

7  
664.07  
HAS.

ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL

INSTITUTO TECNOLOGICO

PROGRAMA DE TECNOLOGIA EN ALIMENTOS

INFORME DE PRACTICAS PROFESIONALES  
PREVIDO A LA OBTENCION DEL TITULO :

TECNOLOGO EN ALIMENTOS



BIBLIOTECA  
DE ESCUELAS TECNOLOGICAS

Realizado en : LATINRECO S.A.

Autor : MINA [HASING CHENG

Profesor guía : DRA GLORIA BAJANA

ANO LECTIVO

1990 - 1991

GUAYAQUIL - ECUADOR



BIBLIOTECA  
DE ESCUELAS TECNOLOGICAS



D-24100

CIB

Guayaquil 10 de Octubre de 1990

Tecnlgia. Maria Emilia Paz  
Coordinadora del Programa de Tecnologia en Alimentos

De mis consideraciones :

Con el objeto de cumplir un prerequisite para la obtención del título de "Tecnólogo en Alimentos" en el Programa que usted dirige , presento en este informe el resultado de la labor realizada durante las prácticas profesionales en la compañía LATINTRECO S.A durante el periodo Marzo - Agosto del presente año.

Esperando de este modo haber llenado satisfactoriamente los requisitos que solicita la Escuela , quedo de usted.

Atentamente

*Mina Hasing*

Mina Hasing Cheng.



BIBLIOTECA  
DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS

Latinreco S.A.

CENTRO DE DESARROLLO DE ALIMENTOS

VIA INTEROCEANICA KM. 12,5  
CASILLA POSTAL 6053-CCI  
QUITO - CUMBAYA (ECUADOR)



BIBLIOTECA  
DE ESCUELAS TECNOLOGICAS

A QUIEN PUEDA INTERESAR

S/REF.

N/REF.

MK/mse

QUITO,

Agosto 31, 1990

Certificamos:

Que la Srta. MINA ALBA HASING CHENG (C.I. 091110112-9) fue elegida BECARIA para prácticas en los Laboratorios de LATINRECO S.A. durante el período comprendido entre el lro. de marzo al 31 de agosto de 1990, efectuando los siguientes análisis físico-químicos:

Humedad, nitrógeno, proteínas, equivalentes de dextrosa, acidez, pH, actividad de agua, oxígeno residual, grados Brix, cloruro de sodio, oleoresinas, azúcares (por Potterat-Eschmann y por métodos enzimáticos), almidones y ácido glutámico;

y los siguientes análisis microbiológicos:

Recuento total, mohos, levaduras, coliformes, E. coli, Salmonella, Staphylococcus aureus, Campylobacter, y pruebas de "API".

Además, la Srta. Hasing recibió instrucción en los análisis siguientes (sin que ella los realice):

Grasa (Soxhlet), fibra, solubilidad, miscibilidad, viscosidad (Brabender y Haake), granulometría, y la criopreservación de cultivos.

Autorizamos a la portadora del presente certificado a hacer uso de él como a bien tuviere.

Atentamente,

Ch. Wahli  
Gerente General

## INDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
LABOR REALIZADA.....	3
LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD.....	4
ANALISIS REALIZADOS.....	5
LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA.....	33
ASPECTOS GENERALES DE LA EMPRESA.....	54
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	58
BIBLIOGRAFIA.....	60
ANEXOS.....	61



BIBLIOTECA  
DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS

## RESUMEN

El presente informe resume los aspectos más importantes sobre los conocimientos adquiridos y el trabajo realizado durante mi estadía como practicante en el centro de investigaciones de NESTLE para América Latina ( Latinreco S.A. ).

En este trabajo se incluyen los Aspectos Generales de la Empresa como son:

- Tamaño
- Ubicación
- División Departamental
- Actividad de la Empresa

La forma de operación en cuanto a la recepción de muestras , los análisis tanto bromatológicos como microbiológicos que se realizan a los diferentes productos desarrollados como requisito indispensable de calidad para ser producidos a nivel industrial son detallados en este trabajo, así como la labor desempeñada en las prácticas.

## INTRODUCCION

LATINRECO S.A. ( Latinoamerican Research Company S.A. ) es el centro de investigaciones de la Nestlé para América Latina.

Es Filial directa de la Casa Matriz en Suiza y regula sus especificaciones y técnicas de acuerdo a las vigentes en el país de origen. Se dedica exclusivamente al desarrollo de nuevos productos y reformulación de los ya existentes tratando de reemplazar los ingredientes tradicionales importados por otros más económicos, que cumplan con las necesidades nutricionales esperadas y de fácil acceso en el país en que se fabrique el producto ( en este caso Sudamérica ).

Además cuenta con un departamento de agricultura que se encarga de desarrollar y mejorar nuevas especies de cereales y plantas que le puedan ser útiles a sus propósitos.

Latinteco también presta sus servicios de investigación a los otros RECOS o centros de investigaciones de la Nestlé ubicados en otros países Europeos, Asiáticos y en E.E.U.U., ya que entre ellos existe comunicación constante, programas de entrenamiento y actualización de información por pertenecer todos a la gran familia de la Nestlé.

Durante mi estadía de seis meses como practicante en esta Institución, fui asignada a los laboratorios de control de calidad por cinco meses y al laboratorio de microbiología por un mes, donde desempeñé las funciones de analista una vez aprendidas las diferentes técnicas desarrolladas en cada uno de éstos laboratorios.

El horario a cumplir fue el de todos los empleados: 8:00 AM - 4:45 PM, gozando de los beneficios de transporte , comida y remuneración mensual.

## LABOR REALIZADA

Durante los seis meses de prácticas en los laboratorios de Latinreco tuve la oportunidad de realizar el trabajo de un analista comprendiendo éste :

- Recepción e ingreso de muestras.
- Desecho de muestras y materiales rotos.
- Preparación de soluciones y reactivos
- Preparación de medios de cultivo.
- Técnicas de análisis bromatológicos y microbiológicos , siendo los más efectuados los análisis de oleorresinas , almidones , azúcares , y siembra de cultivos que fueron los primeros que pude realizar sola sin la supervisión de los jefes de laboratorio. La determinación de *Campylobacter* fue una técnica a mi asignada para su desarrollo.

En el transcurso del primer mes de práctica tuve la oportunidad de colaborar con un proyecto nutricional en el empaquetamiento y etiquetado de las muestras.

## LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD

Tiene un sistema de trabajo organizado y eficiente que permite a las personas que laboran en el mismo cumplir con los análisis requeridos por los diferentes jefes de proyectos que están realizando el desarrollo de un producto.

Existen seis grupos de trabajos , cada uno de los cuales abarca técnicas específicas.

Cada laboratorista o analista rota por cada grupo de trabajo quince días.

Se anotan los análisis solicitados , tanto en la hoja de ingreso como en el libro de análisis , apuntando:

- Número de proyecto
- El ensayo
- La variante
- Fecha de fabricación del producto
- Fecha de entrega al Laboratorio
- Nombre de la persona que dirige el proyecto
- Nombre de la muestra a analizarse

A cada muestra se le asigna una letra del alfabeto con un respectivo número y de esta forma se lo identifica.

Una vez realizados los análisis , los datos obtenidos son reportados en el libro de análisis y a su vez , éstos son pasados a la hoja de ingreso , siendo finalmente revisada por el Jefe del Laboratorio . A las hojas de ingreso revisadas se las fotocopian con el objeto de que el original se quede en el archivo del laboratorio y la copia vaya a poder de la persona que pidió el ó los análisis.

Ver hoja de ingreso en Anexo # 1.

## ANALISIS REALIZADOS

### ESTIMACION COLORIMETRICA DE GLICOALCALOIDES TOTALES EN TUBERCULOS DE PAPA

El sabor amargo y toxicidad de algunas papas (*Solanum Tuberosum*) se atribuye a su alto contenido de glicoalcaloides totales (TGA). Normalmente se encuentran niveles de 20 a 150 ppm con respecto a materia fresca. Las que tienen un contenido mayor a 400 ppm producen trastornos digestivos, y en casos graves, perturbación mental, estado de coma y muerte, por lo cual, las que contienen mas de 200 ppm no son aceptadas para consumo humano.

Los TGA se analizan colorimétricamente y se reportan como SOLANINA.

Fundamento.- Los glicoalcaloides se extraen con ácido sulfúrico, se precipitan las proteínas con carrez y se realiza una hidrólisis ácida de los mismos para obtener los respectivos aglicones que son determinados colorimétricamente como SOLANIDINA que estequiométricamente se transforman a contenido de SOLANINA.

#### Reactivos.-

- Acido sulfúrico 7N (ver anexo 2)
- Reactivo de Carrez a (10,6% de ferrocianuro de potasio)
- Reactivo de Carrez b (21.9% de Acetato de Zinc en ácido acético 2%).
- Cloroformo
- Hidróxido de Amonio 7N (ver anexo 2)
- Hidróxido de Amonio 1N (ver anexo 2)
- Diclorometano
- Buffer de Borato (ver anexo 2)
- Solución de Azul de Bromotimol (ver anexo 2)
- Hidróxido de Sodio 0.01 N (ver anexo 2)
- SOLANINA y SOLANIDINA para utilizar como estándares.

### Técnica.-

#### Selección de la muestra:

De un muestreo aleatorio de 10 a 20 papas lavadas y secadas y que pesen entre 100 y 200 gramos cada una, se corta una rodaja de aproximadamente 1 centímetro de ancho de la parte central de cada papa (si no se dispone de suficiente muestra se puede usar la papa entera).

#### Extracción :

Dividir las rodajas cortadas en dos muestras de 200 gramos cada una, poniendo una de las muestras en el refrigerador (si no puede analizarse de inmediato, guardar las muestras en congelación a - 15 grados centígrados). Poner la otra muestra en una licuadora con exactamente 300 ml de agua destilada y licuarlo durante dos minutos. Transferir la pulpa a una fiola de 1000 ml. Enjuagar la licuadora con 75 ml de agua destilada y transferir todo el residuo a la fiola. Añadir 315 ml de ácido sulfúrico 7N, mezclar bien y dejar en reposo por 20 minutos. Sacar la otra muestra del refrigerador y tratarla de la misma manera. Centrifugar las muestras y colectar el sobrenadante.

#### Desproteínización:

Transferir una alícuota de 75 ml del sobrenadante a un matraz aforado de 100 ml, añadir 10 ml de carrez a, 10 ml de carrez b y aforar a 100 ml con agua destilada. Mezclar bien y dejar en reposo durante treinta minutos, luego centrifugar colectando el sobrenadante desproteínizado.

#### Hidrólisis :

Transferir 50 ml del sobrenadante desproteínizado a un balón de fondo redondo de 250 ml y añadir 75 ml de cloroformo. Calentar a 80 grados centígrados bajo reflujo durante 2,5 horas. Los aglicones formados por la hidrólisis de los glicoalcaloides pasarán continuamente a la fase cloroformo.

Enfriar la solución a temperatura ambiente y ajustar el pH a 10 usando hidróxido de amonio 7N (pueden guardarse las muestras en esta etapa, bajo refrigeración 24 horas). Transferir la solución cuantitativamente a un embudo de separación de 250 ml y pasar a la fase de cloroformo (fase inferior) a un segundo embudo de separación. Lavar la fase acuosa del primer embudo con 20 ml de cloroformo, agitar, pasar la fase cloroformo junto al colectado en el segundo embudo y desechar el residuo acuoso del primero. Lavar la fase cloroformo total con 25 ml de Hidróxido de Amonio 1N. Pasar la fase cloroformo a un matraz aforado de 100 ml y aforar con el mismo solvente.



- Estándares sin tratamiento previo

Las ecuaciones resultantes son :

Con las absorbancias de los dos estándares , y mediante regresión lineal se obtienen las ecuaciones de cuantificación

se les denomina sin tratamiento previo).  
realiza el análisis colorimétrico respectivo (a estos estándares anteriores , disolviendo SOLANIDINA en diclorometano , y se estándares de SOLANIDINA con las mismas concentraciones que los muestra , especialmente en la hidrólisis se preparan otros observar las pérdidas ocasionadas por el tratamiento de la les denomina Tratados como la muestra). Con la finalidad de colorimétrico especificado anteriormente (a estos estándares se disueltos en diclorometano. Finalmente se realiza el análisis estándares de SOLANIDINA de 2,4,6,8,10,12,14, y 16 ug/ml , a sequedad y dilución en diclorometano , con lo que se obtienen esto es : extracción , desprotección , hidrólisis , evaporación preparación de la muestra , continuando con todo el proceso , de volumen en agua hasta completar los 300 ml iniciales de la acético en 2% en metanol. Luego se utilizan alícuotas de estándar madre conteniendo 100.5 ug/ml de SOLANINA , en ácido Para obtener la ecuación de cuantificación se prepara un

Cuantificación :

diclorometano obtenida en la preparación de la muestra.  
mayor a 1,2 se debe diluir la solución de alcaloides en solución de alcaloides en diclorometano. Si la absorbancia es tratando 10 ml de diclorometano de la misma manera que la en cubeta de cuarzo , contra un blanco , el cual se obtiene NaOH 0.01N en etanol y mezclar. Medir la absorbancia a 620 nm , 5 ml de la fase inferior en un tubo de ensayo , agregar 1 ml de (ventilando la presión a través de la tapa). Recoger exactamente bromotímolo 0.2 M. Agitar la solución durante 2 minutos solución de alcaloides en diclorometano y 5 ml de Azul de diclorometano , mojando también la llave. Añadir 10 ml de la Enjuagar un embudo de separación de 25 ml con un poco de

Análisis colorimétrico :

mi con el mismo solvente.  
balón con más diclorometano y añadir el mismo matraz. Aforar a 10 diclorometano pasando a un matraz aforado de 10 ml. Enjuagar el vacío. Disolver el residuo en aproximadamente 5 ml de 100 ml y evaporar a sequedad a 35 grados centígrados usando Pasar una alícuota de 80 ml a un balón de fondo redondo de Evaporación a sequedad y dilución en diclorometano :

$$1 \quad A = 0.0365C - 0.0041 \quad r = 0.9998$$

- Estándares tratados como la muestra

$$2 \quad A = 0.0138C + 0.0006 \quad r = 0.9993$$

En donde :

C = Concentración de SOLANIDINA ug/ml

A = Absorbancia a 620 nm

r = Coeficiente de correlación

Con los estándares tratados como la muestra se puede observar que existe linealidad en las pérdidas causadas por su preparación, obteniéndose un coeficiente de correlación de 0.9993.

En un análisis dado es recomendado cuantificar los resultados utilizando la ecuación (2) de estándares tratados como la muestra.

El contenido de TGA de la muestra, reportado como SOLANINA se calcula con la siguiente fórmula :

$$3 \quad \text{SOLANINA (ppm)} = \frac{C * M_{sni} * V * v_1 * v_2 * v_3}{m * M_{sdi} * a_1 * a_2 * a_3}$$

En donde :

C = Concentración de SOLANIDINA dada por la ecuación de cuantificación (2), ug/ml

M<sub>sni</sub> = Peso molecular de SOLANINA = 867

m = Peso de muestra en g

V = Volumen de dilución de la muestra inicial = 690 ml

v<sub>1</sub> = Aforo de muestra luego de la desproteínización = 100 ml

v<sub>2</sub> = Aforo de muestra luego de la hidrólisis = 100 ml

v<sub>3</sub> = Aforo final luego de la evaporación a sequedad = 10 ml

M<sub>sdi</sub> = Peso molecular de SOLANIDINA = 397

a<sub>1</sub> = Alicuota tomada para la desproteínización = 75 ml

a<sub>2</sub> = Alicuota tomada para la hidrólisis = 50 ml

a3 = Alicuota tomada para la evaporación a sequedad = 80 ml

Si se prepara la muestra utilizando los volúmenes de alicuotas y aforos recomendados anteriormente, la ecuación (3) se simplifica a la siguiente fórmula :

$$4 \text{ SOLANINA (ppm)} = \frac{C * 502.2922}{m}$$

Ejemplo : Contenido de TGA en la variedad de papa "Margarita colorada"

- Determinación de la concentración de SOLANIDINA, utilizando la ecuación (2) :

$$2 \quad A = 0.0138C - 0.0006$$

Despejando C :

$$C = \frac{A - 0.0006}{0.0138}$$

Del análisis colorimétrico se obtuvo :

$$A = 0.1240$$

$$C = \frac{0.1240 - 0.0006}{0.0138}$$

$$C = 8.9420 \text{ ug SOLANIDINA/ml}$$

- Cálculo del contenido del TGA como SOLANINA, aplicando la ecuación (4), dado que se utilizaron los volúmenes sugeridos en la preparación de la muestra :

$$4 \quad \text{SOLANINA (ppm)} = \frac{C * 502.2922}{m}$$

Para lo cual se dispone de los siguientes datos :

$$C = 8.9420 \text{ ug SOLANIDINA/ml}$$

$$m = 197.77 \text{ gs (peso de muestra inicial)}$$

$$\text{SOLANINA (ppm)} = \frac{8.9420 * 502.2922}{197.77}$$

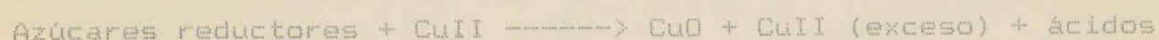
$$\text{SOLANINA} = 22.71 \text{ ppm}$$

DETERMINACION DEL EQUIVALENTE DE DEXTROSA (D.E.) PARA PRODUCTOS FARINACEOS (METODO MODIFICADO DE SCHOOLL)

El equivalente de dextrosa es el contenido de sustancias reductoras , expresadas como porcentaje de D-Glucosa sobre materia seca.

Fundamento .- El producto en solución es calentado en presencia de cobre II. La reducción parcial del cobre II a cobre I es proporcional a la cantidad de sustancias reductoras presentes. El cobre II no reducido es determinado yodométricamente, el cual por diferencia con un blanco da como resultado el cobre reducido.

Las reacciones que ilustran el principio del método son :



Materiales y Equipos.-

- Pesa muestra
- Balones de base plana con cuello esmerilado de 250 ml
- Condensador de vidrio
- Mechero de Bunsen
- Varilla y agitador magnético
- Pipetas volumétricas
- Piceta
- Balanza analítica
- Dosificador Multi-dosimat (para titulación)
- Cronómetro



BIBLIOTECA DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS

### Reactivos.-

- Fehling I (ver Anexo 2)
- Fehling II (ver Anexo 2)
- Solución de yoduro de potasio al 30% ( ver Anexo 2)
- Solución de ácido sulfúrico al 28% (ver Anexo 2)
- Solución estabilizada de almidón (ver Anexo 2)
- Solución de tiosulfato de sodio 0.1 mol/l (ver Anexo 2)
- Solución de NaOH 1N (ver Anexo 2)

### Técnica.-

Pesar 0.12 g de muestra de producto seco de un equivalente de dextrosa bajo (aproximadamente de 58%).

En un balón adicionar :

- 10 ml de solución fehling I
- 10 ml de solución fehling II

Muestra pesada

20 ml de agua destilada

Colocar el balón en el condensador y calibrar el mechero de tal forma que la solución ebulle en 2 minutos  $\pm$  15 segundos y dejar hervir por 2 minutos más (total 4 minutos de calentamiento). Detener la ebullición rápidamente por adición de 20 ml de agua destilada a lo largo del condensador. Enfriar la solución hasta temperatura ambiente bajo chorro de agua fría. Enjuagar las paredes internas del condensador con 20 ml de agua destilada.

Retirar el condensador y adicionar :

- 10 ml de yoduro de potasio al 30%
- 10 ml de ácido sulfúrico al 28%

Titular rápidamente con la solución de tiosulfato de sodio 0.1 mol/l hasta que la coloración amarilla del yodo desaparezca casi completamente.

Adicionar 1 ml de solución de almidón y titular hasta que la coloración azul desaparezca. Anotar el consumo total (v1).

Preparar el blanco : Ejecutar de igual forma dos determinaciones con los reactivos sin muestra. Si la diferencia entre ambos volúmenes usados para la titulación (vo) excede de 0.2 ml , efectuar una tercera determinación. Calcular el promedio de los volúmenes (vo). Repetir la prueba del blanco siempre que el reactivo sea reemplazado.

Cálculos.-

$$\% \text{ Equivalente de Dextrosa} = \frac{F(v_0 - v_1) * 3.42 * 100}{m}$$

En donde :

F = factor de corrección de la titulación del tiosulfato de sodio 0.1 mol/l. En general es 1

v<sub>0</sub> = Volumen usado para la titulación en ml (debe estar comprendido entre 27,2 y 28,0 ml)

v<sub>1</sub> = Volumen usado en la titulación de la muestra

3,42 = Factor de cálculo por comparación del método de Schooli con el método Lane-Eynon's

m = Peso de la muestra calculado sobre materia seca en mg

Nota.- Chequear la titulación de la solución de tiosulfato de sodio 0.1 mol/l adicionando en un balón:

10 ml de fehling I

30 ml de agua destilada

10 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 28%

10 ml de yoduro de potasio 30%

Titular con tiosulfato de sodio 0.1 mol/ml recientemente preparado , adicionar 1 ml de almidon soluble y titular hasta el punto final. El volumen debe estar comprendido entre 27,2 y 28.0 ml. Después de una semana chequear la titulación usando los mismos reactivos.

Cálculo del factor :

$$F = \frac{x \text{ ml}}{y \text{ ml}}$$

Ejemplo : Determinación del equivalente de dextrosa en Cereal popular infantil (Cerpi)

	Peso	ml de tiosulfato de sodio 0.1 mol/ml
muestra	106 mg	22,52
Blanco	-	27,48

$$F = \frac{22,83}{22,83} = 1$$

$$\% \text{ equivalente dextrosa} = \frac{1(27,48-22,52)*3,42*100}{106} = 16$$

Equivalente de dextrosa = 16%



BIBLIOTECA  
DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS

## DETERMINACION DE SULFITOS

Esta técnica se la utiliza para determinar la cantidad de sulfitos (ppm) que ha sido añadida en una muestra alimenticia.

Fundamento.- El Acido clorhídrico consigue liberar el sulfito de la muestra el cual se extrae mediante ebullición con corriente de nitrógeno y es oxidado a ácido sulfúrico por acción del peróxido de hidrógeno y finalmente es titulado con hidróxido de sodio 0.1N

### Materiales y Equipos.-

- Cilindro graduado de 100 ml
- Pipetas volumétricas de 25 ml
- Pipetas graduadas de 5 y 10 ml
- Bureta
- Equipo para sulfitos (ver anexo 3)
- Titulador Multi-Dosimat
- Balanza analítica

### Reactivos.-

- Peróxido de hidrógeno
- Hidróxido de sodio al 30% (ver anexo 2)
- Pirogalol
- Nitrógeno gaseoso (N<sub>2</sub>)
- Terbutanol
- Acido clorhídrico 0.1N (ver anexo 2)
- Acido clorhídrico 4N (ver anexo 2)
- Azul de Bromofenol (ver Anexo 2)

### Técnica.-

Armar el equipo para sulfitos (ver anexo 3) y activar el paso de Nitrógeno por 4 minutos para que el sistema se libere de oxígeno. Poner 2 gramos de pirogalol en la botella que contiene hidróxido de sodio al 30% sin permitir en lo posible el ingreso de oxígeno en la misma (En presencia de oxígeno el pirogalol torna café al hidróxido de sodio, con lo cual se detecta el ingreso del oxígeno en el sistema).

Colocar en un Erlenmeyer 2.5 ml de peróxido de hidrógeno, 25 ml de agua destilada, 3 gotas de azul de bromofenol y 0.3 ml de terbutanol. Volver el medio a pH ácido con ácido clorhídrico 0.1N añadido gota a gota hasta coloración amarilla (el erlenmeyer se coloca al final del equipo de sulfitos para recoger la corriente de nitrógeno que transporta al sulfito).

Pesar 20 gramos de muestra, la cual debió haber estado cerrada hasta ese momento y colocarla en el balón de 3 bocas del equipo de sulfitos. Agregar 200 ml de agua destilada y poner el balón en la manta calefactora. Una vez caliente agregar 50 ml de ácido clorhídrico 4N.

Cuando el nitrógeno se empieza a condensar a razón de una gota por segundo se deja calentar la muestra por una hora. Retirar la corriente de nitrógeno y suspender el calor.

Titular con hidróxido de sodio 0.1N hasta coloración azul.

### Cálculos .-

$$SO_2 \text{ (ppm)} = \frac{\text{ml NaOH} * 32000 * N}{m}$$

En donde :

32000 = Equivalente de SO<sub>2</sub> (mg)

N = Normalidad del Hidróxido de sodio

### Ejemplo.-

Muestra : Pimiento verde

$$SO_2 \text{ (ppm)} = \frac{4.20 * 32000 * 0.1}{19.7487}$$

$$SO_2 = 680.55 \text{ ppm}$$

Observaciones.-

- El terbutanol en este caso actúa como antiespumante
- Al iniciar el calentamiento el calor aplicado es fuerte para acelerar la ebullición y producirse la condensación del nitrógeno a razón de 1 gota/seg luego de lo cual se debe bajar la temperatura para que la velocidad de reacción sea constante y no se pierda muestra por el condensador.
- Cuando la botella que contiene la solución de NaOH 30% con el pirogalol se torna color café significa que la solución está oxidada y está entrando oxígeno en el sistema , en este caso el NaOH debe ser cambiado y se debe bombear N<sub>2</sub> al sistema para desplazar el O<sub>2</sub> presente.
- La muestra para este análisis debe ser abierta justo en el momento de realizarlo para evitar que se oxiden los sulfitos los cuales pasan a sulfatos que no pueden ser detectados.

## DETERMINACION DE ACTIVIDAD DE AGUA (AW)

Fundamentos.- Este análisis se basa en la determinación de la humedad relativa de la muestra al ponerla en contacto con un sensor durante un tiempo determinado por equilibrio de humedad. La actividad de agua se calcula dividiendo la humedad relativa para 100.

### Materiales y Equipos.-

- Espátula
- Caja plástica
- Equipo sensor NOVASINA
- Incubadora a 25 grados centígrados  $\pm$  0.2 grados centígrados

### Técnica.-

Homogenizar la muestra si fuera necesario. Llenar la caja plástica, que debe estar bien seca, con la muestra. Colocar la caja con muestra dentro del sensor, evitando el contacto de la misma con los dedos para evitar lecturas falsas. Poner el sensor dentro de la incubadora y dejarlo durante 2 horas hasta que se produzca el equilibrio de humedad entre la muestra y el sensor. Realizar la lectura en el equipo.

### Cálculo.-

Actividad de agua =  $\frac{\text{Lectura de la humedad relativa}}{100}$

### Ejemplo.-

Muestra : Atol

Actividad de agua =  $\frac{80.2}{100}$

Actividad de agua = 0.802

## PESO ESPECIFICO

Esta técnica se la utiliza para determinar la cantidad de muestra que cabe en un envase.

Fundamento.- Se basa en la medición del volumen desplazado de la muestra al someterla a una cantidad determinada de golpes en un tiempo dado.

### Materiales y Equipo,-

- Probeta de 250 ml
- Espátula
- Balanza gramera
- Equipo para peso específico por asentamiento

### Técnica,-

Pesar la probeta anotando su peso. Llenar con la muestra hasta 250 ml. Pesar la probeta con muestra. Encerar el equipo de peso específico. Adaptar la probeta al equipo Someter la probeta a 300 golpes de asentamiento consecutivos durante 1.5 minutos. Anotar el volumen desplazado para el respectivo cálculo.

### Cálculo.-

$$\text{Peso específico} = \frac{\text{Masa (g)}}{\text{Volumen (cc)}}$$

$$\text{Peso específico} = \frac{\text{Peso de muestra}}{\text{Volumen desplazado}}$$

### Ejemplo.-

Muestra : Arroz crocante

$$\text{Peso específico} = \frac{60 \text{ gs}}{246 \text{ cc}} = 0.24 \text{ g/cc}$$

$$\text{Peso específico} = 0.24 \text{ g/cc}$$

## OLEORRESINAS

Esta técnica es empleada para cuantificar la oleorresina presente en la yerba maggi usada como ingrediente saborizante.

Fundamento.- Se basa en la extracción de la oleorresina por reflujo con éter dietílico. La cuantificación se realiza por evaporación del éter dietílico y diferencia de peso.

### Materiales y Equipos.-

- Balones de 250 ml
- Cuchillo
- Espátula
- Embudo
- Papel filtro # 628 um
- Desecador
- Equipo Soxhlet
- Balanza
- Licuadora
- Baño María 45 grados centígrados



BIBLIOTECA  
DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS

### Técnica.-

Limpiar la muestra cuidadosamente con un papel absorbente. Tomar una muestra representativa de la planta entera aproximadamente 30 gs. Licuar todo en una licuadora limpia y seca, colocar en un frasco. Pesar 2 gs de la muestra licuada en un balón de 250 ml (fondo plano). Añadir 200 ml de éter dietílico. Someter a reflujo en baño maría 45 grados centígrados durante 20 horas. Tarar un balón de 100 ml por una hora, enfriar en desecador y pesar. Filtrar (mojar el papel filtro con éter dietílico) y recibir el filtrado en el balón de 100 ml ya tarado. Evaporar a temperatura ambiente en sorbona el éter dietílico. Poner el balón en desecador por 18 horas. Pesar (extracto etéreo total). Poner en estufa a 75 grados centígrados por una hora. Enfriar en desecador y pesar (extracto etéreo no volátil).

Cálculos .-

$$\% \text{ Extracto etéreo total} = \frac{(\text{P.vaso} + \text{extracto etéreo}) - \text{P.vaso} * 100}{\text{Peso de muestra}}$$

$$\% \text{ Ext.etéreo volátil} = \frac{(\text{P.vaso} + \text{Ext.Etéreo luego de Evaporación}) - \text{P.vaso} * 100}{\text{Peso de muestra}}$$

$$\% \text{ Ext.Etéreo volátil} = \% \text{ Ext Etéreo total} - \% \text{ Ext. Etéreo no volátil}$$

Nota.-

Ext. = extracto

P. = peso

Ejemplo.-

Muestra : Yerba maggi

Peso de vaso : 102,7123 gs

Peso de vaso+ extracto : 102,7222 gs

Peso de muestra : 2,0082 gs

Peso de vaso después  
de evaporación : 102,7279 gs

$$\text{Extracto etéreo total} = \frac{102,7222 - 102,7123 * 100}{2,0082} = 0.49\%$$

$$\text{Extracto etéreo no volátil} = \frac{102,7219 - 102,7123 * 100}{2,0082} = 0.48\%$$

$$\text{Extracto etéreo volátil} = 0.49\% - 0.48\% = 0.01\%$$

$$\text{Extracto etéreo volátil} = 0.01\%$$

## DETERMINACION DE HUMEDAD

Fundamento.- Se basa en la determinación de la cantidad de agua que se evapora al someter una muestra a una determinada temperatura y tiempo hasta peso constante.

### Materiales y Equipos.-

- Cápsula de Níquel
- Espátula
- Pinzas
- Desecador
- Estufa (102 grados centígrados)
- Balanza analítica

### Técnica.-

Secar la cápsula de níquel con su respectiva tapa en una estufa a  $102 \pm 2$  grados centígrados durante una hora. Enfriar la cápsula a temperatura ambiente en un desecador por una hora. Pesar la cápsula y repartir sobre el fondo de la cápsula tarada aproximadamente 4 gs de muestra (Las muestras en polvo o líquidas son pesadas directamente ,mientras que otras necesitan ser homogenizadas en el molino). Apuntar el peso de la cápsula mas la muestra.Colocar la cápsula con la tapa abierta en la estufa a 102 grados centígrados. Secar durante 4 horas ( 5 horas para los derivados del cacao). Transcurrido el tiempo indicado , colocar la tapa sobre la cápsula y dejar enfriar a temperatura ambiente en desecador por una hora. Pesar la cápsula.

### Cálculos.-

$$\% \text{Humedad} = \frac{\text{Peso de la muestra después de calentamiento} \times 100}{\text{Peso inicial de la muestra}}$$

Ejemplo .-

Producto : Harina de Arroz

	# 1	#2
Peso de cápsula+muestra	: 83.8045 gs	85.9856 gs
Peso de cápsula vacía	: 79.0681 gs	81.9713 gs
Peso de la muestra	: 4.7364 gs	4.0143 gs
Peso de la cápsula mas residuo seco	: 83.3098 gs	85.5672 gs
% de Humedad	: 10.44	10.42
Promedio de humedad	: 10.43%	

## DETERMINACION DE ALMIDON TOTAL EN PAPAS

Fundamento.- Se basa en la extracción del almidón con solución de cloruro de calcio, solubilización del mismo con dimetil sulfóxido y determinación espectrofotométrica del almidón por formación de un complejo color azul con el yodo.

### Materiales y Equipos.-

- Matraces de 250 ml
- Pipetas volumétricas de 25 ml
- Cilindros graduados de 100 ml
- Balones aforados de 100 ml
- Vasos de precipitación de 50 ml
- Pipetas volumétricas de 1 ml
- Embudos
- Papel filtro # 597 um
- Liencillos para filtrar
- Agitadores y varilla magnética
- Licuadora
- Balanza
- Plancha calefactora
- Espectrofotómetro "Lambda 5"



BIBLIOTECA  
DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS

### Reactivos .-

- Solución de extracción :  $\text{CaCl}_2$  0.1M con tampón de acetato de sodio 0.1M pH 5.(ver Anexo 2).
- Solución cromógeno (solución I/IK para la formación del complejo azul con el almidón).(ver Anexo 2).
- Dimetil sulfóxido
- Etanol 96%

### Técnica.-

Pelar la papa. Pesar exactamente 25 gs. Licuar la muestra con 100 ml de solución de extracción por un minuto. Agregar 100 ml de etanol 96% y filtrar en liencillo seco y limpio. Enjuagar la licuadora con 25 ml de dimetil sulfóxido y 25 ml de solución de extracción y verter en el liencillo para facilitar el filtrado del almidón. Exprimir bien el liencillo y desechar los sólidos. Agitar el filtrado por 5 minutos usando agitador magnético. Tomar una alícuota de 1 ml del filtrado sin dejar de agitar. Adicionar 9 ml de dimetil sulfóxido, llevar a ebullición por 1 minuto y enfriar. Agregar 20 ml de solución de extracción llevar a ebullición por 3 minutos y enfriar. Trasvasar a un balón aforado de 100 ml y enrasar con solución de extracción. Filtrar y recoger el filtrado en vaso de precipitación.

Llenar las cubetas de vidrio del espectrofotómetro de la siguiente forma:

	Sol Extracción	Sol muestra	Sol Cromógeno
Blanco 1	1 ml	-	2 ml
Blanco 2	1 ml	-	2 ml
Muestra	-	1 ml	2 ml

Agitar y encerrar el equipo con los blancos.  
Realizar la lectura de la absorbancia de la muestra a 400 nm y 645 nm.

### Cálculo.-

$$\text{ug/ml Almidón} = 26,223 (\text{abs } 645\text{nm}) + 454,654 (\text{abs } 400\text{nm})$$

En donde :

26,223 = Factor de concentración del almidón a 645nm

454,654 = Factor de concentración del almidón a 400nm

Ejemplo.-

Muestra : Variedad de papa "Curipamba"

Absorbancia 645nm = 0.368

Absorbancia 400nm = 0.269

Almidón (ug/ml) =  $26.223 (0.368) + 454.654 (0.269)$

Almidón = 131.95 ug/ml

## DETERMINACION ENZIMATICA DE ACIDO GLUTAMICO

Fundamento.- El ácido L-Glutámico es desaminado oxidativamente por la nicotinamida adenin dinucleótido (NAD) a 2-oxoglutarato en presencia de la enzima glutamato dehidrogenasa (GIDH) (1). En la reacción catalizada por la diaforasa, el NADH formado convierte al cloruro yodonitro tetrazolium (INT) a formazan, el cual es medido en el espectro visible a 492 nm (2)



### Materiales y Equipos.-

- Vasos de precipitación de 100 ml
- Pipetas volumétricas de 2 ml
- Pipetas graduadas de 2 ml
- Micropipetas de 0.2 y 0.6 ml
- Embudos
- Cubetas de vidrio
- Balones aforados de 100 ml
- Papel filtro # 596 um
- Cronómetro
- Baño María (70 grados centígrados)
- Espectrofotómetro "Lambda 5"

### Reactivos.-

- Solución 1 : Fosfato de potasio con buffer trietanolamina pH 8.6. (ver Anexo 2).
- Solución 2 : Diaforasa (ver anexo 2).
- Solución 3 : Cloruro de yodonitro tetrazolium (ver Anexo 2).

- Solución 4 : Glutamato Dehidrogenasa (ver anexo 2),
- Carrez 1 (ver anexo 2)
- Carrez 2 (ver anexo 2)
- NaOH 0.1N (ver anexo 2)



BIBLIOTECA  
DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS

Técnica.-

Pesar 1 gramo de muestra en balón de 100 ml. Disolver con 50 ml de agua destilada. Calentar a 70 grados centígrados por 10 minutos. Enfriar a temperatura ambiente. Añadir 5 ml de carrez 1, 5 ml de carrez 2 y 10 ml NaOH 0.1N. Enrasar a 100 ml con agua destilada. Filtrar y recoger el filtrado. Llenar en las cubetas del espectrofotómetro:

	Blanco	Muestra
Solución 1	0.6 ml	0.6 ml
Solución 2	0.2 ml	0.2 ml
Solución 3	0.2 ml	0.2 ml
Agua bidestilada	2.0 ml	1.8 ml
Muestra	--	0.2 ml

Mezclar, luego de 2 minutos leer las absorbancias de las soluciones (A1). Comenzar la reacción por adición de:

	Blanco	Muestra
Solución 4	0.03 ml	0.03 ml

Mezcle y lea las absorbancias después de 15 minutos (A2)

Cálculo.-

$$\text{Acido glutámico} = \frac{V * MW}{d * e} * \frac{\Delta A}{v * 1000} = \text{g/lt}$$

En donde :

V = Volumen final (ml)

MW = Peso molecular del ácido glutámico C5H9NO4 (g/mol)



## ANALISIS DE GLUCOSA POR EL METODO ENZIMATICO

Fundamento.- La glucosa es fosforilada a glucosa 6 fosfato (G-6-P) en presencia de la enzima hexokinasa (HK) y adenosín 5 trifosfato (ATP) (1).



En presencia de la enzima glucosa 6 fosfato dehidrogenasa (G-6-P-DH) , la G-6-P es oxidada por la fosfato nicotinamida adenín dinucleótido (NADP) a gluconato 6 fosfato con la formación de nicotinamida adenín dinucleótido fosfato reducido (NADPH) (2)



La cantidad de NADPH formada en esta reacción es medida estequiométricamente y representa la cantidad de glucosa.

El incremento de NADH es medido por su absorbancia a 334 nm o 340 nm o 365 nm dependiendo de las diferentes lámparas de que disponga el equipo.

### Materiales y Equipo.-

- Matraz aforado de 100 ml
- Pipetas volumétricas de 2 ml y 10 ml
- Micropipetas de 0.1 ml y 0.02 ml
- Cubetas de vidrio
- Baño María 70 grados centígrados
- Balanza
- Espectrofotómetro "Lambda 5"

### Reactivos.-

- Carrez 1 (ver anexo 2)
- Carrez 2 (ver anexo 2)
- NaOH 0.1N (ver anexo 2)



BIBLIOTECA  
DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS

- Solución 1 : NADP y ATP (ver Anexo 2)
- Solución 2 : Enzima Hexokinasa (ver Anexo 2)

Técnica.-

Pesar 1 g de muestra en un balón de 100 ml. Agregar aproximadamente 40 a 50 ml de agua destilada. Calentar por 15 minutos a 70 grados centígrados con agitación ocasional. Enfriar a temperatura ambiente. Agregar 5 ml de carrez I, 5 ml de carrez II y 10 ml de NaOH 0.1N. Enrasar a 100 ml con agua destilada. Agitar y filtrar la solución en matraz de 250 ml. El filtrado debe ser transparente de lo contrario se debe volver a filtrar. Llenar en la cubetas del espectrofotómetro :

	Blanco	Muestra
Solución 1	1.0 ml	1.0 ml
Muestra	-	0.1 ml
Agua destilada	2.0 ml	1.9 ml

Mezclar y leer las absorbancias de las soluciones (A1) después de aproximadamente 3 minutos. Iniciar la reacción por la adición de :

	Blanco	Muestra
Solución 2	0.02 ml	0.02 ml

Mezclar, esperar 15 minutos y leer la absorbancia a 340 nm.

Cálculos.-

La fórmula general es la siguiente :

$$C = \frac{V * MW * \Delta A}{d * \epsilon * v * 1000}$$

En donde :

V = Volumen final (ml)

MW = Peso molecular de la glucosa (C6H12O6)

$\epsilon$  = Coeficiente de absorción del NADPH  
 340 nm = 6.3  
 365 nm = 3.5

$$334 \text{ nm} = 6.18$$

C = Concentración de glucosa (g/lt)

$\Delta A$  = Absorbancia 2 (A2) - Absorbancia 1 (A1)

d = paso de luz (cm)

Simplificando :

$$C = \frac{3.02 * 108.16 * \Delta A}{\epsilon * 1 * 0.1 * 1000}$$

$$C = 5.441 * \frac{\Delta A}{\epsilon}$$

Hasta aquí la respuesta se obtiene en g/lt solución , luego se debe calcular solo para los 100 ml de solución.

Ejemplo .-

Muestra : Base fermentada de Arroz

Lectura : 340 nm

Peso de muestra 1 g

$$A2 = 0.198$$

$$A1 = 0.184$$

$$\Delta A = 0.014$$

$$\epsilon = 6.3$$

$$d = 1 \text{ cm}$$



BIBLIOTECA  
DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS

$$C = \frac{5.441 * 0.014}{6.3}$$

$$C = 0.01 \text{ g/lt}$$

$$1000 \text{ ml} \text{ -----} > 0.01 \text{ g}$$

$$100 \text{ ml} \text{ \hspace{10em}} X$$

$$X = 0.001 \text{ g}$$

$$1 \text{ g muestra} \text{ -----} > 0.001 \text{ g}$$

$$100 \text{ gs} \text{ \hspace{10em}} X$$



## LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

La Microbiología es la rama de las ciencias biológicas que estudia las bacterias, hongos, levaduras y organismos afines. Estos se hallan sumamente difundidos y son la causa de muchos cambios físicos, químicos importantes en la vida de las plantas, los animales y el hombre.

La presencia de microorganismos en los alimentos no significa necesariamente un peligro para el consumidor o una calidad inferior de estos productos. En realidad si se exceptúa el reducido número de productos esterilizados, cada bocado de alimento contiene levaduras inocuas, mohos, bacterias y otros microorganismos.

La mayoría de alimentos se convierte en potencial peligroso para el consumidor sólo después que han sido violados los principios de higiene, limpieza y desinfección. Si los alimentos han estado sometidos a condiciones que pudieran haber permitido la llegada a los mismos y/o la multiplicación de agentes infecciosos o toxigénicos, pueden constituirse en vehículo de transmisión de enfermedades.

La puesta en evidencia de estos riesgos se basa en el examen de muestras de alimentos en busca de los propios agentes causales o de indicadores de una contaminación no admisible.

Es por esto que es imperativo realizar los análisis microbiológicos de rutina correspondientes siempre que la información epidemiológica o de otro tipo de que se disponga sugiera o haga pensar en la presencia de un agente patógeno específico en un determinado alimento.

El control microbiológico debe ser llevado a cabo tanto en la materia prima como en cada etapa de fabricación y sistemas de instalación de la industria hasta llegar al producto terminado. En esta cadena se tiene también en cuenta el sistema de conservación del producto final.

En el momento actual existe una unificación internacional de normas microbiológicas para el control higiénico de los alimentos por lo que los resultados suelen variar de acuerdo a las técnicas empleadas.

## NORMAS A SEGUIR EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Con cualquier variedad de muestra que se trabaje , es necesario tomar precauciones debidas , puesto que se puede estar frente al cultivo de microorganismos patógenos.

Las normas a seguir son:

- Limpiar con alcohol las mesas o el espacio que se va a ocupar para la siembra.
- Cerrar las ventanas , pues la mayoría de los microorganismos se encuentran en el suelo y son llevados al interior del laboratorio por el aire.
- Permanecer siempre al lado del mechero cuando realice una siembra.
- Jamás dejar el tubo de cultivo sobre la mesa , siempre será colocado en una gradilla o en un recipiente de hojalata.
- Rotular claramente cada tubo o placa con el número y nombre de la muestra.
- Cuando se termine de sembrar , desechar los cultivos en un recipiente adecuado para su posterior esterilización.
- Conservar el espacio de trabajo despejado , de manera que si ocurre cualquier accidente se afecte el menor número posible de objetos.
- Manejar con todo cuidado los aparatos y materiales.
- No dejar descansar sobre la mesa la boca de las pipetas.
- Para pipetear , usar siempre que sea posible , una boquilla.
- Tener previamente los medios de cultivos diluídos , puesto que la muestra no debe estar más de una hora en el diluyente.
- Verificar siempre antes de sembrar que los medios no estén contaminados.
- No abrir mucho la caja de petri cuando se coloca la muestra o el agar.
- Remover la muestra y el diluyente para formar una mezcla homogénea , dando vueltas circulares a la caja petri.

- Lavar las manos con agua y jabón después de manipular cultivos y muestras , y al abandonar el laboratorio.
- Se recomienda disponer de rollos de papel absorbente.



BIBLIOTECA  
DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS

## DESCRIPCION DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

El laboratorio de Microbiología ocupa un área aproximada de 36 metros cuadrados, provisto con los equipos y materiales necesarios y adecuados para el cultivo de microorganismos que alteran los productos alimenticios.

Entre los principales equipos tenemos:

- Cámara de flujo laminar, cuyo principal objetivo es la obtención de aire estéril, libre de bacterias ajenas al alimento y creación de un ambiente favorable para la siembra y el cultivo.
- Baños María, para mantener el medio de cultivo a la temperatura deseada antes de ser vertido en la dilución y evitar la muerte de microorganismos que no sean termoresistentes.
- Peachímetro, para medir el pH de los medios de cultivo.
- Máquina que coloca algodones en las pipetas.
- Calentador eléctrico utilizado para preparación de medios de cultivo.
- Balanzas grameras.
- Refrigeradora, para guardar las muestras así como también los medios de cultivo y cepas de microorganismos.
- Aparato vibrador para homogenizar la muestra con el diluyente.
- Microscopio.
- Incubadoras.
- Jarras de anaerobiosis para crear ambientes exentos de oxígeno que permita el crecimiento de microorganismos anaeróbicos.
- Caldos de cultivo, agares de cultivos y reactivos necesarios para las pruebas microbiológicas.

## PREPARACION DE DILUCIONES DECIMALES

La preparación de diluciones decimales tiene por finalidad realizar escalonadamente, diluciones del producto para lograr su posterior recuento microbiano.

### Materiales:

- Gradilla
- Tubos de ensayo conteniendo el diluyente
- Pipetas estériles de 1 y 10 ml
- Agitador

### Diluyente:

Se usa agua peptona de la siguiente composición:

- Peptona                    2,55 g
- Cloruro de Sodio       8,00 g
- Agua destilada        1.000 ml

Disolver los ingredientes en el agua destilada. Ajustar el pH a 7,5. Mezclar y distribuir en tubos de ensayo de 160 x 16 mm a razón de 9 ml por tubo. Esterilizar en autoclave durante 15 minutos a 121 grados centígrados.

Se ajusta el pH en los medios de cultivo, puesto que las variaciones de acidez y alcalinidad de los medios de cultivo afectan el desarrollo de microorganismos, por cuanto cada microorganismo tiene unos límites definidos de pH, dentro de los cuales ocurre el máximo de los crecimientos.

Las alteraciones excesivas inhiben el desarrollo y alteran las características del cultivo. Es esencial ajustar correctamente el pH de cualquier medio y asegurarse de que se ha conseguido con exactitud.

## TECNICA

Añadir 1 ml de suspensión madre 1:10 , a un tubo que contenga 9 ml de diluyente estéril , previamente enfriado por permanencia en el frigorífico , como mínimo 18 horas.

Agitar 30 segundos. De esta mezcla se toma 1 ml y se añade a un nuevo tubo conteniendo 9 ml de diluyente estéril , repitiendo la operación usando una " serie de diluciones decimales " , que comienza en 10<sup>-1</sup> ( suspensión madre ) y continúa con 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup> etc.

Para cada dilución se debe emplear una nueva pipeta estéril.

Esta serie de diluciones se mantiene en frigoríficos hasta el comienzo de los análisis , que no debe demorarse mas de 2 horas a partir de su preparación.

## ANALISIS EFECTUADOS

### RECUESTO TOTAL DE MICROORGANISMOS

Es la determinación del número total de microorganismos aeróbicos por gramo o mililitro de alimento.

Fundamento.- Crecimiento de los microorganismos aeróbicos presentes en la muestra en agar para recuento total ( peptona de caseína glucosa extracto de levadura) a 30 grados centígrados por 72 horas para su posterior contaje.

#### Materiales:

- Pipetas estériles de 1 ml
- Cajas petri estériles
- Incubadora ( 30 grados centígrados )
- Cuenta colonias

#### Medio de Cultivo:

MEDIO PLATE COUNT AGAR

#### Composición:

- |                        |       |
|------------------------|-------|
| - Triptona             | 5 g   |
| - Extracto de levadura | 2,5 g |
| - Dextrosa             | 1 g   |
| - Agar                 | 12 g  |

Disolver 22,5 g de medio plate count agar en un litro de agua destilada y esterilizar en autoclave.

Técnica.- A partir de la serie de diluciones decimales , con una pipeta estéril de 1 ml , se pone esta cantidad de cada una de las diluciones decimales en las cajas petri estériles.

A continuación se vierten sobre las cajas 15 ml del medio de



BIBLIOTECA  
DE ESCUELAS TECNOLOGICAS

cultivo previamente temperado a 47 grados centígrados. Se dejan solidificar y se llevan las placas a incubar en posición invertida en estufa de cultivo a 30 grados centígrados durante 72 horas.

Cultivo.- Se cuenta el número de colonias que haya crecido en el medio, solamente en aquellas placas que contengan entre 30 a 300 colonias.

El recuento de colonias por g o ml de alimento se calcula multiplicando el número de colonias contadas por el factor de dilución de la caja petri.

Ejemplo.- Recuento total de microorganismos aeróbicos en frejoles secos.

Dilución	<sup>-1</sup> 10	<sup>-2</sup> 10	<sup>-3</sup> 10
# Bacterias	65	1	0

$$\text{Resultado} = 65 \times 10^{-1} = 6,5 \times 10^{-2} \text{ bact/g.}$$

## RECUESTO TOTAL DE MOHOS Y LEVADURAS

Es el recuento total de las colonias de mohos y levaduras que se desarrollan sobre el medio Agar patata glucosa a partir de 1 g o ml de muestra.

**Mohos.-** Son hongos multicelulares, desprovistos de clorofila, forman micelios, que son estructuras ramificadas, extensas, muy conocidas en la industria de alimentos.

Son causantes de alteraciones de productos alimenticios principalmente de pH bajo como frutas, yogurt, pickles, etc, o los de presión osmótica elevada como harinas, miel, leches, copos de avena y algunos productos salados.

**Levaduras.-** Son hongos unicelulares que pueden tener forma esférica, alargada, ovoide, piriforme y a veces en forma de micelio.

Su tamaño es mayor que las bacterias. Producen alteraciones de los productos alimenticios, en especial los de pH bajo y presión osmótica elevada.

### MEDIO DE CULTIVO

- Agar patata glucosa

Los hidratos de carbono y la infusión patata favorecen el crecimiento de levaduras y mohos, en tanto que por el bajo valor de pH la flora bacteriana de acompañamiento resulta parcialmente inhibida en su desarrollo.

Para la numeración de hongos se recomienda bajar aún más el valor del pH, haciéndolo descender hasta 3,5 aproximadamente. Las características morfológicas típicas de los hongos se desarrollan bien en este medio de cultivo.

**Composición (g/lt).-**

- Infusión de patata (preparado a partir de 200 g de patata )  
4,0 g



- D (+) glucosa 20,0 g
- Agar-agar 15,0 g

Preparación.- Disolver en 1 litro de agua destilada 39 g de medio de cultivo y esterilizar en autoclave. Para el ajuste del pH a 3,5 aproximadamente se incorpora al medio de cultivo (45-50 grados centígrados) una solución estéril de ácido tartárico al 10% , a razón de 1,4 ml/100ml.

Una vez acidificado el medio no debe ser fundido nuevamente, pues podrían alterarse las propiedades del medio.

#### Materiales.-

- Pipetas estériles de 1 ml
- Cajas petri estériles
- Incubadora

Técnica.- Con una pipeta estéril , se pone en las cajas petri 1 ml de cada una de las diluciones decimales efectuadas. Se le añade a cada caja 15 ml aproximadamente de medio de cultivo previamente diluido y temperado a 47 grados centígrados y ajustado a pH 3,5 - 4 con ácido tartárico al 10%.

Mezclar suavemente moviendo la caja en forma circular .Dejar solidificar , poner las cajas en la incubadora en posición invertida a 26 grados centígrados por 5 días.

Cálculos.- Se cuenta el número de colonias que haya crecido en el medio , solamente en aquellas placas que contengan entre 30 a 300 colonias.

El recuento de colonias por g o ml , de alimento se calcula multiplicando el número de colonias contadas por el factor de dilución de la caja petri. En caso de varios resultados se procede a promediar los valores.

Ejemplo.- Recuento total de mohos y levaduras en jugo de naranja.

	-1	-2	-3
Dilución	10	10	10
# Mohos	0	0	0

	-1	-2	-3
Dilución	10	10	10
# Levaduras	0	0	0

El resultado es negativo.



BIBLIOTECA  
DE ESCUELAS TECNOLOGICAS

## TEST API

El test API es usado para la identificación de las características nutricionales y bioquímicas de microorganismos por la observación de la utilización de diferentes fuentes de carbono.

Estas fuentes de carbono o sustratos pueden ser asimiladas, fermentadas u oxidadas.

Fundamento.- El test API está compuesto de 50 cápsulas cada una de las cuales contiene :

- a) una zona anaeróbica ( para el estudio de la fermentación )
- b) una zona aeróbica ( para el estudio de la asimilación y oxidación ).

La primera cápsula es usada como blanco. Las otras cápsulas contienen diferentes sustratos deshidratados de concentraciones específicas provenientes de la misma familia química: carbohidratos y sus derivados ( polialcoholes, Ácidos urónicos, etc ).

Estos sustratos de carbono pueden ser usados para llevar a cabo diferentes estudios bioquímicos como :

- 1- Asimilación de la fuente de carbono: crecimiento en presencia de un sustrato como la única fuente de carbono en un medio químico.

Este medio puede mantener el crecimiento de microorganismos a ser analizados si se lo dota de una fuente simple de carbono ( glicerol, glucosa ).

- 2- Fermentación de la fuente de carbono: producción de ácido por el uso anaeróbico de carbohidratos.

- 3- Oxidación de la fuente de carbono: producción de ácido por el uso aeróbico de los carbohidratos.

El test API permite analizar todas estas propiedades simultáneamente, o secuencialmente.

El medio usado para inocular las cápsulas debe ser escogido cuidadosamente de conformidad a la demanda nutricional del grupo de microorganismos a ser analizados.

Los siguientes medios están disponibles ya preparados en el mercado para el Test API:

- a)- CHE ( 8886 - 516239 ) para enterobacteriaceas
- b)- CHL ( 8886 - 510059 ) para lactobacilos
- c)- CHB ( 8886 - 526121 ) para bacilos
- d)- CHS ( 8886 - 515546 ) para estreptococos

#### Materiales.-

- Asa de inoculación
- Mechero de Bunsen
- Pipetas Pasteur estériles
- Medio de inoculación
- Refrigerador ( 2-8 grados centigrados. )
- Marcador para vidrio
- Gradilla
- Escala - Mcfarland ( Ver anexo 5 )
- Incubador
- Test API

#### TECNICA

1.-Preparación del espécimen El Test API no es de uso directo sobre especímenes clínicos o de otro tipo. El Microorganismo a ser analizado debe ser cultivado en un medio apto para su crecimiento ( Ej.- Agar tripticosa soya para bacilos gram negativos. Agar MRS para bacterias lácticas, agar de sangre Columbia para estroptococos, etc ).

La pureza del cultivo debe ser chequeado. El cultivo del medio líquido y de allí inoculado al Test API.

2.-Preparación del Test El Test API consta de 50 cápsulas colocadas en filas de a 10 y numeradas del 0 al 9 , del 10 al 19, del 20 al 29 , del 30 al 39 y del 40 al 49.

Cada cápsula consta de un área abierta y un área cerrada , (ver anexo 4). Todo esto va contenido en una bandeja o base. Como primer paso la bandeja debe ser humedecida con 10 ml de agua destilada para mantener la humedad de los medios.

### 3.-Inoculación

- Usando una pipeta estéril pasteur , distribuya la suspensión de microorganismos en cada una de las cápsulas del test ( ver anexo 4).
- Tape la bandeja al terminar la inoculación.

### 4.-Incubación

- Incube la bandeja a la temperatura óptima de crecimiento del microorganismo a ser estudiada. Las temperaturas más frecuentes son 25 , 30 y 37 grados centígrados , dependiendo de:
  - a) tipo de cultivo
  - b) parámetros a ser estudiados
  - c) tiempo de incubación que puede variar de 3 horas (estudio de fermentación rápida) a 4 - 8 días (estudio de asimilación de fuentes de carbono ).

### 5.-Lectura

Dos parámetros deben ser tomados en consideración durante la lectura de las reacciones:

- a) La intensidad de la reacción producida ( crecimiento o acidificación ).
- b) El tiempo que toma la reacción en aparecer.

Las cápsulas del test deben ser revisadas cada determinado tiempo para ver los cambios realizados :

#### - Test de Fermentación:

- 3 horas
- 6 horas
- 24 horas
- 48 horas

- Test de Asimilación:

- 1 día
- 2 días
- 4 días
- 8 días

Se deben asignar valores de 0 - 5 dependiendo de la intensidad de la reacción; el valor 0 se da para un resultado negativo de la reacción, y el valor 5 a una reacción positiva de máxima intensidad.

Los valores 2, 3 y 4 se dan a reacciones intermedias.

La notación es la siguiente:

- 0 = Negativo
- 1 = Muy débil
- 2 = Dudosamente positivo
- 3 = Débilmente positivo
- 4 = Positivo
- 5 = Fuertemente positivo

Los resultados son anotados en la hoja de reporte ( ver anexo 5 ).

Interpretación de resultados.-

Los resultados de la hoja de reporte son comparados con tablas estándares para cada microorganismo a ser identificado, y dependiendo de la similitud con una de ellas podrá reconocerse de cual especie se trata.

## AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE CAMPYLOBACTER

Principio .- Los microorganismos del género Campylobacter son pequeños bacilos curvo-espinales gram negativos , microaerófilos , que presentan un simple flagelo polar en uno o ambos extremos de la célula , son móviles , con una clase de movimientos espiral.

Necesitan tres condiciones esenciales para su supervivencia y desarrollo que son:

- Atmósfera microaeróbica ( 5% O<sub>2</sub> , 10% CO<sub>2</sub> y 85% N<sub>2</sub> )
- Medios de cultivos selectivos , específicamente desarrollados para Campylobacter.
- Temperatura de incubación 42 grados centígrados.

Tomando en cuenta estas tres condiciones se ha hecho posible el aislamiento de Campylobacter en alimentos , realizando primero un enriquecimiento en caldo Brucella , al que se añaden sales de Sulfato Ferroso , Metabisulfito de Sodio y Piruvato de Sodio. Esta mezcla de sales ( BFP ) incrementa la aerotolerancia de estos microorganismos permitiendo su crecimiento a concentraciones de 15-20% de oxígeno y además destruye el peróxido de hidrógeno y aniones de superóxido que aparecen en el medio cuando son expuestos al aire y luz. Los Campylobacter son extremadamente sensibles a pequeñas cantidades de peróxido de hidrógeno ( 0,00124 % ).

El uso de sangre de caballo desfibrinada ( 5 a 7% ) en el medio también aumenta la aerotolerancia del Campylobacter , porque la sangre contiene catalasa y superóxido dismutasa , que destruyen el peróxido de hidrógeno , sin embargo, no es esencial para su crecimiento

Suplementando el medio de enriquecimiento con agentes antimicrobianos ( vancomicina , trimetroprima , polimixina B ) reduce el crecimiento de la flora acompañante , aumentando así el crecimiento y recuperación del Campylobacter.

Luego del enriquecimiento se realiza el aislamiento en agares selectivos como es el Preston Campylobacter Agar , este medio fue formulado para el aislamiento del Campylobacter Jejuni, Campylobacter Coli , y los denominados NABTC ( Nalidixic Acid Resistant Thermophilic Campylobacter ); además , ha sido desarrollado para usarse sin sangre.

Finalmente con las colonias sospechosas se realizan pruebas de confirmación como :

- Oxidasa
- Catalasa
- Crecimiento a 25 y 42 grados centígrados.
- Sensibilidad al ácido nalidixico
- Hidrólisis de Hipurato

**Materiales .-**

- Pipetas estériles de 1 y 10 ml
- Cajas Petri estériles
- Asas de inoculación
- Mechero
- Frascos de 50 y 100 ml
- Placa portaobjetos
- Delimitador de 10 centímetros cuadrados
- Pinza esterilizada
- Jarra de anaerobiosis
- Incubadora 42 y 25 grados centígrados
- Microscopio



BIBLIOTECA  
DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS

Medios de cultivo y reactivos

Caldo VTP Brucella FBP

- Caldo Brucella deshidratado                    28.0 gs
- Agua destilada    1.0 litro

Disolver y esterilizar en autoclave a 21 grados centígrados por 15 minutos. Enfriar y agregar las siguientes soluciones esterilizadas por filtración:

- Solución VTF:

Vancomycin 10 mg

Trimethoprim 5 mg

Polymixin 2500 U.I.

Agua destilada 10 ml

- Solución FBF:

Sulfato Ferroso 0.25 gs

Metabisulfito de Sodio Anhidro 0.25 gs

Pyruvato de Sodio Anhidro 0.25 gs

Agua destilada 20.00 ml

Preston Campylobacter Agar Base

- Polvo deshidratado 47.8 gs

- Agua destilada 1.0 litro

Heruir hasta completa disolución y autoclavar a 121 grados centígrados por 15 minutos. Enfriar el medio a 55 grados centígrados y añadir una tableta selectab por cada 250 ml. Una vez desintegrada la tableta, mezclar bien y verter en cajas petri 15 a 20 ml. Secar las cajas antes de usar (pueden guardarse durante una semana a 2-8 grados centígrados).

Mezcla fijadora

- Alcohol 95 ml

- Acido Clorhídrico 5 ml

Agua de Peptona al 0.1%

- Peptona 1.0 g

- Cloruro de sodio 8.5 gs

- Agua destilada                    1.0 litro

Técnica.-

Enriquecimiento :

Medio de cultivo.- Caldo de enriquecimiento VTP Brucella-FBP.

En pollos :

Pasar un algodón estéril humedecido en agua peptonada al 0.1% por la superficie del pollo definida por un delimitador. Colocar el algodón en un frasco con tapa rosca que contiene 50-100 ml de caldo de enriquecimiento VTP Brucella-FBP. Repetir este procedimiento sobre otra superficie de la misma muestra.

En otros alimentos :

Pesar 25 gramos de producto en 100 ml de caldo de enriquecimiento VTP Brucella-FBP.

Incubación.- Dejar la tapa rosca floja e incubar en jarra de anaerobiosis con sobre generador de gas para Campylobacter a 42 grados centígrados por 48 horas.

Aislamiento :

Medio de Cultivo.- Preston Campylobacter Agar

Del caldo de enriquecimiento aislar por agotamiento en placas con agar selectivo para Campylobacter.

Incubación: En jarra de anaerobiosis con sobre generador de gas para Campylobacter a 42 grados centígrados por 48 horas.

Lectura: Se consideran colonias típicas aquellas de color gris o cremosas grisáceas , redondas , delgadas , planas con bordes irregulares , húmedas con aspecto mucoso , tienen la tendencia a difundirse en la estria del agar.

Pruebas de confirmación :

Las colonias típicas se pasan a caldo Brucella FBP o se reaislan en agar selectivo para realizar las siguientes pruebas:

#### Coloración :

Realizar un frotis sobre una placa portaobjetos. Dejar actuar sobre la placa la mezcla fijadora por 3 minutos. Colorear con carbolfucsina ó realizar coloración gram negativa , en la que la safranina es reemplazada por Cabolfucsina.

Lectura : Los Campylobacter son bacilos gram negativos , en forma de s , o de alas de gaviota (  $\gamma$  ) o de forma espiral alargada.

#### Prueba de Oxidasa :

Pasar una colonia a un pedazo de papel filtro y humedecer con una o dos gotas de reactivo de Oxidasa ( N , N-Dimethyl-1 , 4-Phenylen cloruro de amonio , 1-Naftol ). La aparición de un color púrpura en el transcurso de 1 minuto indica que la prueba es positiva.

#### Prueba de Catalasa :

Añadir a una colonia una gota de peróxido de hidrógeno. La reacción es positiva cuando se observa la formación de burbujas de oxígeno.

#### Crecimiento a 25 y 42 grados centígrados :

Realizar una suspensión ligera de Campylobacter en 1-2 ml de agua destilada estéril. Inocular 0.5 ml de esta suspensión en tubos con 10 ml de caldo Brucella. Incubar en atmósfera microaerofílica , un tubo a 25 grados centígrados y un tubo a 42 grados centígrados. La prueba es positiva cuando se observa crecimiento a 42 grados centígrados y no a 25 grados centígrados dentro de 48 horas. Esto es típico del Campylobacter Jejuni.

#### Sensibilidad al ácido nalidíxico

Inocular una caja Petri de Preston Campylobacter Agar estriando con el asa en tres direcciones con el cultivo aislado para obtener un campo de crecimiento confluyente.

Colocar dos discos de 30 mg de ácido nalidixico, presionar cada disco suavemente sobre la superficie del agar, para asegurar la difusión del antimicrobiano. Incubar en atmósfera microaerofílica a 42 grados centígrados por 48 horas. La prueba es positiva cuando se observa una zona clara de inhibición alrededor del disco del ácido nalidixico. Esto es típico del *Campylobacter Jejuni*.

Hidrólisis del Hipurato :

Suspender un asa de cultivo en 2 ml de Hipurato de Sodio al 1% Incubar 2 horas a 37 grados centígrados en baño maria. Adicionar 1 ml de solución de ninhidrina a 3.5% en partes iguales de acetona y butanol. Dejar 2 horas a temperatura de ambiente. El desarrollo de color púrpura indica hidrólisis del hipurato.

Cuadro de resultados

Mo.	Oxidasa	Catalasa	Crecimiento		Acido Nalidixico	Hidrólisis Hipurato
			25oC	42oC		
C.Jejuni	+	+	-	+	S	+
C.Coli	+	+	-	+	S(b)	-
C.Fetus	+	+	+	-(a)	R	-

(a) = Algunas cepas pueden crecer a 42 grados centígrados

(b) = Existen cepas resistentes al ácido nalidixico

S = Sensible

R = Resistente



BIBLIOTECA DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS

## ASPECTOS GENERALES DE LA EMPRESA

### UBICACION

Latinreco está ubicado en el km 12 1/2 de la vía Interoceánica vía a Tumbaco, cerca de Quito.

Siendo el Ecuador un país privilegiado que reúne en su territorio todas las condiciones climatológicas del Continente Americano, es decir, el clima tropical, subtropical y andino, fue escogido para la construcción de este moderno centro de investigación.

Tiene como función:

Desarrollar productos a base de cereales y elaborados culinarios a partir de materias primas locales.

Experimentar con nuevas fuentes agrícolas para los productos adaptados a las condiciones locales.

Estudiar la mal nutrición y la falta de elementos esenciales en los regímenes alimenticios.

Asistir técnicamente la producción local de productos de alto valor nutritivo.

Los trabajos de investigación son asignados a los jefes de desarrollo de proyecto, los cuales comienzan por la definición del concepto del producto y su desarrollo en pequeña escala en la cocina experimental, pasando posteriormente por los análisis químicos y microbiológicos y nutricionales.

La próxima etapa está constituida por el traslado del producto a la planta piloto donde se verifican el conjunto de parámetros de producción.

Sólo cuando se superan estas dificultades se puede considerar que la parte técnica del desarrollo del producto ha terminado.

Es indispensable adquirir la pericia a escala industrial y conseguir la aceptación del consumidor para que el producto sea considerado exitosamente desarrollado.



## TAMANO

Latinreco ocupa un área aproximada de 25.000 mts cuadrados , contando con edificios , áreas agrícolas , áreas verdes , repartidas de la siguiente forma:

- Edificios 8.000 mts cuadrados.
- Areas de sembrío 17.000 mts cuadrados.

Los edificios comprenden lo siguiente:

- Oficinas de administración incluyendo una biblioteca.
- Areas de laboratorio , repartidas en:
  - Departamento para control de calidad
  - Departamento para microbiología
  - Departamento de absorción atómica
  - Departamento de agronomía
- Area de planta piloto que se subdivide en secciones como:
  - Línea de maquinaria
  - Laboratorio
  - Bodegas
  - Taller mecánico
  - Taller eléctrico
  - Cámaras de almacenamiento a 37 ,30 ,10 4 y -30 grados centigrados.
  - Sección de embalaje
  - Recepción de materias primas
- Area de cocina de desarrollo , que comprende:
  - Sala de preparación de recetas
  - Sala de degustación
  - Oficinas de economía
  - Oficinas del cheff de producción

- Depósito de materias primas
- Comedor
- Rodeando los edificios se tiene:
  - Parte delantera:
    - Caseta de control
    - Enfermería
    - Parqueadero
  - Parte posterior:
    - Tanques de combustible
    - Servicios industriales
    - Bodega

#### ESTUDIO DE MERCADO

Siendo Latinreco un centro de investigación y no de producción no posee un mercado directo , mas bien los productos desarrollados van dirigidos a las fábricas del grupo Nestlé en las cuales se va a producir industrialmente el alimento , y son aquellas las encargadas de realizar el estudio pertinente.

#### SISTEMA DE COMERCIALIZACION Y DISTRIBUCION

Latinreco no tiene sistema de comercialización y distribución de productos puesto que no los fabrica , sólo los desarrolla.

Sin embargo la información y orden para que esta operación se lleve a cabo sigue los siguientes pasos:

De la fábrica del grupo Nestlé surge el estudio de mercado de un producto , el gerente de producción pide al gerente de Latinreco desarrollar dicho producto , éste pone el trabajo a cargo de un jefe de proyectos , el cual una vez terminado el producto lo reporta a gerencia de Latinreco y de allí pasa a

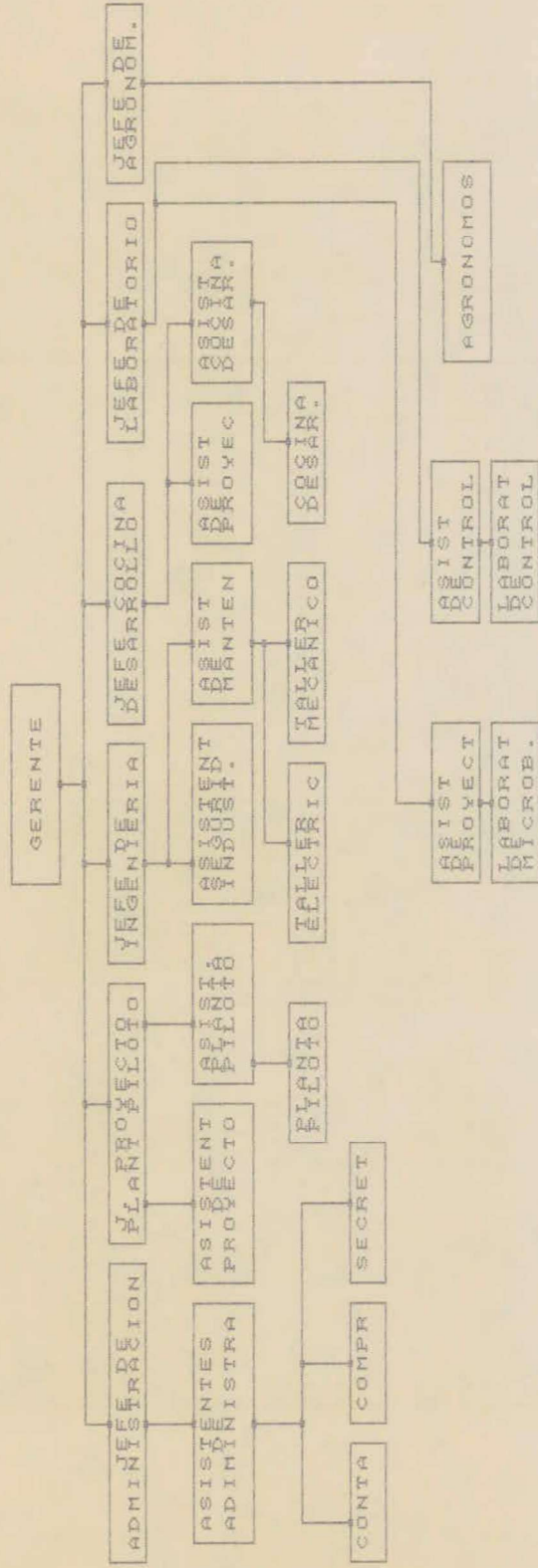
manos de la gerencia de la fábrica.

#### TAMANO EN FUNCION DE PRODUCCION

Latinreco no tiene producción fija de un producto determinado, la planta piloto sirve para desarrollar el producto a un nivel más tecnificado y con mayor facilidad al disponer de los equipos adecuados, es por eso que no se puede determinar el tamaño de la planta en función de producción.

Cabe recalcar que tampoco es posible dar un diagrama de flujo de la producción de la planta, ya que ésta no está destinada a producción a nivel industrial y los productos no son repetitivos.

ORGANIGRAMA



## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES



BIBLIOTECA  
DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS

- Los laboratorios de análisis de calidad tanto bromatológicos como microbiológicos, son de gran importancia dentro de la empresa, puesto que es allí donde se comprueba si se han cumplido correctamente las normas de proceso y de higiene de los productos.
  
- Los laboratorios de control de calidad cuentan con equipos muy sofisticados como el de Absorción Atómica, HPLC y Cromatógrafo de gases, los cuales bajo diferentes principios detectan concentraciones bajísimas de elementos presentes en los alimentos con un margen de error mínimo.
  
- Las prácticas realizadas durante 6 meses en los laboratorios de Latinreco han sido de un valor incalculable, tanto por la oportunidad que he tenido de afianzar, aumentar y actualizar mis conocimientos, como por la experiencia profesional y humana obtenida.
  
- Las prácticas profesionales son de suma importancia como pre-requisito de incorporación, pues sirven como entrenamiento y experiencia para los futuros trabajos que vayamos a realizar, al mismo tiempo que imparten seguridad al estudiante. Es por esto que deben ser aprovechadas con empeño y responsabilidad.
  
- Siendo nuestra profesión Tecnología en Alimentos, uno de los lugares que más nos atañe e interesa conocer de una fábrica de alimentos es la planta donde se procesan los productos, es por esto que la Politécnica debería tratar de conseguir una concesión "especial" para que los practicantes puedan tener acceso a la planta piloto de Latinreco "aunque sea por corto tiempo", pues es en esa sección donde mayores conocimientos podría asimilar el estudiante.
  
- Los laboratorios de Latinreco cuentan con equipos sumamente sofisticados que difícilmente pueden encontrarse en otros laboratorios de la industria alimenticia, es por esto que el haber aprendido su manejo y funcionamiento constituye una gran ventaja para los practicantes que



BIBLIOTECA  
DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS

hemos tenido la oportunidad de hacerlo.

- La calidad de la materia prima es de suma importancia para el logro de un producto terminado de óptimas condiciones, es por eso que Latinreco se preocupa de desarrollar especies más resistentes de vegetales y de propiedades nutricionales mayores que suplan las deficiencias alimenticias existentes en el país.

## BIBLIOGRAFIA

- Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.  
Bergey Anthony; Kreig Editorial; 1989.
  
- Biochemical Analysis/Food Analysis L-Glutamic Acid UV-  
method  
Boehringer Mannheim; 1987.  
Editorial DORSSAT Madrid-España.
  
- Biochemical Analysis /Food Analysis D-Glucosa UV-method.  
Boehringer Mannheim;1987.  
Editorial DORSSAT Madrid-España.
  
- Culture Media Handbook.  
Merck Darmstadt; 1987.  
Munich Editorial.
  
- Handbook of Microbiology.  
"Dehydrated Culture Media"  
E. Merck Darmstadt; Federal Republic of Germany 1987.  
Munich Editorial.
  
- Water Activity and Food.  
John A. Troller/J.H.B. Christian  
Academic Press New York 1978.  
HANNEI Editorial. N.Y.



Preparación de Soluciones

- Solución de Carrez I : 36 g  $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$  disolver en agua destilada y aforar a un litro.
- Solución de Carrez II : 72 g  $SO_4Zn \cdot 7H_2O$  disolver en agua destilada y aforar a un litro.
- NaOH 1N : 40 g NaOH disolver con agua destilada a aforar a un litro.
- NaOH 0.1 N : 4 g NaOH disolver con agua destilada y aforar a un litro.
- NaOH 0.01N : 0.4 g NaOH disolver con agua destilada y aforar a un litro.
- Solución HCl 0.1N : 3.9 ml de HCl 27% aforar a 1 litro con agua destilada.
- Solución HCl 4N : 155.8 ml de HCl 27% aforar a 1 litro con agua destilada.
- Solución de hidróxido de amonio 1N : 35 g de hidróxido de amonio disolver y aforar a un litro con agua destilada.
- Solución de hidróxido de amonio 7N : 245 g de hidróxido de amonio disolver y aforar a un litro con agua destilada.
- Solución de tiosulfato de sodio 0.1 M : pesar 24.82 g de tiosulfato de sodio pentahidratado, disolver con 100 ml de NaOH 1N y aforar a 1 litro con agua destilada.
- Solución estabilizada de almidón : disolver 70 g ClNa y 2.5 g de almidón soluble en 200 ml de agua. Llevar a ebullición y dejar hervir por 3 minutos. Enfriar a 20 grados centígrados y filtrar.

- Solución de Azul bromofenol : 4 g NaOH disolver 0.5 g de azul de Bromofenol en 100 ml de etanol al 95 %.
- Solución de Fehling I :  $\text{SO}_4\text{Cu} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  pesar 70 g disolver con agua destilada y aforar a un litro.
- Solución de Fehling II : 350 g  $\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  mezclar con 100 g NaOH disolver con agua destilada a un litro.
- Solución de Yoduro de Potasio (IK) al 30% : 150 g de yoduro de potasio mezclar con 2 g NaOH , disolver con agua destilada y aforar a 500 ml.
- Solución de Extracción :  $\text{CaCl}_2$  0.1 ml con tampón acetato de sodio 0.1 ml pH 4.5. Pesar 14.7 g  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  y 8.2 g de acetato de sodio anhidro. Disolver con agua destilada , ajustar el pH a 4.5 con ácido acético glacial y aforar a un litro.
- Solución de Cromógeno :  $\text{CaCl}_2$  2.25M con tampón acetato de sodio 0.1M pH 4.5 :

Solución Buffer : pesar 330.80 g  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  y 8.2 g de acetato de sodio anhidro , ajustar el pH a 4.5 con ácido acético glacial y aforar a un litro.

Solución yodo/yoduro de potasio (I/IK) : pesar 0.26 g de yodo y 2.6 g de yoduro de potasio , disolver con agua destilada y aforar a 10 ml.

Preparación : 0.75 ml de solución I/IK mezclar con 130 ml de solución buffer.

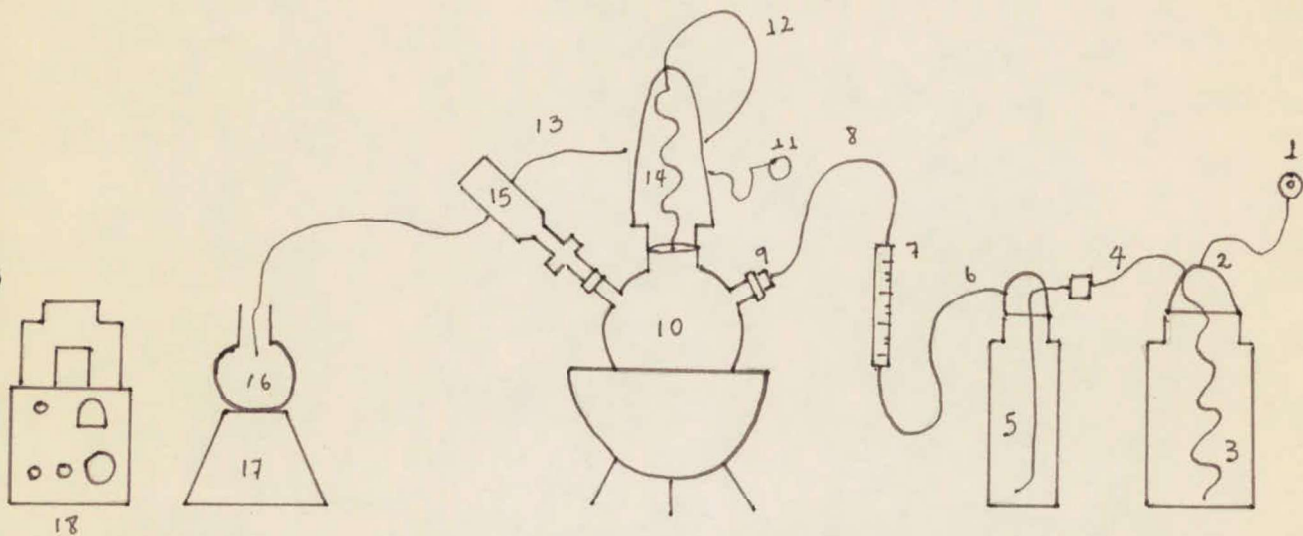
- BUFFER DE BORATO :  
TETRABORATO DE SODIO 0.05M (1.90 G EN 100 ML DE AGUA).  
Acido Bórico 0.2M (6.19 g en 500 ml de agua).  
Se añaden 408 ml de la solución de ácido bórico a 92 ml de solución de tetraborato de sodio y se ajusta con lo solución de ácido bórico.
- Solución de azul de bromotimol (0.2 M) : Se disuelve 12,8 mg de azul de bromotimol (sal sódica) en 100 ml de buffer de borato. Esta solución se debe usar sólo dentro de 24 horas.
- Solución 1 para ácido glutámico enzimático : 25 ml de fosfato de potasio con buffer trietanolamina pH 8,6
- Solución 2 para ácido glutámico enzimático : 100 mg de

diaforaza liofilizada disolver con 8 ml de agua destilada.

- Solución 3 para ácido glutámico enzimático : 2,5 ml de cloruro yodonitro tetrazolium diluir con 6 ml de agua destilada.
  
- Solución 4 para ácido glutámico : solución de 1.2 ml de glutamato dehidrogenasa.
  
- Solución 1 para glucosa enzimático : 7,2 g de una mezcla que consiste en buffer de trietanolamina pH 7,6; 110 mg de NADP; 260 mg de ATP; sulfato de magnesio y estabilizadores.
  
- Solución 2 para glucosa enzimático : 1,1 ml de suspensión que contiene 320 U. de enzima hexoquinasa y 160 U. de glucosa 6 fosfato.
  
- Solución 3 para glucosa enzimática : pesar 0.5 g de buffer citrato pH 4.6 y 720 U. de beta-fructosidasa diluir con 3 ml de agua bidestilada.
  
- Solución de ácido sulfúrico al 28% : 300 ml de ácido sulfúrico al 98% llevar a 1 litro con agua destilada.

ANEXO # 3

Equipo de Sulfito :

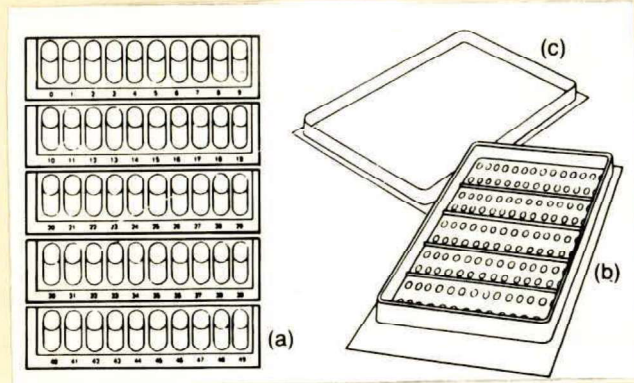


- 1.- LLave de activar el paso de N<sub>2</sub>
- 2.- Manguera para conectar la llave de N<sub>2</sub> con el serpentín de la botella 3.
- 3.- Botella que contiene NaOH al 30% y pirogalol que funciona como indicador de oxígeno.
- 4.- Manguera que conecta la botella 3 con la botella 5 que actúa como trampa.
- 5.- Botella vacía que actúa como trampa.
- 6.- Manguera que conecta la botella 5 con el medidor de presión de N<sub>2</sub>.
- 7.- Columna que mide la presión de N<sub>2</sub>.
- 8.- Conexión de la columna con la manguera.
- 9.- Entrada del N<sub>2</sub> al balón.
- 10.- Balón donde se trata la muestra.
- 11.- Entrada de agua al serpentín.
- 12.- Salida de agua del serpentín.

- 13.- Salida del  $\text{SO}_2$  con corriente de  $\text{N}_2$
- 14.- Serpentin para condensar el  $\text{N}_2$
- 15.- Bureta para dosificar el  $\text{HCl}$ .
- 16.- Fiola que contiene agua más indicador azul de bromofenol y  $\text{HCl}$ .
- 17.- Agitador magnético.
- 18.- Aparato para titular.

ANEXO # 4

TEST API



- a) test Api
- b) caja
- c) cápsula

