

Actividad Práctica 1 – Estudio de monosacáridos y disacáridos

Guía para fundamento teórico:

- a) ¿Qué son los glúcidos? ¿Cómo se clasifican?
- b) ¿Qué propiedades presentan los monosacáridos y los disacáridos?
- c) ¿Qué es el poder reductor de un glúcido?

1) Objetivos:

- Estudiar diferentes propiedades de los monosacáridos y disacáridos.
- Realizar la hidrólisis de un disacárido e identificar los productos de la reacción.
- Diferenciar aldosas y cetosas.

2) Materiales y sustancias/soluciones:

3) Factores de riesgo y medidas de seguridad:

4) Procedimiento:

a. Diferenciación de aldosas y cetosas:

1. Colocar en un tubo de ensayo 1 mL de solución de glucosa y en otro 1 mL de solución de fructosa.
2. Agregar 2 mL de reactivo de Seliwanoff a cada tubo. Calentar y observar.
3. Analizar los resultados.

b. Diferenciación de monosacáridos y disacáridos:

1. Colocar en tubo de ensayo 1 mL solución de glucosa y en otro el mismo volumen de solución de maltosa.
2. Colocar ambos tubos 2 mL de solución reactivo de Baerfoed.
3. Calentar a ebullición. Observar.
4. Analizar los resultados.

c. Ensayo del poder reductor empleando el reactivo de Fehling:

1. Preparación de reactivo de Fehling: Este reactivo se lo prepara en el momento de usar ya que es inestable. Colocar en cada tubo de ensayo volúmenes iguales (10 gotas c/u) de solución de Fehling A y Fehling B. Calentar hasta ebullición, si el color azul intenso se mantiene el reactivo se encuentra en buenas condiciones.

2. Agregar al reactivo de Fehling a una punta de espátula de cada azúcar sólida.
3. Calentar a ebullición.
4. Anotar las observaciones.

d. Ensayo del poder reductor empleando el reactivo de Tollens:

El reactivo de Tollens se prepara en el momento de usar ya que es inestable.

1. Colocar en un tubo de ensayo 3 mL solución de nitrato de plata (AgNO_3) y agregar una gota de solución de hidróxido de sodio al 10 %. Se forma un precipitado negro.
2. Posteriormente se agrega gota a gota de solución de amoníaco (NH_3) hasta disolución total del precipitado. Ya quedó preparado el reactivo.
3. Agregar un volumen igual de solución de glucosa al 10 %. Calentar suavemente y observar.
4. Anotar las observaciones.

e. Hidrólisis de la Sacarosa

1. Colocar en matraz Erlenmeyer 1 punta de espátula de sacarosa, agregar agua y disolver.
2. Añadir 2 gotas de HCl concentrado.
3. Calentar a la llama del mechero durante unos 5 minutos.
4. Dejar enfriar y neutralizar añadiendo solución de hidróxido de sodio. (Comprobar presencia de medio básico)
5. Realizar la prueba de Fehling como se indica en la parte c.
6. Observar y anotar los resultados.

Glúcido	Ensayo del poder reductor
Sacarosa	
Productos de la hidrólisis	

Organizar todos los resultados en una **tabla de datos**.

Pregunta complementaria:

- a. ¿Se observan diferencias en la solubilidad de los distintos glúcidos empleados?

Actividad Práctica 2 – Almidón, hidrólisis y geles

1) Objetivos:

- Reconocer almidón en los alimentos.
- Analizar las propiedades de los geles de distintos tipos de almidones.
- Seguir el transcurso de la hidrólisis química de un polisacárido por medio del ensayo de Lugol.

2) Materiales y sustancias/soluciones:

3) Factores de riesgo y medidas de seguridad:

4) Procedimiento:

a. Reconocimiento de almidón

1. Colocar en un tubo un poco de solución de almidón y agregar unas gotas de tintura de yodo o reactivo de Lugol. Observar la coloración.
2. Sobre cada alimento agregar unas gotas de tintura de yodo. Anotar las observaciones.

Alimento	Coloración con el agregado de tintura de yodo

b. Propiedades de los geles:

1. Disolver 8,00 g de almidón en 20,00 mL de agua.
2. Agregarlos a 100,0 mL de leche tibia.
3. Mezclar vigorosamente.
4. Medir la temperatura cuando se forme el gel.
5. Repetir los pasos anteriores con los demás tipos de almidones.
6. Completar el siguiente cuadro.

Origen del almidón utilizado	Temperatura de comienzo del espesamiento (gelatinización) (°C)	Características organolépticas			Formación de gel
		Aspecto	Textura	Sabor	

DATOS DE INTERÉS:

Tipo de almidón	Amilopectina (%)	Amilosa (%)	Temperatura de gelatinización (°C)
Maíz	69-74	26-31	62-72
Papa	73-77	18-27	58-67
Arroz	83	17	62-78
Mandioca	82	18	51-65

c. Hidrólisis del almidón:

1. En cada uno de los tubos de ensayo rotulados del 1 al 12, colocar 2 mL de reactivo de Lugol (solución de yodo-yodurada).
2. Preparar la solución de almidón en una cápsula en el momento de usarla (ver nota).*
3. Agregar 2 mL (gota a gota con cuidado) de ácido sulfúrico medido con probeta y agitando con varilla de vidrio al contenido de la cápsula.
4. Calentar el contenido de la cápsula a ebullición agitando continuamente.
5. Dejar hervir unos minutos.
6. Colocar dos o tres gotas del contenido de la cápsula sobre el primer tubo de ensayo.
7. Continuar calentando y agitando el contenido de la cápsula, manteniendo el volumen mediante el agregado de agua destilada.
8. Repetir el procedimiento mencionado en el punto 6 cada tres minutos en los restantes tubos de ensayo hasta que permanezca el color del yodo.
9. Dejar enfriar la mezcla de la cápsula y neutralizar (verificar con papel tornasol) mediante el uso del carbonato de calcio.
10. Filtrar.
11. Reconocer la presencia de glucosa en el filtrado (debe ser incoloro) con el reactivo de Fehling.

*PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE ALMIDÓN:

Hacer una pasta con aproximadamente 400 mg de almidón en un recipiente empleando un poco de agua.

Calentar 200 mL de agua destilada en una cápsula hasta ebullición. Adicionar la pasta al agua hirviendo y continuar calentando suavemente durante diez minutos. Agitar en forma alternada. Dejar enfriar y guardar en un frasco bien tapado.

Conservación: se debe tener en cuenta que esta suspensión acuosa de almidón se descompone a los pocos días fundamentalmente a causa de la acción bacteriana. La rapidez de descomposición se puede reducir con la adición de yoduro de mercurio.

Actividad Práctica 3- Actividad óptica de monosacáridos y disacáridos

1) Objetivos:

- Clasificar mono y disacáridos según su actividad óptica.
- Demostrar la inversión de la sacarosa mediante el uso del polarímetro.

2) Materiales y sustancias/soluciones:

3) Factores de riesgo y medidas de seguridad:

4) Procedimiento:

PARTE A: Clasificación de mono y disacáridos según su actividad óptica

A.1) Determinación del cero del polarímetro

- 1- Colocar agua destilada en un tubo de polarímetro hasta el 100 % de su capacidad. Controlar que no hayan quedado burbujas de aire, y secar el tubo con papel.
- 2- Colocarlo en el polarímetro.
- 3- Determinar el cero.

A.2) Clasificación de los mono y disacáridos

- 4- Proceder como en (1) y (2) pero con solución de glucosa 10 % m/V.
- 5- Buscar con el analizador del polarímetro la misma imagen que en el cero (menor luminosidad).
- 6- Anotar en el cuadro de observaciones el sentido en que se ha desviado la luz polarizada.
- 7- Repetir con las soluciones restantes.

Muestra	Desviación observada	Desviación teórica	Familia óptica
Agua destilada			

PARTE B: Demostración de la inversión de la sacarosa

B.1) Hidrólisis de la sacarosa

- 1- Colocar 12 mL de solución de sacarosa en un tubo pyrex, y agregarle 2 mL de solución de HCl 6,0 mol/L.
- 2- Calentar cuidadosamente en un baño de María que ya esté entre 60 y 67 °C por 10 minutos agitando de vez en cuando. La temperatura del baño no debe superar los 70 °C, se trata de evitar la caramelización de la sacarosa, que interfiere en el ensayo.
- 3- Enfriar bajo chorro de agua. Se busca enlentecer la hidrólisis para poder realizar la medida.

B.2) Determinación del sentido de desviación en la solución hidrolizada

4- Colocar el tubo en el polarímetro.

5- Buscar con el analizador del polarímetro la misma imagen que en el cero.

6- Tomar el valor observado en el polarímetro como nuevo cero.

7- Repetir con la solución de sacarosa hidrolizada que viene de (B.1).

8- Registrar el sentido en que se ha desviado la luz en el polarímetro.

9- Comparar con la observación realizada para la solución de sacarosa en (A.2). En caso de que no sea apreciable la inversión, calentar nuevamente por 5 minutos más.

Actividad Práctica 4 – Determinación cuantitativa de azúcares reductores totales

1) Objetivo:

- Determinar en forma cuantitativa el contenido de azúcares reductores totales en una muestra de refresco de lima-limón mediante el método de Hagedörn-Jensen.

2) Materiales y sustancias/soluciones:

- Pipeta graduada de 10 mL
- Pipetas aforadas de 10 mL
- Matraces aforados de 100 mL
- Matraz Erlenmeyer de 250 mL
- Bureta de 10mL
- Plancha calefactora con agitador
- Cuentagotas
- Muestra: refresco de lima-limón (sin gas)
- Glucosa sólida (ppa)
- Ferricianuro de potasio al 0,4 %
- Hidróxido de sodio 1 mol/L
- Azul de metileno al 1 %
- Agua destilada

3) Factores de riesgo y medidas de seguridad:

4) Procedimiento:

1. Preparar 100 mL de solución patrón de glucosa con concentración 1 g/L (utilizar material de precisión).
2. Colocar en un Erlenmeyer de 250 mL: 10 mL de ferricianuro de potasio al 0,4 % (exactamente medidos), 10 mL de NaOH 1 mol/L y llevar el volumen total hasta aproximadamente 50 mL con agua destilada
3. Llenar una bureta de 10 mL con solución de glucosa patrón.
4. Colocar el matraz sobre una plancha calefactora con agitación magnética e introducir una barra de agitación.
5. Calentar a ebullición. Luego encender la agitación y dejar caer la solución de glucosa de la bureta gota a gota (aproximadamente 1 gota cada 3 segundos).
6. Cuando se produce la decoloración prácticamente total del ferricianuro de potasio agregar dos gotas de solución de azul de metileno y continuar el agregado de solución de glucosa hasta decoloración total. Registrar el volumen del gasto final.
7. Repetir el procedimiento dos veces más.
8. Preparar una dilución al quinto de la muestra de refresco (utilizar material de precisión) y repetir el procedimiento anterior por triplicado, sustituyendo la solución patrón de glucosa en la bureta por la dilución de la muestra. Registrar los gastos obtenidos.
9. A partir de los gastos obtenidos determinar el contenido de azúcares reductores totales de la muestra (como glucosa).

Interpretación de resultados

1. ¿Por qué en algunas de las medidas de la prueba cuantitativa se aclara que deben realizarse en material de precisión y en otras no? Explica.
2. Resume las medidas de masa y volumen registradas en la prueba cuantitativa.
3. ¿Cuál es el contenido de azúcares reductores de la muestra analizada? ¿Coincide con el contenido de glúcidos (carbohidratos) reportado en la etiqueta del refresco? En caso negativo justifica a qué puede deberse esta referencia.

Actividad Práctica 5 – Determinación del contenido de azúcares reductores totales en miel

1) Objetivo:

- Utilizar el reactivo de Fehling para cuantificar el contenido de azúcares reductores totales en una muestra de miel de abeja mediante un método espectrofotométrico indirecto.

2) Materiales y sustancias/soluciones:

- Matraces aforados de 25, 50 y 250 mL
- Bureta de 10 mL
- Pipeta graduada de 5 mL
- Vaso de bohemia de 50 mL
- Balanza analítica
- Baño de hielo
- Baño de agua hirviendo
- Tubos de centrifuga
- Centrífuga
- Espectrofotómetro
- Cubetas de vidrio de 1 cm
- Muestra: miel de abeja
- Glucosa anhidra
- Soluciones de Fehling A y B
- Ácido nítrico concentrado
- Amoníaco concentrado

3) Factores de riesgo y medidas de seguridad:

4) Procedimiento:

Preparación del patrón de glucosa

1. Disolver 125 mg de glucosa (medidos por diferencia de masas) en agua destilada en un matraz aforado de 50 mL. Se obtendrá así un patrón de glucosa de 2500 ppm.

Preparación de la muestra

1. Masar 0,5 g de miel (con balanza analítica) en un vaso de bohemia de 50 mL.
2. Disolver la miel en aproximadamente 20 mL de agua destilada caliente.
3. Enfriar la solución en un baño de hielo y transferir cuantitativamente a un matraz aforado de 250 mL, enrasando con agua destilada.

Determinación espectrofotométrica:

1. Llenar una bureta de 10 mL con la solución patrón de glucosa y transferir los siguientes volúmenes de la misma a una serie de tubos de centrifuga:

	Blanco	50 ppm	100 ppm	150 ppm	200 ppm
Patrón (mL)	0	0,5	1,0	1,5	2,0

2. Preparar además otro tubo con 1 mL de solución de la muestra.
3. Agregar agua destilada a cada tubo de manera de alcanzar aproximadamente los 2 mL de líquido en cada uno.

4. Por otra parte, preparar 20 mL de reactivo de Fehling mezclando partes iguales de solución A y B.
5. Agregar a cada tubo 2 mL de reactivo y colocar en un baño de agua hirviendo por cinco minutos (se deberá observar la formación de un precipitado de color rojo).
6. Centrifugar los tubos a 2500 rpm por cinco minutos.
7. Descartar el sobrenadante y resuspender el precipitado de cada tubo en agua destilada.
8. Verificar que el volumen de líquido sea aproximadamente el mismo en cada tubo y centrifugar nuevamente a 2500 rpm por cinco minutos.
9. Descartar el sobrenadante.
10. Colocar los tubos en una gradilla y agregar a cada uno dos gotas de ácido nítrico concentrado, de manera que se disuelva el precipitado.
11. Diluir con agua destilada y transferir cuantitativamente el contenido de cada tubo a una serie de matraces aforados de 25 mL.
12. Agregar a cada uno 2 mL de amoníaco concentrado y enrasar con agua destilada.
13. Medir la absorbancia de las soluciones de cada matraz a 610 nm contra la solución correspondiente al blanco. *Cuidar de que la superficie de la cubeta esté perfectamente limpia antes de realizar las mediciones.*
14. Graficar en un diagrama de dispersión la concentración de glucosa contra la absorbancia y determinar la ecuación de la recta de mejor ajuste a los puntos mediante el método de mínimos cuadrados.
15. Para determinar la concentración de glucosa en cada dilución utilizar el volumen de solución patrón transferido a cada tubo de centrifuga, en un volumen final de 25 mL.
16. A partir de la absorbancia obtenida para el matraz de la muestra interpolar en la ecuación anterior para obtener su concentración de azúcares reductores totales (expresada como ppm de glucosa), y a partir de ella calcular el porcentaje de azúcares reductores en la miel.

Interpretación de resultados

1. Presenta las ecuaciones para las reacciones químicas involucradas en esta determinación. ¿Por qué se indica que este método es indirecto?
2. Presenta la tabla y la gráfica correspondiente a la curva de calibración del método con su recta de mínimos cuadrados acompañada por su ecuación.
3. A partir de los datos obtenidos experimentalmente, ¿cuál es el porcentaje de azúcares reductores totales (como glucosa) en la muestra problema?
4. ¿Consideras que este método sería aplicable en la determinación de azúcares reductores totales en cualquier muestra alimentaria? Justifica tu respuesta.

Nota: Puede emplearse un fotocolorímetro con el filtro correspondiente (610 nm).

Actividad Práctica 6 – Determinación de azúcares reductores

1) Objetivo:

- Utilizar el reactivo de Fehling para cuantificar el contenido de azúcares reductores de una muestra.

2) Materiales y sustancias/soluciones:

- Matracas aforados de 100 mL
- Bureta de 25 mL
- Erlenmeyer 100 mL
- Vaso de bohemia de 50, 100 y 250 mL
- Plancha calefactora
- Muestra: mieles, jugos de frutas, caña de azúcar, remolacha azucarera, jarabe de arce, etc.
- Glucosa anhidra
- Soluciones de Fehling A y B
- Azul de metileno

3) Factores de riesgo y medidas de seguridad:

4) Procedimiento:

Preparación y valoración de la muestra

1. Utilizar, aproximadamente, 5,0 g de la muestra, trasvasar a un matraz aforado de 100 mL y aforar con agua destilada. Con esta solución llenar una bureta de 25 mL.
Nota: La solución debe ser transparente; de no serlo decolorar con carbón activado.
2. En un Erlenmeyer medir 5 mL de Fehling A y 5 mL de Fehling B, adicionar 50 mL de agua destilada y llevar a ebullición.
3. Se inicia la titulación con la solución de la bureta hasta que empiece un viraje en el color, se adicionan 3 gotas de azul de metileno y continuar la titulación sin dejar de ebullición hasta que la solución pase a color rojo.

Valoración de la solución de Fehling:

1. Transferir a un vaso de precipitados, 10 mL de la solución de Fehling (5 mL Fehling A + 5 mL Fehling B).
2. Preparar una solución tipo (0,5 % de glucosa previamente secada) de una concentración tal que necesite más de 15 mL, pero menos de 50 mL de la misma, para reducir todo el cobre de la solución de azúcar necesaria para efectuar la reducción completa de cobre, reservando de 0,5 a 1,0 mL de la solución.
3. Calentar la solución y mantenerla en ebullición moderada exactamente durante 2 minutos, agregar dos gotas de la solución de azul de metileno y completar la titulación en un minuto más, de manera que el líquido hierva sin interrupción durante un tiempo total de tres minutos exactamente.

Resultados:

Expresar los resultados del % total de azúcares reductores en mg de glucosa por cada 100 g de muestra.

Créditos:

✓ **Referencias bibliográficas:**

- *Actividad 1:* Liceo N° 2 de Pando. Sala de Química. / Escuela Técnica del Buceo. Sala de Química.
- *Actividad 2:* Koppmann, M. (2011). *Manual de Gastronomía Molecular*. (2da Edición). Buenos Aires, Argentina: Siglo Veintiuno / Escuela Técnica del Buceo. Sala de Química.
- *Actividad 3:* Liceo N° 2 de Pando. Sala de Química. / Escuela Técnica del Buceo. Sala de Química.
- *Actividad 4:* Gurin, M. (2019). *Práctico 5. Determinación cuantitativa de azúcares reductores totales*. ITS Paysandú.
- *Actividad 5:* Gurin, M. (2020). *Práctico 8. Determinación del contenido de azúcares reductores totales en miel*. ITS Paysandú.
- *Actividad 6:* Inspección de Química CETP. (2018). *Química de los alimentos. Manual de actividades analíticas*.



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-CompartirIgual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)