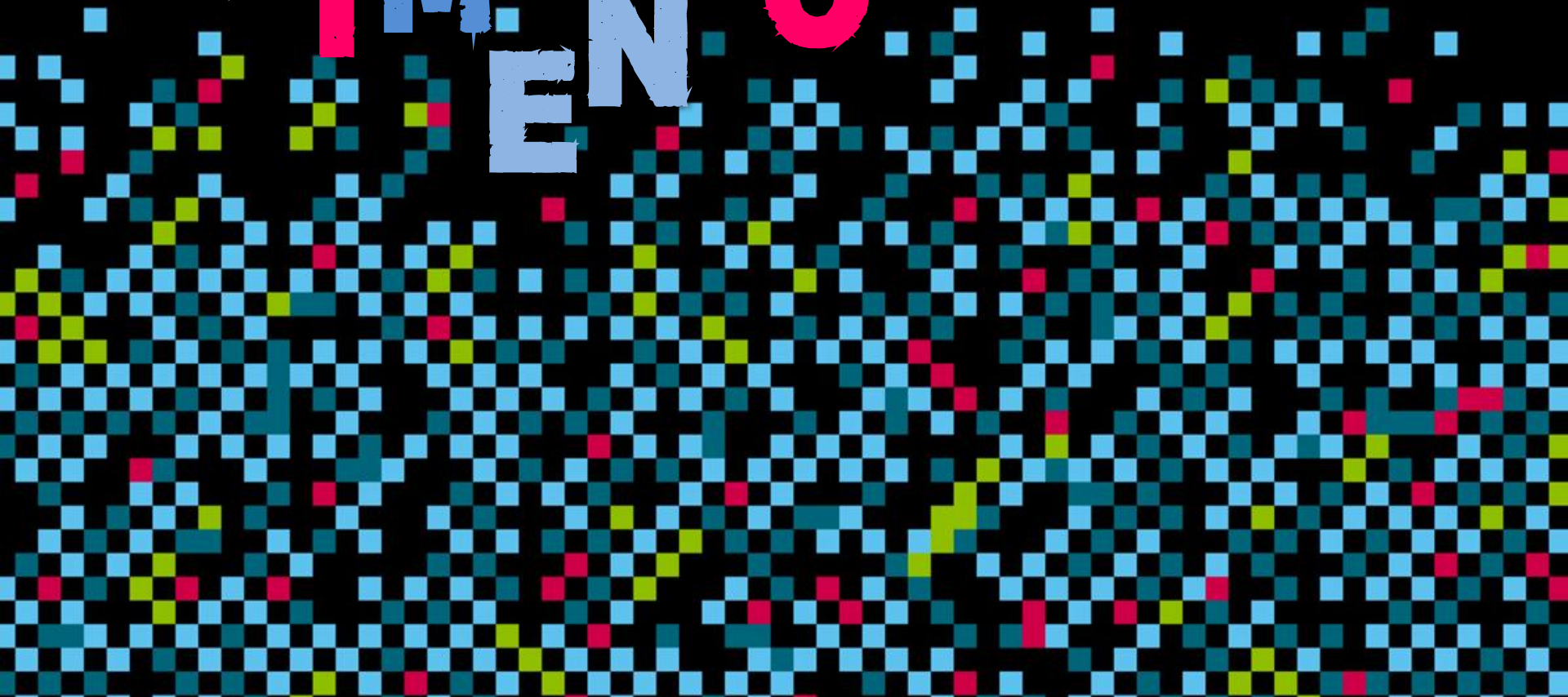
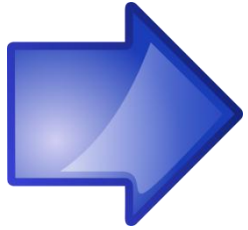


# ANÁLISIS DE ALIMENTOS

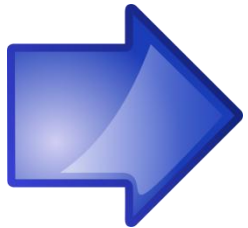


# ANÁLISIS DE ALIMENTOS



## Aplicaciones

**Investigación y desarrollo**  
**Monitoreo de la calidad**  
**Rotulado**



## Objetivos

**Composición**  
**Estructura**  
**Propiedades físicas, químicas y biológicas**



## Tipos

**De acuerdo al objetivo y alimento**

## COMPOSICIÓN

**Análisis proximal o de Weende** (Humedad, Ceniza, Proteína Cruda, Extracto Etéreo, Fibra Cruda y Extracto Libre de Nitrógeno)  
**Análisis específicos** ( $\beta$ -caseína, fósforo, colesterol)

## ESTRUCTURA

**Macro**

**Micro** (glóbulos grasos)

**Ultraestructura** (micelas de caseína)

## PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS y SENSORIALES

**Análisis sensorial** (flavor, aroma)

**Análisis reológico** (dureza, elasticidad)

**Estabilidad** (oxidación de lípidos, exudado de suero)

**Propiedades térmicas** (perfil de fusión)

## PROPIEDADES BIOLÓGICAS

**Crecimiento de microorganismos** (bacterias starters, hongos)

**Procesos y productos metabólicos** (péptidos, enzimas)



# Análisis proximal o de Weende

## Reseña

Ideado por Henneberg y Stohmann (1867) en la estación experimental de Weende (Alemania).

## Aplicaciones

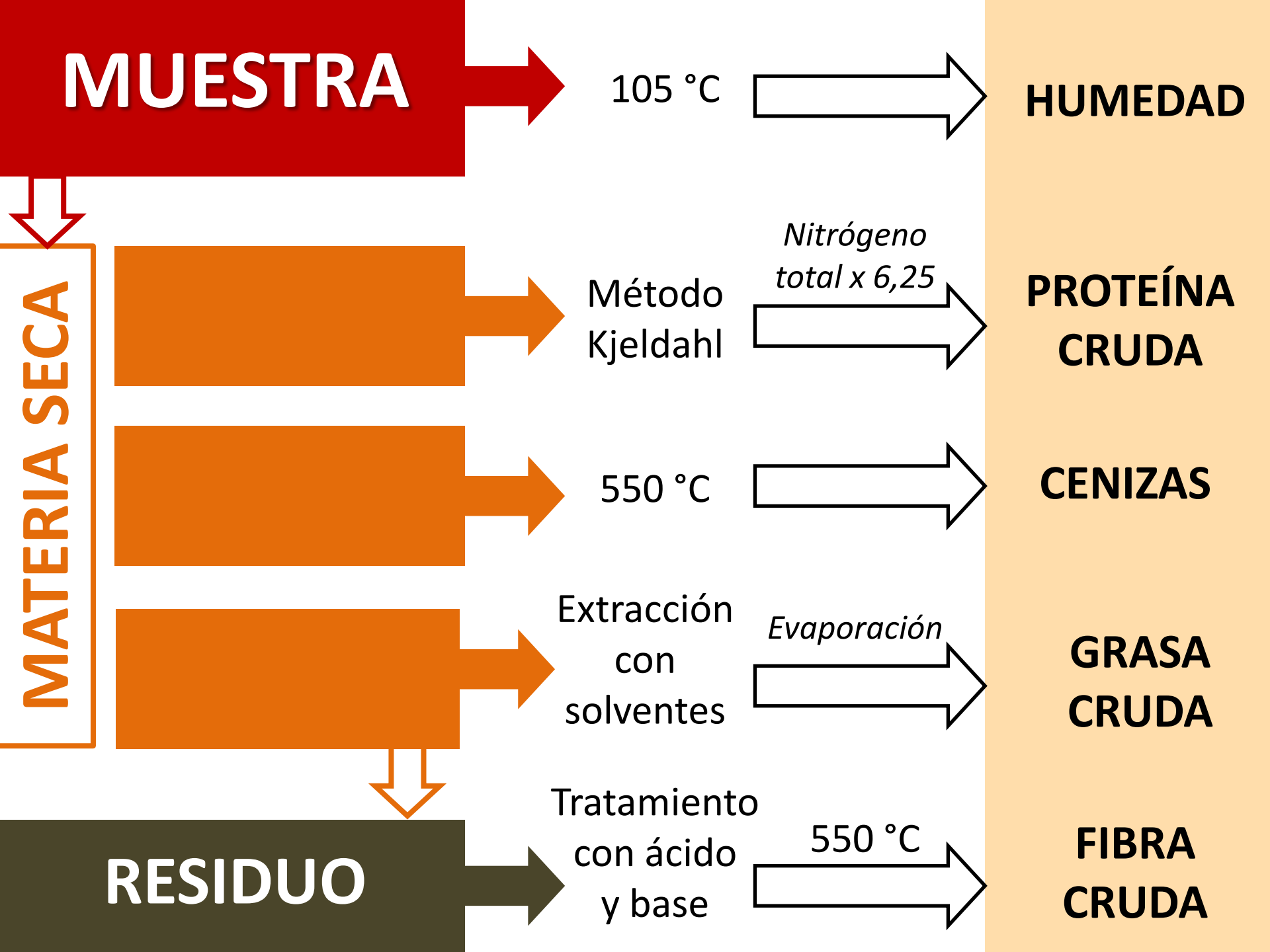
Materiales para formular una dieta como fuente de proteína o de energía  
Alimentos terminados, como control para verificar que cumplan con las especificaciones o requerimientos establecidos durante la formulación.

## Fundamento y objetivo

Separar, a partir de la muestra seca, una serie de fracciones con características comunes. Se determinan grupos de compuestos con propiedades similares, no compuestos individuales. Se denominan contenidos brutos o crudos.

## Determinaciones

Humedad, proteína cruda (nitrógeno total), fibra cruda, Extracto etéreo o lípidos crudos, ceniza y extracto libre de nitrógeno.



**MUESTRA**

105 °C

**HUMEDAD**

**MATERIA SECA**

Método Kjeldahl

*Nitrógeno total x 6,25*

**PROTEÍNA CRUDA**

550 °C

**CENIZAS**

Extracción con solventes

*Evaporación*

**GRASA CRUDA**

**RESIDUO**

Tratamiento con ácido y base

550 °C

**FIBRA CRUDA**

# M U E S T R A

**AGUA**

**MATERIA SECA**

**MATERIA INORGÁNICA**

**MATERIA ORGÁNICA**

**PROTEÍNA BRUTA**

Proteínas  
Aminoácidos  
Péptidos  
Ácidos nucleicos  
Amidas  
Nitratos

**GRASA BRUTA**

Triglicéridos  
Ácidos grasos  
Ceras  
Esteroles  
Pigmentos  
Vitaminas liposolubles

**FIBRA BRUTA**

Celulosa\*  
Hemicelulosas\*  
Lignina\*  
Cutina

**EXTRACTO LIBRE DE N**

Almidón, glucógeno  
Azúcares  
Pectinas  
Celulosa\*, hemicelulosas\*  
Lignina\*  
Vitaminas hidrosolubles\*  
Ácidos orgánicos\*, pigmentos\*

## Fracciones obtenidas

**Cenizas:** sustancias inorgánicas

**Proteína Bruta:** proteínas + péptidos + aminoácidos + bases nitrogenadas + amidas + N vitamínico

**Grasa bruta o extracto etéreo:** triglicéridos + ácidos grasos + ceras + lípidos complejos + vitaminas liposolubles

**Fibra bruta:** celulosa\* + hemicelulosas\* + lignina\* + cutina

**Extracto libre de N:** almidón, glucógeno + azúcares + celulosa\* + hemicelulosa\* + lignina\* + pectinas + pigmentos + ácidos orgánicos + vitaminas hidrosolubles

**POR  
ANÁLISIS**

**POR  
DIFERENCIA**

*(\*) fracciones del total*

## Principal deficiencia del Sistema Weende

Valores de fracción hidrocarbonada del alimento tienen poca precisión (fibra bruta y ELN)

Otros sistemas propuestos para salvar esta deficiencia

# MUESTRA

Método Van Soest y Wine, 1967

**Ebullición**

**Detergente neutro**

**Fracción soluble  
(SND)**

**Fibra detergente  
neutro (FDN)**

*Contenido celular*

*Lípidos*

*Azúcares*

*Almidón*

*Proteínas*

*Ácidos orgánicos*

*Pectinas*

*Componentes de la pared celular*

**Ebullición**

**Detergente ácido**

**Fibra detergente  
ácido (FDA)**

*Fracción soluble  
(hemicelulosas  
hidrolizadas)*

*Celulosa*

*Lignina*

*Cutina*

*Nitrógeno no proteico*



**TÉCNICAS  
GENERALES  
DE ANÁLISIS**

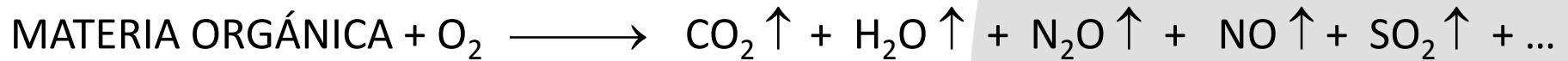


**CENIZAS**

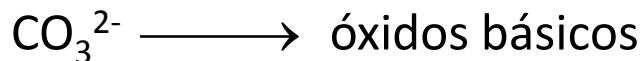
## CENIZAS

**Componentes minerales que resultan de incinerar la muestra seca a más de 500 °C**

- T media de calcinación: 550 °C
- > 600 °C: pérdidas de halogenuros alcalinos
- “Digestión seca”, se elimina toda la materia orgánica:



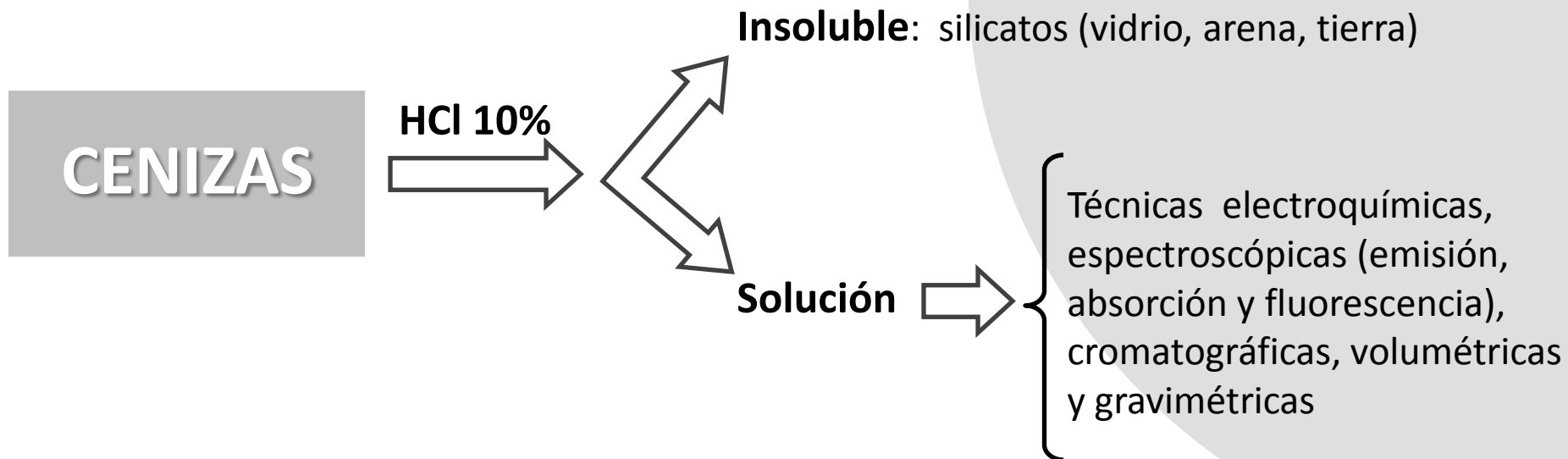
- Algunas sales se descomponen:



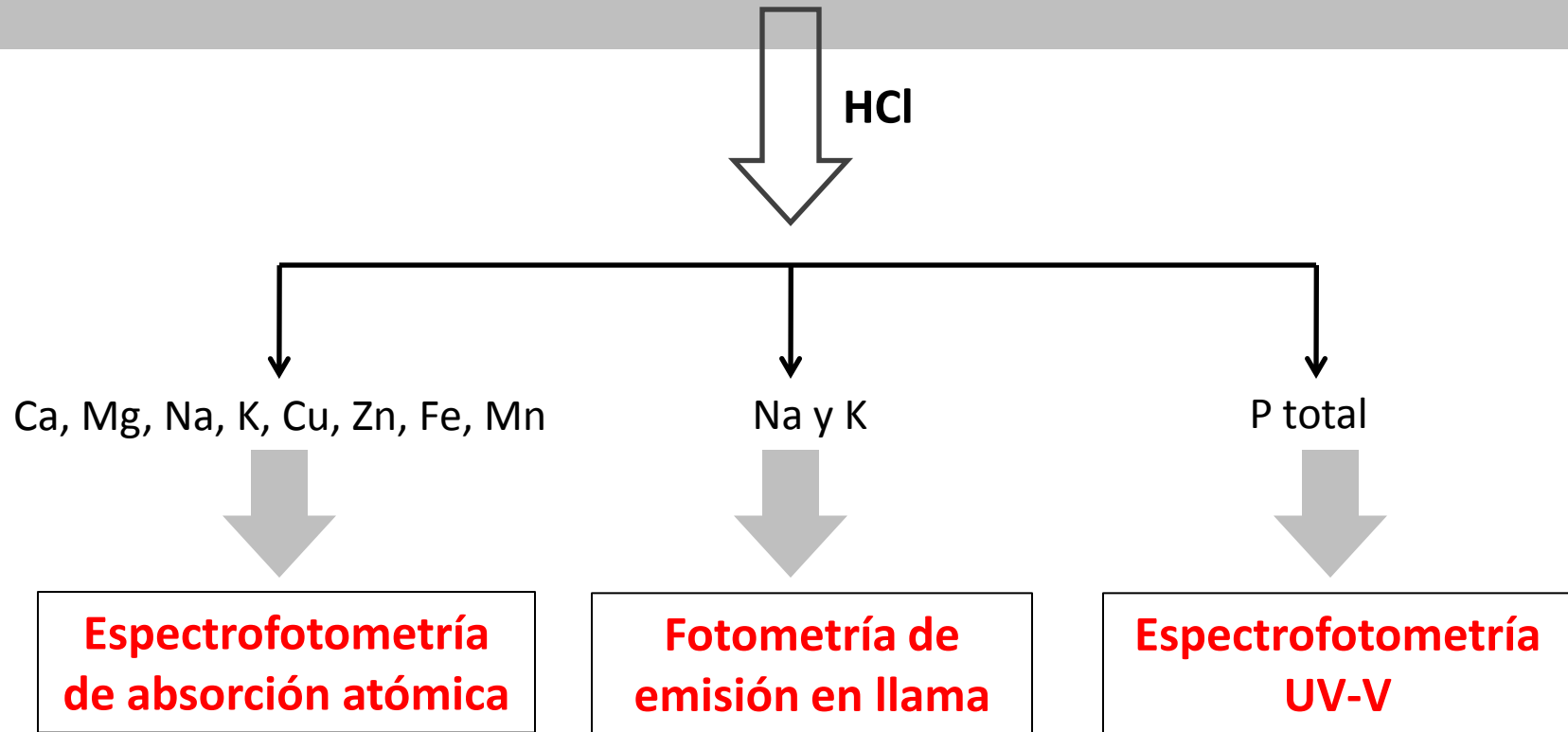
- $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  (de Na, K, Ca, Mg, etc.) no se modifican
- Se expresan en base fresca del alimento (salvo casos especiales)

## ANÁLISIS DE MICRONUTRIENTES

- A partir de cenizas de la muestra
- A partir de la muestra luego de tratarla con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  o  $\text{HNO}_3$  (oxidación de materia orgánica por digestión húmeda)
- En casos específicos, directamente de extractos de la muestra

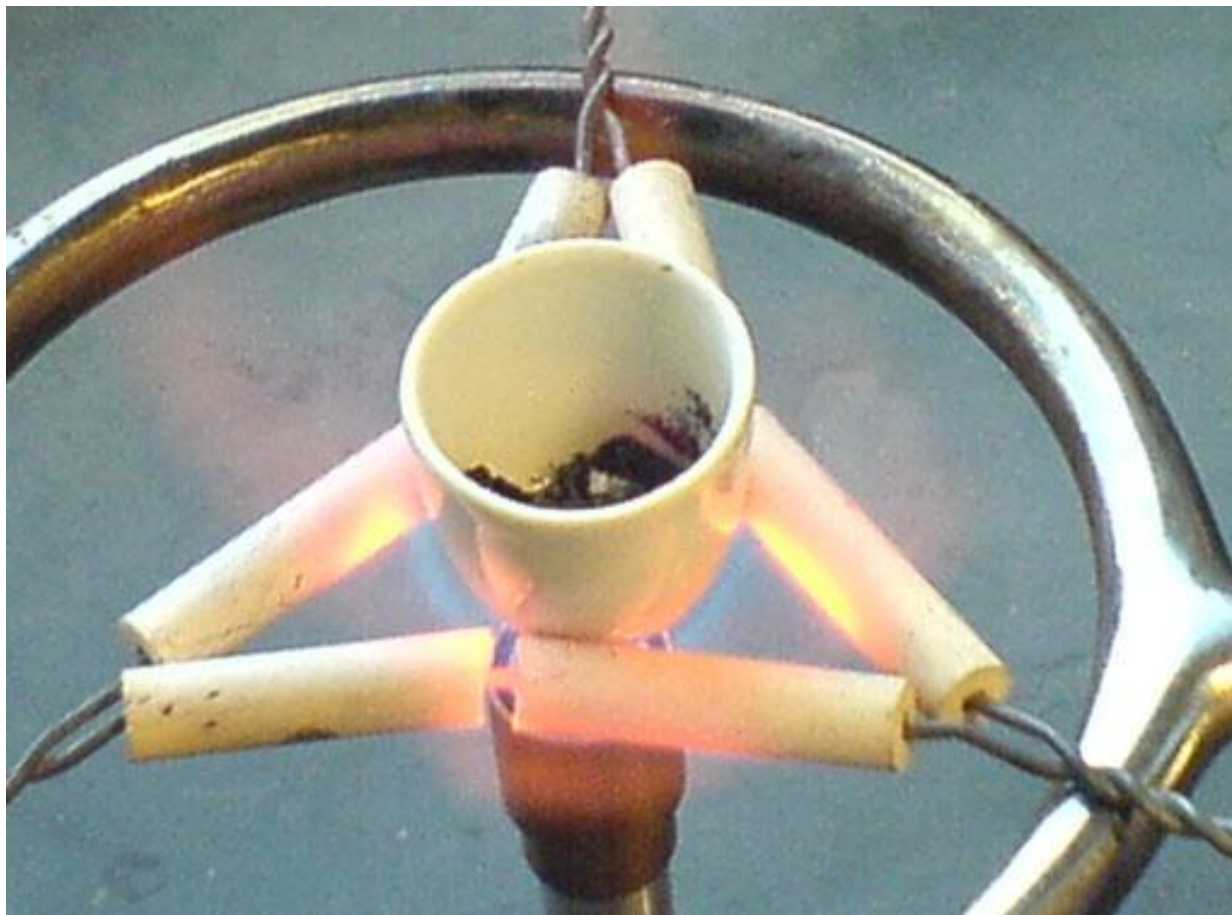


# CENIZAS



Análisis de cloruros: se realiza en un extracto del alimento (Ej. volumetría de precipitación: Método de Mohr)

## Incineración de la muestra en crisol mediante una llama





**Crisoles (porcelana, platino) y hornos mufla**



**HUMEDAD**

**(MATERIA SECA)**



## HUMEDAD

**El agua es el constituyente más abundante de la mayoría de los alimentos naturales (excepto granos y frutos secos)**

- Agua de tejidos animales y vegetales puede estar más o menos disponible (percebibilidad)
- Agua libre y confinada (en general, predominante) se libera con facilidad: estimada en los métodos convencionales usados para determinar humedad
- Eliminar agua ligada puede requerir temperaturas a las que el alimento se degrada

### **Métodos de determinación de humedad**

**Directos:** Estiman la cantidad de agua perdida del alimento por algún método de deshidratación o directamente la cantidad de agua extraída del alimento

**Indirectos:** Estiman la cantidad de agua presente en un alimento mediante la medida de alguna propiedad que dependa de dicha cantidad

# MÉTODOS DIRECTOS

## I. Por determinación de la materia seca del alimento

- Resultados confiables (asumiendo que la muestra no se descompone térmicamente y/o que no hay eliminación de otros componentes volátiles)
- Debe ajustarse temperatura y tiempo (fijo, hasta peso constante, etc.)
- Distintas técnicas de secado:

Estufa de aire (de convección natural o forzada): 70-140 °C

Estufa de vacío: < 60 °C; alimentos ricos en proteínas y azúcares

Balanza con lámpara de luz infrarroja: secado rápido



**Estufa de convección natural**



**Estufa de convección forzada**

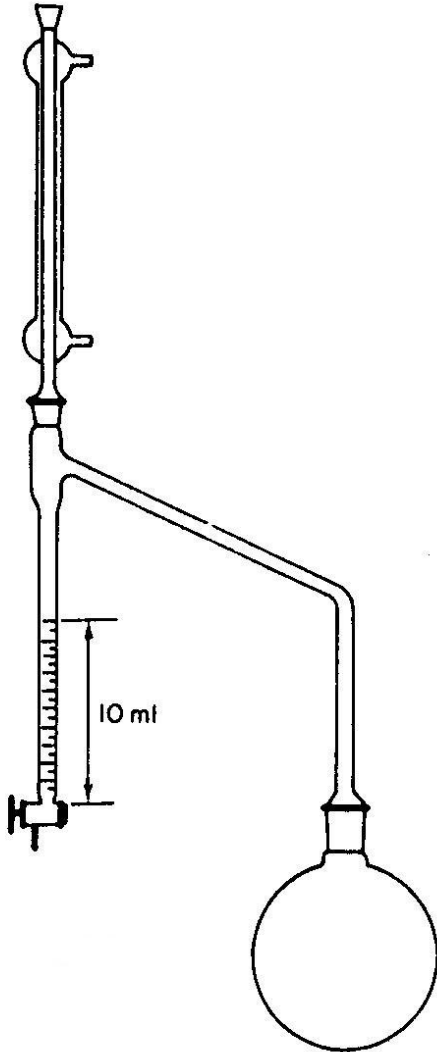


**Balanza con IR**



**Estufa de vacío**

## II. Por medida de la cantidad de agua extraída del alimento



- Destilación continua con un solvente inmiscible de punto de ebullición mayor al del agua (desde 110 °C para el tolueno hasta aproximadamente 140 °C para los xilenos)
- Aplicable a alimentos grasos y a productos con cantidades apreciables de volátiles distintos del agua
- Puede presentar problemas en muestras que sufren descomposición térmica
- **Método de Dean y Stark:** agua de la muestra, junto con tolueno, destilan a T de ebullición constante de un azeótropo a 84 °C
- Se recoge el destilado bifásico y se mide cantidad de agua en tubo graduado

## MÉTODOS INDIRECTOS

- Se mide alguna propiedad física del producto que cambia de manera conocida con el contenido de agua del mismo
- Requieren calibración previa
- Aptitud del método depende de sensibilidad y presencia de interferencias
- Aplicables a alimentos con contenidos de agua del 5 al 95%

### *Medidas eléctricas*

Conductividad  
Resistencia  
Capacitancia  
Constante dieléctrica

### *Análisis espectroscópicos*

RMN  
IR

### *Medidas físicas*

Densidad  
Presión de vapor  
Índice de refracción

# MÉTODOS QUE DEPENDEN DE LA REACTIVIDAD QUÍMICA DEL AGUA

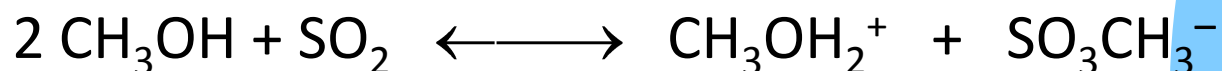
## Titulación de Kart Fischer (1935)

- Ideado para determinar pequeñas cantidades de agua en solventes orgánicos
- Recomendado para alimentos de bajo contenido de humedad (< 10 %, azúcar de pastelería, chocolates, melazas, legumbres secas, etc.)
- Agua de la muestra se extrae con metanol y extracto se titula con una solución metanólica de yodo, SO<sub>2</sub> y piridina
- Punto final se determina por cambio de color ante el primer exceso de yodo o electrométicamente
- En ausencia de interferencias (aldehídos y cetonas) la reacción es prácticamente estequiométrica
- Exactitud del método depende de calibración y de eficiencia con que se evita captación de humedad de la muestra durante el análisis

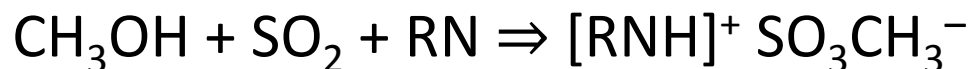
## Fundamento

- El método original consiste de una mezcla de I<sub>2</sub> en metanol a la que se le agrega piridina y SO<sub>2</sub>
- La reacción propuesta original ha sido corregida y se ha reemplazado la piridina por otras sustancias básicas menos nocivas (imidazol)

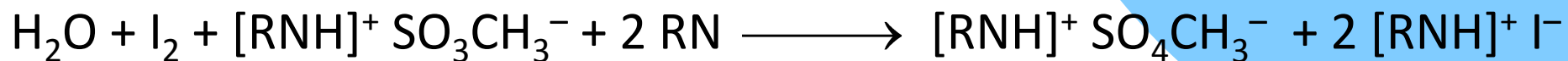
Se establece el siguiente equilibrio:



que la sustancia básica desplaza hacia la derecha:



produciéndose la siguiente reacción neta:



**1 : 1**



**PROTEÍNAS**



# PROTEÍNAS

Macromoléculas nitrogenadas complejas de origen animal y vegetal que representan la fuente prácticamente exclusiva de N proveniente de la dieta

## Métodos de determinación de proteínas

**Extractivos:** requieren de una solubilización previa de la proteína del alimento. Pueden requerir diferentes grados de purificación

### *Métodos químicos*

Biuret

Bradford

Lowry

### *Métodos físicos*

Espectrofotometría UV

(280nm → aa aromáticos, 190 nm → uniones peptídicas)

IR

Fluorometría (se excita a 275 nm y se emite a 340 nm)

Turbidimetría (proteínas insolubles, DO a 600 nm)

**No extractivos:** no se requiere una separación previa de la proteína del alimento

*Determinación de N*

***Kjeldahl (proteína cruda o bruta)***

***Sorensen (N amínico)***

***Dumas***

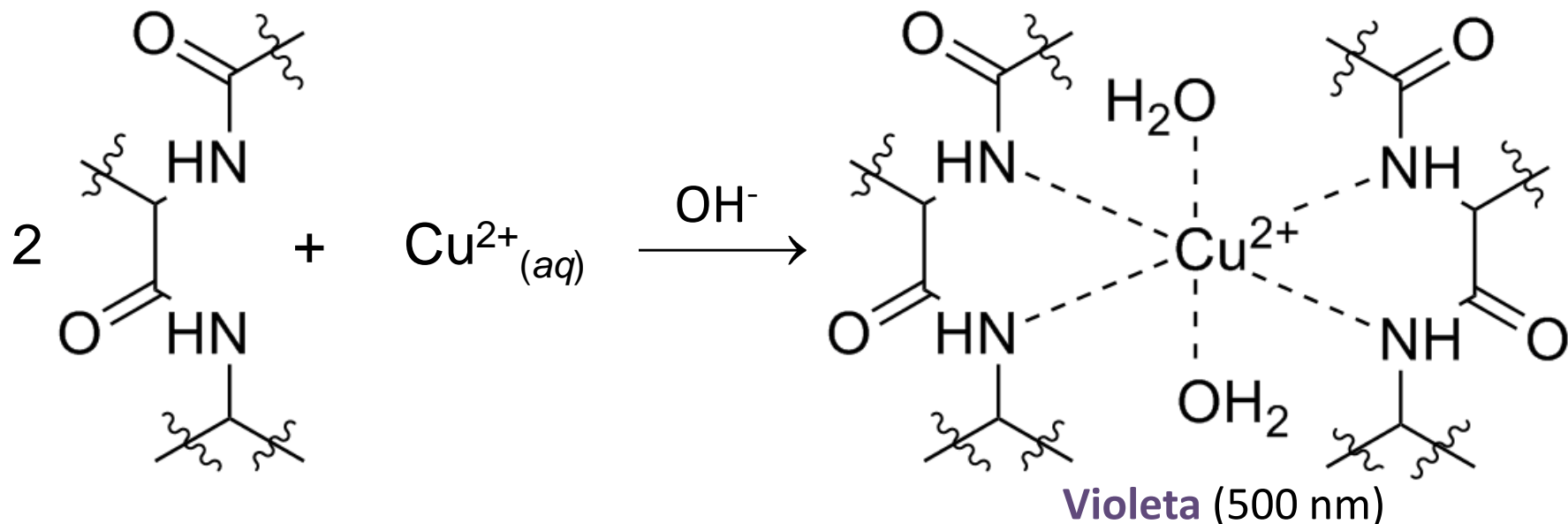
*Interacción proteína-colorante (método UDY)*

*NIR (reflectancia)*

El análisis de la composición aminoacídica de una proteína, en general, requiere una extracción, purificación y posterior hidrólisis para su estudio mediante técnicas instrumentales tales como HPLC.

## Reacción de Biuret

Se forma un complejo entre iones  $\text{Cu}^{2+}$  y uniones amida de enlaces peptídicos, en solución fuertemente alcalina



- Cada  $\text{Cu}^{2+}$  quela de 4 a 6 N peptídicos, dependiendo de la proteína
- Reaccionan compuestos con dos grupos  $-\text{CO}-\text{NH}-$  ligados:
  - directamente* (e.g., diamida de ácido oxálico:  $\text{H}_2\text{N}-\text{CO}-\text{CO}-\text{NH}_2$ )
  - via N* (biuret:  $\text{H}_2\text{N}-\text{CO}-\text{NH}-\text{CO}-\text{NH}_2$ )
  - via C* (e.g., diamidas de ácido malónico:  $\text{H}_2\text{N}-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{NH}_2$  y succínico:  $\text{H}_2\text{N}-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{NH}_2$  y en productos de hidrólisis de proteínas)

## *Consideraciones generales método de Biuret*

- Aminoácidos libres no reaccionan
- Péptidos de prolina no forman complejos con  $\text{Cu}^{2+}$  (gelatina poco reactiva)
- Caseína y proteínas miofibrilares producen color menos intenso a igual concentración que albúminas y proteínas sarcoplásmicas
- Sales como tartrato y citrato aumentan la estabilidad de los reactivos utilizados
- Método simple y rápido
- Poco sensible y específico (interfieren tioles, DNA, sacáridos y lípidos)
- Varias modificaciones disponibles de acuerdo a interferencias

## Método de Lowry (1951)

*Se forma un compuesto coloreado entre el reactivo de Folin-Ciocalteu y los enlaces peptídicos de proteínas, péptidos y aminoácidos aromáticos en medio alcalino*


La reacción procede en dos etapas:

1. Reacción Biuret: se forma el complejo con  $\text{Cu}^{2+}$  que contiene al menos dos enlaces peptídicos
2. Reducción del ácido fosfomolibdico (reactivo de Folin) en presencia del complejo formado a un compuesto con molibdeno de color azul

### *Interferencias*

El reactivo de Folin-Ciocalteu reacciona con otros compuestos tales como: aminoácidos, tioles, sacarosa y otros sacáridos, ácidos grasos, aminas, agentes quelantes (EDTA)

## Absorción a 280 nm

- La mayoría de las proteínas absorben a 280 nm por presencia de fenol de tirosina e indol del triptófano
  - Método no destructivo y no requiere reactivos
  - Debe tomarse en cuenta absorción del solvente de la muestra
  - Interfieren compuestos con purinas y pirimidinas
  - Debe realizarse curva de calibración
- 

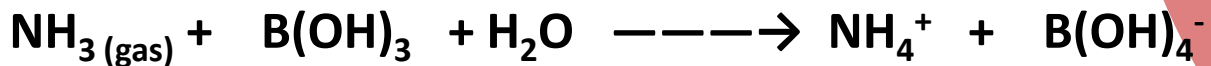
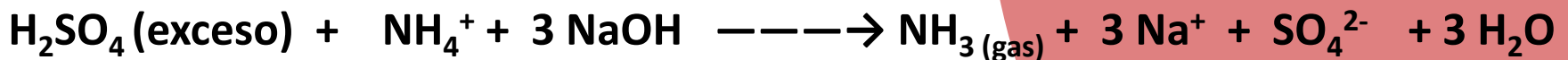
## Método de Kjeldahl (1883)

Comprende la mineralización de la materia orgánica de la muestra usando una mezcla de ácido sulfúrico y sales a ebullición entre 340 y 370 °C. En esta digestión, el N orgánico se convierte en sulfato de amonio. Alcalinizando la solución resultante, se libera amoníaco que se recoge cuantitativamente mediante una destilación por arrastre de vapor, para luego ser determinado por titulación.

### *Digestión de la muestra*



### *Neutralización del digerido: liberación de amoníaco y captura del mismo*



### *Titulación del amonio*



N en formas oxidadas como nitratos o nitritos y en general, N de heterociclos aromáticos no representan fuentes de error en la determinación de amoníaco

Compuestos	Recuperación (%)
Nitratos, nitritos (orgánicos e inorgánicos)	< 1
Heterociclos nitrogenados aromáticos (piridina, pirimidina, tiazol, imidazol, pirazol)	1- < 80
Azo compuestos	30-85
Hidrazinas	< 50

Reacción general de oxidación de compuestos que contienen N orgánico:





Nombre	Grupo funcional	Producto de degradación	Fracción
Amida Amina N heterogénico Imina Isocianuro Isooxocianato Isotiocianato Oxocianato Péptido Nitrilo	—CONH <sub>2</sub> —NH <sub>2</sub> —N— =NH <sub>2</sub> —NC —NCO —NCS —OCN —CONH— —CN	<b>NH<sub>3</sub></b>	<i>a</i>
Hidroxilamina Isonitro Nitro Oxima	—NHOH —NOOH —NO <sub>2</sub> —NOH	<b>HNO<sub>3</sub></b>	<i>b</i>
Nitroso Azo Azino Diazonio Hidrazona Hidrazina	—NO —N=N— =N—N= —N≡N <sup>+</sup> —N—NH—R —NHNH <sub>2</sub>	<b>N<sub>2</sub></b>	<i>c</i>

**Cuadro 7.3** Factores para la conversión de los valores de nitrógeno en proteínas (por g de N)\*

<i>Producto alimenticio</i>	<i>Factor</i>	<i>Producto alimenticio</i>	<i>Factor</i>
<b>Productos animales</b>		<b>Productos vegetales</b>	
Carne y pescado	6,25	Trigo	
Gelatina	5,55	entero	5,83
Leche y productos lácteos	6,38	salvado	6,31
Caseína	6,40	embriones	5,80
Leche humana	6,37	endosperma	5,70
Huevos		Arroz y harina de arroz	5,95
enteros	6,25	Centeno y harina de centeno	5,83
albúmina	6,32	Cebada y harina de cebada	5,83
vitelina	6,12	Avena	5,83
		Mijo	6,31
		Maíz	6,25
		Frijoles	6,25
		Soja	5,71
		Nueces	
		almendras	5,18
		nueces del Brasil	5,46
		maníes	5,46
		otras	5,30

\* (Cuando no se indica ningún factor específico, se debe utilizar el de 6,25 hasta que se haya determinado uno más apropiado).

*Fuente:* FAO/OMS, 1973.



Unidad de digestión y depurador de gases



Unidad de destilación

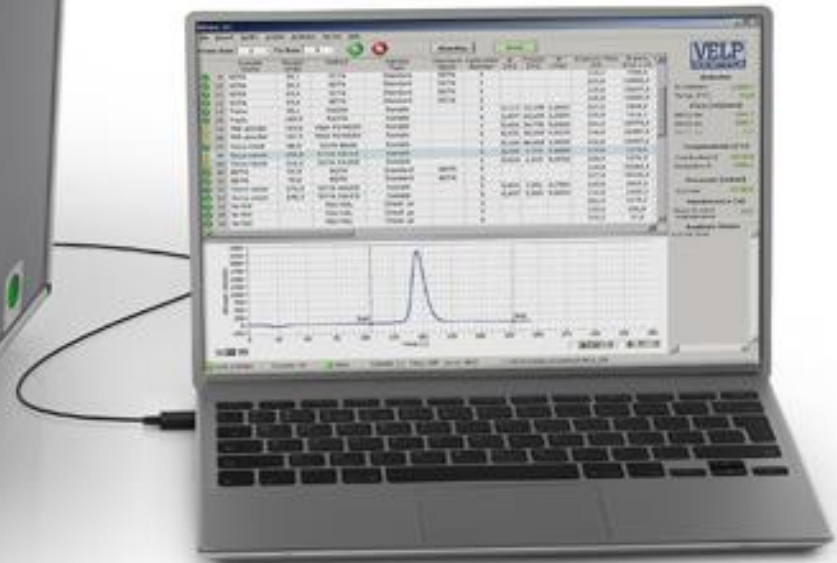
## Método de Dumas (1826)

- Combustión seca de la muestra a 900 °C y en presencia de O<sub>2</sub>
- Se libera CO<sub>2</sub> H<sub>2</sub>O y N<sub>2</sub>
- Los gases pasan por una columna para separar el N<sub>2</sub> controlando el eluato con un detector de conductividad térmica
- Requiere calibración con muestras de concentración de N<sub>2</sub> conocida
- Se usan factores para obtener el valor de proteína cruda

### *Ventajas y desventajas*

- Fácil de usar y posibilidad de automatización
- Más rápido que el método de Kjeldahl
- No se utilizan reactivos tóxicos y corrosivos
- Alto costo
- Se detecta N no proteico
- Se requiere un factor por proteína (de acuerdo a secuencia aminoacídica)

Equipo de determinación de  $N_2$  por el método de Dumas con estación de procesamiento de datos



## Métodos basados en la interacción proteína-colorante

- Colorantes conteniendo grupos sulfónicos ácidos ( $-\text{SO}_3\text{H}$ ) reaccionan con grupos funcionales de proteínas, especialmente básicos (arginina, lisina e histidina) y reducen el colorante en proporción a la cantidad de proteína presente
- La proteína se liga al colorante mediante interacciones iónicas, electrostáticas y de van der Waals
- La reacción es óptima en medio ácido fuerte y genera complejos solubles o insolubles
- La concentración de proteína se determina midiendo A de la solución del colorante antes y después de la adición de la muestra con proteína o por separación del complejo insoluble por centrifugación o filtración
- Colorantes de aplicación común en alimentos: Amido Black 10B, Coomassie Brilliant Blue G-250, Orange G y Acid Orange 12

## **Método de Bradford (1976)**

- Colorante: Coomassie Brilliant Blue G-250
- Se produce un complejo poco soluble
- Proteína puede precipitarse a 0°C o mediante TCA

## **Método de Udy (1971)**

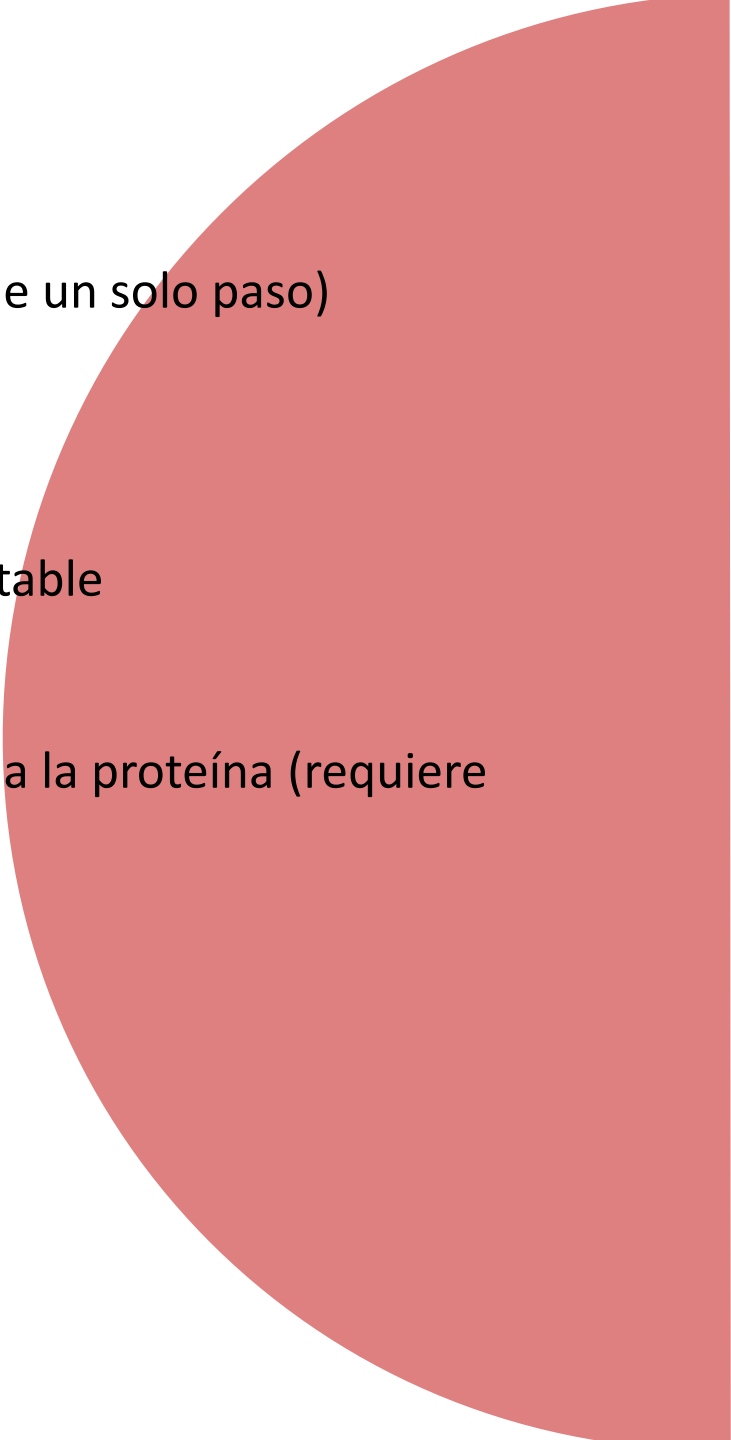
- Colorante: Acid Orange 12
- Se produce un precipitado proteína-colorante

Técnicas recomendadas para:

*Proteínas de leche (Método AOAC 967.12)*

*Alimentos de bajo contenido proteico (cerveza, vino, jugos de frutas, etc.)*

## *Ventajas y desventajas*

- Métodos simples y rápidos (especialmente los de un solo paso)
  - Aptos para rutina
  - Muy sensibles y de bajo costo
  - El color se desarrolla en menos de 5 min y es estable
  - Pocas interferencias
  - Diferente afinidad de un colorante de acuerdo a la proteína (requiere calibración según tipo de proteína)
- 





LÍPIDOS

# LÍPIDOS

**Grupo de biomoléculas insolubles en agua y solubles en solventes orgánicos no polares (hexano, éter etílico, cloroformo)**

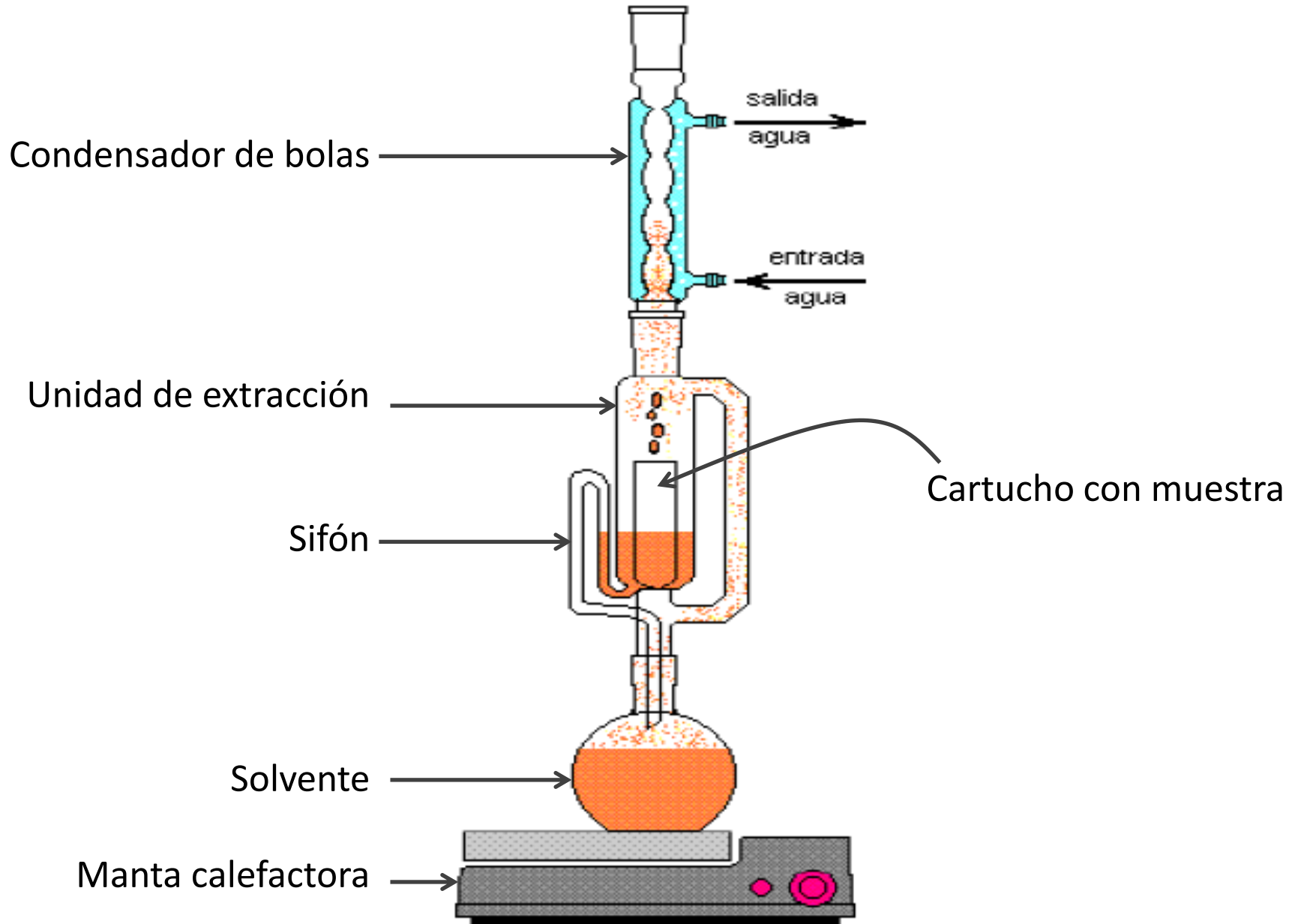
- Triglicéridos: principales componentes de grasas y aceites
- Otros lípidos comunes en alimentos: fosfolípidos, esteroides, tocoferoles, carotenoides

## MÉTODOS PARA DETERMINACIÓN DE GRASA TOTAL O BRUTA

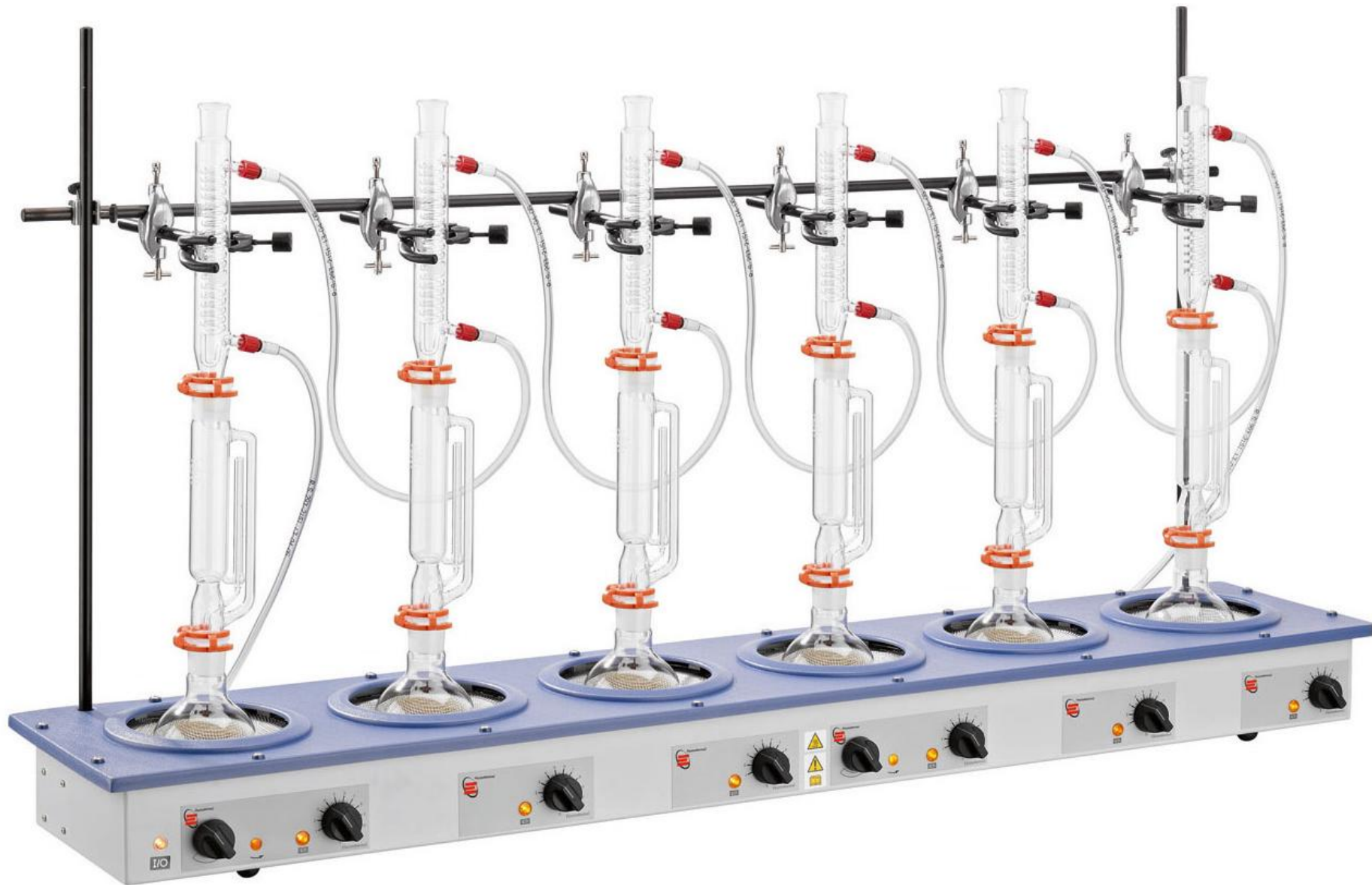
### Método de extracción de Soxhlet (1939)

- Extracción semicontinua con solventes no polares como éter etílico o hexano
- Extrae con eficiencia lípidos no polares
- Poca eficiencia para fosfo y glicolípidos

# EQUIPO DE EXTRACCIÓN SOXHLET



# Batería de extractores Soxhlet



## **Método de Goldfish:** extracción continua

Para extraer lípidos polares deben usarse otros solventes. Debe tenerse en cuenta el contenido de agua de la muestra

## **Método de Folch**

- 1 g de muestra se extrae con 20 mL de una mezcla cloroformo:metanol, 2:1
- El agua de la muestra representa el tercer solvente de la mezcla monofásica
- Se agrega agua o solución salina
- Se obtienen en el equilibrio dos fases: inferior contiene lípidos

## **Método de Bligh y Dyer**

- Desarrollado para pescado. Aplicable a numerosos tejidos animales y vegetales
- Usa cloroformo:metanol:agua endógena, 1:2:0,8
- Se agrega cloroformo: agua, 1:1 (monofase)
- Se obtienen en el equilibrio dos fases: inferior contiene lípidos

# HIDRATOS DE CARBONO



# CARBOHIDRATOS

**Polihidroxialdehídos o polihidroxicetonas en forma de monómeros, dímeros, oligómeros y polímeros de distinta complejidad estructural**

## Métodos para carbohidratos totales

### Método fenol-sulfúrico (Dubois, 1956)

- Azúcares en presencia de ácidos fuertes y T se deshidratan dando derivados del furano que condensan con el fenol para dar productos coloreados
- Método fácil, rápido y eficaz
- Pueden determinarse todos los carbohidratos simples, oligo y polisacáridos (hidrolizan dando monosacáridos)
- La reacción no es estequiométrica y depende de estructura del azúcar
- Debe realizarse curva patrón

## Análisis de Almidón

### *Extracción del almidón*

Agua caliente: extrae la mayor parte de amilosa y dextrinas

$\text{CaCl}_2$ : para almidón de cereales

$\text{HClO}_4$ : se extrae almidón de muestra seca y se precipita como complejo de yodo. Luego se hidroliza y analiza la glucosa liberada

Etanol y  $\text{HClO}_4$ : extracción de azúcares libres con etanol acuoso y luego almidón con  $\text{HClO}_4$

DMSO: almidón se dispersa en este solvente y se convierte cuantitativamente en D-glucosa con  $\alpha$ -amilasa termoestable y glucoamilasa

### *Cuantificación del almidón*

Hidrólisis directa con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,2 M durante 4 h en reflujo

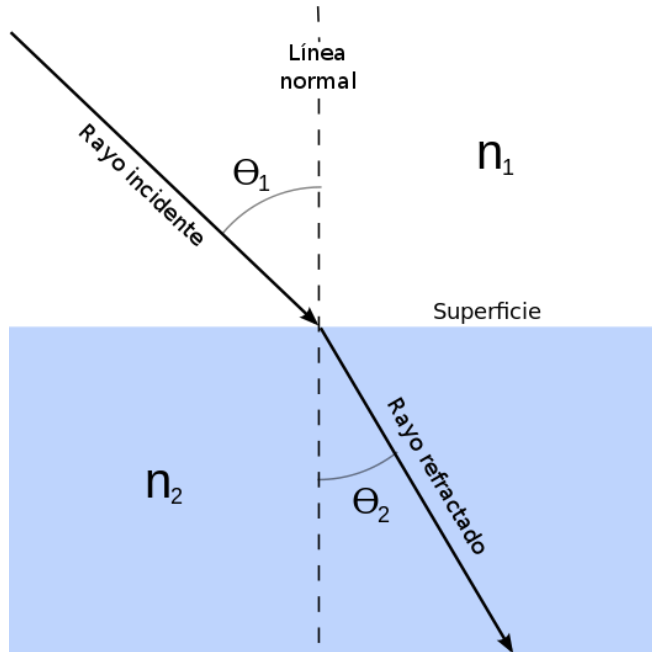
Proteínas y ácidos grasos interfieren al dar productos de condensación

Reacción con yodo: amilosa forma un complejo de inclusión



# ANÁLISIS DE AZÚCARES TOTALES EN SOLUCIÓN

## Medición del índice de refracción



$$\text{Ley de Snell: } n_1 \text{ sen}\theta_1 = n_2 \text{ sen}\theta_2$$

$n_1$ : índice de refracción del primer medio

$\theta_1$ : ángulo de incidencia

$n_2$ : índice de refracción del segundo medio

$\theta_2$ : ángulo de refracción

- Varía con naturaleza del compuesto, T, long de onda de la luz y concentración del compuesto
- Se determinan sólidos totales en solución
- Para obtener la concentración de azúcar, los valores deben corregirse

**Distintos métodos basados en poder reductor (ej. Fehling)**



Refractómetro de Abbe  
con sistema de control de T



Refractómetro  
manual



**FIBRA**

**ALIMENTARIA**

## FIBRA ALIMENTARIA

**Fracción del alimento que no es digerido por las enzimas del tracto digestivo humano**

### **Determinación de Fibra Cruda**

(harinas, AOAC 920.86 y forrajes AOAC 962.09)

- Digestiones sucesivas de la muestra con ácido diluido y base en ebullición
- Corrección final por cenizas

*Se pierde la fracción soluble en su totalidad*

*Se pierden cantidades variables de la fracción insoluble*

**Se determinan parcialmente lignina y celulosa**

Valores obtenidos representan 10-40% y 50-90%, respectivamente, de valores verdaderos

## Determinación de Fibra Alimentaria Total (FAT)

(Método enzimático-gravimétrico, AOAC 985.29, Prosky y col., 1988)

- Digestiones enzimáticas secuenciales de la muestra (solubilizan almidón y proteínas)
- Precipitación de la Fibra Alimentaria Soluble (FAS) con etanol 95% y filtración
- Residuo (*celulosa, hemicelulosas, lignina y pectinas*)
- Se realizan correcciones por proteínas residuales y cenizas
- Para determinar Fibra alimentaria Insoluble (FAI) y FAS se filtra digerido antes de agregar etanol

Residuo: FAI

Filtrado: se obtiene FAS por adición de etanol

# MUESTRA

***α-amilasa*** (pH 6.0, 30 min, 100 °C)

***proteasa*** (pH 7.5, 30 min, 60 °C)

***amiloglucosidasa*** (pH 4.5, 30 min, 60 °C)

- Precipitación con etanol 95 %
- Filtración sobre Celite

**Sobrenadante**

**Residuo**

- Lavado con etanol y acetona
- Secado a 105 °C
- Pesado
- Corrección de blanco, cenizas y proteínas

**FAT**

**=**

**FAI**

**+**

**FAS**

Filtración sobre Celite

**Residuo**

**Sobrenadante**

- Lavado con etanol y acetona
- Secado a 105 °C
- Pesado
- Corrección de blanco, cenizas y proteínas

- Precipitación con etanol 95 %
- Filtración sobre Celite
- Pesado del residuo
- Corrección de blanco, cenizas y proteínas

## Consideraciones del método enzimático-gravimétrico

- Tratamientos enzimáticos a temperaturas muy diferentes de las fisiológicas
- Valores corresponden a alimentos secados, molidos y hervidos
- En la práctica no se consigue eliminar almidón completamente (altera FAI)
- Etanol pueden co-precipitar otros componentes del alimento
- Componentes de la fracción de FAS no precipitan
- Correcciones de cenizas y proteína poco significativas
- Método óptimo para cereales y alimentos ricos en almidón