

2.1 Análisis Proximal

Los análisis proximales son análisis en los cuales se someten los alimentos para corroborar si el contenido de algún nutriente es correcto o si este está dentro o fuera del rango establecido, son relevantes porque indica en qué forma varía la concentración de nutrimentos que contiene. Particularmente se analiza el contenido de materia seca, proteína, grasa y sus componentes vía el perfil de ácidos grasos, de colesterol, y cenizas.

Análisis proximal	Descripción	Método		Descripción	Metodología
Humedad	El análisis del contenido de humedad o de materia seca, es en el análisis bromatológico probablemente el más frecuentemente realizado, debido a que permite conocer el grado de dilución de los nutrimentos o componentes de la muestra. A diferencia de las determinaciones de capacidad de retención de agua y pérdida por goteo, el análisis de humedad permite conocer el contenido total de agua en la muestra. La determinación de la humedad se basa en la pérdida del agua por efecto del calentamiento en estufa con condiciones de aire forzado.	Secado	Secado de estufa	La determinación de secado en estufa se basa en la pérdida de peso de la muestra por evaporación del agua. Para esto se requiere que la muestra sea térmicamente estable y que no contenga una cantidad significativa de compuestos volátiles. El principio operacional del método de determinación de humedad utilizando estufa y balanza analítica, incluye la preparación de la muestra, pesado, secado, enfriado y pesado nuevamente de la muestra. Los productos con un elevado contenido en azúcares y las carnes con un contenido alto de grasa deben deshidratarse en estufa de vacío a temperaturas que no excedan de 70°C.	Pesar de 2 a 3 g de muestra en un pesafiltro con tapa (previamente pesado después de tenerlo a peso constante 2 hrs. a 130°C aprox.). Secar la muestra en la estufa 2 hrs. a 100-110°C. Retirar de la estufa, tapar, dejar enfriar en el desecador y pesar tan pronto como se equilibre con la temperatura ambiente. Repetir hasta peso constante. Calcular el porcentaje de humedad, reportándolo como pérdida por secado a 100-110°C.
			Secado de estufa de vacío	Se basa en el principio fisicoquímico que relaciona la presión de vapor con la presión del sistema a una temperatura dada. Si se abate la presión del sistema, se abate la presión de vapor y necesariamente se reduce su punto de ebullición. Si se sustrae aire de una estufa por medio de vacío se incrementa la velocidad del secado. Es necesario que la estufa tenga una salida de aire constante y que la presión no exceda los 100 mm Hg. y 70°C, de manera que la muestra no se descomponga y que no se evaporen los compuestos volátiles de la muestra, cuya presión de vapor también ha sido modificada.	Pesar de 2 a 3 g de muestra en un pesafiltro con tapa (previamente pesado después de tenerlo a peso constante 2 hrs. a 130°C aprox.). Secar la muestra al menos por 24 hrs. en la estufa conectada a vacío a una temperatura de 70°C como máximo. Retirar de la estufa, tapar, dejar enfriar en desecador y pesar tan pronto como se equilibre con la temperatura ambiente. Repetir la operación hasta peso constante. Calcular el porcentaje de humedad, reportándolo como pérdida por secado en estufa de vacío a 70±1°C.
			Secado por termobalanza	Este método se basa en evaporar de manera continua la humedad de la muestra y el registro continuo de la pérdida de peso, hasta que la muestra se sitúe a peso constante. El error de pesada en este método se minimiza cuando la muestra no se expone constantemente al ambiente.	Pesar de 8 a 10 g de muestra y colocarlos en una charola de aluminio formando una capa lo más homogénea posible. Colocar la charola con muestra en el espacio destinado para ello en la termobalanza y encender el equipo. Registrar la pérdida de peso o en su caso, el porcentaje de humedad (según equipo) después de 10-15 min o bien cuando ya no haya variación en la lectura. Calcular el porcentaje de humedad.
		Destilado azeotrópico		El método se basa en la destilación simultánea del agua con un líquido inmiscible en proporciones constantes. El agua es destilada en un líquido inmiscible de alto punto de ebullición, como son tolueno y xileno. El agua destilada y condensada se recolecta en una trampa Bidwell para medir el volumen	Pesar 10-25 g de muestra en un matraz bola de 500 mL con junta esmerilada. Cubrir la muestra con tolueno (100 mL aprox.). Acople al matraz un colector para destilación azeotrópica y un refrigerante a este último en posición de reflujo conectado al flujo de agua. Llene el vástago graduado del colector con el mismo solvente desde la parte superior del refrigerante. Destile lentamente al principio e incrementando la velocidad hasta que toda el agua haya sido destilada. Poco antes del final de la destilación, lave el refrigerante con un poco de solvente desde la parte superior. Continúe la destilación hasta que ya no varíe la cantidad de agua destilada en el tubo colector. Lea el volumen directamente del tubo colector y calcule el porcentaje de humedad considerando la densidad del agua.
			Karl Fischer	Es el único método químico comúnmente usado para la determinación de agua en alimentos que precisamente se basa en su reactivo. Este reactivo fue descubierto en 1936 y consta de yodo, dióxido de azufre, una amina (originalmente se empleaba piridina sin embargo por cuestiones de seguridad y toxicidad se está reemplazando por imidazol) en un alcohol (ejemplo metanol). Inicialmente, el dióxido de azufre reacciona con el metanol para formar el éster el cual es neutralizado por la base. El éster es oxidado por el yodo a metil sulfato en una reacción que involucra al agua (2). Este método se aplica a alimentos con bajo contenido de humedad por ejemplo frutas y vegetales deshidratados, aceite y café tostado, no es recomendable para alimentos con alto contenido de humedad.	La muestra se disuelve o suspende en un disolvente adecuado que no contiene agua (suele emplearse metanol seco) y se añade el reactivo, que contiene yodo, con una bureta automática. El agua de la muestra reacciona con el reactivo, hasta que se ha consumido en su totalidad, y se detecta yodo libre en la disolución. El punto final de la valoración se determina voltamétricamente con un electrodo de platino.
Cenizas	Las cenizas de un alimento son un término analítico equivalente al residuo inorgánico que queda después de calcinar la materia orgánica. Las cenizas normalmente no son las mismas sustancias inorgánicas presentes en el alimento original, debido a las pérdidas por volatilización o a las interacciones químicas entre los constituyentes.	Seco		La determinación en seco es el método más común para determinar la cantidad total de minerales en alimentos y este método se basa en la descomposición de la materia orgánica quedando solamente materia inorgánica en la muestra, este método es eficiente ya que determina tantas cenizas solubles en agua, insolubles y solubles en medio ácido.	Poner a peso constante un crisol 2 hrs. aproximadamente en la mufla a 600°C. Pesar de 3 a 5 g de muestra en el crisol (la muestra no debe sobrepasar la mitad del crisol) previamente pesado. Calcinar la muestra, primeramente, con un mechero en la campana hasta que no se desprendan humos y posteriormente meter a la mufla 2 hrs. cuidando que la temperatura no pase de 550°C. Repetir la operación anterior si es necesario, hasta conseguir unas cenizas blancas o ligeramente grises, homogéneas. Enfriar en desecador y pesar.
		Humedad		La determinación húmeda se basa en la descomposición de la materia orgánica en medio ácido por lo que la materia inorgánica puede ser determinada por gravimetría de las sales que precipiten, y también por algún otro método analítico para las sales que permanezcan en disolución acuosa o ácida. Para la determinación húmeda se dan cenizas alcalinas, ácidas y neutras y esto se basa en el tipo de anión o catión ya sea metálico o complejo de tal suerte que hay cenizas como tartratos, citratos que producirán cenizas con un carácter alcalino, esto es demostrable para otros compuestos minerales. Es necesario tomar en cuenta que también un índice de alcalinidad de cenizas es muestra del contenido de carbonatos en disolución acuosa.	Pesar 5 g de muestra en un vaso de precipitados, adicionar 10 mL de ácido nítrico concentrado, calentar durante una hora hasta la obtención de color traslúcido, enfriar, recuperar, filtrar en matraz aforado de 100 mL, aforar con agua. Tomar una alícuota de 10 mL y colocarlo en un vaso de precipitados de 250 mL a peso constante, evaporar a sequedad, colocar en estufa hasta peso constante. Calcular por diferencia de peso la cantidad de minerales en la alícuota y relacionarlo con el aforo total.
Lípidos/Grasas	Los lípidos son considerados como un grupo de compuestos orgánicos insolubles en agua y solubles en solventes orgánicos (como por ejemplo éter y cloroformo), con una estructura química formada por una cadena hidrocarbonada como parte principal de la molécula, y que se encuentran o se	Métodos de extracción y cuantificación	Método de Soxhlet	Es una extracción semicontinua con disolvente donde una cantidad de disolvente rodea la muestra y se calienta a ebullición, una vez que dentro del Soxhlet el líquido condensado llega a cierto nivel es sifoneado de regreso al matraz de ebullición, la grasa se mide por pérdida de peso de la muestra o por cantidad de muestra removida.	Colocar a peso constante un matraz bola de fondo plano con perlas o piedras de ebullición en la estufa a 100°C, aproximadamente 2 hrs. Pesar de 4 a 5 g de muestra sobre un papel, enrollarlo y colocarlo en un cartucho de celulosa, tapar con un algodón (No apretar el algodón contra la muestra) y colocar el cartucho en el extractor. Conectar el matraz al extractor, en el que se debe encontrar el cartucho con la muestra, y posteriormente conectar éste al refrigerante. (No poner grasa en las juntas). Agregar dos cargas del disolvente (generalmente éter etílico) por el refrigerante y calentar el matraz con parrilla a ebullición suave. Para verificar que se ha extraído toda la grasa, dejar caer una gota de la descarga sobre papel filtro, al evaporarse el disolvente no debe dejar residuo de grasa. Una vez extraída toda la grasa, quitar el cartucho con la muestra desengrasada, seguir calentando hasta la casi total eliminación del disolvente, recuperándolo antes de que se descargue.

Proteínas	Las proteínas de la carne se caracterizan por tener un alto valor biológico, lo que implica una muy adecuada proporción entre los aminoácidos que la conforman ya que proporciona todos los aminoácidos esenciales en cantidades equivalentes a los requerimientos del humano. Es una proteína altamente digestible y fácilmente absorbible. El contenido de proteína de la carne cruda es aproximadamente de 19-23%, éste varía inversamente proporcional a la grasa y debido a las pérdidas de humedad y grasa durante el cocinado; la proteína de la carne cocinada aumenta a 25-30%. La proteína de la carne, representa un nutriente de alta calidad, que se considera esencial en una dieta sana y equilibrada, principalmente por su aporte de aminoácidos esenciales. Todos los	derivados de organismos vivos.		Método de Gerber	Éste, así como los demás métodos volumétricos presentan un carácter un tanto cuanto empírico ya que varios factores afectan la gravedad específica de la grasa separada, variaciones propias de la grasa, ácidos grasos presentes, solubilidad de la grasa en los disolventes, etc. Con estos métodos volumétricos la muestra se sitúa en un butirómetro y se descompone utilizando ácidos o álcalis de manera que la grasa es liberada, esta se separa por métodos mecánicos (centrífuga) y se colecta en el cuello calibrado.	<ul style="list-style-type: none">· Verter 10 mL de ácido sulfúrico en el butirómetro. No mojar el cuello del butirómetro con el ácido.· La muestra de la leche debe ser homogénea y estar a 20°C. Para ello calentar ligeramente si es necesario e invertir repetidamente el recipiente para favorecer la homogenización evitando la formación de espuma o el batido de la grasa.· Tomar con la pipeta 11 mL de leche. Secar el extremo de la pipeta con papel de filtro. Verter la leche en el butirómetro, apoyando la pipeta en la pared del cuello del butirómetro, formando un ángulo de 45° para que caiga suavemente sobre el ácido. <ul style="list-style-type: none">· Adicionar a continuación 1 mL de alcohol amílico en el butirómetro. No mojar el cuello del butirómetro con el alcohol amílico.· Colocar el tapón de caucho asegurando que queda bien cerrado el butirómetro.· Con el tapón hacia arriba, agitar el butirómetro vigorosamente hasta que el coágulo se disuelva completamente. Tener en cuenta que al agitar se produce una reacción exotérmica por lo que se debe proteger el butirómetro con un paño y las manos con guantes de goma. Agitar sin interrupción y sin invertirlo. Después invertirlo por lo menos cuatro veces para homogeneizar el contenido del butirómetro y el contenido del bulbo y vástago graduado.· Colocar inmediatamente el butirómetro en la centrífuga Gerber a 60° C y centrifugar durante 4 minutos.· Retirar el butirómetro de la centrífuga y colocarlo, con el tapón hacia abajo en un baño termostático a 65±2°C durante 5 minutos, debiendo quedar todo el contenido del butirómetro sumergido.· Manteniendo siempre el butirómetro en posición vertical y sin agitarlo, retirarlo del baño. Secarlo rápidamente. Ajustar la columna de grasa hasta que coincida con una marca principal de la columna del butirómetro y realizar la lectura del porcentaje de grasa.		
					Caracterización de lípidos	Colesterol	El método químico de Lueberman-Burchard de determinación de colesterol en una muestra lipídica. La determinación se basa en el desarrollo de una coloración verde en presencia de anhídrido acético y ácido sulfúrico concentrado con temperatura, después de 30 min. De reacción. La intensidad de la coloración es medida por absorción en el espectrofotómetro a 620 nm. La intensidad tiene una relación lineal con la concentración de colesterol entre 100 y 600µg, se debe realizar una solución control de colesterol de diferentes concentraciones para realizar una comparación.	Pesar 100 mg. de material lipídico y disolver en un volumen conocido de diclorometano. Colocar 0.2 mL en un tubo de ensaye. Adicionar con precaución 4 mL de anhídrido acético (6.33 M en ác. acético). Mezclar y dejar 10 min en reposo. Adicionar 1 mL de H2SO4 conc. Y agitar con precaución. Dejar 30 min a temperatura ambiente. Leer contra un blanco de reactivos a 620 nm Preparar una curva patrón con colesterol en un intervalo de concentración de 0.2 -2 mg/mL. Llevar a cabo la reacción, como se menciono anteriormente y leer a 620 nm.
				Índice de saponificación		El índice de saponificación (o número Koettstorfer) denota el peso de hidróxido potásico en mg que se requieren para saponificar un gramo del aceite o grasa. El aceite se saponifica calentándolo con un exceso de álcali cáustico alcohólico. La cantidad de álcali consumida se calcula valorando por retroceso con ácido clorhídrico. El índice de saponificación es inversamente proporcional a la medida de los pesos moleculares de los ácidos grasos de los glicéridos presentes en el aceite o grasa.	Se agregan 30 mL de etanol a 100 mg de muestra en un matraz de 250 mL. Posteriormente se añade 10 mL de hidróxido de potasio (50g/50mL agua) y se somete a reflujo durante 30 min.	
				Deterioro de lípidos		Acidez titulable	La acidez titulable es una medida del contenido de ácidos grasos libres en una muestra. Su cálculo se basa en la masa molar de un ácido graso o una mezcla de ácidos grasos. Normalmente se mide por titulación directa en la disolución y con indicador visual.	En un matraz Erlenmeyer de 125 o 250 mL, colocar 0.5 g de lípidos y adicionar 25 mL de alcohol previamente neutralizado (utilizando fenoltaleína 0.1% como indicador). Calentar en un baño de agua en ebullición suave y titular en caliente con KOH 0.0025 N, agitando fuertemente después de cada adición de álcali. Calcular el índice de acidez, como equivalentes de KOH por 100 g de aceite.
						Índice de Peróxidos (Método volumétrico)	Durante el almacenamiento de los aceites y grasas, los enlaces insaturados absorben oxígeno y reaccionan análogamente a los peróxidos. A un cierto nivel los productos volátiles que se forman tienen un efecto perjudicial sobre el gusto y el olor, conocido como enranciamiento oxidativo. En los métodos usuales, la muestra se disuelve en una mezcla de ácido acético-cloroformo y se añade yoduro potásico. El peróxido de oxígeno libera yodo del KI y se valora con tiosulfato.	Pesar 2.5 ± 0.1 g de aceite o grasa en un matraz Erlenmeyer de 250 mL y adicionar 25 mL de una solución de ácido acético/diclorometano (3:2), disolviendo perfectamente. Adicionar 0.5 mL de una solución saturada de yoduro de potasio y dejar reposar en la oscuridad durante 60 seg., medidos con cronómetro. Añadir 75 mL de agua desionizada hervida y fría, titular lentamente con tiosulfato de sodio 0.1 N. Si se gastan menos de 3 mL, diluir el titulante a 0.01 N. Agitar vigorosamente durante la titulación hasta obtener un color amarillo pálido. Adicionar 0.5 mL de solución de almidón indicador (almidón soluble al 1% en agua) y continuar la titulación hasta la desaparición del color azul por 30 seg. El índice de peróxidos se obtiene calculando los miliequivalentes de tiosulfato utilizados en la titulación por kilogramo de muestra.
				Método de Kjeldahl	En el trabajo de rutina se determina mucho más frecuentemente la proteína total que las proteínas o aminoácidos individuales. En general, el procedimiento de referencia Kjeldahl determina la materia nitrogenada total, que incluye tanto las no proteínas como las proteínas verdaderas. El método se basa en la determinación de la cantidad de Nitrógeno orgánico contenido en productos alimentarios. Durante el proceso de descomposición ocurre la deshidratación y carbonización de la materia orgánica combinada con la oxidación de carbono a dióxido de carbono. El nitrógeno orgánico es transformado a amoníaco que se retiene en la disolución como sulfato de amonio.	Pesar de 0.1-0.2g de muestra e introducir en un tubo de Kjeldahl, y agregar 0.15g de sulfato de cobre pentahidratado, 2.5g de sulfato de potasio o sulfato de sodio y 10 mL de ácido sulfúrico concentrado. NOTA. No colocar el papel. Encender el aparato y precalentar a la temperatura de 360°C. Colocar los tubos en el portatubos del equipo Kjeldahl y colocarlo en el bloque de calentamiento. Poner la unidad de evacuación de gases con las juntas colocadas sobre los tubos de digestión. Accionar la trampa de succión de gases antes de que se produzcan estos. Calentar hasta total destrucción de la materia orgánica, es decir hasta que el líquido quede transparente, con una coloración azul verdosa. Una vez finalizada la digestión, sin retirar la unidad de evacuación de gases, colgar el portatubos para enfriar.		
				Absorción a 280 nm	La mayoría de las proteínas muestran una absorción a 280 nm, la cual se atribuye al grupo fenólico de la tirosina y al grupo indólico del triptófano. La cuantificación de proteínas basada en la absorción en la región de UV, tiene la ventaja de que no es necesario utilizar reactivos y la muestra no se daña o destruye durante la determinación. Se toma en cuenta la absorción del disolvente, ya que este puede absorber en la misma región. Este método sufre interferencias de compuestos que contengan anillos de purina y pirimida. Se realiza una comparación con una proteína estándar, de la que se debe conocer su composición.	Colocar la solución problema debidamente diluida en una celda de cuarzo del espectrofotómetro, de 1 cm de paso, y determinar la absorbancia a 280 nm, usando como blanco la solución en que se encuentra preparada la muestra. La concentración de proteína se obtiene por referencia a una curva de calibración preparada con albúmina bovina sérica en concentraciones de 50 a 500 µg/mL.		
				Método de Lowry	Se basa en la reducción del reactivo de Folin-Ciocalteu que es una mezcla de ácidos fosfomolibdico y fosfotungstobico por la oxidación de tirosina, triptófano, cistina, cistina de las cadenas polipeptídicas. El proceso de oxidación-reducción se acompaña de la formación de un color azul característico. Quelatos de cobre en la estructura del péptido facilitan la transferencia de electrones de los grupos funcionales amino al cromógeno ácido. Este método es útil para determinar pequeñas cantidades de	Colocar 1 mL de la solución adecuadamente diluida en tubos de ensaye perfectamente etiquetados, y adicionar tomando el tiempo 3 mL del reactivo C preparado recientemente (50 mL de A y 2 de B) (A: Carbonato de sodio 2% y Tartrato de sodio 0.02% en NaOH 1M; B: Sulfato de cobre 0.5%).		

	aminoácidos que constituyen las proteínas contienen nitrógeno en su molécula, ésta es una característica que permite determinar el contenido de proteína a partir de la cuantificación de este elemento. Sin embargo, la cantidad de nitrógeno presente en cada aminoácido es variable.			proteína en una disolución. El desarrollo de color es dependiente en gran cantidad del pH, que se debe mantener entre 10 y 10.5.	Después de exactamente 10 min adicionar a la mezcla 0.3 mL del reactivo D (1 parte de reactivo de Folin con 1 parte de agua), agitando inmediatamente. Dejar en reposo a temperatura ambiente durante 30 min. Determinar la absorbancia del color azul producido a 750 nm contra un blanco preparado de la misma manera con 1 mL de agua en vez de la solución problema. La concentración de proteína se calcula a partir de una curva patrón preparada con albúmina bovina sérica en concentraciones de 10 a 100 µg/mL, tratadas de la misma manera con los reactivos.
Carbohidratos	Dentro de este concepto se agrupan todos los nutrientes no evaluados con los métodos señalados anteriormente dentro del análisis proximal, constituido principalmente por carbohidratos digeribles, así como también vitaminas y demás compuestos orgánicos solubles no nitrogenados; debido a que se obtiene como la resultante de restar a 100 los porcentajes calculados para cada nutriente, los errores cometidos en su respectiva evaluación repercutirán en el cómputo final.	Carbohidratos totales	Método de fenol-sulfúrico	Los carbohidratos serán destruidos por calor y por ácido, son particularmente sensible a ácidos fuertes y altas temperaturas. Bajo estas condiciones una serie de reacciones complejas toman lugar empezando con una deshidratación simples, si se continúa el calentamiento y la catálisis ácida se producen varios derivados del furano que condensan consigo mismos y con otros subproductos para producir compuestos oscuros o compuestos coloridos producto de la condensación de compuestos fenólicos y con heterociclos con el nitrógeno como heteroátomo. La condensación más común es con fenol. Este método es fácil, eficaz y rápido. Todos los azúcares como oligosacáridos y polisacáridos pueden ser determinados, recordando que estos bajo hidrólisis ácida producen monosacáridos. La forma en que procede la reacción no es estequiométrica y depende de la estructura del azúcar, por lo tanto, se realiza una curva patrón.	Preparar una solución o suspensión de la muestra en agua, procurando que los carbohidratos se encuentren en el intervalo de sensibilidad del método (10-100µg/mL). En tubos de ensaye perfectamente etiquetados, colocar 1 mL de la solución o suspensión acuosa de la muestra. Para cada tubo adicionar 0.6 mL de una solución acuosa de fenol al 5%. Mezclando perfectamente, adicionar cuidadosamente 3.6 mL de ácido sulfúrico concentrado, homogeneizar. NOTA. Realizar todo el procedimiento para un tubo antes de seguir con el siguiente. Dejar enfriar la mezcla a temperatura ambiente (aproximadamente 30 min.) y determinar la intensidad del color naranja obtenido en un colorímetro a 480 nm, frente a un blanco preparado de la misma manera utilizando agua. Calcular la cantidad de carbohidratos presentes en la muestra a partir de una curva patrón preparada con el carbohidrato de interés en el intervalo del método (10-100µg de glucosa/mL), tratada de la misma manera que el problema.
			Con etanol y ácido perclórico	El almidón se extrae de una muestra seca con ácido perclórico y se precipita como complejo yodurado el cual, se descompone antes de que se hidrolice el almidón.	Preparar una solución o suspensión de la muestra en agua, procurando que los carbohidratos se encuentren en el intervalo de sensibilidad del método (10-100µg/mL). En tubos de ensaye perfectamente etiquetados, colocar 1 mL de la solución o suspensión acuosa de la muestra. Para cada tubo adicionar 0.6 mL de una solución acuosa de fenol al 5%. Mezclando perfectamente, adicionar cuidadosamente 3.6 mL de ácido sulfúrico concentrado, homogeneizar. NOTA. Realizar todo el procedimiento para un tubo antes de seguir con el siguiente. Dejar enfriar la mezcla a temperatura ambiente (aproximadamente 30 min.) y determinar la intensidad del color naranja obtenido en un colorímetro a 480 nm, frente a un blanco preparado de la misma manera utilizando agua. Calcular la cantidad de carbohidratos presentes en la muestra a partir de una curva patrón preparada con el carbohidrato de interés en el intervalo del método (10-100µg de glucosa/mL), tratada de la misma manera que el problema.
		Análisis de polisacáridos	Extracción selectiva de almidón	Los dos tipos de moléculas que se pueden encontrar en el almidón difieren apreciablemente en sus solubilidades en disolventes acuosos, por ejemplo, la extracción en agua caliente removerá una parte considerable de amilosa y dextrinas, dejando una parte de amilopectina.	a) Con cloruro de calcio (recomendado para el análisis polarométrico del almidón). Colocar 2-50g de muestra en un matraz Erlenmeyer y formar una pasta con 10 mL de agua. Adicionar 50 mL de solución de cloruro de calcio ácida (620 g CaCl ₂ 6H ₂ O en 180 mL de agua, con 18 g de acetato de sodio trihidratado en 20 mL de agua, ajustar el pH a 2-3 con ácido acético) y calentar en autoclave a 120 °C por 10 min. Enfriar la mezcla en un baño de agua fría y transferir a un matraz aforado de 100 mL, utilizando solución de cloruro de calcio hasta un volumen cercano a 90 mL. Adicionar 2 mL de reactivo de Carrez I (21.9 g de acetato de zinc dihidratado y 3.0 mL de ác. acético en 100 mL de agua) y mezclar bien, adicionar 2 mL de solución de Carrez II (10.6 g de ferrocianuro de potasio en 100 mL de agua), agitar nuevamente y llevar a la marca con solución de cloruro de calcio. Filtrar a través de papel Whatman No 541, el filtrado debe ser claro. En esta solución se encuentra el almidón disuelto. b) Con ácido perclórico (recomendado para la formación de un complejo insoluble con yodo). Colocar 50-250 mg de muestra seca en un tubo de ensaye con un poco de arena y adicionar 4 mL de agua. Calentar en un baño de agua hirviendo el tubo por 15 min., hasta gelatinizar el almidón. Enfriar el tubo a temperatura ambiente y adicionar rápidamente con agitación 3 mL de solución de ácido perclórico al 72%. Dispersar la muestra con una varilla de vidrio durante un minuto, repetir la operación eventualmente durante 15-20 min. Enjuagar con 20 mL de agua la varilla, recuperando en el tubo, centrifugar y decantar el sobrenadante. Realizar una vez más la extracción en el residuo, con 4 mL de agua y 3 mL de ácido perclórico. Combinar los sobrenadantes y llevarlos a un volumen de 50 mL con agua. Se recomienda analizar inmediatamente. c) Con etanol y ácido perclórico (recomendado para realizar una reacción con antrona o fenol-sulfúrico) Pesar aproximadamente 0.2 g de muestra sólida finamente molida y colocar en un tubo de centrifuga de 50 mL, adicionar dos gotas de etanol al 80% (v/v) para humedecer la muestra. Adicionar 5 mL de agua y agitar. Adicionar 25 mL de etanol al 80% caliente, agitar y dejar reposar 5 min. Centrifugar, decantar el sobrenadante y repetir la extracción con 30 mL de etanol al 80%. En solución se encuentran los azúcares y para su análisis es necesario eliminar el alcohol por evaporación a presión reducida. Adicionar 5 mL de agua a la porción insoluble, posteriormente 65 mL de solución de ácido perclórico al 52% (v/v), agitar la mezcla. Continuar la agitación por 15 min., después adicionar 20 mL de agua, centrifugar. Decantar el sobrenadante en un matraz aforado de 100 mL y re-extraer el residuo como se indicó previamente. Mezclar los extractos y llevar a la marca con agua, filtrar la solución si presenta partículas. Las soluciones obtenidas pueden ser analizadas con métodos como el de antrona para cuantificarlos carbohidratos totales, adjudicando el valor del extracto con ácido perclórico al almidón y el obtenido con etanol a los azúcares solubles. d) Con dimetil sulfóxido (DMSO) (recomendado para preparar extractos sometidos a hidrólisis con amiloglucosidas) Mezclar porciones de aproximadamente 100 mg de muestra finamente dividida con 20 mL de DMSO y 5 mL de HCl 8M. calentar en un baño de agua a 60°C por 30 min. Diluir a 50 mL con agua y neutralizar con NaOH 5M. Enfriar a temperatura ambiente y aforar a 100 mL. Filtrar si la solución no es clara. Esta solución puede ser utilizada directamente para tratamiento con amiloglucosidasa para cuantificar la glucosa formada.

			Carbohidratos solubles totales	<p>Cuando la radiación electromagnética pasa de un medio a otro, cambia de dirección, se dobla o se refracta. La relación entre el ángulo de incidencia al seno del ángulo de refracción se llama índice de refracción (RI). El RI varía con la naturaleza del compuesto, la temperatura, la longitud de onda de la luz y la concentración del compuesto. Si las tres primeras variables se hacen constantes la concentración del compuesto se puede determinar midiendo el RI, de tal forma que el RI se utiliza para determinar sólidos totales en disolución. El uso del RI para determinar concentraciones es preciso solamente para sacarosa u otras disoluciones puras, también se utiliza para obtener concentraciones aproximadas de azúcares para productos líquidos en cuyo caso la solución debe ser clara. Los refractómetros pueden leer directamente en unidades de sacarosa.</p>	<p>Medición por Índice de refracción: Colocar una o dos gotas de la solución en el prisma del refractómetro de campo, adecuadamente calibrado. Cierre la tapa, suavemente, la muestra debe cubrir completamente la superficie del prisma. Mirar la escala a través de la "mirilla". Leer en la escala, en la intersección de los campos. En caso de que la separación de los campos no sea clara, ajustar moviendo la base del objetivo. Eliminar la muestra del prisma, utilizando un papel suave húmedo.</p> <p>Los refractómetros ATC-1 y N10 solamente se calibran a 0%, colocando unas gotas de agua destilada en el prisma. Si la separación de los campos no marca 0%, en la escala, ajustar girando el tornillo que se encuentra en la parte superior de la base del prisma.</p>
		Azúcares (en solución)	Determinación de carbohidratos reductores	<p>En disolución alcalina el azúcar se hidroliza produciendo un compuesto que se reduce a un grupo nitro del DNS, para dar el producto monoamino correspondiente. Esta reacción da un producto colorido en solución alcalina. El original procedimiento de Dahlquist ha sido modificado en un proceso automatizado para análisis de azúcares totales producidos por la hidrólisis de polisacáridos que no contengan almidón. Para este se requiere tener estándares similares a la muestra.</p>	<p>Método ácido dinitrosalicílico (DNS): Tomar 1mL de la solución acuosa de la muestra, adicionar 1mL del reactivo de DNS y calentar por 5 min en un baño de agua hirviendo, enfriar y diluir con 10 mL de agua destilada. Leer la absorbancia del color producido a 540 nm frente a un blanco de reactivos y agua tratado igual que la muestra. Cuantificar los azúcares reductores interpolando los valores de absorbancia obtenidos en una curva estándar preparada con el carbohidrato reductor de interés en concentraciones de 0.2 a 2 mg/mL.</p>
Fibra	La determinación de fibra en cereales es un análisis importante en la industria alimentaria, ya que la fibra dietética es esencial para la salud humana y puede tener un impacto significativo en la calidad de los alimentos. Existen varios métodos para la determinación de fibra en cereales, cada uno de los cuales se utiliza para medir diferentes tipos de fibra.	Weende		<p>es uno de los métodos más antiguos y comúnmente utilizados para la determinación de fibra en cereales. Este método se basa en la eliminación de los componentes solubles en agua y ácido mediante la digestión de la muestra con una solución alcalina de sulfato de sodio y una solución ácida de ácido sulfúrico. Los componentes insolubles se lavan, se secan y se pesan para obtener el contenido de fibra cruda. La fibra cruda es una medida aproximada de la cantidad total de fibra dietética en la muestra, ya que incluye tanto la fibra insoluble como la fibra soluble en agua.</p>	<p>a. Se toma una muestra de cereal y se muele para obtener una muestra homogénea. b. Se pesa una cantidad conocida de la muestra y se coloca en un matraz de digestión. c. Se agrega una solución alcalina de sulfato de sodio y una solución ácida de ácido sulfúrico al matraz y se digiere a alta temperatura durante un tiempo determinado. d. Después de la digestión, se filtra la mezcla y se lava el residuo con agua y alcohol para eliminar los componentes solubles. e. El residuo se seca y se pesa para obtener el contenido de fibra cruda.</p>
		Van Soest		<p>El método de Van Soest es otro método comúnmente utilizado para la determinación de fibra en cereales. Este método se basa en la eliminación de los componentes solubles en agua y ácido mediante la digestión de la muestra con una solución neutra de detergente y una solución ácida de ácido sulfúrico. Los componentes insolubles se lavan, se secan y se pesan para obtener el contenido de fibra detergente ácido (FDA). El FDA se divide en fibra detergente neutra (FDN) y fibra detergente ácido solubilizada (FDAS). La FDN es una medida de la cantidad de fibra insoluble en la muestra, mientras que la FDAS es una medida de la cantidad de fibra soluble en agua.</p>	<p>a. Se toma una muestra de cereal y se muele para obtener una muestra homogénea. b. Se pesa una cantidad conocida de la muestra y se coloca en un matraz de digestión. c. Se agrega una solución neutra de detergente y una solución ácida de ácido sulfúrico al matraz y se digiere a alta temperatura durante un tiempo determinado. d. Después de la digestión, se filtra la mezcla y se lava el residuo con agua y alcohol para eliminar los componentes solubles. e. El residuo se seca y se pesa para obtener el contenido de fibra detergente ácido (FDA). f. El FDA se divide en fibra detergente neutra (FDN) y fibra detergente ácido solubilizada (FDAS).</p>
		AOAC		<p>El método de AOAC es un método estandarizado utilizado por la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales para la determinación de fibra en cereales. Este método se basa en la eliminación de los componentes solubles en agua y ácido mediante la digestión de la muestra con una solución alcalina de hidróxido de sodio y una solución ácida de ácido sulfúrico. Los componentes insolubles se lavan, se secan y se pesan para obtener el contenido de fibra dietética soluble en agua (FDSA) y fibra dietética insoluble en agua (FDIA). La FDSA es una medida de la cantidad de fibra soluble en agua en la muestra, mientras que la FDIA es una medida de la cantidad de fibra insoluble en la muestra.</p>	<p>a. Se toma una muestra de cereal y se muele para obtener una muestra homogénea. b. Se pesa una cantidad conocida de la muestra y se coloca en un matraz de digestión. c. Se agrega una solución alcalina de hidróxido de sodio y una solución ácida de ácido sulfúrico al matraz y se digiere a alta temperatura durante un tiempo determinado. d. Después de la digestión, se filtra la mezcla y se lava el residuo con agua y alcohol para eliminar los componentes solubles. e. El residuo se seca y se pesa para obtener el contenido de fibra dietética soluble en agua (FDSA). f. El filtrado se acidifica y se deja reposar para obtener la fibra dietética soluble en agua (FDSA). g. La FDSA y la FDIA se expresan como porcentaje de la muestra.</p>