Fuente: Pasquel A. (2001).

9.2 Objetivo

Evaluar las propiedades de gelificación de hidrocoloides en sistemas acuosos y su interacción con proteínas lácteas.

9.3 Materiales

Reactivos

- 1L de leche
- Azúcar
- Carragenina kappa
- Carragenina iota
- Goma guar
- Goma xantana
- Almidón nativo
- Almidón modificado
- Agua destilada
- Materiales para cada producto seleccionado del apartado 8.4.3

Material de laboratorio

- 1 Espátula
- 1 Mechero
- 1 Pipeta graduada de 10 mL
- 1 Piseta
- 1 Termómetro
- 1 Tina para baño de hielo
- 1 Tripie y tela de asbesto
- 4 Vasos de precipitados de 250 mL
- 2 Probetas de 100 mL
- 2 Varillas de vidrio
- Guantes para tomar objetos calientes
- 1 Vaso de plástico de 100 mL

Equipo

- Balanza
- Parrilla de calentamiento con agitación
- Texturómetro

9.4 Metodología

9.4.1 Características de gelificación y sinergia de hidrocoloides con proteínas lácteas

Preparar 100 mL de las soluciones acorde con las Tablas 9.1 y 9.2, como sigue:

1. Colocar 98 mL de agua destilada o leche, según corresponda, en un vaso de precipitados de 250 mL.
2. Pesar 1 g de azúcar y 1 g del hidrocoloide (s) (Tablas 9.1 y 9.2), mezclar los polvos en seco y añadirlos lentamente con agitación a la leche o agua.
3. Calentar en parrilla eléctrica hasta alcanzar 80°C, mantener durante 3 minutos para asegurar la completa disolución, mezclar continuamente durante esta etapa para evitar la formación de agregados y depósitos.
4. Transferir inmediatamente a vasos de plástico de 100 mL y mantener en refrigeración preferentemente durante 24 horas, o al menos 1 hora en baño de hielo, para permitir la formación del gel, en caso de que se forme.
5. Evaluar las características la fuerza de gel y características físicas (color, transparencia, firmeza y elasticidad).

Tabla 9.1. Selección de gomas para la elaboración de geles de carrageninas con proteínas lácteas

Solución	Tipo de goma	Agua (mL)	Leche (mL)
1	Carragenina kappa	98	--
2	Carragenina iota	98	--
3	Carragenina kappa	--	98
4	Carragenina iota	--	98

Tabla 9.2 Mezcla de carragenina kappa con goma guar o goma xantana para la elaboración de geles con proteínas lácteas

Mezcla	Carragenina kappa (g)	Goma guar (g)	Goma xantana (g)	Agua (mL)	Leche (mL)
5	1	--	--	--	98
6	0.8	0.2	--	--	98
7	0.8	--	0.2	--	98
8	1	--	--	98	--
9	0.8	0.2	--	98	--
10	0.8	--	0.2	98	--

9.4.2. Determinación de Fuerza de gel

Desmoldar el gel y colocarlo en la plataforma del texturómetro y determinar por duplicado la fuerza del gel (Anexo V) considerando los siguientes parámetros:

- Sonda cilíndrica base plana 1.13 cm²
- Velocidad de prueba 1.6 mm/seg
- Distancia 20 mm
- A partir de las curvas de fuerza de gel obtener la fuerza de ruptura (g) y el valor de deformación o elasticidad (mm) que corresponde a distancia de inicio de la prueba al punto máximo.

9.4.3 Aplicación de hidrocoloides con propiedades gelificantes

Cada equipo de trabajo elaborará uno de los productos abajo descritos con la formulación control y con una formulación modificada, esta última debe incluir alguno de los siguientes hidrocoloides, que será previamente asignado por el profesor:

- Alginato
- Almidón modificado
- Almidón nativo
- Carragenina kappa
- Carragenina lambda
- Goma guar
- Goma xantana

9.4.3.1 Elaboración de Mermelada

Elaborar dos tipos de mermelada, una en la que se incluirá uno de los hidrocoloides de prueba y otra mermelada control sustituyendo el peso de la goma por azúcar.

Ingredientes

- 150 g de fresas o frambuesas congeladas (es posible el uso de cualquier otra fruta fresca desinfectada o congelada)
- 20 mL de agua
- 130 g de azúcar
- 0.25 g de ácido cítrico
- 1.5 g de la goma asignada (sustituir por azúcar para el control)

Utensilios

- 2 Cacerolas con mango y tapa
- 2 Cucharas de cocina,
- 1 palita de cocina
- Colador o aplastador de frijoles
- Vasos y cucharas de prueba
- Servilletas de papel
- Guante para manejar objetos calientes

Procedimiento

1. Pesar todos los componentes, reservar 10 g de azúcar para premezclar con el hidrocoloide asignado.
2. Calentar 10 mL de agua en la cacerola.
3. Agregar la fruta, mantener a fuego bajo y tapar el recipiente, pre-cocer por 10 minutos.
4. Pasar la fruta por un colador o con un aplastador hasta obtener el tamaño deseado de la fruta.
5. Llevar a fuego alto y agregar 120 g de azúcar.
6. Hervir por 10 minutos agitando en todo momento para evitar que la mermelada se pegue al fondo y se queme.

7. En un vaso, mezclar la goma previamente asignada con 10 g del azúcar reservado en el punto 1 de esta sección y dispersar en 10 mL de agua.
8. Añadir lentamente a la mezcla de fruta que está al fuego y dejar que hierva por tres minutos más.
9. Adicionar el ácido cítrico.
10. Enfriar a temperatura ambiente.
11. Colocar una cucharada de la mermelada sobre una servilleta de papel y medir el diámetro de extensión.
12. Anote sus observaciones comparando los dos tipos de mermeladas elaboradas, evalúe el color, la fluidez, la opacidad, el brillo, el diámetro de extensión y la liberación de agua o sinéresis.

9.4.3.2 Elaboración de Gomitas

Elaborar dos lotes de gomitas, un lote con la formulación abajo descrita y otro lote en el que se sustituya el 10% de la grenetina por algún hidrocoloide de prueba.

Ingredientes

- 200 g de azúcar
- 200 ml de agua
- 90 g de miel de maíz sin sabor (Miel Karo)
- 60 g de grenetina sin sabor
- 1 g de ácido cítrico
- 300 g de fécula de maíz
- Azúcar para espolvorear (opcional)
- 2 a 5 gotas de colorante vegetal
- 15 ml saborizante artificial

Utensilios

- Cacerola pequeña
- 2 cucharas grandes
- 2 cucharas soperas
- Recipiente para hidratar la grenetina
- Moldes o charola para formar gomitas

Procedimiento

1. Hidratar la grenetina durante 5 minutos en 125 mL de agua o a temperatura ambiente.
2. Por separado, verter 75 mL de agua en una cacerola y adicionar el azúcar y la miel de maíz. Calentar a fuego alto hasta que adquiera una consistencia de almíbar, agitando constantemente para evitar que el azúcar se adhiera a las paredes y se caramelicé.
4. Retirar la mezcla del fuego y adicionar la grenetina previamente hidratada, además del colorante, el saborizante y el ácido cítrico. Mezclar todos los ingredientes hasta disolución total de la grenetina y dejar enfriar de 3 minutos.

5. Cubrir el fondo de un molde de superficie plana con la fécula, formando una película de 2 cm de espesor. Hacer huecos con una cuchara y depositar la mezcla en los huecos. Opcionalmente se pueden emplear moldes, preferentemente de silicón, previamente engrasados o recubiertos con fécula.
6. Dejar en reposo a temperatura ambiente durante 30 a 45 minutos para la gelificación y desmoldar.
7. Espolvorear con azúcar si así se desea.
8. Anote sus observaciones comparando las dos formulaciones elaboradas, evalúe las propiedades sensoriales de textura color, opacidad, brillo, sabor, sinéresis y perfil de textura (Anexo V).

9.4.3.3 Elaboración de Malvaviscos

Elaborar dos lotes de malvaviscos, un lote con la formulación abajo descrita y otro lote en el que se sustituya el 10% de la grenetina por algún hidrocoloide de prueba.

Ingredientes

- 190 mL de agua
- 60 g grenetina sin sabor
- 1 clara de huevo
- 450 g de azúcar glass
- 300 g de miel de maíz natural (Miel Karo)
- 200g de fécula de maíz
- Esencia de vainilla o café soluble

Utensilios

- 2 Cacerolas pequeñas
- 2 cucharas grandes
- 2 cucharas soperas
- Recipiente para hidratar la grenetina
- Batidora con recipiente para batir
- Charola o moldes

Procedimiento

1. En una cacerola, mezclar el azúcar y la miel de maíz, calentar a fuego medio hasta que se forme un jarabe.
2. Verter la grenetina en un recipiente con el agua y dejar hidratar a temperatura ambiente 5 minutos.
3. En otra cacerola calentar la grenetina previamente hidratada hasta que se disolver y retirar del fuego.
4. Batir la clara a punto de turrón.
5. Adicionar la mezcla del azúcar a las claras mientras se continúa batido.
6. En seguida, adicionar la grenetina previamente disuelta, una cucharada de esencia de vainilla o café soluble y continuar batiendo por no más de 2 minutos e inmediatamente verter en los moldes, observe que la mezcla tenderá a gelificar rápidamente.

7. Cubrir el fondo de un molde de superficie plana con la fécula, formando una película de 2 cm de espesor. Hacer huecos circulares de un diámetro aproximado de 3 cm que servirán de molde y depositar en ellos la mezcla de malvavisco. Opcionalmente se pueden emplear moldes, preferentemente de silicón, previamente engrasados o recubiertos con fécula.
8. Dejar reposar de 30 minutos para que permitir la completa gelificación y desmoldar.
9. Anotar sus observaciones comparando las dos formulaciones elaboradas, evalúe la las propiedades sensoriales de textura color, opacidad, brillo, sabor, sinéresis, fuerza de gel, etcétera.

Cuestionario

1. Indique cómo se clasifican las gomas acorde con sus propiedades funcionales?
2. Investigue cómo interactúan en sinergia la carragenina con la goma guar, con la goma xantana y con las proteínas lácteas?
3. ¿Qué tipo de gomas y en qué nivel de uso están aprobadas en alimentos, acorde con la legislación nacional, con la FDA y con la Comunidad Europea?

Bibliografía

-  Pasquel A. (2001). Gomas: una aproximación a la industria de alimentos. Rev. Amazónica de Inv Alim. 1(1):1-8.<http://www.unapiquitos.edu.pe/links/facultades/alimentarias/v1/1.pdf>
-  Laaman JR. (2011) Hydrocoloids in FoodProcessing. Blackwell Publishing. EUA
-  Tecnología doméstica Profeco Gomitas: <http://revistadelconsumidor.gob.mx/wp-content/uploads/2010/04/TDPGomitas11.pdf>(Consulta Febrero, 2014).
-  Tecnología doméstica Profeco Malvaviscos. <http://revistadelconsumidor.gob.mx/wp-content/uploads/2010/02/TDPMalvaviscos.pdf> (Consulta Febrero, 2014).

Práctica 10

Emulsificantes y reafirmantes de textura

10.1 Introducción

Las emulsiones son de gran interés en una inmensa variedad de productos como son las cremas, helados, mantequilla, mayonesas y aderezos; también se utilizan estos sistemas para proteger o controlar la liberación de agentes activos como saborizantes y colorantes. Una emulsión es una dispersión termodinámicamente inestable formada como resultado de la agitación de dos o más líquidos inmiscibles o parcialmente miscibles, donde uno de ellos se encuentra disperso en forma de pequeñas gotas o partículas cuyo diámetro varía entre 0.1 y 20 μm o de 20 a 500 nm para las nanoemulsiones; la fase que se encuentra en mayor concentración constituye la fase continua. Las emulsiones simples en donde el aceite constituye la fase dispersa se conocen como emulsiones de aceite en agua (oil-in-water, O/W) y las emulsiones donde el agua forma la fase dispersa se conocen como emulsiones de agua en aceite (water-in-oil, W/O). El proceso de ruptura de las emulsiones puede ocurrir mediante cuatro mecanismos de inestabilidad diferentes como son el cremado o sedimentación, la floculación, la coalescencia y el engrosamiento o maduración de Ostwald.

Los agentes tensoactivos, emulsificantes o surfactantes evitan la separación de las fases y por tanto incrementan la estabilidad de la emulsión. Los agentes tensoactivos se caracterizan por poseer dos grupos funcionales, uno polar o hidrofílico y apolar o hidrofóbico. Los surfactantes catiónicos o aniónicos se caracterizan por contener grupos cargados en la parte polar o hidrófila de la molécula, como el estearoil-2-lactilato de sodio y el oleato de sodio. A diferencia de los surfactantes no-iónicos que contienen en su estructura una cadena longitudinal hidrofóbica, como los ésteres de propilenglicol, de poliglicéridos de ácidos grasos, de sorbitol, los mono- y diacil-glicéridos.

El balance hidrófilo-lipófilo (HLB o BHL) es en una escala del 0 al 20 que se utiliza como guía de aplicación, los surfactantes con valores de HLB bajos (<9) estabilizan emulsiones tipo agua en aceite (W/O), en tanto que los agentes tensoactivos hidrofílicos tienen valores de HLB altos (>11) y se emplean en emulsiones de aceite en agua (O/W). Algunos hidrocoloides como la goma arábiga también actúan como agentes surfactantes debido a que en su estructura tienen grupos polares y no polares. Sin embargo en la elaboración de emulsiones es también común la adición de hidrocoloides, como la goma guar y las carrageninas que actúan como estabilizantes debido a su habilidad para incrementar la viscosidad de la fase continua, lo que impide el movimiento de las gotas dispersas y, por lo tanto, la probabilidad de agregación y ruptura de la emulsión.

Los agentes reafirmantes o endurecedores son sustancias que mantienen los tejidos de frutas y hortalizas firmes y crocantes, estos actúan junto con agentes gelificantes para mantener la estructura y firmeza de los productos. Los alginatos y el cloruro de calcio se emplean con regularidad como agentes reafirmantes de textura en frutos y vegetales congelados.

10.2 Objetivo

Evaluar el efecto de diversos aditivos en la estabilidad de emulsiones simples, así como de agentes reafirmantes.

10.3 Materiales

Reactivos

- 1 Papa cruda
- Aceite de maíz
- Agua destilada
- Almidón pregelatinizado
- Azúcar
- Carboximetilcelulosa

- Carragenina kappa
- Cloruro de calcio 0.1%
- Goma arábica
- Goma guar
- Goma xantana
- Huevo (claras)
- Lecitina
- Monoestearato de sorbitán
- NaCl 0.1M
- Polisorbato 80 (Tween 80)
- Sal
- SDS al 1%
- Vinagre

Materiales

- 1 Espátula
- 1 Piseta
- 1 Propipeta
- 2 Celdas para espectrofotómetro
- 2 Vidrios de reloj
- 3 Pipetas graduadas de 1 mL
- 3 Pipetas graduadas de 10 mL
- 3 Probetas de 100 mL
- 5 Cajas Petri de vidrio
- 5 Vasos de precipitados de 100 mL
- 6 Vasos de precipitados de 250 mL
- Cuchillo
- Pelador de papas
- Tabla para picar

Equipo

- Balanza
- Batidora con recipiente
- Espectrofotómetro
- Licuadora de inmersión
- Parrilla de calentamiento

10.4 Metodología

10.4.1 Agentes tensoactivos y estabilizantes de emulsiones simples

1. Homogenizar o licuar por 30 segundos 10 mL de aceite de maíz con 90 mL de agua y verter rápidamente en una probeta de 100 mL.
2. Medir el tiempo en el que se observe la separación del 50% (5 mL) de la fase oleosa.
3. Repetir el procedimiento descrito sustituyendo el agua con una de las siguientes soluciones:
 - a) 0.1% goma arábica
 - b) 0.1% carragenina kappa
 - c) 0.1% goma guar
 - d) 0.1% carboximetilcelulosa
 - e) 0.1% almidón pregelatinizado
 - f) 0.1% polisorbato 80 (Tween 80)
 - g) 0.05% lecitina
 - h) 0.1% monoestearato de sorbitan

10.4.2 Agentes emulgentes y estabilizantes en una emulsión tipo mayonesa

Elaborar una emulsión acorde con las instrucciones del profesor, en la que se incorporará uno de los agentes emulgentes como se presenta en las Tablas 10.1 y 10.2.

1. Mezclar en seco la celulosa, el almidón y el agente estabilizante asignado con el azúcar.
2. Colocar el agua en el recipiente de la batidora, adicionar la mezcla anterior y mezclar durante 5 minutos a máxima velocidad.
3. Incorporar uno a uno, en ese orden, los ingredientes restantes (claras de huevo, aceite, sal y vinagre), mezclando a alta velocidad durante 30 segundos entre cada uno.
4. Mezclar por 3 minutos más y vaciar rápidamente a un vaso de 100 mL.
5. Observar las características físicas y sensoriales de las diversas formulaciones y determinar el índice de estabilidad de la emulsión.

Tabla 10.1. Fórmula base para elaboración de una emulsión tipo mayonesa baja en grasa

Ingrediente	Cantidad (g)
Agua	116.3
Clara de huevo	30.0
Aceite	30.0
Vinagre	11 mL
Azúcar	10.8
Sal	3.4
Celulosa microcristalina	6.0
Almidón instantáneo	5.5
Agente emulgente	1.5

Tabla 10.2 Aditivos empleados en la elaboración de emulsiones

Emulsión	Agente emulgente o estabilizante
1	Goma Arábica
2	Goma Xantana
3	Carragenina kappa
4	Goma Guar
5	Lecitina
6	Polisorbato 80

10.4.3 Índice de estabilidad de emulsión (IEE)

1. Tomar 0.5 mL de la emulsión y mezclar con 50 mL una solución de NaCl 0.1M y 1% de SDS en un vaso de precipitados de 100 mL.
2. Medir la absorbancia a 550 nm y determinar el valor del IEE aplicando la siguiente ecuación:

$$IEE (m^2/g) = \frac{2(A_{550} * 2.203 * Fd)}{L * \theta * c}$$

Donde:

Fd = factor de dilución (50/0.5 = 100)

L = Longitud de la celda (0.01m)

θ = fracción volumétrica de aceite en la emulsión

c = contenido de sólidos por unidad de volumen en la emulsión (g/mL)

A_{550} = absorbancia a 550 nm

10.4.4 Reafirmantes de textura

1. Pelar una papa y cortarla en trozos de 1.5 cm aproximadamente, dividir en dos porciones.
2. Colocar una porción de las papas en un vaso de precipitados de 250 mL, agregar 100 mL de agua destilada. Colocar la otra porción de papas en 100 mL una solución de cloruro de calcio al 0.1%.
3. Hervir por 10 min, retirar del fuego y colocar las papas en un recipiente plano y enfriar a temperatura ambiente y comparar la textura.

Cuestionario

1. ¿Cuál es la función de los agentes tensoactivos y estabilizantes en la formulación y estabilidad de emulsiones en alimentos?
2. Proporcione algunos ejemplos de agentes tensoactivos iónicos y no iónicos, así como su clasificación, acorde con la legislación nacional, la FDA y la Comunidad Europea.
3. Describa la función de los agentes reafirmantes de textura en alimentos, así como los niveles permitidos.

Bibliografía

-  Aranberri I, Binks BP, Clint JH, Fletcher PDI. (2006). Elaboración y caracterización de emulsiones estabilizadas por polímeros y agentes tensoactivos. Revista Iberoamericana de Polímeros, Volumen 7(3):211-231.
-  Salager JL. (2003). Principles of emulsion formulation engineering. Capítulo 24 En K.L. Mittal y D.O. Shah, eds. Adsorption and aggregation of surfactants in solution. Marcel Dekker, Nueva York. EUA, 501-523.
-  Schaper-Bizzotto C, Capobiango M, Pinto Coelho M. (2005). Evaluation of functional properties of a blood protein. Pakistan Journal of Nutrition 4 (1): 11-16.
-  Sobral PA, Wagner JR. (2010). Capacidad emulsionante de sueros de soja. Revista del Laboratorio Tecnológico del Uruguay, No. 5, 63-65.

Anexo I

Formato para la presentación de informes

Los informes forman parte integral de cada práctica y deben presentarse tomando en cuenta las siguientes reglas:

- a. **Carátula** con el título y número de la práctica, nombre de los integrantes del equipo de trabajo, grupo y fecha de entrega.
- b. **Introducción y objetivo:** referente al tema de la práctica, en un máximo de 500 palabras. Al final de la introducción en un párrafo aparte, se deberá incluir el objetivo del trabajo.
- c. **Metodología:** descripción breve del procedimiento junto con un diagrama de trabajo general. Los nombres científicos deberán escribirse en *letra cursiva* y los compuestos químicos empleando fórmulas condensadas.
- d. **Resultados:** presentación de los datos experimentales obtenidos, así como cada cálculo y las unidades de todos los valores numéricos. En esta sección, es recomendable organizar los datos en forma de tablas o figuras para facilitar su interpretación. Todas las tablas y figuras deben llevar un título que las identifique.
- e. **Discusión:** comentar los hallazgos más importantes, comparar los datos obtenidos entre muestras o tratamientos y explicar la razón de los resultados. Así como las condiciones que puedan afectar al fenómeno estudiado, apoyar la discusión consultado material bibliográfico como normas, libros y artículos.
- f. **Conclusión general** clara y concisa respecto al alcance de los objetivos.
- g. **Opinión personal:** que refleje si se han aclarado conceptos, la facilidad o la dificultad en la realización del trabajo, las propuestas para mejorar las condiciones de trabajo y obtener mejores resultados, etcétera.
- h. **Bibliografía consultada:** acorde con los siguientes ejemplos para artículo, capítulo de libro y memorias de congreso respectivamente:
 - Apellido e Inicial del nombre de cada autor. (año). Título del artículo. *Nombre de la Revista*, vol (num): pag-pag.
 - Apellido, Inicial del nombre de cada autor. (año). Título del capítulo. En: *título del libro en letra cursiva*. Apellido del Editor e Inicial del nombre. Editorial, País de edición. paginas.

Anexo II

Preparación de soluciones

la validez del trabajo experimental requiere de la correcta preparación de las soluciones de trabajo, por lo que es fundamental el conocer los procedimientos para su elaboración. La concentración de una disolución, se refiere a la cantidad relativa de una sustancia en una solución homogénea y se expresa en términos de volumen y/o masa. Una solución es una mezcla homogénea cuyas partículas son menores a 10 ángstrom, están conformadas por soluto y por solvente. La concentración del soluto se puede expresar en términos de molaridad, normalidad, porcentaje o partes por millón, entre otras (Tabla II.1).

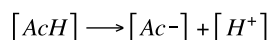
Tabla II.1 Expresiones de la concentración de solutos en soluciones verdaderas

Unidad	Definición	Símbolo
Molaridad	Número de moles de soluto disueltos en un litro de solución	M(mol/L)
Normalidad	Número de equivalentes químicos del soluto en un litro de solución. <i>Número de equivalentes = peso molecular del soluto / número de moléculas intercambiadas</i>	N (Eq/L)
Porcentaje en peso	peso del soluto/ 100g	%p , %p/p
Porcentaje en peso/volumen	peso del soluto / 100 mL de la solución	% p/v
Partes por millón	mg del soluto/ kg o L	ppm

II.1 Preparación de soluciones amortiguadoras

Las soluciones amortiguadoras, reguladoras o buffer pueden mantener la acidez o basicidad de un sistema dentro de un intervalo reducido de pH, debido a que están constituidas por la mezcla de un ácido débil [AcH] y su base conjugada [Ac⁻], en una concentración mayor a 10⁻² molar, y cuya relación de concentraciones está comprendida entre 0.1 y 10, es decir 0.1 < [AcH]/[Ac⁻] < 10.

Acorde con la ecuación de Henderson-Hasselbalch, la disociación de un ácido débil AcH se representa como sigue:



Cuya constante de disociación K_a es:

$$K_a = \frac{[H^+] + [Ac^-]}{[AcH]}$$

Despejando la concentración de iones hidrógeno:

$$[H^+] = K_a \frac{[AcH]}{[Ac^-]}$$

Obteniendo el inverso del logaritmo:

$$-\log[H^+] = -\log K_a - \log \frac{[AcH]}{[Ac^-]}$$

Sustituyendo $p = -\log[\dots]$, se obtiene la siguiente expresión:

$$pH = pK_a + \log \frac{[Ac^-]}{[AcH]}$$

O bien:

$$pH = pK_a + \log \frac{[Base]}{[Ácido]}$$

La capacidad reguladora es una medida de la resistencia al cambio de pH que se produce por la adición de pequeñas cantidades de ácidos o bases fuertes; esta capacidad es máxima en concentraciones equimolares del ácido débil y su base conjugada, en donde el pH de la solución será igual a al logaritmo inverso de la constante de disociación (pKa) del par ácido/base (ver Tabla II.2). El intervalo de pH para el cual un sistema buffer regula adecuadamente es de una unidad superior e inferior al valor de pKa, es decir: $pKa-1 < pH < pKa+1$.

Estas soluciones se pueden preparar por disolución de un ácido débil y la sal de su base conjugada, o bien, por la neutralización parcial de un ácido débil con una base fuerte o una base débil con un ácido fuerte. Una vez formada la solución reguladora, el pH variará poco por la adición de pequeñas cantidades de un ácido fuerte o un a base fuerte y perderá su capacidad reguladora por la dilución con agua.

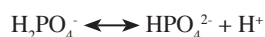
Tabla II.2 Constantes de disociación para algunos ácidos débiles

Nombre	Ácido	Base conjugada	Ka	pKa
Ácido Acético	CH_3COOH	CH_3COO^-	1.76×10^{-5}	4.76
Ácido Carbónico	H_2CO_3	HCO_3^-	4.75×10^{-7}	6.37
Bicarbonato	HCO_3^-	CO_3^{2-}	5.61×10^{-11}	10.25
Ácido Láctico	$CH_3CHOHCOOH$	$CH_3CHOHCOO^-$	1.38×10^{-4}	3.86
Ácido Fosfórico	H_3PO_4	$H_2PO_4^-$	7.25×10^{-3}	2.14
Fosfato dihidrogenado	$H_2PO_4^-$	HPO_4^{2-}	6.31×10^{-8}	7.2
Fosfato monohidrogenado	HPO_4^{2-}	HPO_4^{3-}	2.2×10^{-13}	12.67

II.2 Ejemplo de la preparación de una disolución de un ácido débil y una sal de su base conjugada

Calcular la concentración del par ácido/base para preparar un litro de una solución amortiguadora de fosfato de potasio 0.5M pH 7.8.

Sabemos que el sistema regulador funciona en una unidad superior e inferior al valor de pKa, es decir en el intervalo $pKa-1 < pH < pKa+1$, entonces el par ácido/base para el ejemplo es aquel con un $pKa = 7.2$ (Tabla II.2), que corresponde a las especies:



Para un ácido débil:

$$pH = pKa + \log \frac{[Base]}{[Ácido]}$$

Sustituyendo los valores de pH y pKa en la ecuación Henderson-Hasselbalch:

$$7.8 = 7.2 + \log \frac{[Base]}{[Ácido]}$$

$$0.6 = \log \frac{[Base]}{[Ácido]}$$

$$\text{anti log } 0.6 = \frac{[Base]}{[Ácido]}$$

$$10^{0.6} = \frac{[Base]}{[Ácido]}$$

$$[Base] = 3.981 [Ácido]$$

Si la concentración solicitada es 0.5M, tenemos: $[Ácido] + [Base] = 0.5M$

Sustituyendo: $[Ácido] + 3.981[Ácido] = 0.5M$

$$(1 + 3.981) [Ácido] = 0.5M$$

$$4.981[Ácido] = 0.5M$$

Entonces: $KH_2PO_4 = [Ácido] = 0.5M/4.981 = 0.1M$

$$K_2HPO_4 = [Base] = 3.98 \times 0.1M = 0.398 M$$

Por lo tanto la cantidad de las especies para preparar 1L de solución amortiguadora de fosfato de potasio 0.5M, pH 7.8 será:

$$KH_2PO_4 = M \cdot V \cdot PM = (0.1 \text{ mol/L})(1L) (136.09 \text{ g/mol}) = 13.609 \text{ g}$$

$$K_2HPO_4 = M \cdot V \cdot PM = (0.398 \text{ mol/L}) (1L)(174.18 \text{ g/mol}) = 69.323 \text{ g}$$

Preparación

1. Pesar las especies y disolverlas en 900 mL de agua destilada.
2. Verificar el pH de la solución y de ser necesario adicionar NaOH 1N o HCl 1M, según se requiera y aforar a 1L.

II.3 Preparación de buffer universal

1. Preparar 100 mL de las siguientes soluciones
 - ácido bórico 0.025 M
 - ácido fosfórico 0.025 M
 - ácido cítrico 0.025 M
 - HCl 0.2N
 - NaOH 0.2N
2. Mezclar 75mL de las soluciones de ácido bórico, fosfórico y cítrico, ajustar al pH deseado con HCl o NaOH 0.2N según se requiera y aforar a 250 mL

II.4 Preparación de la solución acetona-fosfatos pH 8 al 80%

1. Mezclar 9.4 ml de una solución de K_2HPO_4 1M y 0.6 mL de KH_2PO_4 1M
2. Adicionar 50 mL de agua destilada verificar el pH, de ser necesario ajustar a pH=8 con NaOH 0.01M
3. Aforar a 100 mL
4. Mezclar con 400 mL de acetona

II.5 Preparación de la solución de lugol

1. Pesar 1 g de yodo molecular o sublimado y 2 g de yoduro de potasio
2. Mezclar y moler finamente en un mortero ambos reactivos
3. Disolver la mezcla anterior en 300 mL de agua destilada

Anexo III

Colorímetro 45/0 Hunter-Lab

La determinación del color mediante espectrometría de reflectancia se basa en la determinación de la cantidad de luz transmitida o reflejada con relación a una referencia estándar dentro de la zona del espectro visible (380-750 nm). El espectrofotómetro de reflectancia consta de una fuente de luz que al incidir sobre la muestra (con un ángulo de 45°) provoca una reflexión difusa que pasa por una serie de filtros (X,Y,Z). Cada filtro tiene acoplado un fotorreceptor que genera una respuesta R_x , R_y , R_z , obteniendo los valores triestímulo X,Y,Z creando una respuesta semejante a la observada por el ojo humano (observador estándar) cuando ve la misma muestra iluminada en condiciones normalizadas. La CIE (Commission Internationale de l'Eclairage) definió cuatro iluminantes, el D65 es el más empleado ya que corresponde a la luz promedio de día, así como el observador para un campo visual amplio (10°) que presenta una mejor correlación con el promedio de la estimación visual del color, independientemente del espacio de color (Munsell, Hunter-Lab, CIE-Lab, etcétera).

La medición del color se basa en el método CIE-Lab, propuesto por el Comité Internacional de la Iluminación (CIE) que se fundamenta en la teoría de la percepción tricromática de Young (coordenadas X, Y, Z) y la teoría de los colores opuestos. El espacio de color CIE-LAB es un espacio cromático con coordenadas cilíndricas de claridad (L^*), croma o saturación (C^*) y tonalidad (H^*) además de las coordenadas rectangulares adimensionales L^* , a^* y b^* .

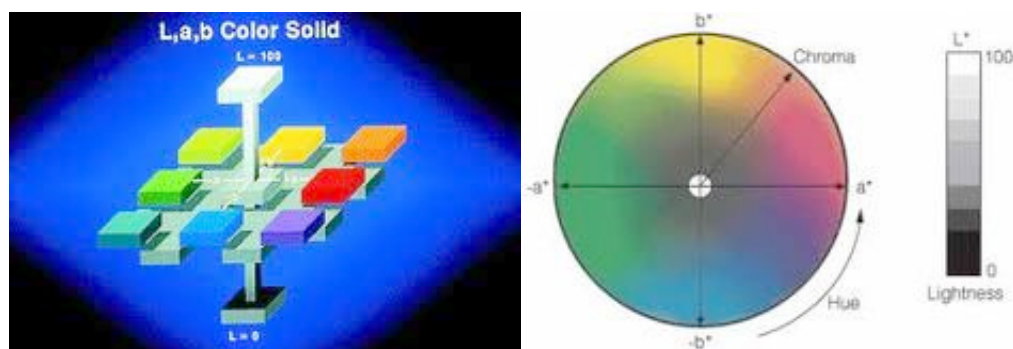
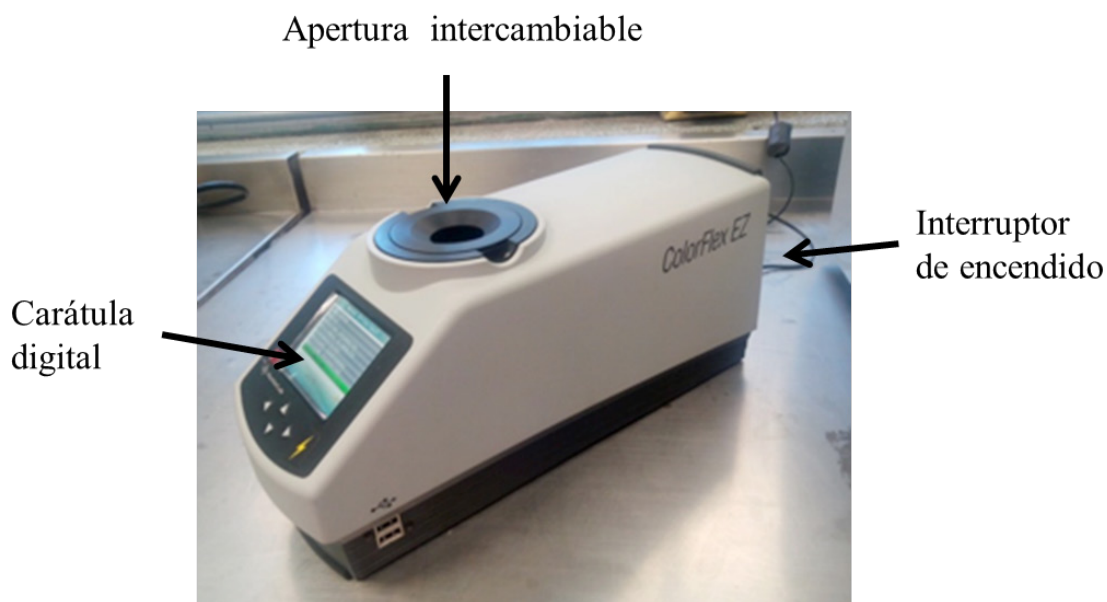


Figura III.1 Espacio de color CIE-LAB

La coordenada L^* recibe el nombre de luminosidad o claridad con valores entre 0 para el negro y 100 para el blanco. La coordenada a^* define la desviación del punto acromático hacia el rojo si a^* es positiva, o hacia el verde si a^* es negativa. Análogamente, la coordenada b^* define la desviación hacia el amarillo si b^* es positiva, y hacia el azul si b^* es negativa.

La CIE definió además varias fuentes de iluminación normalizadas en función de su curva de distribución espectral y de la temperatura de color, como la iluminación estándar D65 o luz de día. De igual forma, se estableció que la iluminación del objeto debe realizarse en un ángulo de 45° y definió un observador estándar situado perpendicularmente a 45.7 cm, de tal manera que el ángulo de visión es de 10°.



Operación del equipo

1. Verificar que la superficie del equipo y la apertura se encuentren limpias y libres de polvo.
2. Encender el equipo y cargar el software de control, o en su caso, seleccionar la opción de manejo manual empleando las opciones de los botones dispuestos en la carátula.
3. Seleccionar las condiciones de lectura (apertura 19.1 mm, ángulo 10° e iluminante D_{65}).
4. Seleccionar la opción "Calibrar" del menú principal.
5. Colocar los azulejos negro y blanco en la salida del haz de luz según lo solicite el programa.
6. Colocar la muestra dentro del portamuestras y cubrir con la máscara negra, las muestras solidas se podrán colocar directamente sobre el puerto de lectura.
7. Seleccionar la opción "Medir" en el menú principal y llenar los datos solicitados con el nombre de la muestra y operario.
8. Repetir la lectura, acorde con el número de repeticiones preestablecido.
9. Obtener los datos promedio de los parámetros de color L^* , a^* y b^* y el espectro de reflectancia, según se requiera.
10. Anotar en bitácora los resultados y sus desviaciones estándar.
11. Apagar el equipo y verificar que el equipo quede limpio.

Anexo IV

Viscosímetro de rotación tipo Brookfield

La viscosidad se define como la resistencia de un líquido a fluir y generalmente se reporta en términos de viscosidad relativa comparada con líquido de referencia, que generalmente es agua. Los viscosímetros del tipo rotacional miden la resistencia de la rotación de un cilindro o aguja inmersa en el material de prueba. Cuentan un motor sincrónico de baja velocidad y alto torque, un procesador controlado por microprocesador y una pantalla LCD retroiluminada que muestra directamente la viscosidad, la velocidad de rotación, el número de rotor y la velocidad de rotación seleccionados. El motor a pasos hace girar la aguja sobre su eje de rotación a través del muelle; si la aguja encuentra resistencia por la viscosidad del fluido, se producirá una torsión en el muelle hasta alcanzar el equilibrio contra dicha resistencia y la señal se transmitirá hasta el microprocesador que procesará los datos visualizando el valor de viscosidad en la pantalla. La unidad de viscosidad es el poise (g/cm s) y más comúnmente el centipoise (Cp).

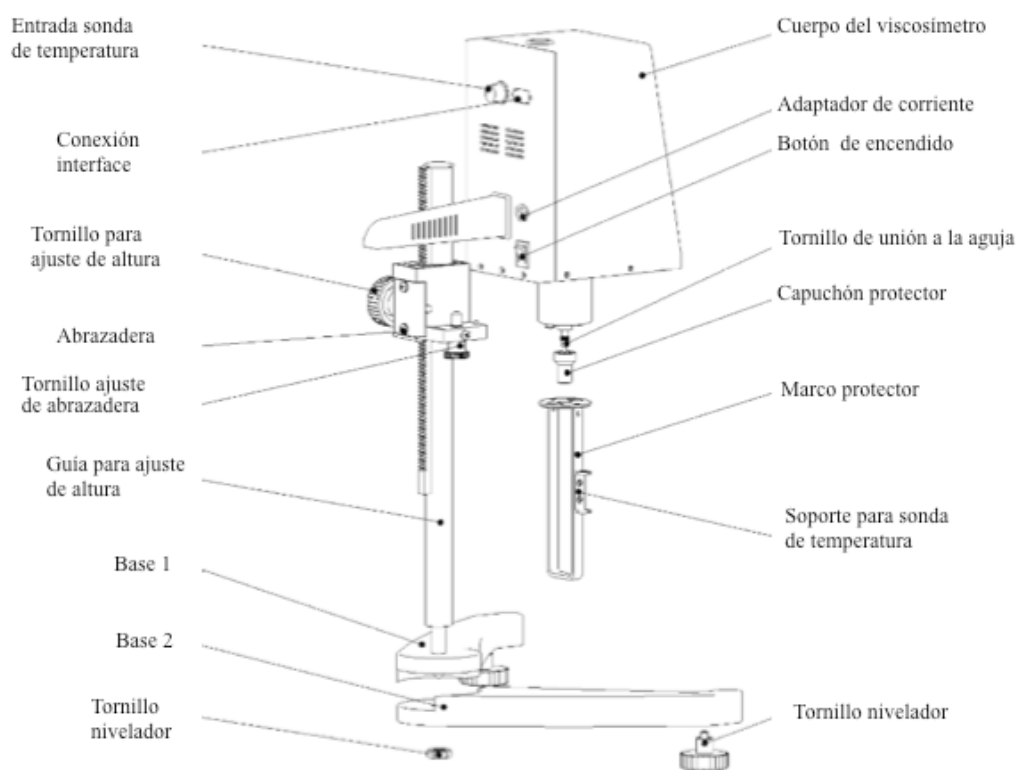


Figura IV.1 Diagrama de viscosímetro rotacional

Operación del equipo

1. Sacar del maletín la base, el soporte para ajuste en altura, el cuerpo del viscosímetro, las agujas y el marco protector.
2. Colocar el soporte para ajuste en altura en el orificio de la base de manera que la apertura de la base y la guía superior del soporte queden de frente al operario.
3. Colocar la abrazadera verificando que ésta ascienda y descienda con facilidad, ajustando con el tornillo de la abrazadera. Se recomienda que la abrazadera quede firmemente sujeta para evitar que el viscosímetro descienda durante su funcionamiento.
4. Instalar el cuerpo del viscosímetro en la guía del soporte, ajustándolo firmemente con el tornillo de sujeción. Comprobar que el tornillo de unión a la aguja se encuentre bien protegido por el capuchón (este capuchón deberá estar colocado siempre que se vaya a transportar el equipo o no se utilice durante largo tiempo).

5. Ajuste ambas patas roscadas de manera que el equipo quede bien nivelado (la burbuja de nivel en la parte superior del equipo debe quedar centrada).
6. Conecte la sonda de temperatura.
7. El interruptor debe encontrarse en posición de apagado y conectar el adaptador de corriente.
8. Colocar el marco protector y retirar el capuchón protector (girando hacia la derecha para colocarlo y hacia la izquierda para retirarlo).
9. Instalar la aguja seleccionada en el tornillo de unión (girando hacia la izquierda para colocarlo y hacia la derecha para retirarlo).
10. Encender el equipo mediante el interruptor de encendido/apagado.
11. Seleccionar el número de aguja pulsando el botón de selección de aguja (Spindle); se mostrará sucesivamente 1 2 3 4 0 → hasta visualizar en pantalla el número de aguja deseado.
12. Seleccionar la velocidad de rotación pulsando el botón de selección correspondiente (Speed); utilice los botones de las flechas para seleccionar el valor de velocidad deseado y confirmar el valor introducido.
13. Girando el tornillo de ajuste de altura, el viscosímetro ascenderá o descenderá suavemente para permitir que la aguja se introduzca en el líquido a medir. Introducir la muestra en un ángulo de 45° con respecto a la aguja, para evitar la formación de burbujas. La superficie del líquido deberá coincidir con la marca de nivel de la aguja. Comprobar que el equipo está bien nivelado.
14. Pulsar el botón de inicio de la medida (Run); la aguja comenzará a girar y en pantalla se visualizará la viscosidad medida en dichas condiciones y el porcentaje de toque.
15. En general para muestras con alta viscosidad, se recomienda el uso de una aguja pequeña (3 ó 4) y una velocidad de rotación baja. Para muestras con baja viscosidad, se emplea una aguja grande (1 ó 2) y una velocidad de rotación alta. Si al realizar la lectura, el valor de torque (porcentaje de medida) se ubica entre 10% y 90%, la viscosidad de la muestra es correcta.
16. Aumentar la velocidad o utilizar una aguja de mayor diámetro cuando el torque sea inferior al 10%. O bien, disminuir la velocidad o emplear una aguja de menor tamaño si el torque es >100% y el equipo marca error. Cada viscosímetro ha sido calibrado y ajustado con su propio juego de agujas, por lo que nunca intercambie juegos de agujas entre distintos viscosímetros.
17. Si durante el curso de la medición necesita cambiar la aguja presione directamente el botón de parada (Reset); el motor se parará y el equipo permanecerá encendido.
18. Anotar en bitácora el valor de viscosidad (de ser necesario realice los cálculos sugeridos acorde con el manual de operación del equipo).
19. Al término de la lectura, apague el motor y proceda a retirar la muestra y la aguja.
20. Lavar la aguja con agua destilada y dejar secar sobre papel absorbente.
21. Colocar el capuchón protector, desmontar todas las partes y guardar en el maletín de transporte.

Anexo V

Texturómetro

La textura es uno de los atributos primarios que junto con el color, sabor y olor conforman la calidad sensorial de los alimentos. La textura permite apreciar la firmeza, suavidad y consistencia, evaluando la resistencia del producto a la fuerza aplicada.

Para evaluar la textura se emplean varias pruebas como la resistencia al corte empleando una navaja de Warner-Bratzler, la fuerza de gel y el método de “Análisis de Perfil de Textura” o TPA (Figura V.1).

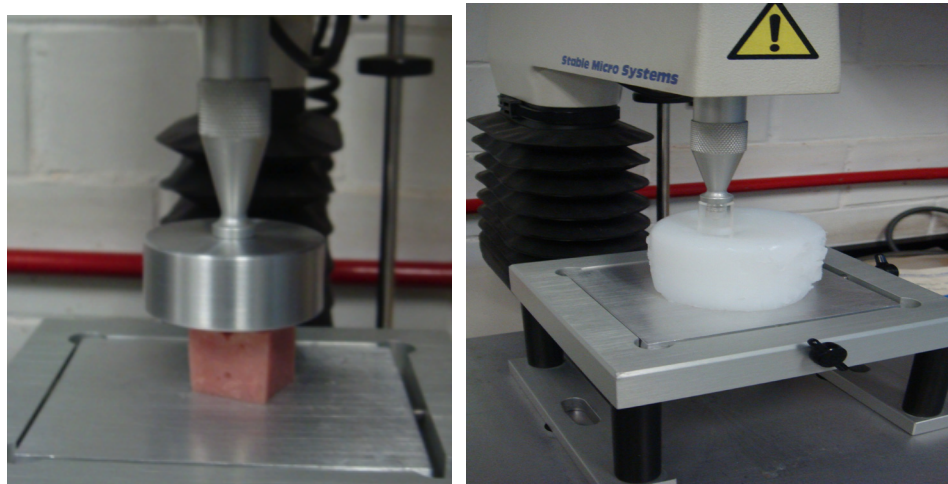


Figura V.1 Disposición de la muestra y sondas para (izq.) el análisis de perfil de textura (TPA) y (der.) fuerza de gel.

A. Fuerza de gel

Procedimiento

1. Verificar que el texturómetro se encuentre nivelado y encenderlo oprimiendo el interruptor (Figura V.2).
2. Colocar la base y la sonda cilíndrica base plana de 1.13 cm²
3. Seleccionar el tipo de prueba y ajustar las condiciones del ensayo, que para el caso de fuerza de gel (ensayo de penetración) son:
 - a. velocidad de prueba 1.6 mm/seg
 - b. distancia 20 mm
4. Colocar la muestra y ajustar la sonda a 1 mm de la superficie de la muestra.
5. Iniciar la determinación por triplicado.
6. Anotar en bitácora la fuerza necesaria para penetrar la muestra registrada por el equipo y guardar la gráfica de fuerza en función de la distancia recorrida.



Figura V.2 Texturómetro Brookfield

7. A partir de las curvas de fuerza de gel obtener la fuerza de ruptura (g) y el valor de deformación o elasticidad (mm) que corresponde a distancia de inicio de la prueba al punto máximo (Figura V.3).

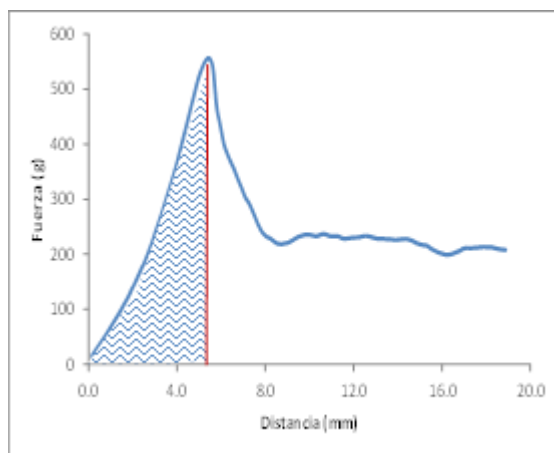


Figura V.3 Representación gráfica de la curva para determinación de fuerza en geles de carragenina (Fg = fuerza de gel).

B. Análisis de perfil de textura

Este análisis consiste en una doble compresión que imita el proceso de masticación simulando el esfuerzo de la mandíbula al morder (Figura V.4) y permite obtener algunos descriptores como adhesividad, cohesividad, dureza, elasticidad, gomosidad y masticación, que a continuación se definen:

- **Fracturabilidad:** es la primera caída significativa de la curva durante el primer ciclo de compresión producto de un alto grado de dureza y bajo grado de cohesividad. Se refiere a la dureza con la cual el alimento se desmorona, cruje o revienta. Se expresa en unidades de fuerza - Newtons.
- **Dureza:** fuerza máxima que tiene lugar en cualquier tiempo durante el primer ciclo de compresión. Se refiere a la fuerza requerida para comprimir un alimento entre los molares o entre la lengua y el paladar. Se expresa en unidades de fuerza, N ó (kg m s²).

- Cohesividad: Cociente entre el área positiva bajo la curva de fuerza de la segunda compresión (Área 2) y el área bajo la curva de la primera compresión (Área 1), es adimensional. Representa la fuerza con la que están unidas las partículas, límite hasta el cual se puede deformar antes de romperse.
- Adhesividad: Siguiendo al primer ciclo de compresión se elimina la fuerza cuando la cruceta se mueve a su posición original. Si el material es pegajoso o adhesivo, la fuerza se convierte en negativa. El área de esta fuerza negativa (Área 3), se toma como una medida de la adhesividad de la muestra. Representa el trabajo necesario para despegar el plato de compresión de la muestra o el trabajo necesario para despegar el alimento de una superficie (paladar). Se mide en (kg m² s²).
- Elasticidad: Es la altura que recupera el alimento durante el tiempo que recorre entre el primer ciclo y el segundo (D2/D1) [15]. Mide cuanto estructura original del alimento se ha roto por la compresión inicial. Es adimensional, una longitud dividida por otra longitud.
- Gomosidad: La energía requerida para desintegrar un alimento semisólido de modo que esté listo para ser tragado. Producto de la dureza por la cohesividad. Se expresa en (kgm/s²).
- Masticabilidad: Producto de la dureza por la cohesividad y la elasticidad. Representa el trabajo necesario para desintegrar un alimento hasta que esté listo para ser deglutido. Se expresa en Kg.

Procedimiento

1. Verificar que el equipo este nivelado y encenderlo oprimiendo el interruptor.
2. Colocar la base y la sonda cilíndrica base plana de 5 cm de diámetro.
3. Seleccionar el tipo de prueba y ajustar las condiciones del ensayo.
4. Colocar el producto (gomita o malvavisco con 3 cm de altura) en la base del texturómetro y realizar una doble compresión al 75% (2cm) de deformación (estrés normal), a una velocidad del cabezal de 1 mm/s, con un tiempo de espera de 5 segundos entre las compresiones.
5. Obtener el grafico de perfil de textura (Figura V.4) y los parámetros:
 - a. dureza (kg m s⁻²),
 - b. elasticidad (adimensional),
 - c. cohesividad (adimensional),
 - d. adhesividad (kg m²s²),
 - e. gomosidad (kg m s⁻²) y,
 - f. masticabilidad (kg)

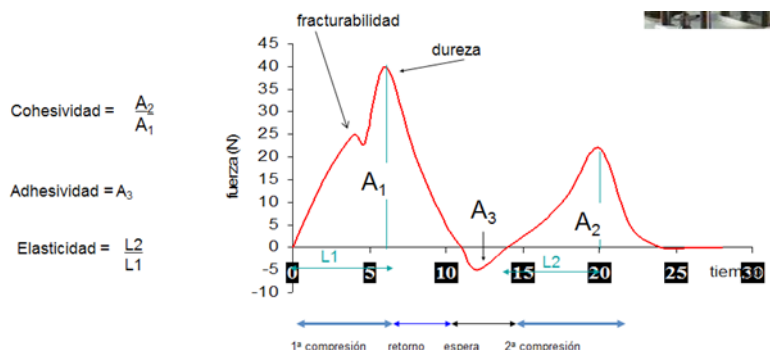


Figura V.4 Representación gráfica de la curva para determinación de perfil de textura TPA.

Anexo VI. Cuadro de seguridad de reactivos

SUSTANCIA	EFECTOS NOCIVOS	PRIMEROS AUXILIOS					MEDIDAS DE PREVENCIÓN	DERRAME	DESECHO Y TRATAMIENTO
		Indicaciones Generales	Inhalación	Contacto con la piel	Contacto con los ojos	Ingestión			
Acetato de sodio	Causa irritación en ojos, piel y tracto respiratorio.	No se precisan.	Trasladar a la víctima al aire fresco	Lavar con abundante agua.	Lavar con agua fría durante 15 minutos.	No inducir el vómito. Consultar al médico.	No es inflamable. Maneje el reactivo con bata y guantes.	Recolección mecánica y neutralización con ácido acético diluido. Lave con suficiente agua.	Neutralice con una solución de ácido acético diluido y deseche por el drenaje.
Acetona	Tiene muy pocos efectos tóxicos. Sin embargo, la exposición crónica puede provocar dolor de cabeza, irritación en los ojos y resequeidad en la piel.	Se trata de un producto inflamable, por lo que se debe evitar el contacto con fuentes de calor (ignición). Siempre debe ser manejado por medio de pipetas y propiétas NUNCA CON LA BOCA.	Causa irritación en ojos, nariz y boca, por lo que hay que ubicar al intoxicado en un lugar bien ventilado, y administrarle oxígeno en caso de ser necesario.	Lavar el área afectada con agua y jabón.	Lavarlos con agua o solución salina.	Lavar la boca con agua. Tomar agua para diluirlo. No inducir el vómito.	Mantener alejado de zonas de ignición. Manejar con pipeta.	Limpiar con agua y jabón. Evitar que el derrame llegue a fuentes de fuego.	Para pequeñas cantidades se puede evaporar en una campana extractora de gases. Para cantidades grandes utilizar arena o cemento en polvo. Nunca desear al drenaje.
Ácido 2-iodobariúrico	El producto no produce ningún efecto perjudicial para la salud cuando se maneja adecuadamente y se emplea con los fines especificados.	No se precisan medidas especiales.	Suministrar aire fresco. En caso de trastornos, consultar al médico	Por regla general, el producto no irrita la piel. Lavar el área afectada con abundante agua corriente.	Limpiar los ojos con abundante agua, hay que mantenerlos abiertos.	Consultar un médico si algunos trastornos persisten.	Se deben observar las medidas generales de seguridad para el manejo de productos químicos. Usar lentes protectores contra productos químicos y guantes.	Recoger mecánicamente. Para polvos finos utilizar un aspirador.	Pequeñas cantidades pueden ser desechadas con la basura doméstica. Para un posible reciclaje, contactar organismos procesadores de desechos industriales.
Ácido acético	Líquido inflamable y corrosivo. Causa severa irritación y quemaduras de piel, ojos, tracto respiratorio y digestivo.	No se precisan medidas especiales.	Trasladar al intoxicado a una zona ventilada y en su defecto administrar oxígeno	Lavar la zona afectada con abundante agua y jabón (mínimo durante 15 minutos).	Lavar con abundante agua (mínimo durante 15 minutos).	No inducir el vómito. Lavar la boca con abundante agua. Si el intoxicado está consciente, administrarle abundante agua.	Mantener alejado de zonas de ignición. Manejar con pipeta.	Limpiar con agua y jabón. Evitar que el derrame llegue a fuentes de fuego.	Para pequeñas cantidades se puede evaporar en una campana extractora de gases. Para cantidades grandes utilizar arena o cemento en polvo. Nunca desear al drenaje.
Ácido ascórbico	Causa irritación en ojos, piel, tracto digestivo y tracto respiratorio. Puede absorberse a través de la piel. Otros efectos son tos y secreciones nasales.	Debe ser almacenado en zonas ajenas a la luz. Se debe evitar la formación de polvo cerca de la sustancia y la exposición con altas temperaturas para evitar posibles incendios.	Trasladar a la persona a un lugar con aire fresco. Si no logra respirar dar respiración artificial.	Lavar la zona afectada con abundante agua y jabón por 15 minutos.	Lavar con abundante agua por 15 minutos. No usar otros químicos para disminuir la irritación.	No inducir el vómito. No beber nada.	Evitar respirar el polvo y el contacto con la piel. No exponer el producto con sustancias incompatibles como hidróxidos alcalinos, hierro, cobre, nitrato de sodio y oxidantes fuertes.	Evite la dispersión del polvo y recolecte evitando el contacto directo. Lavar la superficie con abundante agua.	Diluir con abundante agua y eliminar por el drenaje.

SUSTANCIA	EFECTOS NOCIVOS	PRIMEROS AUXILIOS					MEDIDAS DE PREVENCIÓN	DERRAME	DESECHO Y TRATAMIENTO
		Indicaciones Generales	Inhalación	Contacto con la piel	Contacto con los ojos	Ingestión			
Ácido bórico	Causa la irritación a las membranas mucosas del aparato respiratorio. Puede ser absorbido por las membranas mucosas y, dependiendo de la exposición que se ha tenido, podría dar lugar al desarrollo de náuseas, vómito, diarrea, somnolencia, erupción en la piel, dolores de cabeza, disminución en la temperatura y de la presión arterial, lesiones renales, cianosis, estado de coma y hasta la muerte.	Almacenar en envases cerrados en un área fresca y seca. Los envases de acero de carbón o de aluminio son convenientes para el almacenamiento. El acero inoxidable es necesario para las condiciones húmedas. Debe lavarse las manos después de manejar este material. Evite el contacto con el material cuando tenga alguna cortada o quemadura en la piel. Los envases de este material pueden ser peligrosos cuando están vacíos, puesto que conservan residuos del producto.	Mover a la persona al aire fresco. Si no está respirando, dar respiración artificial. Si la respiración se dificulta aplicar oxígeno. Llame al médico.	Quitar cualquier ropa contaminada. Lavar con jabón o detergente suave y enjuagar por lo menos durante 15 minutos, levantando los párpados inferiores y superiores ocasionalmente. Atención médica inmediatamente.	Los ojos se deben lavar inmediatamente con el chorro del agua por lo menos durante 15 minutos, levantando los párpados inferiores y superiores ocasionalmente. Atención médica inmediatamente.	Inducir el vómito de inmediato, según lo indicado por el personal médico.	Usar guantes y los delantales o las batas de laboratorio. Utilizar anteojos de seguridad para productos químicos. Evitar de respirar el polvo. Mantenga el envase cerrado. Utilizar con la ventilación adecuada. Evitar el contacto con los ojos, la piel y la ropa.	Ventilar el área del escape o derrame. Utilizar el equipo protector personal apropiado. Derramamiento recoger y colocar en un envase conveniente para la recuperación o eliminación, utilizando un método que no genere polvo.	Para un posible reciclaje, contactar organismos productores de desechos industriales.
Ácido clórico	Causa irritación del tracto respiratorio con síntomas como tos y falta de respiración. Además produce irritación del tracto gastrointestinal, piel y ojos.	Almacenar en un lugar ventilado, fresco y seco.	Trasladar a la persona a un lugar con aire fresco. Si no logra respirar dar respiración artificial.	Lavar la zona afectada con abundante agua y jabón por 15 minutos.	Lavar con abundante agua por 30 minutos. No usar otros químicos para disminuir la irritación.	No inducir el vómito. No beber nada.	Eliminar cualquier fuente de ignición cercana al reactivo. Usar guantes y los delantales o las batas de laboratorio. Utilizar anteojos de seguridad para productos químicos.	Se debe evitar que el polvo se disperse y debe ser recolectado cuidando de que no haya contacto directo.	Para un posible reciclaje, contactar organismos productores de desechos industriales.
Ácido clorhídrico	Sus vapores son irritantes a los ojos y membranas mucosas. Es soluble en agua, desprende calor. Es corrosivo de metales y tejidos. Con agentes oxidantes como peróxido de hidrógeno, ácido selénico y pentóxido de vanadio, genera cloro, el cual es muy peligroso.	Para su manejo es necesario utilizar lentes de seguridad y, si es necesario, guantes de neopreno, viton o hule butílico, nunca de PVA o polietileno en lugares bien ventilados. No deben usarse lentes de contacto cuando se utilice este producto. Al trasvasar pequeñas cantidades con pipeta y propipetas, NUNCA ASPIRAR CON LA BOCA.	Mover al afectado al aire fresco. Si no respira, dar respiración artificial y mantenerlo caliente y en reposo, no dar a ingerir nada. Si está consciente, suministrar oxígeno, si es posible, y mantenerlo sentado, pues puede presentarse dificultad para respirar.	Lavar inmediatamente la zona dañada con agua en abundancia. Si ha penetrado en la ropa, quitarla inmediatamente y lavar la piel con agua abundante.	Lavar inmediatamente con agua corriente, asegurándose de abrir bien los párpados.	No provocar vómito. En caso de que la víctima esté inconsciente, dar respiración artificial y mantener en reposo y caliente. Si está consciente dar a beber un poco de agua continuamente, por ejemplo una cucharada cada 10 minutos.	En todos los casos de exposición, el paciente debe ser transportado al Hospital tan pronto como sea posible, debe almacenarse en lugares secos, bien ventilados, alejado de materiales oxidantes y protegido de daños físicos.	Ventilar el área y protegerse con el equipo de seguridad necesario. Cubrir el derrame con bicarbonato de sodio o una mezcla 50:50 de hidróxido de calcio y cal sodada y mezclar cuidadosamente. Al realizar la neutralización se genera calor por lo que debe construirse un dique para contener el ácido derramado (que puede ser concentrado) y debe rociarse con agua en forma de spray para diluirlo.	Diluir cuidadosamente con agua. Neutralizar con carbonato de calcio o cal. La disolución resultante puede verse en el drenaje junto con abundante agua.

SUSTANCIA	EFECTOS NOCIVOS	PRIMEROS AUXILIOS					MEDIDAS DE PREVENCIÓN	DERRAME	DESECHO Y TRATAMIENTO
		Indicaciones Generales	Inhalación	Contacto con la piel	Contacto con los ojos	Ingestión			
Ácido fosfórico.	Es un producto corrosivo y puede causar severos problemas en garganta, pulmones, piel y estómago.	No se precisan medidas especiales.	Trasladar al intoxicado a una zona ventilada y en su defecto administrar oxígeno.	Lavar la zona afectada con abundante agua y jabón (mínimo durante 15 minutos).	Lavar con abundante agua (mínimo durante 15 minutos).	No inducir el vómito. Lavar la boca con agua y administrar abundante agua si el intoxicado está consciente.	No es inflamable, pero en contacto con metales libera hidrógeno, el cual es explosivo. No exponer al fuego, ni calor excesivos. Manejar con pipeta.	Limpia con agua y jabón. Evitar que el derrame llegue a fuentes de fuego.	Diluir y neutralizar con una base débil. Nunca desechos directamente al drenaje.
Ácido nítrico.	Es un producto muy nocivo si se inhala, ya que destruye los tejidos de las membranas mucosas. Provoca quemaduras en piel y ojos. Prohibido ingerirse. No debe exponerse por mucho tiempo a los vapores, puede ocasionar la muerte.	Para su manejo es necesario utilizar lentes de seguridad y, si es necesario, guantes de neopreno, vitón o hule butílico, nunca de PVA o polietileno en lugares bien ventilados. No deben usarse lentes de contacto cuando se utilice este producto. Al trasladar pequeñas cantidades con pipeta y propipetas, NUNCA ASPIRAR CON LA BOCA.	Si aspiró, mueva la persona al aire fresco. Si ha parado de respirar, hacer la respiración artificial.	Quítese inmediatamente la ropa y zapatos contaminados. Eliminar lavando con jabón y mucha agua.	Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar lentes de contacto si están presentes.	No provocar el vómito. Nunca debe administrarse nada por la boca a una persona inconsciente.	Conservar el envase herméticamente cerrado en un lugar seco y bien ventilado. Los contenidos que se abren deben volver a cerrar cuidadosamente y mantener en posición vertical para evitar pérdidas.	Ventilar el área y protegerse con el equipo de seguridad necesario. Cubrir el derrame con bicarbonato de sodio o una mezcla 50-50 de hidróxido de calcio y cal sodada y mezclar cuidadosamente. Se genera calor por la neutralización, por lo que si el ácido derramado es concentrado, primero debe construirse un dique que lo contenga y diluir y rociar con agua en spray.	Con cuidado diluya con agua-hielo y ajuste el pH neutro con bicarbonato de sodio o hidróxido de calcio ya que se generan calor y vapores.
Bicarbonato de sodio.	El contacto prolongado causa irritación a la piel, quemaduras en ojos e irritación nasal.	No se precisan medidas especiales.	Trasladar al intoxicado a una zona ventilada y en su defecto administrar oxígeno.	Lavar la zona afectada con abundante agua y jabón (mínimo durante 15 minutos).	Lavar con abundante agua (mínimo durante 15 minutos).	No inducir el vómito. Lavar la boca con agua y administrar agua y leche abundantemente.	No es inflamable, ni explosivo. No tocar el producto con las manos descubiertas, utilizar guantes y lavarse las manos después de utilizarlo.	Lavar la zona con abundante agua.	Diluir con agua y desechos por el drenaje.
Butilhidroxianisol.	Puede ser nocivo si se inhala, provoca irritación del tracto respiratorio. Provoca irritaciones en piel, ojos. Nocivo por ingestión.	Evitar la manipulación del reactivo con contacto directo de las manos, utilice guantes o lávese las manos después de su exposición.	Trasladar a la persona a un lugar con aire fresco. Si no logra respirar dar respiración artificial.	Eliminar lavando con jabón y mucha agua.	Lavar con abundante agua durante 15 minutos.	Nunca debe administrarse nada por la boca a una persona inconsciente. Enjuague la boca con agua. Consultar a un médico.	Conservar el envase herméticamente cerrado en un lugar seco y bien ventilado.	Manipular el producto con guantes. Evite el contacto con la piel y los ojos. Recoger el material evitando generar polvo y almacenar en recipientes para su eliminación.	Ofertar el sobrante y las soluciones no aprovechables a una compañía de vertidos acreditada.
Butilhidroxitolueno.	Puede ser nocivo si se inhala. Provoca irritación del tracto respiratorio. Provoca irritaciones en piel, ojos. Nocivo por ingestión.	Evite la manipulación del reactivo con contacto directo de las manos, utilice guantes o lávese las manos después de su exposición.	Trasladar a la persona a un lugar con aire fresco. Si no logra respirar dar respiración artificial.	Eliminar lavando con jabón y mucha agua.	Lavar con abundante agua durante 15 minutos.	Nunca debe administrarse nada por la boca a una persona inconsciente. Enjuague la boca con agua. Consultar a un médico.	Conservar el envase herméticamente cerrado en un lugar seco y bien ventilado.	Manipule el producto usando guantes y evite el contacto con la piel y los ojos. Evite el contacto con la piel y los ojos. Recoger el material evitando generar polvo y almacenar en recipientes para su eliminación.	Ofertar el sobrante y las soluciones no aprovechables a una compañía de vertidos acreditada.
Clorhidrato de hidroxilamina.	Altamente CORROSIVO. Causa quemaduras en cualquier área de contacto. Si es ingerido o inhalado causa metahemoglobinemia (mayor afinidad de la hemoglobina por el oxígeno).	No tocar el polvo y las soluciones directamente. No ingerir ni inhalar.	Suministrar oxígeno y consultar al médico.	Lavar inmediatamente con abundante agua por 15 minutos. Consultar al médico.	Lavar con abundante agua durante 15 minutos.	No inducir el vómito. Beber abundante agua.	Utilizar bata, guantes y lentes. No es inflamable.	Lavar con suficiente agua el área del derrame.	No se precisan

SUSTANCIA	EFECTOS NOCIVOS	PRIMEROS AUXILIOS					MEDIDAS DE PREVENCIÓN	DERRAME	DESECHO Y TRATAMIENTO
		Indicaciones Generales	Inhalación	Contacto con la piel	Contacto con los ojos	Ingestión			
Clorofórmico	Es peligroso si se inhala e ingesta. Es un producto no inflamable pero puede explotar si se expone al calor generando otros compuestos corrosivos y tóxicos. Puede ser carcinogénico.	Evitar la exposición por largos periodos a este reactivo. Utilizarlo en áreas bien ventiladas y por medio de una campana de extracción de gases.	Ubicar al intoxicado en una zona ventilada. Si la respiración es dificultosa administrar oxígeno.	Lavar con abundante agua.	Lavar con abundante agua y también con solución salina neutra.	No inducir el vómito. Puede suministrarse carbón activado si la víctima está consciente.	Reacciona violentamente con metales como aluminio y magnesio. Debe usarse en un área bien ventilada, evitar respirar los vapores y el contacto con la piel. Debe utilizarse lentes de seguridad, guantes y bata.	Mantener el derrame alejado de fuentes de agua y drenaje. Puede ocuparse carbón activado o agentes gelantes universales.	En pequeñas cantidades puede dejarse evaporar en una campana extractora. En grandes volúmenes debe mezclarse con combustible como queroseno, e incinerarse en equipo especializado.
Cloruro de calcio	Causa irritación de piel, ojos y vías respiratorias.	No se precisan medidas especiales.	Trasladar al intoxicado a una zona ventilada y en su defecto administrar oxígeno.	Lavar la zona afectada con abundante agua y jabón (mínimo durante 15 minutos).	Lavar con abundante agua (mínimo durante 15 minutos).	No inducir el vómito. Lavar la boca con agua y administrarla de manera abundante si el intoxicado está consciente.	Se deben observar las medidas generales de seguridad para el manejo de productos químicos. Usar lentes protectores contra productos químicos y guantes.	Recoger mecánicamente.	No se precisan medidas especiales.
Cloruro de sodio NaCl	La ingestión de grandes cantidades puede irritar el estómago provocando náusea y vómito. Puede afectar el comportamiento en general, el funcionamiento de los órganos sensoriales, el metabolismo y el sistema cardiovascular. La exposición continua puede producir deshidratación, la congestión de órganos internos e incluso inducir el coma.	No se precisan medidas especiales.	No se precisan medidas especiales.	Después de enjuagar inmediatamente con abundante agua; lave cuidadosamente la piel afectada con agua y jabón no abrasivo, limpiando bien los pliegues de la piel. Se puede usar agua fría. Cubra la piel irritada con un emoliente. Si persiste la irritación, busque atención médica.	Manteniendo los ojos abiertos, enjuágalos durante 15 minutos con abundante agua. Revisar adaración de la temperatura del agua. Buscar atención médica inmediatamente.	Beber agua de manera abundante. Provocar el vómito. Pedir atención médica.	Se deben observar las medidas generales de seguridad para el manejo de productos químicos. Usar lentes protectores contra productos químicos y guantes.	Recoger mecánicamente.	No se precisan medidas especiales.
2,6-dicloroindofenol	No se precisan	No se precisan medidas especiales.	Trasladar a la persona a un lugar con aire fresco.	Lavar con abundante agua.	Lavar con abundante agua y también con solución salina neutra.	No inducir el vómito, beber suficiente agua.	No se precisan.	Lavar con suficiente agua y jabón.	No se precisan.
Dodecilsulfato de sodio (SDS)	El polvo causa irritación en nariz, ojos y garganta. En caso de ingestión produce náuseas y vómito.	No se precisan medidas especiales.	Trasladar a la persona a un lugar con aire fresco. Si no logra respirar dar respiración artificial.	Eliminar lavando con jabón y mucha agua.	Lavar con abundante agua durante 15 minutos.	No inducir el vómito. Suministrar abundante agua si la persona está consciente.	Usarse en zonas con ventilación lejos de fuentes de ignición.	Recoger mecánicamente y lavar con abundante agua.	Almacenar en contenedores e incinerar.
EDTA	Produce irritación ocular.	No debe almacenarse junto a soluciones alcalinas.	Trasladar a la persona a un lugar con aire fresco. Si no logra respirar dar respiración artificial.	Eliminar lavando con jabón y mucha agua.	Lavar con abundante agua durante 15 minutos.	Nunca debe administrarse nada por vía oral a una persona inconsciente. Enjuague la boca con agua. Consultar a un médico.	Incombustible. En caso de incendio pueden formarse vapores tóxicos.	No inhalar los vapores si está en solución. Recoger con materiales absorbentes o en su defecto arena o tierra seca y posteriormente depositar en contenedores para residuos y eliminarlos.	No se precisan medidas especiales.

SUSTANCIA	EFECTOS NOCIVOS	PRIMEROS AUXILIOS					MEDIDAS DE PREVENCIÓN	DERRAME	DESECHO Y TRATAMIENTO
		Indicaciones Generales	Inhalación	Contacto con la piel	Contacto con los ojos	Ingestión			
Etolol	Mareo, vómito y dolor de cabeza.	Debe estar alejado del calor, chispas y llamas.	Mover a la víctima a un área bien ventilada y mantenerla abrigada. Si no respira, dar respiración artificial y oxígeno.	Lavar la zona dañada inmediatamente con agua y jabón. En caso necesario, quitar la ropa contaminada para evitar riesgos de inflamabilidad.	Lavarlos con agua o solución salina neutra en forma abundante, asegurándose de abrir los párpados con los dedos.	No inducir el vómito. Pueden utilizarse de 5 a 10 g de bicarbonato de sodio para contrarrestar la acidosis provocada por este producto y en algunos casos, se ha de utilizar la hemodialisis como método efectivo contra este tipo de envenenamiento.	El manejo de este producto debe hacerse en un lugar bien ventilado, utilizando bata, lentes de seguridad y, si el uso es prolongado, guantes. No deben usarse lentes de contacto al utilizar este producto.	Alejar cualquier fuente de ignición del derrame y evitar que llegue a fuentes de agua y drenajes. Para ello constituir diques con tierra, bolsas de arena o espuma de polietileno.	En el caso de cantidades pequeñas, puede dejarse evaporar o incinerarse en áreas seguras.
Fosfato de sodio (hamine)	Grandes dosis pueden provocar trastornos gastrointestinales como diarrea y vómito.	Se debe de almacenar y/o transportar por compatibilidad, alejado de Bases fuertes y magnesio. * Estar debidamente etiquetado Nombre del Producto y Fabricante, Lote, NFPA Visible y perfectamente adherido. * Tener el color de almacenamiento (verde) Baja peligrosidad	Trasladar a la persona al aire libre. En caso de que persista el malestar, pedir atención médica.	Lavar abundantemente con agua. Quitarse las ropa contaminada.	Lavar con agua abundante manteniendo los párpados abiertos.	Beber agua en abundancia. Provocar el vómito. En caso de malestar, pedir atención médica.	Utilizar guantes de látex, Lentes de seguridad, mascarillas con cartuchos para polvos. Después de estar en contacto con este producto lavar con agua y jabón todo su equipo de seguridad. Bañarse y lavar su uniforme para evitar que este contaminado con residuos del producto.	Use equipo de protección personal (Sec. IX); con una pala limpia (plástico), coloque el material dentro de un recipiente limpio seco y cubra; retire del área. Lave el área del derrame con agua, evitando que esta agua de lavado oscura, contener para evitar la introducción a las vías fluviales.	Contactar con el fabricante respecto al reciclado. Analizar la posibilidad de reciclaje.
Hexano	En forma de vapor, irrita la nariz y garganta; como líquido, irrita la piel y los ojos. Es un compuesto altamente inflamable; cuyos vapores pueden viajar a una fuente de ignición y regresar con fuego al lugar que los originó, pueden explotar en una zona cerrada y generar mezclas explosivas con aire.	Debe almacenarse alejado de cualquier fuente de ignición y de materiales oxidantes, en lugares bien ventilados y de la luz directa del sol.	Transportar a la víctima a una zona bien ventilada. Si no respira, proporcionar respiración artificial y oxígeno. Mantenerla en reposo y abrigada.	Lavar inmediatamente el área contaminada con agua y jabón. Si es necesario, eliminar la ropa contaminada para evitar riesgos de inflamabilidad.	Lavar inmediatamente con agua o solución salina neutra, asegurándose de abrir bien los párpados.	Dar a beber agua para diluir. No inducir el vómito. En todos los casos de exposición, el paciente debe ser transportado al hospital tan pronto como sea posible.	Deben utilizarse bata, lentes de seguridad y guantes, evitando todo contacto con la piel, en un lugar bien ventilado y no deben utilizarse lentes de seguridad mientras se trabaja con el.	Deben utilizarse bata, lentes de seguridad, guantes y dependiendo de la magnitud del derrame se procederá a evacuar la zona. Mantener flamas o cualquier fuente de ignición alejados del derrame y evitar que el líquido derramado tenga contacto con fuentes de agua o drenajes para evitar explosiones.	Los desechos de hexano deben incinerarse de manera adecuada ya que pueden servir como combustible en condiciones controladas. Pequeñas cantidades pueden evaporarse en una campana extractora de gases.

SUSTANCIA	EFECTOS NOCIVOS	PRIMEROS AUXILIOS					MEDIDAS DE PREVENCIÓN	DERRAME	DESECHO Y TRATAMIENTO
		Indicaciones Generales	Inhalación	Contacto con la piel	Contacto con los ojos	Ingestión			
Hidróxido de amonio	Dificultad para respirar, sensación de asfixia, tos y vómito. En ojos ocasiona dolor, enrojecimiento, visión borrosa. Por contacto ocasiona sensaciones de quemaduras, dolor y ampollas.	En caso de pérdida del conocimiento nunca dar nada de beber ni provocar el vómito.	Trasladar a la persona al aire libre. En caso de asfixia proceder a la respiración artificial.	Lavar abundantemente con agua. Quitarse la ropa contaminada.	Lavar con agua abundante manteniendo los párpados abiertos por lo menos durante 15 minutos. Pedir atención médica.	Beber abundante agua. Evitar el vómito. No beber leche. No administrar aceites digestivos.	Inflamable. Mantener alejado de fuentes de ignición. Puede formar mezclas explosivas con aire.	Recoger con materiales absorbentes o en su defecto arena o tierra seca y depositar en contenedores para residuos para su posterior eliminación.	Dificultad para respirar, sensación de asfixia, tos y vómito. En ojos ocasiona dolor, enrojecimiento, visión borrosa. Por contacto ocasiona sensaciones de quemaduras, dolor y ampollas.
Hidróxido de sodio	El hidróxido de sodio es irritante y corrosivo para los tejidos. Los casos más comunes de accidentes son causados por contacto con la piel y ojos, así como inhalación de neblinas o polvo.	El hidróxido de sodio debe ser almacenado en un lugar seco, protegido de la humedad, agua, daño físico y alejado de ácidos, metales, disolventes orgánicos, explosivos, peróxidos orgánicos y materiales que puedan arder fácilmente.	Retirar del área de exposición hacia una bien ventilada y consultar al médico. Si el accidentado se encuentra inconsciente, no dar a beber nada, dar respiración artificial y rehabilitación cardiopulmonar. Si se encuentra consciente, levantarlo o sentarlo lentamente, suministrar oxígeno si es necesario.	Quitar la ropa contaminada inmediatamente. Lavar el área afectada con abundante agua corriente.	Lavar con abundante agua corriente, asegurándose de levantar los párpados, hasta que se elimine totalmente el producto.	No provocar vómito. Si el accidentado se encuentra inconsciente, tratar como en el caso de inhalación. Si está consciente, dar a beber una cucharada de agua inmediatamente y después, cada 10 minutos.	Uso de lentes de seguridad, bata y guantes de neopreno, nitrilo o vinilo. Siempre debe manejarse en una campana y no deben utilizarse lentes de contacto al trabajar con este compuesto. Obligatorio el uso de pipeta y propipeta, NUNCA ASPIRAR CON LA BOCA.	En caso de derrame, ventilar el área y colocarse la ropa de protección necesaria como lentes de seguridad, guantes, overoles químicamente resistentes, batas de seguridad. Mezclar el sólido derramado con arena seca, neutralizar con HCl diluido, diluir con agua, decantar y tirar al drenaje. La arena puede desecharse como basura doméstica.	Para pequeñas cantidades, agregar lentamente y con agitación, agua y hielo. Ajustar el pH a neutro con HCl diluido. La disolución acusa resultante, puede tirarse al drenaje diluyéndola con agua. Durante la neutralización se desprende calor y vapores, por lo que debe hacerse lentamente y en un lugar ventilado adecuadamente.
Metanol	El envenenamiento puede efectuarse por ingestión, inhalación o absorción cutánea. Si se ingiere produce ceguera y muerte. Si se inhala produce dolor de cabeza, náusea, vómito e irritación de las mucosas.	Debe estar alejado del calor, chispas y llamas.	Mover a la víctima a un área bien ventilada y mantenerla abrigada. Si no respira, dar respiración artificial y oxígeno.	Lavar la zona dañada inmediatamente con agua y jabón. En caso necesario, quitar la ropa contaminada para evitar riesgos de inflamabilidad.	Lavarlos con agua o solución salina neutra en forma abundante, asegurándose de abrir los párpados con los dedos.	No inducir el vómito. Pueden utilizarse de 5 a 10 g de bicarbonato de sodio para contrarrestar la acidosis provocada por este producto y en algunos casos, se ha utilizado la hemodíalisis como método efectivo contra este tipo de envenenamiento.	El manejo de este producto debe hacerse en un lugar bien ventilado, utilizando bata, lentes de seguridad y, si el uso es prolongado, guantes. No deben usarse lentes de contacto al utilizar este producto.	Alejar cualquier fuente de ignición del derrame y evitar que llegue a fuentes de agua y drenajes. Para ello construir diques con tierra, bolsas de arena o espuma de poliuretano.	En el caso de cantidades pequeñas, puede dejarse evaporar o incinerarse en áreas seguras.
Ortofenantrolina	Tóxico en caso de ingestión.	No se precisan medidas especiales.	Lavar con abundante agua por 15 minutos.	Lavar con abundante agua por 15 minutos.	Lavar con abundante agua por 15 minutos.	No inducir el vómito. Administrar abundante agua.	Evitar respirar los vapores, la neblina o el gas. Asegúrese una ventilación apropiada.	Recoger mecánicamente y lavar con agua.	Guardar en envases para ser incinerados por equipo especializado.

SUSTANCIA	EFECTOS NOCIVOS	PRIMEROS AUXILIOS					MEDIDAS DE PREVENCIÓN	DERRAME	DESECHO Y TRATAMIENTO
		Indicaciones Generales	Inhalación	Contacto con la piel	Contacto con los ojos	Ingestión			
Trosulfato de sodio	En ojos y en vías respiratorias causa irritación.	No se precisan medidas especiales.	Trasladar al intoxicado a una zona ventilada y en su defecto administrar oxígeno.	Lavar la zona afectada con abundante agua y jabón (mínimo durante 15 minutos).	Lavar con abundante agua (mínimo durante 15 minutos).	No inducir el vómito. Lavar la boca con agua y administrar abundante agua.	No es combustible pero es recomendable no ponerlo en contacto con oxidantes.	Recoger mecánicamente y lavar los restos con abundante agua.	No se precisan medidas especiales.
Yodo sublimado	Corrosivo. Provoca grave irritación y quemaduras en el área de contacto con la piel, los ojos y las vías respiratorias. Puede causar reacciones alérgicas.	No se precisan medidas especiales.	Sacar a la víctima al aire fresco. Si se le dificulta la respiración dar oxígeno.	Lavar con abundante agua la zona en contacto. Las manchas de yodo pueden ser eliminadas de la piel lavándola inmediatamente con una solución de tiosulfato de sodio al 5%.	Lavar los ojos inmediatamente con abundante agua por lo menos, durante 15 minutos.	Provocar el vómito inmediatamente. No dar nada por boca si la persona está inconsciente.	En contacto con otros materiales puede ocasionar un incendio.	Recoger mecánicamente y lavar los restos con agua abundante. No utilizar amoníaco, metales en polvo, cloro, disolventes orgánicos e hidróxido de amonio.	Almacenar en contenedores e incinerarlos con medidas especiales.
Yoduro de potasio	Puede causar irritaciones leves en los ojos. Es absorbido por la piel y causa vómito y reacciones alérgicas.	No se precisan medidas especiales.	Trasladar al intoxicado a una zona ventilada y en su defecto administrar oxígeno.	Lavar la zona afectada con abundante agua y jabón (mínimo durante 15 minutos).	Lavar con abundante agua (mínimo durante 15 minutos).	Lavar la boca con agua y administrar abundante agua. Se puede inducir el vómito, aunque es mejor pedir atención médica inmediata.	No inhalar el polvo. No poner en contacto con metales alcalinos, peróxido de hidrógeno ni amoníaco.	Recoger mecánicamente y lavar los restos con abundante agua.	No se precisan medidas especiales.

Microcomponentes y aditivos alimentarios

Se terminó de imprimir en noviembre de 2014,
con un tiraje de 200 ejemplares, más sobrantes para reposición.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Av. San Rafael Atlixco No.186, Col. Vicentina
C.P. 09340, Del. Iztapalapa, México D.F.
Tel.: (01) 58044600