

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA



ELABORACIÓN DE PRÁCTICA PARA DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS EN BEBIDAS
VEGETALES A BASE DE ALMENDRAS POR VOLUMETRÍA ÁCIDO-BASE APLICANDO
EL MÉTODO KJELHDAL

TRABAJO DE GRADO EN MODALIDAD DIPLOMADO DE ESPECIALIZACIÓN

PRESENTADO POR

MARIO ALBERTO HENRÍQUEZ HUEZO

CARLOS ADALBERTO HEREDIA LORENZANA

PARA OPTAR AL GRADO DE

LICENCIADO EN QUÍMICA Y FARMACIA

NOVIEMBRE, 2024

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMÉRICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MAESTRO JUAN ROSA QUINTANILLA

SECRETARIO GENERAL

LICENCIADO PEDRO ROSALÍO ESCOBAR CASTANEDA

FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA

DECANA

MAESTRA NANCY ZULEYMA GONZÁLEZ SOSA

SECRETARIA

LICENCIADA EUGENIA SORTO LEMUS

DIRECCIÓN GENERAL DE PROCESOS DE GRADO

DIRECTORA GENERAL (AD-HONOREM)

MAESTRA KATIA LISSETTE MARTÍNEZ DE PALACIOS

TRIBUNAL EVALUADOR

ASESORA

MAESTRA KATIA LISSETTE MARTÍNEZ DE PALACIOS

ASESOR

LICENCIADO WALTER EDWIN RECINOS RIVERA

TUTOR

MAESTRO LUIS DAVID ALONZO HERNÁNDEZ

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, a Dios por culminar este trabajo y permitirnos llegar hasta aquí, el darnos la sabiduría, la fuerza, la salud, y perseverancia necesaria para enfrentar cada reto de esta etapa.

A nuestros padres por el apoyo incondicional y los innumerables sacrificios que han hecho, gracias por la fuerza de ellos.

Queremos agradecer a nuestro tutor Luis David Alonzo Hernández, quien ha tenido la paciencia y ha brindado el conocimiento en el transcurso del diplomado de especialización, nos ha orientado a realizar un excelente trabajo de grado, por su voluntad, comprensión y tiempo en cada una de nuestras consultas con el fin de mejorar el trabajo.

A nuestros asesores la maestra Katia Lissette Martínez de Palacios y el licenciado Walter Recinos Rivera, que con sus experiencias profesionales nos han asesorado realizando las observaciones pertinentes para alcanzar nuestros objetivos.

A nuestras familias, amigos y compañeros que nos apoyaron en el transcurso de la carrera y contribuyeron a la elaboración y desarrollo del tema.

A todos los colegas y docentes de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, quienes durante nuestra carrera han sido los pilares de nuestro conocimiento y que han dedicado su vida a la enseñanza.

DEDICATORIA

A Dios, por darme la fuerza y la perseverancia necesarias para culminar esta etapa tan importante de mi vida.

A mi madre Norma Lorena Huevo, quien fue y es mi apoyo incondicional, que con su amor y sacrificio ha sido el pilar fundamental de mi vida y en cada uno de mis logros, quien me ha fomentado el valor del estudio y nunca darme por vencido, que siempre me ha inculcado ir más allá, quién me ha dicho que sueñe y que me esfuerce por ser más en la vida, por todos sus consejos, sus abrazos y su fe en mí, me han dado la fortaleza para superar cada obstáculo, sin ella no sería todo lo que soy y lo que he logrado, este sueño no habría sido posible sin ti.

A mi padre José Raúl Henríquez (Q.E.P.D.), por su filosofía incomprensible y ser la persona más relajada del mundo, por brindarme esa cualidad de calma y despreocupación.

A mis hermanos Raúl Henríquez y Valeria Henríquez, que han sido mi compañía de toda la vida, que siempre me han alentado y acompañado en los momentos más difíciles, por ser comprensivos, por cada risa que compartimos y siempre cuidarme.

A mi novia Ana Josselyn Salas, quien me brindó su amor incondicional, me ayudó a estudiar, por ser mi apoyo y siempre me ha acompañado en los momentos más desafiantes, por recordarme la importancia de seguir adelante con su paciencia y amor como fuente de energía para continuar cada día este camino. Gracias por estar a mi lado, por creer en mí, este logro también es tuyo.

A mis amigos especialmente a Rodrigo Coto y Gerardo Cisneros, por toda la amistad sincera y genuina, las risas, los desvelos de toda esta carrera, por todos los malos y buenos consejos, porque sin duda sin ellos esto hubiera sido más difícil de lo que fue.

A mi familia con mención especial a mi tía Ana Ruth, quien ha sido como otra madre para mí y que siempre me escucha y me aconseja.

Mario Alberto Henríquez Huevo.

DEDICATORIA

A Dios por permitirme la oportunidad de terminar una carrera universitaria dándome en todo momento la sabiduría y la fuerza para salir adelante.

A mi padre que está en los cielos por todo su apoyo, esfuerzo, consejos y ánimos a ser mejor cada día y por enseñarme a nunca rendir me.

A mí madre por siempre estar presente en cada etapa de mi vida y ser ese apoyo incondicional tanto en mis alegrías como tristezas, y acompañarme en mis noches de desvelo de estudio para salir adelante y por siempre creer en mí.

A mi hermano y hermana que siempre me motivaron a no rendirme, que estuvieron ahí para alentarme y apoyarme a lo largo de esta etapa.

A cada uno de los docentes que formó parte de esta etapa en mi formación académica compartiendo sus conocimientos y valores.

A todos mis amigos que estuvieron presentes a lo largo de la carrera, con los cuales compartimos alegrías y tristezas pero que siempre nos ayudamos para alcanzar nuestros objetivos.

Carlos Adalberto Heredia Lorenzana

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN

CAPÍTULO I

1.0 INTRODUCCIÓN	12
------------------	----

CAPÍTULO II

2.0 OBJETIVOS	15
---------------	----

CAPÍTULO III

3.0 MARCO TEÓRICO	17
-------------------	----

3.1 La ciencia de los alimentos	17
---------------------------------	----

3.2 Química analítica	19
-----------------------	----

3.3 Bebidas Vegetales	20
-----------------------	----

3.3.1 Tipos de bebidas vegetales	20
----------------------------------	----

3.3.2 Bebidas vegetales como alimentos funcionales	21
--	----

3.3.3 Bebidas vegetales y sus beneficios	22
--	----

3.4 Bebidas vegetales a base de almendras	23
---	----

3.5 Perfilado nutricional de las bebidas vegetales a base de almendras.	24
---	----

3.6 La importancia de las proteínas en el consumo de la dieta.	25
--	----

3.6.1 Calidad de las proteínas	26
--------------------------------	----

3.6.2 Importancia de las proteínas en el organismo	27
--	----

3.6.3 Identificación de proteínas en alimentos	27
--	----

3.7 Técnicas de determinación de proteínas totales por el método Kjeldhal.	28
--	----

3.7.1 Factores de conversión proteica	29
---------------------------------------	----

3.7.2 Determinación de proteínas totales por el método Kjeldhal (valoración directa)	31
--	----

3.7.3 Determinación de proteínas totales por el método Kjelhdal (valoración indirecta)	31
--	----

3.7.4 Diferencias entre el método directo y el método indirecto	31
3.8 Normativa Nacional e Internacional de las bebidas vegetales.	32

CAPÍTULO IV

4.0 Producto Final	34
4.1 Título de la Práctica	34
4.2 Objetivos	34
4.3 Fundamento del método de análisis.	34
4.4 Información de la muestra	35
4.5 Materiales y aparatos	36
4.6 Reactivos	36
4.7 Precauciones	37
4.8 Procedimiento de la práctica	37
4.8.1 Preparación de la muestra	37
4.8.2. Preparación de reactivos.	38
4.8.3. Determinación	38
4.8.4 Ensayo en blanco	39
4.9 Reacciones	39
4.10 Cálculos	40

CAPÍTULO V

5.0 Conclusiones	43
------------------	----

CAPÍTULO VI

6.0 Recomendaciones	45
---------------------	----

Referencias bibliográficas

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N°		Pág. N°
1	Materias primas empleadas en la elaboración de licuados vegetales presentes en los mercados.	21
2	Perfil nutricional de bebidas vegetales a base de almendras de diferentes marcas.	25
3	Dosis de proteínas recomendadas.	26
4	Factores para la conversión de nitrógeno en proteínas.	30

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N°

1	Diagrama de manejo de residuos para ácidos, álcalis y reactivos.
---	--

RESUMEN

La situación actual en el mercado de los alimentos está siendo dirigida a producir alimentos funcionales que ayudan a la mejora de ciertas patologías, además de proporcionar un beneficio para la salud más allá de la nutrición básica, por lo que, se crearon las bebidas vegetales. Existen factores determinantes para el desarrollo de este tipo de bebidas vegetales como alimentos funcionales, entre los cuales se pueden destacar nuevos estilos de vida como el de los deportistas de alto rendimiento, personas que luchan por la ética y el bienestar animal, veganos, compromiso medio ambiental, alergias, etc. Todos estos factores terminaron exigiendo a la industria alimentaria productos innovadores, ecológicos, menos dañinos, pero más nutritivos.

Para realizar una completa caracterización de los productos alimentarios, se debe conocer los principales indicadores de calidad de un alimento, entre ellos se encuentran proteínas, minerales, vitaminas, ácidos grasos, entre otros. Por medio del análisis químico empleando la química analítica, se puede identificar que componentes y en qué cantidad se encuentran en un alimento, de esta manera conocer cómo nos alimentamos y la calidad del alimento que ingerimos; en las bebidas vegetales a base de almendras, se le atribuye el aporte de proteínas al organismo, siendo componentes esenciales en todos los tejidos del cuerpo humano, ya que contribuyen al crecimiento, reparación y mantenimiento de las células.

Para poder identificar el contenido de proteínas en una bebida vegetal a base de almendras nos apoyamos por medio del método Kjeldhal que cuantifica el contenido de nitrógeno aportado por los aminoácidos en las proteínas, dicho método consta de tres procesos en el tratamiento de la muestra que son la digestión, destilación y valoración. Debido a que este tipo de bebida aun no cuenta con un método estándar, se decidió adaptar el método de análisis de proteínas en la leche de origen animal al de las bebidas vegetales a base de almendras, de esta manera como producto final se elabora una marcha analítica explicando paso a paso todo el proceso del análisis y así poder identificar que el contenido de proteína declarado en el etiquetado sea comprobable.

CAPÍTULO I

1.0 INTRODUCCIÓN

El análisis de los alimentos es un conjunto de procesos y métodos que se utilizan para determinar la composición química, el valor nutricional, la calidad y la seguridad de los productos alimenticios y de esa manera, satisfacer las necesidades del consumidor, antes de que un producto alimenticio salga al mercado, es necesario caracterizarlo, cuando se habla de caracterizar un producto alimenticio, conlleva a someter a diferentes tipos de ensayos, en los que se utilizan diferentes métodos de análisis de manera que, la caracterización final del producto detallen cualitativamente y cuantitativamente todos y cada uno de los componentes que lo conforman, en el momento en que se finaliza cada uno de los análisis y se obtienen los resultados, se arma lo que es el perfil nutricional del alimento.

Los diferentes tipos de análisis con los que se puede realizar una evaluación completa de los alimentos incluye el análisis físico químico, sensorial y microbiológico, la presente investigación estará enfocada en el análisis químico, siendo la química analítica la rama del análisis químico, con la que determinarán qué sustancias y en qué cantidad se encuentran presentes en el alimento.

El mercado actual de los alimentos busca satisfacer las necesidades de todo tipo de consumidor (deportistas, veganos, vegetarianos, alérgicos a diferentes tipos de alimentos), lo que genera la investigación, creación, la mejora, de nuevo alimentos.

Las bebidas vegetales en los últimos años están presentando un crecimiento en el mercado asimismo se crean más bebidas vegetales a partir de diferentes materias primas y estas pueden variar desde cereales, semillas, leguminosas, frutos o combinaciones de estas.

Unos de los aspectos más importantes para realizar un análisis químico a estos productos, es que, no se ha encontrado alguna normativa nacional o internacional específica para las bebidas vegetales en comparación a su equivalente la leche de vaca, la cual cuenta con normativas nacionales como las Normas Salvadoreña Obligatorias (NSO) 61.01.01:06 y 61.01.02:06 referentes a productos lácteos o la Norma FIL-20:1962 de la federación internacional de leche. No obstante, no significa que no exista normativa para regularizar estos productos, estas normativas se mencionaran en el desarrollo de la investigación. Cabe mencionar que se hace una comparación entre la leche y las bebidas vegetales debido a que esta última principalmente busca sustituir la leche.

Una de las características principales que se le atribuyen a las bebidas vegetales a base de almendras es el contenido de proteínas que puede aportar en la dieta del consumo humano, por esta razón es de gran importancia la determinación cuantitativa del contenido de proteína, La cual se determinará utilizando el método de Kjeldahl, que es el método armonizado utilizado por muchos países y normativas, para calcular el contenido de proteínas en los diferentes alimentos, al ser las bebidas vegetales un producto innovador en el mercado es de gran importancia realizar un estudio de uno de los indicadores de calidad que poseen y se le atribuye en correspondencia con las necesidades del ser humano.

Como producto final y como resultado obtenido de la investigación, se elaboró una marcha analítica que explica paso a paso el procedimiento y los fundamentos con el que se determinará el contenido de proteínas en bebidas vegetales a base de almendras. La marcha analítica esta propuesta para ser desarrollada en la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, como ámbito de aplicación se encuentra la cátedra de química analítica como explicación del fundamento y desarrollo del método Kjeldahl y la cátedra de análisis bromatológico, cátedra enfocada en el estudio y análisis de los alimentos para evaluar la seguridad y eficacia de estos.

CAPÍTULO II

2.0 OBJETIVOS

2.1 Objetivo general:

2.1.1 Elaborar una práctica para determinar proteínas en bebidas vegetales a base de almendras por volumetría ácido base, aplicando el método Kjeldhal

2.2 Objetivos específicos:

2.2.1 Analizar la importancia de las bebidas vegetales como alimentos funcionales y sus beneficios a la salud del consumidor.

2.2.2 Proponer una marcha analítica para ser realizada como práctica de laboratorio por los estudiantes de la Facultad de Química y Farmacia.

2.2.3 Describir el método Kjeldhal para determinar el contenido de proteínas en bebidas vegetales a base de almendras.

CAPÍTULO III

3.0 MARCO TEÓRICO

A través de los años, la dieta humana ha ido evolucionando y transformándose desde la forma en que el humano la obtiene, la prepara, la conserva y la consume. Por medio del desarrollo de nuevas tecnologías se han logrado avances en la producción de alimentos alternativos como por ejemplo las bebidas vegetales o la carne cultivada en el laboratorio.

Dentro de las tendencias actuales en el desarrollo de nuevos alimentos, se encuentra la sostenibilidad en la producción y en la mejora de la salud de la población, a través del crecimiento del interés por investigar dietas basadas en plantas o productos sin ingredientes artificiales, el objetivo principal es entender y mejorar la calidad, seguridad y nutrición de los alimentos desde la producción hasta el consumo, la disciplina que engloba todos estos estudios de los alimentos, se le conoce como ciencia de los alimentos.

3.1 La ciencia de los alimentos

La ciencia de los alimentos puede definirse como la disciplina en la que se utilizan las ciencias químicas, biológicas, físicas y de ingeniería para estudiar la naturaleza de los alimentos, las causas de su deterioro, los principios subyacentes en el procesamiento de alimentos y la mejora de los alimentos para el consumidor.¹

Así, las ciencias de los alimentos pueden considerarse como una ciencia aplicada y multidisciplinar, estrechamente relacionada con la industria alimentaria y las leyes de la alimentación, y en la que se conjugan y articulan diferentes disciplinas, que actúan como pilares teóricos metodológicos. Ellos son: química y bioquímica de los alimentos, procesamiento de alimentos, nutrición y dietética y evaluación de los alimentos.¹

En el desarrollo de la literatura se hará un énfasis en el pilar metodológico de la “evaluación de los alimentos” cuyo objetivo de estudio es evaluar el cumplimiento de los indicadores de calidad que poseen los alimentos, el cual incluye la evaluación química. Al ser los alimentos compuestos dinámicos es importante realizar estudios sobre su composición y los efectos que sus componentes pueden provocar en los procesos a los que están sujetos los alimentos. A partir de los estudios se puede determinar la calidad del alimento que se ingiere, no se debe ignorar que la alimentación es un proceso repetitivo y vital que básicamente se realiza desde el momento en que se nace.

La caracterización de los alimentos proviene de los resultados de los diferentes ensayos al que puede someterse dicho alimento, es por eso que se utilizan diferentes métodos de evaluación, y se agrupan en función de sus objetivos.¹

Los tres tipos de análisis son: análisis fisicoquímico, análisis microbiológico y análisis sensorial.

Análisis fisicoquímico

Implica la caracterización de los alimentos desde el punto de vista fisicoquímico, haciendo énfasis en la determinación de su composición química, es decir, cuáles sustancias están presentes en un alimento (proteína, grasas, vitaminas, minerales, hidratos de carbono, contaminantes metálicos, residuos de plaguicidas, toxinas, antioxidantes, entre otros) y en qué cantidades estos compuestos se encuentran.

El análisis fisicoquímico brinda poderosas herramientas que permiten caracterizar un alimento desde el punto de vista nutricional y toxicológico, y constituye una disciplina científica de enorme impacto en el desarrollo de otras ciencias como la bioquímica, la medicina y las ciencias farmacéuticas.

Análisis microbiológico

Los alimentos son sistemas complejos, de gran riqueza nutritiva y por tanto sensible al ataque y posterior desarrollo de microorganismos (bacterias, hongos y levaduras). En todos los alimentos hay siempre una determinada carga microbiana, pero esta debe ser controlada y no debe sobrepasar ciertos límites, a partir de los cuales comienza a producirse el deterioro del producto con la consecuente pérdida de su calidad y aptitud para el consumo.

Análisis sensorial

Disciplina científica que permite evaluar, medir, analizar e interpretar las características sensoriales de un alimento (color, olor, sabor y textura) mediante uno o más órganos de los sentidos humanos. A pesar de que la evaluación sensorial es el análisis más subjetivo, ya que el instrumento de medición es el ser humano, muchas veces define el grado de aceptación o rechazo de un producto.

3.2 Química analítica¹

Para poder realizar el análisis químico de los alimentos, hay que auxiliarse de una de las más antiguas e importantes ramas de la química: “la química analítica”, la cual brinda las herramientas necesarias para poder determinar cuáles son las sustancias que están presentes en los alimentos y en qué cantidades se encuentran. Así, la química analítica puede definirse como la rama de la química que se ocupa de la identificación y cuantificación de un componente químico en una sustancia dada.

La química analítica se divide en dos grandes campos: el análisis cualitativo cuyo objeto es identificar cuáles son los componentes que están presentes en la muestra, y el análisis cuantitativo, a través del cual se determina cuánto hay de cada componente en la muestra evaluada. Para cualquier de los dos campos de análisis mencionados anteriormente, al procedimiento del cual se vale la química analítica se denomina método analítico y se define como el conjunto de operaciones físicas y químicas que permite identificar y/o cuantificar un componente químico, al cual se denomina “analito” y el sistema material que lo contiene se le denomina “matriz”.

Los métodos de análisis químico pueden clasificarse dependiendo de las características del procedimiento analítico y del principio general en el cual se fundamenta la determinación.

Los métodos químicos clásicos, son los más antiguos e involucran generalmente la aplicación de una reacción química en la que interviene el constituyente que se desea determinar, este método puede clasificarse en método de análisis gravimétrico y el método de análisis volumétrico.

Los métodos instrumentales son basados en la medición instrumental de alguna propiedad fisicoquímica del sistema estudiado.¹

La química analítica es de suma importancia debido a que con ella se desarrollan investigaciones que pueden llevar a cabo nuevos hallazgos, asimismo es utilizada como parte del control de calidad para alimentos, permitiendo prever o encontrar fallas en el proceso de fabricación.

Como parte del desarrollo de nuevas investigaciones surgen nuevas fuentes de alimentación menos convencionales por ende nuevos productos que salen al mercado global, lo que conlleva a crear y aplicar nuevos métodos de análisis químicos con el fin de caracterizar nutricionalmente y de esta manera indicar si estos productos son factibles al consumo humano, por otro lado el incremento de

nuevas enfermedades, alergias, estilos de vida (veganos y vegetarianos), deportistas con alimentación controlada, hace que se creen alimentos especiales, esto no fuera posible sin la química analítica y los métodos de análisis químicos en la producción y desarrollo de nuevas investigaciones. En los últimos años como desarrollos de nuevos alimentos y diversificar la dieta, surgen alternativas a la leche de origen animal, las cuales se encuentran las bebidas vegetales.

3.3 Bebidas Vegetales²

Las bebidas vegetales son extractos obtenidos a partir de la moltura y/o maceración de diferentes granos de cereal, leguminosas, tubérculos y/o semillas con agua. Se trata de suspensiones coloidales inestables donde la fase dispersante es el agua y la fase dispersa está formada por diferentes componentes como grasa, fibras, proteína o hidratos de carbono. En sus inicios estos productos se denominaban como “leche de (y la semilla o grano del que estuvieran elaboradas)”. Sin embargo, a partir del año 2017, El Tribunal de Justicia de Luxemburgo (TJUE) dictaminó que los productos de origen vegetal como la soja, la avena, el arroz, etc. No podrán comercializarse bajo la denominación de “leche”. Esta definición se recoge en el reglamento (CE) N° 1234/2007 del consejo de 22 de octubre de 2007, donde se especifica lo siguiente: el término “leche” se reservará exclusivamente para el producto de la secreción mamaria normal, obtenida mediante uno o varios ordeños, sin ninguna adición ni sustracción. A partir de esta definición es cuando comienza a sustituirse el término “leche de” por “bebida de”.

Actualmente son productos prácticamente nuevos en el mercado. Debido a esto, todavía no existen normas de calidad para estas bebidas, es decir, no hay un documento que refleje los requisitos, especificaciones o características de estas, así como los materiales o productos o procesos que son adecuados para su elaboración. Esto hace que en la actualidad haya diversas formas de elaborar bebidas vegetales, y que muchos fabricantes se adhieran al secreto industrial, para no revelar sus fórmulas o métodos de trabajo.

3.3.1 Tipos de bebidas vegetales

Las bebidas vegetales son productos que han aparecido con mucha fuerza, y esto conlleva que la variedad de bebidas presentes en el mercado sea cada vez mayor. Teniendo en cuenta esto, se pueden dividir las bebidas según la materia prima de la que parten, aquellas que solamente están elaboradas a partir de una sola materia prima (grano, cereal, tubérculo y leguminosa), y aquellas que se elaboran a partir de mezclas de estas. En la siguiente tabla se presentan algunas de las

materias primas empleadas en la elaboración de licuados vegetales presentes en los mercados hoy en día.²

Tabla N°1: Materias primas empleadas en la elaboración de licuados vegetales presentes en los mercados.²

Grupo de materias primas	Materia prima de elaboración
Cereales	Avena
	Arroz
	Espelta
	Mijo
Tubérculos	Chufa
	Patata
Leguminosas	Soja
Otras semillas	Lino
	Cáñamo
	Quínoa
Frutos secos	Almendra
	Avellana
	Nuez
Frutos	Coco

3.3.2 Bebidas vegetales como alimentos funcionales

Las bebidas vegetales son consideradas como alimentos funcionales, estos son aquellos alimentos o compuestos dietéticos que pueden proporcionar un beneficio para la salud más allá de la nutrición básica. Desde el punto de vista práctico, pueden ser naturales, o de origen sintético, o bien en los que se ha modificado la naturaleza o biodisponibilidad de alguno de los compuestos, o cualquiera de las combinaciones anteriores. Dichos alimentos pueden contribuir a la mejora de las condiciones generales del organismo, la disminución del riesgo de algunas enfermedades, y podrían llegar a utilizarse para curar algunos dolores, así también se han estudiado con la finalidad de prevenir numerosas enfermedades, como cáncer, problemas cardíacos y la disminución del envejecimiento.³

Los alimentos pueden volverse funcionales cuando el objetivo se reconoce dentro de estos cinco factores:³

- Eliminación de algún componente el cual es conocido o se le identifica como el causante de un efecto de envenenamiento al consumirse.
- Aumento de la concentración de algún componente presente de forma natural en el alimento hasta el grado de inducir el efecto planteado.
- Adición de un componente que normalmente no está presente en el alimento, no necesariamente debe ser un macronutriente o micronutriente. Pero que este componente demuestre un efecto benéfico
- Sustitución de un componente, de cual su ingesta excesiva representa riesgo y se requiere sustituirlo por otro que presente efectos benéficos.
- Aumento de biodisponibilidad o estabilidad de un componente el cual puede producir un efecto funcional o que reduzca el potencial de riesgo de enfermedad a causa del alimento.

3.3.3 Bebidas vegetales y sus beneficios³

- Aporte nutricional.

Carecen en esencia de ciertos compuestos normalmente asociados a la leche de mamíferos, como el colesterol, ácidos grasos saturados, los antígenos y la lactosa, y a la vez son una buena fuente de minerales, proteínas no alérgicas, ácidos grasos esenciales, etc. Estas características las hace muy adecuadas como alternativas a los lácteos, han sido aceptadas como alimentos funcionales y nutracéuticos, ya que son una rica fuente de compuestos bioactivos beneficiosos para la salud, como minerales, vitaminas, fibras dietéticas y antioxidantes.

- Portadores de probióticos

Son productos que contienen microorganismos definidos y viables en grado suficiente para modificar el microbiota gastrointestinal del huésped, ejerciendo así un efecto beneficioso sobre la salud de este, la presencia de nutrientes y compuestos bioactivos favorecen el crecimiento y el metabolismo de los microorganismos probióticos.

Los microorganismos producen vitaminas como ácido fólico, cobalamina, menaquinona, riboflavina y tiamina. El uso de estos cultivos en la fermentación de alimentos potencialmente proporciona rutas no solo para mejorar el perfil nutricional de los alimentos, sino también para llevar microorganismos al intestino, donde puede sintetizar dichas vitaminas in vivo.

- Beneficios a la salud

La ausencia de alérgenos relacionados con los productos lácteos, el colesterol y el bajo contenido calórico de las bebidas vegetales implica que plantean menos problemas de salud a los consumidores. Desde el punto de vista de la composición de ácidos grasos mono y poliinsaturados y los ácidos grasos saturados en las bebidas vegetales es notablemente mayor en comparación con los de las bebidas lácteas, lo que representa una opción nutricionalmente más viable.

3.4 Bebidas vegetales a base de almendras ⁴

Taxonomía de la almendra

- Nombre científico: *Prunus dulcis*.
- Familia: Rosaceae
- Género: Prunus L
- Reino: Plantae

La almendra pertenece a la familia de las rosáceas. Se trata de un fruto de cáscara un tanto dura y quebradiza de color marrón beige, cuya semilla es la parte comestible. Tiene forma de lágrima aplanada y mide 1 a 2 cm de largo, Nace del almendro, un árbol que alcanza hasta 10 metros de altura, y cuyas flores pueden ser de color blanco, rosado o blanco rosáceo.

Dependiendo de las variedades, que puede ser dulce o amarga, su sabor varía desde el suave lechoso hasta el amargo seco. Las almendras dulces, a diferencia de las amargas, son las que se consumen como fruto seco y comprenden dos variedades, de cáscara blanda y de cáscara dura. En cambio, todas las almendras amargas tienen cáscara dura. Aparentemente no se diferencian unas de otras, salvo en su tamaño, que es ligeramente mayor en las almendras dulces. Sí existe una clara diferencia en su sabor, ya que las almendras amargas, como su propio nombre lo indica, presentan un fuerte sabor amargo.

El origen del cultivo de la almendra se localiza en Asia, una zona bastante amplia de Oriente Próximo, desde el mar Egeo hasta la meseta de Pamir, comprendiendo Mesopotamia, Irán, Turkestán y Kurdistán, llegó a Grecia y a Roma, y los romanos la difundieron ampliamente por el resto de Europa, desde donde llegó hasta América.

Sus fuentes de nutrientes se encuentran las proteínas, ácidos grasos monoinsaturados, ácidos grasos insaturados, fibra, calcio, fósforo, magnesio, hierro, zinc, potasio, vitamina E, riboflavina, tiamina, niacinamina y folatos.

De acuerdo con los valores nutricionales, la almendra dulce presenta un alto contenido en grasas, sobre todo monoinsaturadas, fuente de proteínas vegetales, y en menor medida, aporta hidratos de carbono. Su valor calórico es bastante elevado debido a su alto aporte de grasas y a la escasa cantidad de agua que presentan. El contenido en fibra de la almendra destaca sobre el resto de los frutos secos.

3.5 Perfilado nutricional de las bebidas vegetales a base de almendras.⁵

Se conoce como el perfilado nutricional a la ciencia de clasificar o categorizar los alimentos de acuerdo con su composición nutricional, por razones relacionadas con la prevención de enfermedades o promoción de la salud. En el cual los nutrientes son sustancias integrantes normales del organismo y de los alimentos, cuya ausencia o disminución por debajo de un límite mínimo producen, al cabo de cierto tiempo una enfermedad por carencia.

Dentro de un perfil nutricional se enlistan los macronutrientes, micronutrientes, carbohidratos, proteínas y grasas.

En la siguiente tabla se muestra el perfil nutricional de bebidas vegetales a base de almendras por porción de 200 mL (1 vaso), de diferentes marcas en el mercado.

Tabla N°2: Perfil nutricional de bebidas vegetales a base de almendras de diferentes marcas.⁵

Nutrientes	T r a n t e f u o r i g i n a l	Tr an tef u va ini lla	Co co on	Pa m pa vi da	Gr ee d fo od	Sil k ori gi na l	Sil k va ini lla	Fe lic es las va ca s	A m an de
Valor energético (KCAL)	61	61	39	51	53	22	22	48	72
Carbohidratos (g)	2.1	2.1	1.3	4	-	0.7	0.8	2	1.8
Proteínas(g)	2.5	2.5	1.3	1.9	3.2	0.7	0.7	2	2.8
Grasas totales(g)	4.8	4.8	3.2	3.7	4.5	1.8	1.8	4	6
Grasas saturadas (g)	0.3	0.3	0.3	0.3	0.8	-	-	0.3	0.4
Grasas trans (g)	0	0	0	0	0	-	-	0	0
Fibra (g)	0.5	0.5	0.8	1	-	-	-	1	0.6
Sodio (mg)	69	69	122	145	43	104	104	40	40
Vit A (ug)	21 4	110	108	90	-	-	-	-	-
Vit D (ug)	1	0.75	0.75	-	-	1.2	1.2	-	-
Vit E (mg)	1.7 9	1.79	2	-	-	5	5	-	-
Vit B12 (ug)	0.5	0.36	0.36	2	-	1.3	1.3	-	-
Calcio (mg)	20 0	230	358	198	-	359	337	-	228

3.6 La importancia de las proteínas en el consumo de la dieta.⁶

Las proteínas son grandes moléculas complejas que se encuentran en las células de todos los seres vivos, A pesar de que las proteínas son conocidas principalmente por su función en la masa muscular, éstas son componentes esenciales de todos los tejidos del cuerpo humano, como los huesos, la sangre y las hormonas. Como enzimas, las proteínas actúan en el metabolismo. En forma de anticuerpos, las proteínas son fundamentales para un sistema inmunitario en buenas condiciones. Sin la cantidad apropiada de proteínas, el cuerpo no puede mantener el equilibrio de fluidos o de ácidos y bases. Aunque la fuente primaria de energía son los hidratos de carbono y las grasas, en ciertas circunstancias las proteínas también proporcionan energía. Asimismo, también son esenciales para el transporte y almacenamiento de numerosos nutrientes.

La composición química de las proteínas contiene además de carbono, hidrógeno y oxígeno, contienen una forma especial de nitrógeno que el cuerpo puede utilizar fácilmente, este nitrógeno se encuentra en los aminoácidos, que son los componentes básicos de las proteínas. Al comer proteínas de las plantas y de los animales, descomponemos estas proteínas en sus respectivos componentes de aminoácidos y utilizamos el nitrógeno para muchos procesos importantes del organismo.

La cantidad diaria recomendada de proteínas es de 0,8 g por cada kg de peso corporal por día. El porcentaje recomendado de energía que debería provenir de las proteínas esta entre un 10% y un 35% del aporte total de energía. La necesidad de proteína es más alta en niños, adolescentes y mujeres embarazadas o en la lactancia, ya que se necesitan más proteínas en las fases de crecimiento y desarrollo

Tabla N°3: Dosis de proteínas recomendadas⁶

Grupo	Dosis de proteínas (gramos por kilogramos de peso corporal)
La mayoría de los adultos	0.8
Atletas de resistencia no vegetarianos	1.2 a 1.4
Atletas de fuerza no vegetarianos	1.6 a 1.7
Atletas de resistencia vegetarianos	1.3 a 1.5

3.6.1 Calidad de las proteínas

La calidad de las proteínas está determinada por su capacidad de digestión y su contenido de aminoácidos, la cantidad de aminoácidos esenciales en una proteína determina su calidad, los alimentos ricos en proteínas de buena calidad son aquellos que contienen más aminoácidos esenciales en cantidades suficientes para construir proteínas, y los alimentos bajos en proteínas de buena calidad son aquellos que contienen menos aminoácidos esenciales.

Un factor importante de la calidad proteica es la capacidad de digestión, es decir la facilidad del organismo para digerir una proteína. El método PDCAAS (puntuación de los aminoácidos de las proteínas corregida según la digestibilidad), utiliza la puntuación química y un factor de corrección para la capacidad de digestión con la finalidad de calcular un valor para la calidad proteica.

Las fuentes de proteínas animales como la carne y los productos lácteos son muy fáciles de digerir, como lo son muchos productos derivados de la soja, ya que podemos absorber más del 90% de esas proteínas. Las verduras también son muy fáciles de digerir (alrededor del 70%-80%). Los cereales y muchas proteínas vegetales son menos fáciles de digerir, con valores de PDCAAS que van desde el 60% al 90%.

3.6.2 Importancia de las proteínas en el organismo

- Contribuyen al crecimiento, reparación y mantenimiento de las células
- Las proteínas actúan como enzimas y hormonas.
- Ayudan a mantener el equilibrio de electrolitos y fluidos.
- Ayudan a mantener el equilibrio ácido-básico.
- Ayudan a mantener un sistema inmunológico fuerte.
- Son una fuente energética.
- Intervienen en el transporte y almacenamientos de los nutrientes.

3.6.3 Identificación de proteínas en alimentos

Las aplicaciones de los métodos volumétricos por neutralización en el análisis de los alimentos son muy amplias y variadas, pudiéndose cuantificar un gran número de analitos en matrices alimentarias con el empleo de métodos de valoración directos o por retroceso.

Dentro de las técnicas de análisis que emplean métodos de valoración directos pueden citarse la determinación de acidez total valorable en alimentos, la determinación de proteínas totales por el método Micro Kjeldhal, la determinación del índice de acidez en aceites y grasas comestibles y la determinación de la alcalinidad total en aguas de proceso, entre muchas otras técnicas.¹

Así mismo, constituyen ejemplos de determinaciones a través de métodos de valoración por retroceso, la determinación del índice de saponificación en aceites y grasas comestibles, la determinación de la alcalinidad de las cenizas en vinos, la determinación de ésteres totales en roncs y aguardientes y otra variante de la determinación de proteínas totales por el método Kjeldhal.¹

3.7 Técnicas de determinación de proteínas totales por el método Kjeldhal.⁷

El procedimiento de referencia Kjeldhal determina la materia nitrogenada total, que incluye tanto las no proteínas como las proteínas verdaderas. El método se basa en la determinación de nitrógeno contenido en productos alimentarios.

Dentro de los pasos más importantes se encuentra la descomposición de la materia orgánica bajo calentamiento en presencia de ácido sulfúrico concentrado y el registro de la cantidad de amoníaco obtenido en la muestra.

Durante el proceso de descomposición ocurre la deshidratación y carbonización de la materia orgánica, combinada con la oxidación de carbono o dióxido de carbono. El nitrógeno es transformado en amoníaco que se retiene en la disolución como sulfato de amonio. La recuperación de nitrógeno, y la velocidad del proceso pueden ser incrementadas adicionando sales que abaten la temperatura de descomposición (sulfato de potasio), o por la adición de oxidantes (peróxido de hidrógeno, tetracloruro, persulfato o ácido crómico) y por la adición de un catalizador.

Las bases del procedimiento actual fueron desarrolladas en 1883, no obstante, aunque el método original se ha modificado a lo largo de los años, siempre involucra los mismos pasos básicos. En

general el análisis implica la determinación indirecta de las proteínas después de la determinación del contenido de nitrógeno total en las muestras de alimentos.

El danés Kjelhdal trabajó en un método para determinar nitrógeno orgánico como parte de sus estudios sobre los cambios de las proteínas de los granos usados en la industria de las bebidas. El método planteado por Kajeldahl consiste en tres etapas fundamentales:¹

- Digestión

Se emplea ácido sulfúrico concentrado y sulfato de cobre, mercurio o selenio como catalizador, que con ayuda de calor y sulfato de potasio oxidan la materia orgánica hasta dióxido de carbono y agua y transforman todo el nitrógeno amínico (NH_2) e imínico ($\text{NH}=\text{NH}$) provenientes de proteínas y aminoácidos en ion amonio.

Cuando la digestión termina, la disolución queda transparente, libre de partículas carbonosas. En caso de haber empleado como catalizador el sulfato de cobre, la disolución toma un color azul verdoso.

- Destilación

En la muestra digerida se trata con un álcali (NaOH) añadiendo exceso, el cual reacciona descomponiendo el sulfato de amonio en amoníaco, que es volátil y se destila por arrastre con vapor.

El amoníaco destilado se recoge en un Erlenmeyer con una mezcla de indicadores y disolución alcohólica de ácido bórico.

- Valoración

El borato de amonio formado se valora entonces utilizando como patrón valorante una disolución estandarizada de ácido clorhídrico. El punto final de la valoración estará en pH ácido, por la presencia de ácido bórico finalmente formado.

El contenido de nitrógeno finalmente calculado se multiplica por un factor característico de cada alimento y se obtiene entonces el contenido de proteínas totales.

3.7.1 Factores de conversión proteica⁸

Los factores de conversión proteica difieren para productos de origen animal y vegetal por diferencias en su composición de aminoácidos y en los niveles de nitrógeno no alfa-amino que son más altos en productos vegetales a diferencia de los productos de origen animal. El contenido de proteína en un alimento se estima multiplicando el contenido de nitrógeno por un factor de conversión de nitrógenos a proteínas, generalmente establecido en 6.25. Este factor histórico supone que el contenido de nitrógeno de las proteínas es del 16%. Pero las proteínas puras difieren en términos de su contenido de nitrógeno. Esto resulta por las diferencias en su composición de aminoácidos.

El contenido de nitrógeno puede variar considerablemente, la fracción de nitrógeno no alfa-amino es muy variable para la fuente de proteína dada, que depende del proceso de producción y el grado de purificación de la fuente de proteínas. Por lo tanto, en muchos casos, multiplicar el contenido de nitrógeno de una fuente de proteína por 6.25 no puede proporcionar una estimación sólida del contenido de proteínas, ya que puede conducir a un error del 15 al 20% en el contenido de proteínas.

Tabla N°4: Factores para la conversión de nitrógeno en proteínas⁹

Factores para la conversión de los valores de nitrógeno en proteínas	
Producto alimenticio	Factor
Trigo	5.83
Arroz	5.95
Centeno	5.83
Cebada	5.83
Avena	5.83
Mijo	6.31
Maíz	6.25
Frijoles	6.25
Soja	5.71
Almendras	5.18
Nueces de Brasil	5.46
Maníes	5.46
Carne y pescado	5.30
Gelatina	6.25
Leche y productos lácteos	6.38
Caseína	6.40
Leche humana	6.37
Cuando no se indica ningún factor específico	6.25

En la actualidad, el instrumental empleado para la determinación de proteínas por el método Kjeldahl ha evolucionado notablemente y hoy en día existen en el mercado un amplio y diverso grupo de sistemas automatizados, que permite un funcionamiento sin supervisión y consiguen un elevado rendimiento de muestras, no obstante estos modernos sistemas, se basan en las mismas etapas (digestión, destilación y valoración) y emplean básicamente los mismos principios y reactivos que el método tradicional. La diferencia se encuentra en la exactitud y precisión de los resultados, así como la velocidad de análisis.¹

A continuación, se describen dos técnicas de determinación de proteínas diseñadas para ejecutarse con el instrumental clásico. La diferencia únicamente radica en la etapa de valoración, por cuanto una se realiza por el método de valoración directa, mientras que la otra se ejecuta mediante el método de valoración indirecta por retroceso.¹

3.7.2 Determinación de proteínas totales por el método Kjeldahl (valoración directa)¹

Este método es aplicable a la leche natural, certificada, higienizada, esterilizada y a las reconstituidas, asimismo no alteradas, posteriormente de las leches concentradas, evaporadas, condensadas y en polvo.

La determinación del nitrógeno total se realiza por la aplicación del método Kjeldahl, una determinada cantidad pesada de leche se trata con ácido sulfúrico en presencia de óxido de mercurio II como catalizador con objeto de transformar el nitrógeno de los compuestos orgánicos en nitrógeno amoniacal. El amoniaco se libera por adición de hidróxido de sodio, se destila y se recoge en una disolución de ácido bórico, posteriormente, se valora el borato formado con disolución de ácido clorhídrico

3.7.3 Determinación de proteínas totales por el método Kjeldahl (valoración indirecta)¹

Este método se basa en la digestión del producto con ácido sulfúrico concentrado el cual transforma el nitrógeno orgánico en iones amonio, en presencia de sulfato de cobre como catalizador, adición de un álcali, destilación del amoniaco liberado dentro de un exceso de disolución de ácido sulfúrico y posterior valoración del exceso de ácido con disolución de hidróxido de sodio.

3.7.4 Diferencias entre el método directo y el método indirecto

- El método directo es más sencillo y rápido, ya que no requiere pasos adicionales para calcular el exceso de reactivos.
- El método directo mide directamente el volumen de HCL necesario para neutralizar el amoníaco liberado durante la destilación.
- El método directo es más adecuado para muestras donde se espera que todo el nitrógeno provenga de proteínas, como alimentos y productos agrícolas.
- El método indirecto puede ser más preciso en algunas situaciones, ya que permite corregir cualquier exceso de reactivos utilizados durante la destilación.
- El método indirecto se pueden evaluar muestras complejas, donde el nitrógeno puede provenir de múltiples fuentes, como en fertilizantes o alimentos con aditivos no proteicos.
- El método indirecto es más complejo debido a que requiere pasos adicionales para eliminar las interferencias no proteicas.

3.8 Normativa Nacional e Internacional de las bebidas vegetales.

Como tal, a nivel nacional no existen apartados específicos en las normativas de regulación para las bebidas vegetales, en comparación a los productos lácteos como es la leche cruda de vaca, la leche pasteurizada y ultra pasteurizada que tienen las Normas Salvadoreñas NSO 67.01.01:06 y la NSO 67.01.02:06 donde su objetivo principal es establecer las características físicas y químicas y microbiológicas que debe reunir la leche de vaca refrigerada o no refrigerada, asimismo la caracterización de la leche pasteurizada y ultra pasteurizada

Sin embargo, las bebidas vegetales terminan siendo reguladas por temas de etiquetado, composición y comercialización.

Dentro de la normativa aplicable se encuentra

Normativa Nacional

- Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 67.10.02:99 Directrices del CODEX sobre el etiquetado nutricional.
- Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 27.18.01:01 Productos Alimenticios. Bebidas No Carbonatadas Sin Alcohol. Especificaciones

Normas Internacionales.

- Reglamento (UE) n ° 1308/2013 del Parlamento Europeo y del Consejo. (crea la organización común de mercados de los productos agrarios).
- Reglamento (UE) No 1169/2011 del Parlamento Europeo y del Consejo (sobre la información alimentaria facilitada al consumidor).
- Norma Oficial Mexicana NOM-051-SCFI/SSA1-2010, Especificaciones Generales de Etiquetado Para Alimentos y Bebidas no Alcohólicas Preenvasados-Información comercial y sanitaria.

CAPÍTULO IV

4.0 PRODUCTO FINAL

4.1 Título de la Práctica

DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS EN BEBIDAS VEGETALES A BASE DE ALMENDRAS POR VOLUMETRÍA ÁCIDO-BASE APLICANDO EL METODO KJELHDAL

4.2 Objetivos

4.2.1 Determinar cuantitativamente el contenido de proteínas en una muestra de bebida vegetal a base de almendra.

4.2.2 Comparar los resultados obtenidos, con respecto a la declaración del contenido de proteínas del etiquetado del producto a evaluar.

4.3 Fundamento del método de análisis.

El método Kjeldhal es un procedimiento clásico en química analítica para determinar el contenido de nitrógeno en muestras orgánicas, fue desarrollado en el siglo XIX por el químico danés Johan Kjeldhal y se utiliza ampliamente en diversas industrias como la alimentaria, agrícola y medio ambiental.

Las proteínas son los constituyentes más importantes de la materia viva y uno de los alimentos básicos y esenciales del hombre y del mundo animal. Las proteínas pueden definirse como macromoléculas complejas de alto peso molecular que por hidrólisis completa rinden aminoácidos o compuestos similares.

Las proteínas son elementos fundamentales para la vida animal y vegetal desarrollando importantísimas y muy variadas funciones biológicas, forman parte de los tejidos, de las hormonas, de los anticuerpos, de las enzimas y son además componentes principales de la sangre, transportando grasas al torrente sanguíneo y oxígeno desde los pulmones hasta los tejidos. Así mismo presentan funciones estructurales formando partes de los tejidos animales como la piel. Los músculos, el cabello y el material córneo de las uñas.

El insuficiente consumo de alimentos ricos en proteínas trae consigo la aparición de enfermedades nutricionales como la desnutrición proteico-energética, la cual incluye una gama de categorías dentro de la que se destacan el marasmo, el Kwashiorkor y el enanismo nutricional, entre otros.

Por estas razones, la calidad nutritiva de un alimento está asociada directamente al contenido y calidad de sus proteínas.

El nitrógeno es el elemento químico más sobresaliente que se encuentra en las proteínas y a pesar de que no todo el nitrógeno de la materia orgánica proviene necesariamente de las proteínas, los métodos de determinación de proteínas totales usados hoy en día se fundamentan en la cuantificación del nitrógeno total.

El método aceptado universalmente como estándar para la determinación de nitrógeno total es el conocido como el método Kjeldhal, el cual considera tres etapas fundamentales, son: digestión, destilación y valoración.

- Digestión: se emplea ácido sulfúrico concentrado y un catalizador, que con ayuda de calor y sulfato de potasio oxidan la materia orgánica hasta CO_2 y agua y transforman todo el nitrógeno amínico en imínico provenientes de proteínas y aminoácidos de ion amonio.

- Destilación: la muestra digerida se trata con un álcali añadiendo exceso, el cual reacciona descomponiendo el sulfato de amonio en amoniaco, que es volátil y se destila por arrastre de vapor. Varios catalizadores han sido empleados entre ellos: mercurio, cobre y selenio. El amoniaco destilado se recoge en un Erlenmeyer con una mezcla de indicadores y disolución alcohólica de ácido bórico.

- Valoración: el borato de amonio formado se valora entonces utilizando como patrón valorante una disolución estandarizada de ácido clorhídrico.

4.4 Información de la muestra

Las bebidas vegetales a base de almendras, comúnmente conocidas como “leche de almendras”, son bebidas no lácteas elaboradas a partir de almendras y agua, son una alternativa popular a la leche de vaca, especialmente entre personas con intolerancia a la lactosa, veganos, o quienes busquen reducir el consumo de productos de origen animal.

4.5 Materiales y aparatos

- Balanza analítica.
- Aparato de digestión que permita mantener el matraz Kjeldahl en una posición inclinada y provisto de un sistema de calentamiento que no afecte más que a la parte del matraz ocupada por el líquido.
- Matraz Kjeldahl de 500 mL. de capacidad
- Refrigerante Liebig de tubo interior rectilíneo.
- Un tubo de salida con bulbo de seguridad esférico, conectado a la parte inferior del refrigerante por unión esmerilada.
- Una alargadera conectada al matraz Kjeldahl y el refrigerante Liebig por medio de goma. Uniones esmeriladas.
- Un matraz Erlenmeyer de 500 mL de capacidad.
- Probetas graduadas de 25, 50, 100 y 150 mL
- Bureta de 50 mL graduados a 0.1 mL.
- 3 perlas de vidrio.
- Mechero.

4.6 Reactivos

- Muestra (bebida vegetal a base de almendras)
- Ácido sulfúrico concentrado.
- Agua destilada.
- Azul de metileno.
- Indicador mixto para valoraciones de amoníaco.
- Oxido de mercurio (II).
- Sulfato de Potasio.
- Rojo de metilo.
- Disolución de ácido bórico al 4% m/v
- Disolución estandarizada de ácido clorhídrico 0.1N
- Disolución de hidróxido de sodio: 500g de NaOH, 12 g de sulfuro de sodio 9-hidrato, disueltos en 1000 mL de agua destilada.
- Indicador mixto: en su defecto puede preparar disolviendo 2 g de rojo de metilo y 1 g de azul de metilo en 1000 mL de alcohol etílico al 96%.

4.7 Precauciones

- Usar equipo de protección personal: bata de laboratorio, guantes de nitrilo, gafas de seguridad. Mascarilla para evitar inhalaciones de vapores.
- Manejar con cuidado el ácido sulfúrico concentrado y los catalizadores debido a que son altamente corrosivos.
- Trabajar en una campana extractora para evitar la exposición de vapores tóxicos.
- Pesar y medir cada reactivo con precisión para mayor exactitud.
- En el proceso de digestión con ácido sulfúrico. Controlar cuidadosamente la temperatura para evitar formación de espumas y ebullición excesiva.
- En los cálculos, aplicar el factor de corrección correcto, de acuerdo con la muestra analizada.
- Documentar cada uno de los detalles experimentales, pesos, medidas, condiciones ambientales, servirán para el análisis de resultados.
- Desechar los residuos químicos correctamente según las normativas de laboratorio.
- Es muy importante la limpieza del material de vidrio utilizado en este procedimiento para evitar interferencias durante el análisis.
- Los residuos de laboratorio deben recogerse para su eliminación en envases separados en función del tipo de sustancia química implicada. Los recipientes pueden etiquetarse, hay que asegurarse de que los compuestos químicos recogidos en cualquiera de las categorías no puedan reaccionar entre sí.

4.8 Procedimiento de la práctica

4.8.1 Preparación de la muestra

Antes del análisis, poner la muestra a $20^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{ C}$ y mezclarla cuidadosamente. Si no se obtiene una dispersión homogénea de la materia, calentar a 40° C , mezclar suavemente y enfriar de nuevo a $20^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{ C}$.

La muestra se debe etiquetar garantizando que la información que tiene la etiqueta no se pierda. La rotulación debe contener al menos los siguientes datos:

- Nombre de la muestra (incluir marca)
- Fecha en la que se hará el análisis.
- Hora en que se toma la muestra.
- Aspecto externo al momento del muestreo (temperatura, humedad).

- Temperatura a la que se toma alícuota para análisis.

4.8.2. Preparación de reactivos.

- Indicador Rojo de Metilo. Se disuelve 100 mg de Rojo de Metilo en 100 ml de Metanol y se filtra si es necesario.
- Solución de Ácido Bórico al 4%: Se disuelve 400 g H_3BO_3 en 5-6 L de agua desionizada caliente, luego Mezclar y añadir más agua desionizada caliente hasta completar los 9 L. Enfriar a temperatura ambiente, adicionar 100ml de verde de bromocresol y 70 ml de rojo de metilo, y diluir a 10 L.

4.8.3. Determinación

Introducir al matraz Kjeldhal de 500 mL, 3 perlas de vidrio, adicionar 10 g de sulfato de potasio, 0.5 g de óxido de mercurio II y alrededor de 5 g de bebida vegetal a base de almendras.

Añadir 20 mL de ácido sulfúrico concentrado y mezclar el contenido del matraz. Calentar cuidadosamente el matraz Kjeldhal sobre el dispositivo para la reacción hasta que no se forme espuma y el contenido se vuelva líquido. Continuar la reacción por calentamiento más intenso, hasta que el contenido del matraz esté perfectamente límpido e incoloro. Durante el calentamiento, agitar cuidadosamente el matraz cada cierto tiempo, cuando el líquido esté perfectamente límpido, proseguir a la ebullición durante una hora y media, evitando todo el sobrecalentamiento local. Dejar enfriar el contenido del matraz Kjeldhal a temperatura ambiente, añadir alrededor de 150 mL, de agua destilada y mezclar cuidadosamente y dejarlo enfriar un poco más.

Agregar con la ayuda de una probeta graduada, 50 mL de disolución de ácido bórico 4% m/v en un matraz Erlenmeyer colector, añadir 4 gotas de indicador mixto y mezclar.

Situar el matraz Erlenmeyer colector bajo el refrigerante, de manera que el extremo del tubo de salida se introduzca en la disolución de ácido bórico.

Añadir con la ayuda de una probeta graduada al contenido del matraz Kjeldhal 80 mL de la disolución de hidróxido de sodio que contiene sulfuro. Durante esta operación, mantener el matraz inclinado, de tal manera que el hidróxido de sodio se deslice a lo largo de la pared del recipiente y que los líquidos se mezclen.

Conectar inmediatamente el matraz Kjelhdal al refrigerante por medio de la alargadera. Mezclar el contenido del matraz por agitación, Calentar a ebullición evitando la espuma. Proseguir la destilación hasta el momento en que el contenido del matraz presente ebullición a saltos. Regular el calentamiento de manera que la destilación dure por los menos 20 minutos. Enfriar bien el destilado para evitar que se caliente la disolución de ácido bórico. Poco antes de terminar la destilación, bajar el matraz recolector para que el tubo de salida no esté introducido en la disolución de ácido bórico.

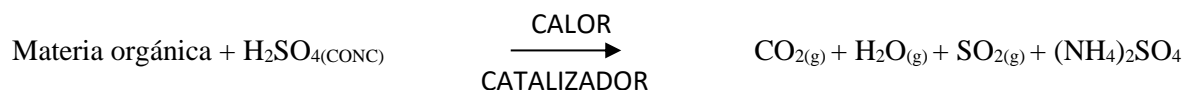
Detener el calentamiento, elevar el tubo de salida y enjuagar las paredes exteriores con un poco de agua destilada, proceder a valorar el destilado con disolución estandarizada de ácido clorhídrico 0.1N.

4.8.4 Ensayo en blanco

Para efectuar el ensayo en blanco, se aplicará el método operativo descrito anteriormente, pero utilizando 5 mL de agua destilada en lugar de leche

4.9 Reacciones

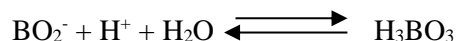
Digestion



Destilación



Valoración



4.10 Cálculos

$$\% \text{Nitrógeno} = \frac{(V_M - V_B) \times C \left(\frac{\text{HCl}}{1}\right) \times 14 \times 100}{1000 \times m(M)}$$

Donde:

V_M Son los ml de HCl consumidos en la valoración de la muestra

V_B Son los ml de HCl consumidos en la valoración del ensayo en blanco

C (HCl/1) es la normalidad o concentración molar del equivalente de la disolución de HCl

14 es la masa molar del equivalente de nitrógeno, expresada en g/mol

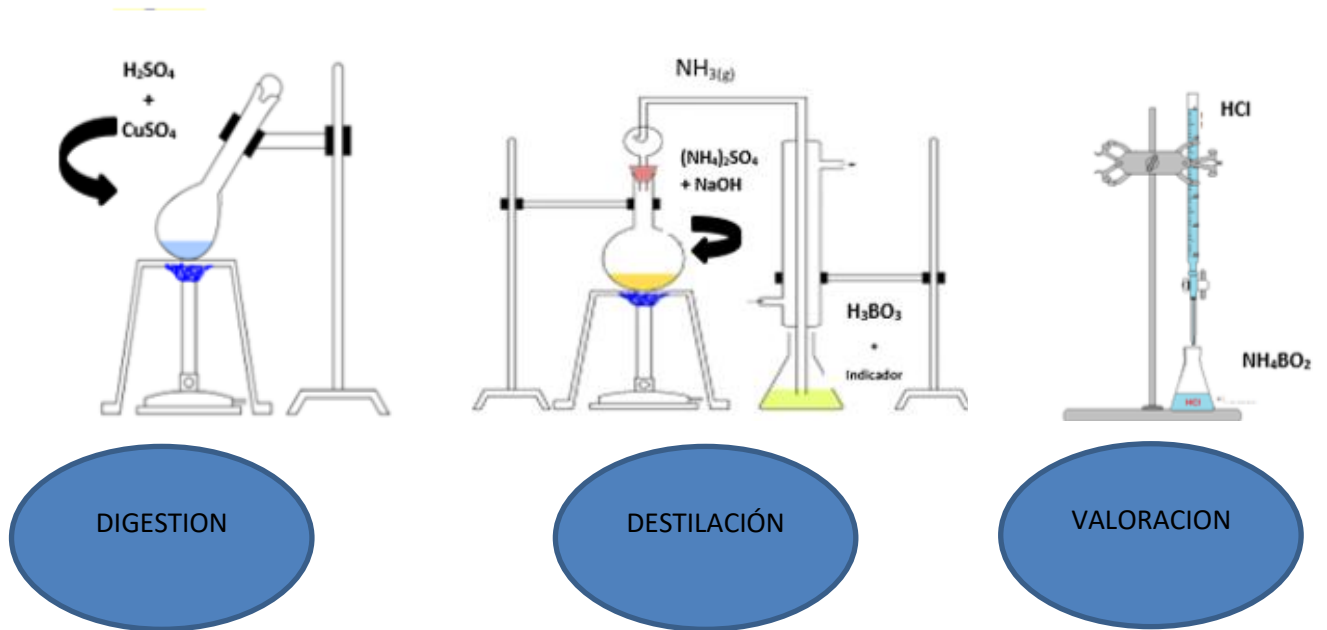
$m(M)$ es la masa en gramos de la porción de ensayo pesada para el análisis

Proteínas: Para expresar el contenido en proteínas es preciso multiplicar la cantidad de nitrógeno total, obtenida según el método descrito, por un factor de conversión que es propio de cada alimento 6,25.

Bibliografía

Fernández HMZ. Análisis Químico de los Alimentos. Miami: Ciudad Educativa; 2022.

Figura N°1: Instrumental clásico empleado para la determinación de proteínas



CAPÍTULO V

5.0 CONCLUSIONES

1. El análisis químico de los alimentos es un instrumento importante y fundamental que permite la cuantificación del componente químico que se desea evaluar, entre ellos se encuentran los macronutrientes como lo son las proteínas. Todas las técnicas, métodos, o procedimientos utilizados en el análisis químico son esenciales de manera que con ellos se puede garantizar que los alimentos que salen al mercado cumplan con las normativas sanitarias, brinden información necesaria para el etiquetado nutricional y se formulen nuevos productos en investigación.
2. El método Kjeldhal es una técnica ampliamente utilizada para la determinación del contenido de nitrógeno e indirectamente de las proteínas, es uno de los procedimientos de referencia en la industria alimentaria debido a su fiabilidad en la técnica y los resultados. Consta de tres pasos; digestión, destilación y valoración, a partir de la cantidad de nitrógeno obtenido se puede calcular el contenido de proteínas multiplicando por un factor de conversión específico para cada alimento, en caso no exista ese factor para ese alimento, se puede hacer por medio de un factor común.
3. Las bebidas vegetales a nivel nacional e internacional no cuentan con una normativa específica o una estandarización de métodos para el análisis de los diferentes micronutrientes y macronutrientes, esto debido a que son productos relativamente recientes dentro del mercado, sumando a eso, existen una amplia variedad de bebidas (almendras, avena, soja, arroz, coco, etc.), que ofrecen diferentes características nutricionales, texturas o propiedades diferentes, no obstante si existen normativas a nivel nacional que pueden ser aplicadas, como es la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO “Directrices del Codex Alimentarius Sobre Etiquetado Nutricional” la cual detalla la información que debe contener el etiquetado nutricional, de manera que facilite al consumidor los datos sobre dicho alimento, el contenido de nutrientes, la cantidad, y que, declare conforme a los análisis químicos realizados al producto previo a salir al mercado.

CAPÍTULO VI

6.0 RECOMENDACIONES

1. Para los docentes que desarrollan la práctica de laboratorio, se recomienda al momento de tomar la muestra para el análisis, utilizar bebidas vegetales a base de almendras de las diferentes marcas que se comercializan en el mercado nacional, debido a que la comparación de los resultados se hará con respecto al contenido de proteína que declare la etiqueta del producto.
2. Para el laboratorio de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, utilizar reactivos de grado analítico o superior, que cumplan con las normas internacionales de calidad (ACS, ISO).
3. Debido a que en el país no cuenta con regulaciones específicas nacionales e internacionales sobre las bebidas vegetales, se recomienda a la entidad reguladora, la Superintendencia de Regulación Sanitaria, la creación de normativas o reglamentaciones que regulen o estandarice las características físicas, químicas y microbiológicas que debe reunir las bebidas vegetales para el consumo humano, de esta manera asegurar la calidad, eficacia y seguridad de estos productos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Fernández HMZ. Análisis Químico de los Alimentos. Miami: Ciudad Educativa; 2022.
2. Del Carmen IH. Bebidas Vegetales: situación actual en el mercado y preferencias de los consumidores. [Barcelona, España]: Universidad Politécnica de Catalunya; 2022.
3. Hernández G, Hernández R. Bebidas vegetales y sus aportes funcionales. Ciencia e innovación agroalimentaria de la Universidad de Guanajuato. 2021;3:31–48.
4. Gaspar TV, Alonso PR, Moreno ER, Torres JMÁ, Morerías GV. La alimentación española, características nutricionales de los principales alimentos de nuestra dieta. Madrid, España: Ministerio de agricultura, pesca y alimentación; 2018.
5. Carta AF. Perfil nutricional de bebidas vegetales industrializadas y comercializadas en la ciudad de Rosario en relación a la leche de vaca. [Uruguay]: Universidad de Concepción del Uruguay; 2021.
6. Thompson JL, Manore MM, Vaughan LA. Nutrición. Madrid, España: Pearson Educación S.A.; 2008.
7. Iturbe F, Sandoval J. Análisis de alimentos Fundamentos y Técnicas. México: Comité Editorial de la FQ de la Universidad Nacional Autónoma de México; 2011.
8. Gavidia Valencia JG, Vanegas Casanova EA, Miguel R, Uribe VJC, Gutiérrez Mendoza DD, Al E. Determinación del factor de conversión de nitrógeno a proteína en huevos de Coturnix coturnix L. Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica. 2020;39:705–711.
9. Greenfield H, Southgate DAT. Datos de composición de alimentos, obtención, gestión y utilización. España: FAO; 2003.

ANEXOS

ANEXO N°1

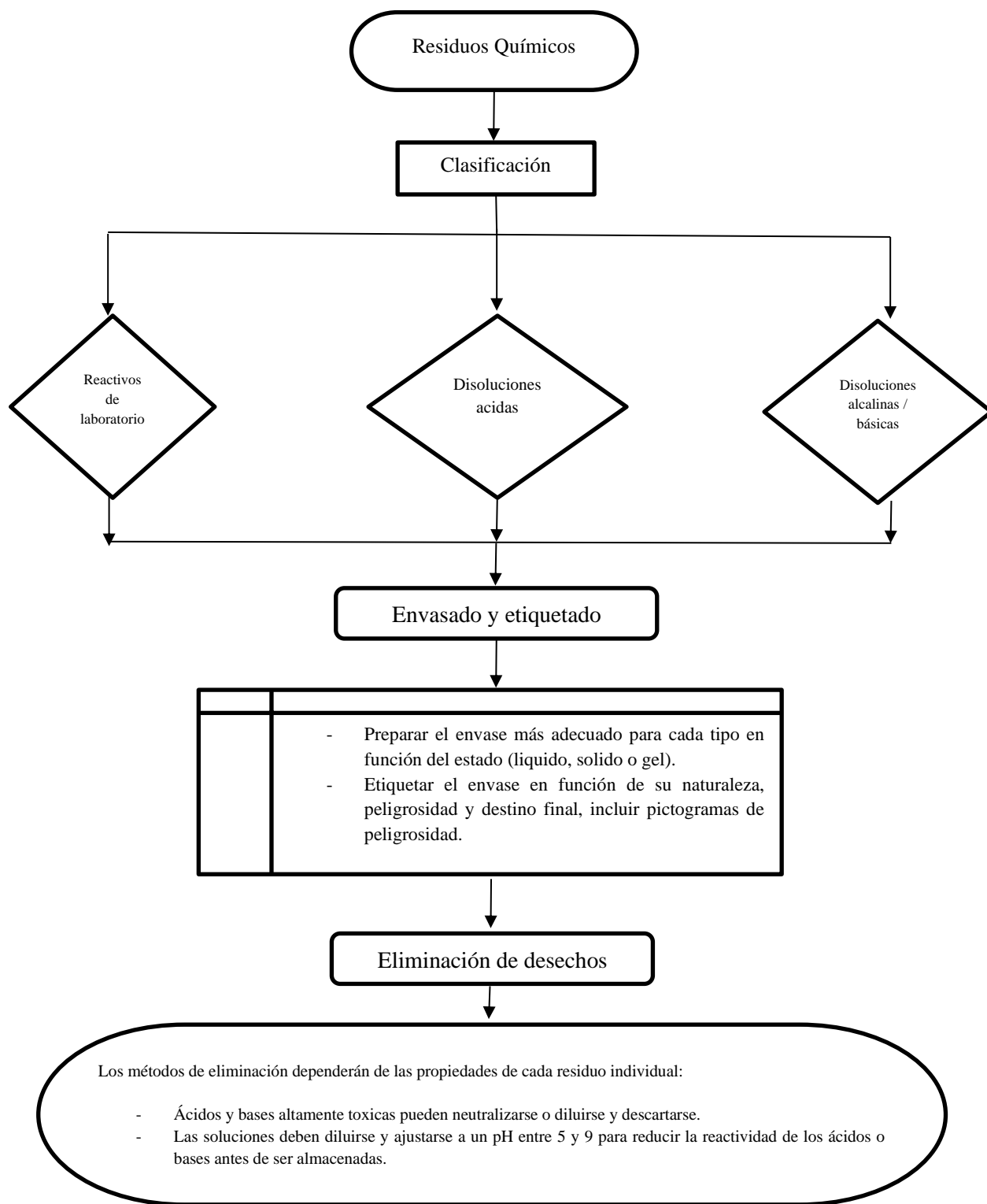


Figura N°1 Diagrama de manejo de residuos para ácidos, álcalis y reactivos.

Fuente: elaboración propia