

**Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro**  
**División de Ciencia Animal**



**Carbonatación de aguamiel**

Por  
Antonio Mena Barrientos

Tesis

Presentada como requisito para obtener el título de  
Ingeniero en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Buenvista Saltillo Coahuila, México  
6 de diciembre del 2013

**Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro**  
**División de Ciencia Animal**

**Carbonatación de aguamiel**

**Por**

**Antonio Mena Barrientos**

**Que se somete a la consideración del H. jurado examinador como  
requisito parcial para obtener el título de:**

**Ingeniero en Ciencia y Tecnología de Alimentos.**

---

**Dr. Mario Alberto Cruz Hernández**  
Presidente

---

**MC. Mildred Inna Marcela  
Flores Varástegui**

Sinodal

---

**Dr. Ruth Elizabeth  
Belmares Cerda**

Sinodal

---

**MC. Armando Robledo Olivo**  
Sinodal

---

**Dr. Ramiro López Trujillo**

Coordinador de la División de Ciencia Animal

Buenavista, Saltillo Coahuila, México.

6 de diciembre del 2013

## **Agradecimientos.**

Primeramente agradecer al señor de señores y todo poderoso mi Dios, quien me dio vida y hasta ahora me ha guiado y nunca me ha dejado solo en este largo andar. En mi vida han existido obstáculos muy difíciles de pasar y se sinceramente que sin su ayuda no los hubiese podido pasar. Estoy muy agradecido con él por el hecho de darme a mis padres quienes fueron en su tiempo quienes me dieron la vida y me dirigieron por el camino del bien.

Mis hermanos que nunca me dejaron solo que aunque lejos pero estuvieron pendiente de mí, gracias por el apoyo moral y económico que me han brindado.

A todas esas personas que estuvieron a mi lado en momentos difíciles y de desesperación.

Muchas gracias también a los profesores que sirvieron como guía en el transcurso de mi carrera y a lo largo del proceso de esta tesis. Yo soy resultado de todos ellos y llevo en mi formación un granito de arena que cada uno aportó en mi formación académica.

## **Dedicatoria.**

A mi madre Ricarda Barrientos Chávez que sé que está orgullosa de mirar que su hijo por fin es Ing. También a mi padre Gregorio Mena Hinojosa que aunque ya no está a mi lado y no puedo abrazarlo sé que nunca me ha dejado solo y me alegro de haber concluido mi carrera porque sé que si él viviera y me mirara así se pondría exageradamente contento al pensar en el puedo sentir su tranquilidad que le brinda el saber que he concluido la licenciatura.

## Contenido

Capítulo I.....	1
INTRODUCCIÓN.....	1
Capítulo II.....	2
HIPÓTESIS.....	2
Capítulo III.....	2
OBJETIVOS.....	2
Capítulo IV.....	3
JUSTIFICACIÓN.....	3
Capítulo V.....	4
ANTECEDENTES.....	4
5.1 EL AGAVE.....	5
5.2 Alimentación en México.....	6
5. 2 Aguamiel.....	13
5.3 Estudio de los parámetros que se medirán en aguamiel.....	18
5.4 Tratamientos térmicos y Tecnologías emergentes para la conservación de alimentos.....	34
5.5 Dióxido de carbono.....	40
Capítulo VI.....	42
METODOLOGÍA.....	42
6.2 Diseño y desarrollo del carbonatador.....	42
6.3 Obtención de aguamiel.....	43
6.4 Caracterización del aguamiel sin gasificar.....	47
6.5 Carbonatación.....	47
6.6 Métodos de conservación.....	47
6.7 Caracterización de aguamiel carbonatada.....	48
Capítulo VII.....	52
Análisis de resultados.....	52
Evolución de los análisis a través del tiempo.....	59
Capítulo VIII.....	70
Discusión.....	70

Capitulo IX.....	72
Conclusiones.....	72
Capitulo X.....	73
Recomendaciones.....	73
Capítulo XI.....	74
BIBLIOGRAFÍA: .....	74
Anexos.....	78
Diagrama General.....	78

### **Índice de cuadros**

Tabla 1. Caracterización de aguamiel.....	14
Tabla 2. Comparación de aguamiel de cuatro variedades de agave.....	15
Tabla 3. Parámetros a considerar para determinar la calidad del aguamiel según la NMX-V-022-1972.....	16
Tabla 4. Clasificación de los alimentos de acuerdo a su acidez. ....	27
Tabla 5. Clasificación de carbohidratos de acuerdo a su tamaño.....	30
Tabla 6. Aspectos generales de las reacciones de oscurecimiento. ....	30

### **Índice de figuras.**

Ilustración 1. Morfología del maguey. ....	5
Ilustración 2. Interacción de la luz con la pintura (HunterLab, 2001). ....	18
Ilustración 3. Distribución espectral de la energía de luz solar (HunterLab, 2001). ....	19
Ilustración 4. Diagrama de cromaticidad CIE xyY .....	20
Ilustración 5. Colores RGB. ....	20
Ilustración 6. Sistema de colores CIE Lab. ....	21
Ilustración 7. Concentración de iones hidronio.....	25
Ilustración 8 Escala de pH. ....	26
Ilustración 9. Partes del carbonatador. ....	42
Ilustración 10. Selección del agave. ....	43
Ilustración 11. Abrir paso.....	43
Ilustración 12. Posicionarse cerca del escapo floral.....	44
Ilustración 13. Hiriendo al agave.....	44
Ilustración 14. Retirando el escapo floral. ....	45
Ilustración 15. Picando y raspando. ....	45
Ilustración 16. Recinto donde se acumulara el aguamiel. ....	46

Ilustración 17. Curva patrón de azúcares reductores.....	50
Ilustración 18. Curva de calibración para proteínas.....	51
Ilustración 19. Luminosidad (L*) en muestras de aguamiel.....	52
Ilustración 20. Cromaticidad a* en muestras de aguamiel. ....	53
Ilustración 21. Cromaticidad b* en muestras de aguamiel. ....	53
Ilustración 22. Color del aguamiel. ....	54
Ilustración 23. PH en muestras de aguamiel. ....	55
Ilustración 24. Sólidos solubles en las muestras de aguamiel.....	55
Ilustración 25. Densidad en muestras de aguamiel. ....	56
Ilustración 26. Azúcares reductores en muestras de aguamiel. ....	56
Ilustración 27. Proteínas en muestras de aguamiel.....	57
Ilustración 28. Hongos y levaduras en muestras de aguamiel.....	57
Ilustración 29. Análisis microbiológico en agar RMS.....	58
Ilustración 30. Análisis microbiológico en agar EMB. ....	58
Ilustración 31. Luminosidad L* a través del tiempo, en aguamiel pasteurizada.....	59
Ilustración 32. Cromaticidad a* a través del tiempo, en aguamiel pasteurizada.....	60
Ilustración 33. Cromaticidad b* a través del tiempo en aguamiel pasteurizada.....	60
Ilustración 34. Luminosidad L* a través del tiempo, en muestras de aguamiel esterilizada. .....	61
Ilustración 35. Cromaticidad a* a través del tiempo, en aguamiel esterilizada .....	61
Ilustración 36. Cromaticidad b* a través del tiempo, en aguamiel esterilizada. ....	62
Ilustración 37. Comportamiento del pH a travez del tiempo.....	63
Ilustración 38. Comportamiento de los solidos solubles a traves del tiempo. ....	64
Ilustración 39. Comportamiento de las proteínas a traves del tiempo. ....	65
Ilustración 40. Comportamiento de la densidad a traves del tiempo. ....	65
Ilustración 41. Comparación de azúcares reductores a traves del tiempo. ....	66
Ilustración 42. Comportamiento de hongos y levaduras a traves del tiempo. ....	67
Ilustración 43. Comparación del desarrollo de Bacterias ácido lácticas y lactobacilos.....	68
Ilustración 44. Comparación de las UFC de <i>Enterobacteriaceae</i> .....	69



## Capítulo I

### INTRODUCCIÓN

El aguamiel es un líquido color ambarino obtenido del agave. Se conoce desde la antigüedad, este líquido se caracteriza por su sabor dulce, debido al alto contenido de fructosa. Esta bebida puede ser considerada como un alimento ya que entre sus componentes podemos encontrar, proteína, vitaminas, calcio, fibra y minerales.

La savia de agave se ha consumido en pueblos indígenas y en gran parte del país, pero a través de los años se va perdiendo la tradición de consumir este elixir ya que es de fácil fermentación, debido a la gran cantidad de microorganismos que contiene de forma natural. Lo que da paso a una nueva bebida alcohólica denominada pulque.

Para la conservación y comercialización del aguamiel, los tlachiqueros (personas que tradicionalmente obtienen aguamiel de los agaves), someten a un tratamiento térmico la savia del maguey, logrando extender su vida útil a quince días en refrigeración.

Para lograr extender aún más la vida de anaquel de este producto es necesario destruir los microorganismos que presenta de forma natural e inactivar las enzimas que pudieran degradar la bebida. Para ello se utilizaron y evaluaron dos tratamientos; pasteurización y esterilización. Además de la adición de CO<sub>2</sub> en ambos casos.

Entre las actividades realizadas se describe la obtención del aguamiel directamente del agave, de igual forma la caracterización del aguamiel realizando los análisis de: color, pH, proteínas, azúcares reductores, sólidos solubles, densidad, cenizas y análisis microbiológico.

Al extender la vida útil del aguamiel se conseguirá un periodo de comercialización más amplio para hacer llegar el producto a zonas donde no exista la posibilidad de conseguirlo. De igual manera si se logra extender la vida de anaquel de productos que han perdurado durante siglos, y se busca la manera de que sean apetitosos para el consumidor, se estará logrando sacar del rezago y desabasto alimenticio que actualmente atraviesa el país.



## Capítulo II

### HIPÓTESIS

Es posible extender la vida de anaquel del aguamiel por medio de tratamientos térmicos (pasteurización y esterilización) y es posible adicionarle dióxido de carbono.

## Capítulo III

### OBJETIVOS

- Objetivo general

Desarrollar una bebida gaseosa de aguamiel adicionada con dióxido de carbono y evaluar tratamientos térmicos de pasteurización y esterilización para extender la vida de anaquel.

- Objetivos específicos

3.2.1 Obtener aguamiel de agave cruda (sin que haya pasado por un proceso de conservación).

3.2.2 Someter el aguamiel a dos procesos de conservación (pasteurización y esterilización).

3.2.3 Diseñar y construir un carbonatador.

3.2.4 Desarrollar un proceso para carbonatar aguamiel utilizando el prototipo diseñado.

3.2.4 Evaluar la vida de anaquel del aguamiel carbonatada en ambos tratamientos.

## Capítulo IV

### JUSTIFICACIÓN

En la actualidad existe un gran problema en México, el desempleo, el cual desencadena diferentes escenarios los que a su vez, no son nada favorables para sus habitantes, provocando el rezago económico, estudiantil y por ello la migración, en México existen potencialidades que están dormidas y necesitamos despertar. Solo impulsando el desarrollo del medio rural y a través de ello la obtención de alimentos, lograremos la sustentabilidad alimentaria y podremos impulsar el desarrollo del país.

El aguamiel es una bebida que actualmente no se le ha prestado atención a pesar de los beneficios a la salud que se le atribuyen. Los microorganismos que presenta de forma natural en su mayoría no son patógenos, sin embargo es necesaria la inactivación de los microorganismos a través de tratamientos térmicos, para aumentar la vida de anaquel y así poder introducirla en el mercado.

Por lo cual en el presente trabajo se desarrolló un prototipo de carbonatador que permitirá la obtención de bebidas en forma gaseosa, utilizando el prototipo diseñado se sometió a dicho proceso aguamiel obtenida de la región sureste del estado de Coahuila. Esta bebida fue evaluada mediante dos tratamientos térmicos para eliminar la carga microbiana y poder aumentar así la vida de anaquel.

El diseño de esta bebida será una alternativa para generar ingresos a productores de aguamiel que actualmente solo venden el producto fresco.

## Capítulo V

### ANTECEDENTES

Mayahuel en la mitología azteca, es la diosa del maguey, en la época prehispánica los mexicas que eran derrotados en combates, tomaban pulque, de esta forma se olvidaban de sus pesares y eran preparados para ser sacrificados.

Tras ser conquistados los mexicas fueron adoptando las formas de vida de los españoles dejando a un lado las propias creencias, la propia vestimenta y la propia gastronomía aunque no fue un cambio total. En nuestros días se tiene que solo pequeñas partes de la población mexicana conocen y conservan costumbres que se están extinguiendo. Un ejemplo de ello es el cultivo del agave que por mucho tiempo á sido fuente de distintos productos que de él se obtienen entre los que destacan el tequila, mezcal, y otros que no son muy conocidos como el quiote, pulque y aguamiel.

El aguamiel es una bebida no alcohólica que se obtiene del agave principalmente *Agave salmiana*, *A. mapisaga*, *A atrovirens* estos tipos de agave se explotan en mayor cantidad en las regiones del valle de México, en los estados de Tlaxcala, Hidalgo y Puebla, sin embargo no se explotan con el fin de obtener el aguamiel como bebida, más bien lo que buscan es la fermentación de está para obtener una bebida alcohólica llamada pulque.

## 5.1 EL AGAVE

El género agave comprende una extensa variedad de especies.

Los agaves tienen distintas formas de propagación una de ellas y lo más común es que expandan su población por medio de hijuelos los cuales nacen del suelo en la parte inferior del agave, una vez que han madurado (nueve o diez años), producen una inflorescencia para luego morir. La inflorescencia brota del centro del agave con el único fin de dar semilla pero las plantas que se generan al germinar la semilla son mucho más tardías para crecer y reproducirse que las que brotan de la superficie terrestre (hijuelos). (Flores, 2005).

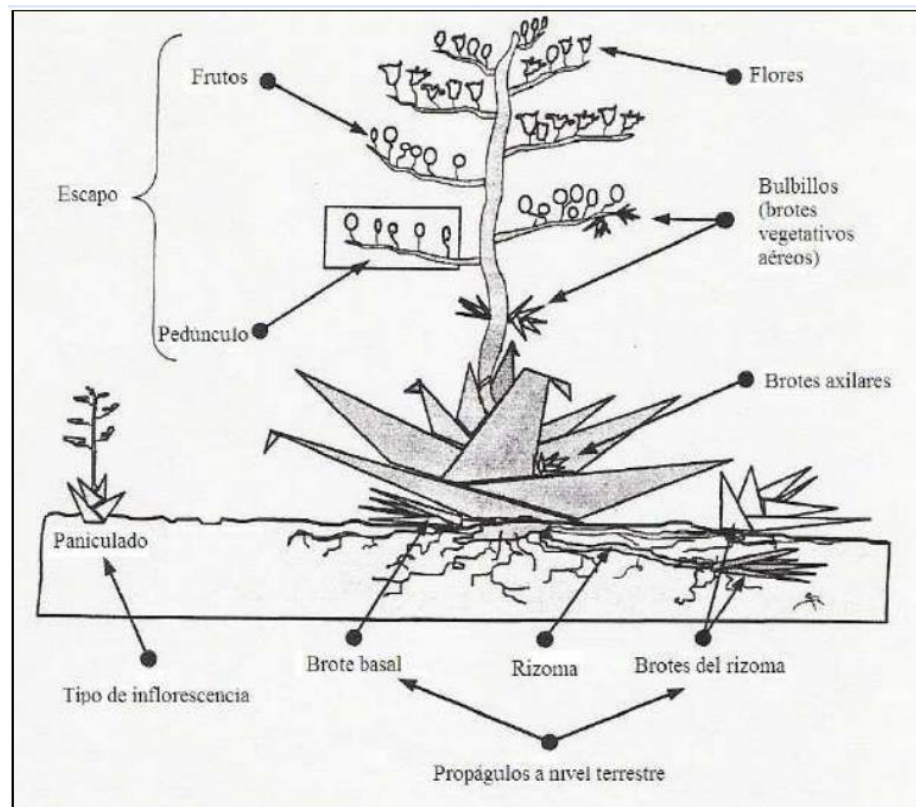


Ilustración 1. Morfología del maguey.

(Flores, 2005)

Antes de florecer el maguey presenta una morfología muy peculiar, las hojas inferiores del maguey se aproximan al meyolote o penca central, y éste se adelgaza; la espina terminal del meyolote se ennegrece y los bordes de las pencas exteriores que forman el meyolote quedan desprovistas de espinas en su cuarto inferior, esto indica que es hora de quebrar el maguey.

## **5.2 Alimentación en México.**

A lo largo de la historia se han atribuido los fallos alimenticios a distintos factores uno de ellos es el Estado, otro la cultura, a los ingresos, dejando a un lado el único patrón que puede sacar adelante este problema, la educación.

Para solucionar esta serie de problemas el gobierno ha creado distintas estrategias y programas para ayudar a que las personas del país tengan una mejor alimentación.

Entre las estrategias implementadas por el gobierno se encuentran las siguientes:

A lo largo de los treinta y durante cuatro décadas la política alimentaria mexicana se enfocó a cubrir la demanda alimenticia en las zonas urbanas mediante un programa bimodal el cual consistió en la producción de alimentos mediante empresas privadas que hacían uso de la tecnología por un lado y por el otro una economía basada en el trabajo familiar y el uso de tecnología tradicional.

A finales del gobierno de López Portillo (1976-1982) se implementa el Sistema Alimentario Mexicano (SAM) para apoyar a la agricultura de temporal, impulsar agroindustrias campesinas, facilitar el acceso a la tierra, la tecnología y los insumos de esta manera crear una canasta básica de alimentos: todo ello con el fin de establecer una relación entre producción, abasto, consumo y nutrición, promoviendo lo que el gobierno lópezportillista denominó autosuficiencia alimentaria (Suárez y Pérez 1999. citado por Ortiz Gómez y Vásquez García 2004).

Cabe recordar que el SAM fue operado en una época de bonanza nacional caracterizada por los ingresos que el petróleo reportó al país; sin embargo, a partir de 1982, la caída de los precios internacionales del oro negro afecta la balanza de pagos y el presupuesto nacional, con lo que el gobierno se ve obligado a firmar una "carta de intención" con el Fondo Monetario Internacional. (Suarez y Pérez Gil, 1999 citado por Ortiz Gómez y Vásquez García 2004).

Con los subsecuentes gobiernos neoliberales, la política alimentaria nacional da un giro radical al abandonar la meta de la autosuficiencia y apostar por el intercambio comercial como el mecanismo para garantizar la disponibilidad de alimentos. (Ortiz Gómez y Vásquez García 2004).

Durante el sexenio de Miguel de la Madrid (1982-1988) la meta de autosuficiencia se sustituye por la de soberanía alimentaria, que implica acentuar la capacidad de compra de los alimentos requeridos sin importar quién y cómo se produzcan (Suárez y Pérez-Gil, 1999, citado por Ortiz Gómez y Vásquez García 2004).

Durante el gobierno de Carlos Salinas de Gortari (1988-1994) la crisis alimentaria es adjudicada a la ineficiencia de los pequeños productores por lo que se promueve la apertura comercial y la privatización de varios sectores de la economía, incluyendo la agricultura. A partir de Salinas la meta sería la seguridad alimentaria, cuyo fin es garantizar la disponibilidad de alimentos mediante su importación, sin reparar en el volumen de ésta. (Espinosa, 1996 y 1999 citado por Ortiz Gómez y Vásquez García 2004)

Esta política ha continuado durante el período de Ernesto Zedillo (1994-2000) y los tres años de gobierno de Vicente Fox, trayendo consigo una creciente dependencia de alimentos básicos del exterior. De ahí que a partir de la entrada en vigor del Tratado De Libre Comercio de América del Norte (TLCAN), cuarenta por ciento de la demanda de los productos alimentarios en México es cubierta por las importaciones de Estados Unidos y Canadá (Molina, 2003 citado por Ortiz Gómez y Vásquez García 2004).

Víctor Toledo, Julia Carabias, Cristina Mapes y Carlos Toledo (2000) proponen una vuelta a la autosuficiencia alimentaria cuya meta sea la de alcanzar una producción agropecuaria, forestal y pesquera que cubra la demanda de alimentos básicos, garantice su acceso a la población y mejore su nivel nutricional, lo cual puede lograrse gracias a la diversidad de ecosistemas y culturas del país. (Ortiz Gómez y Vásquez García 2004)

Para lograr dicha autosuficiencia se necesita que la sociedad en general participe en la producción alimentaria ya sea con huertos familiares, granjas familiares, y la parte más importante buscar salida para la sobreproducción de huertos y granjas, de esta manera se logrará tener un incentivo en cada familia que participe.

Para lograr transformar el excedente de huertos y granjas en dinero, se requiere de la transformación de materia prima en productos con valor agregado. Construyendo laboratorios agropecuarios estratégicamente distribuidos en las regiones donde las personas deseen y sean gustosas de participar. Dichos laboratorios serán administrados por técnicos que conozcan los procesos de transformación de la materia prima y hagan valer las BPM y BPA, el sistema de reducción de riesgos de contaminantes del SENACICA, así como sistemas de gestión de calidad tales como ISO, Global GAP, México calidad suprema entre otros, de esta manera será más fácil posicionar los productos en el mercado.

### **5.2.1 Programas implementados para el combate a la pobreza.**

La alimentación y consecuentemente, la educación nutricional son pilares fundamentales de la salud individual y colectiva de la población.

La OMS establece la recomendación sobre cantidades de energía y nutrimentos diarios, de acuerdo a los diversos grupos de edad, sexo y actividad física. Ahora bien, la educación para una correcta alimentación es algo más que la consecución del equilibrio nutritivo y, por tanto, la educación nutricional ha de contemplar también los aspectos sociales y culturales que forman parte de ella. (Rivera, 2007)

En 1985, en el programa de asistencia social alimentaria del DIF reorientó su estrategia utilizando dotaciones de maíz nixtamalizado y frijol, en lugar de leche tanto en el programa de asistencia social alimentaria a familias (PASAF) como en el programa especial para niños (PREPAN). (Rivera, 2007).

Presentamos una lista de programas que el gobierno á implementado para mitigar el hambre, la desnutrición y la pobreza.

**1.- LICONSA.** Es un programa encargado de distribuir leche, en su mayoría a zonas urbanas.

**2.- El DIF.** Participó con despensas y desayunos para niños en edad preescolar y escolar.

**3.-PROGRESA.** Es un programa integral de combate a la pobreza que integra un componente de nutrición que distribuye un alimento enriquecido con micronutrientes para menores de dos años en pobreza extrema, (rural).

**4.- FIDELIST.** El cual distribuye tortillas de maíz.  
(Rivera, 2007).

Naturalmente estas dádivas proporcionadas por el gobierno tienen gran impacto económico y muy poco o casi nulo impacto en la desnutrición ya que existe gran cantidad de desvío de recursos. Se estima que solo el 40% de la ayuda llega a los beneficiarios.

Esos programas podrían enfocarse a personas minusválidas o personas que no pueden valerse de sí mismas, pero personas que son capaces de trabajar y crear un bien, no merecen esta falta de respeto, lo que necesitan es un trabajo que puedan desempeñar y así generar bienes tangibles que además de beneficiarse a sí mismos generaran un ingreso al país promoviendo el desarrollo social.

### **5.2.2 Alimentación en México desde el punto de vista económico.**

La falta de ingresos es una de las causas más importantes que impiden a la población obtener una dieta adecuada. (Martínez, 2003).

México sin duda tiene una gran diversidad en alimentación, cultura, económica, ecológica, ideología, es por ello que tiene potencial para desarrollarse en todos los ámbitos mencionados solo falta explotarlos.

Los indicadores de la nutrición que a lo largo del tiempo han surgido, son encuestas realizadas por diferentes instituciones, una de ellas y más representativa la realizó el Instituto Nacional de Nutrición Salvador Zubirán.

La primera encuesta en México la organizó y ejecutó el maestro Zubirán a principios de los años 40 del pasado siglo en la población de Ixmiquilpan, Hidalgo. De 1958 a 1974 se llevaron a cabo encuestas muy detalladas y completas en 58 comunidades rurales, de cuyos resultados se podía esbozar la situación de la alimentación en el medio rural a pesar de que no eran simultáneas ni cubrían todo el territorio. (Rivera, 2007).

La información más reciente sobre la nutrición de los habitantes de México corresponde a dos estudios con muestreo probabilístico: La tercera Encuesta Nacional de Alimentación y Nutrición, realizada por el instituto en 1996 en el medio rural, y la Encuesta Nacional de Nutrición del Instituto Nacional de Salud Pública en 1999, en una muestra de todo el país. (Rivera, 2007).



Para analizar la alimentación y nutrición se dividió al país en cuatro regiones: Norte, Centro, Ciudad de México y Sur.

En las encuestas realizadas también participaron instituciones como la Secretaría de Salud, la Comisión Nacional de Alimentación, el Instituto Nacional Indigenista, el sistema DIF, diversos institutos nacionales de salud y el programa IMMS Solidaridad.

Entre los datos arrojados por la Encuesta Nacional de Nutrición y Alimentación realizada en 1999 realizada por el Instituto Nacional de Salud Pública se destacan los siguientes puntos:

En cuanto a peso y desnutrición, en la encuesta aplicada a niños menores de 5 años con una cifra de 8.011 niños que representaron a 10.612.400 niños. Estos presentaron un desmedro después de los dos años de vida, haciendo notar las regiones norte y sur del país. En la parte norte las cifras fueron semejantes a las de los países desarrollados y presentando un incremento en regiones del sur, siendo estas las más altas de América Latina. (Rivera, 2007)

En el ámbito nacional la prevalencia de desmedro (Deficiencia en talla para la edad) fue de 17,8%, la de bajo peso de 7,6% y la de la emaciación (bajo peso para la talla) de 2,1%. Se observaron grandes diferencias en las prevalencias de desmedro entre regiones y tipos de localidad. Así, mientras en la región sur la prevalencia de desmedro fue de 29,2%, en la región norte fue de 7,1% y en las del centro y ciudad de México fueron de 13,1% y 14,5% respectivamente. (Rivera, 2007)

En 11.415 niños de edad escolar de ambos sexos (5-11 años), que representaron a 15.609.500 niños la prevalencia de bajo peso fue de 4,5% esto es una cifra de aproximadamente 702.427 niños. La prevalencia de talla baja para la edad en el ámbito nacional fue de 16.1% representando una cifra de aproximadamente 2.513.129 niños y de bajo peso respecto a la talla fue de 1.0% esto es aproximadamente 156.095 niños.

Otro aspecto importante es el sobrepeso y la obesidad. Al analizar la información por regiones, se observó que las mujeres de la región norte mostraron la mayor prevalencia con un 35,1% en sobrepeso y 33,4% en obesidad, y en el sur la prevalencia fue ligeramente menor con un 25,4% y un 21,9% respectivamente.

También se observó que el sobrepeso y obesidad fueron menores en las zonas rurales que en las urbanas.

En los niños en edad escolar (5-11 años) existió una elevada prevalencia de sobrepeso. El 20% de los niños de esta edad presentaba sobrepeso u obesidad con una cifra de 3.121.900 niños, esto se reflejaba con mayor frecuencia en zonas urbanas. Otro dato importante es el número de niños que presentaba anemia, con una prevalencia nacional similar a la cifra de niños con obesidad y sobrepeso.

Para evitar que el sobrepeso y obesidad sigan en aumento se recomienda educar a la población para que se alimente con las debidas precauciones, se tiene que adquirir el conocimiento de los requerimientos del cuerpo, así como el índice de masa corporal, peso, talla, peso ideal, el aporte calórico por los diferentes grupos alimenticios (proteínas, grasas, carbohidratos), cantidad que se recomienda consumir de cada tipo de alimento, el número de calorías que se recomiendan consumir en un día o semana, todo esto tiene que ser personalizado ya que las diferentes actividades que se realizan de persona en persona son muy variadas por tal razón no se puede estandarizar la alimentación de las personas. De la misma manera se exhorta a tener el hábito de realizar ejercicio físico que lleve al desgaste de las calorías excedentes ingeridas.

En el ámbito nacional 1,7% de las mujeres en edad fértil fueron clasificadas como desnutridas, 46,6% tenía adecuado índice de masa corporal, 30,6% tenía sobrepeso y el 21,2% mostraba obesidad, es decir, más de la mitad de las mujeres (52,5%) exhiben problemas con el mantenimiento de un peso adecuado lo que es preocupante porque además de aumentar el riesgo de enfermedades crónico-degenerativas, la tendencia era hacia al aumento. (Rivera, 2007).

La anemia es otro problema que revela cifras alarmantes pues una de cada cinco mujeres no embarazadas y una de cada cuatro embarazadas presentaban esta enfermedad. Por otro lado los niños menores de 5 años presentan esta enfermedad en un porcentaje de 27,2, y en infantes de entre cinco y once años el dato arrojado por la encuesta fue de un 19,5%.

Deficiencias en distintos micro elementos y biomoléculas es otro punto que hay que tocar ya que en la Encuesta Nacional de Alimentación y Nutrición de 1999 se determinó que un 30% de las mujeres presentan deficiencia en el consumo de hierro y zinc de la misma forma un 2% de niños tienen este padecimiento. Por otro lado se encontró que el 35% de los niños de México sufren de deficiencia de vitamina C de la misma manera se encontraron deficiencias en vitamina E, A y ácido fólico.

Debido a la gran variedad de costumbres y formas de alimentación en México se dividió las distintas dietas en diferentes formas. Dieta del marginado, clase proletaria, clase media y alta.

El grupo de los marginados representan aproximadamente el 30% de la población del país y son solo rurales. Su dieta es muy monótona, está falta de alimentos energéticos, es muy voluminosa y tiene poca elaboración, es decir es poco atractiva. Es a base de tortilla, frijol, verduras, frutas locales y a veces algún otro alimento. El problema fundamental es el escaso consumo y deficiencia de alimentos que la provean de energía, hierro, proteína, vitamina A y B2. (ENAN, 1999).

La dieta de la población proletaria, que corresponde aproximadamente al 50% del país y en donde la mayoría son urbanos, es mucho menos monótona, más energética y más elaborada; también contiene tortilla y frijol, considera el pan, las pastas, el arroz, lo que proporciona mayor variedad; hay más frutas y verduras, aparecen los alimentos animales que indican mayor poder adquisitivo que los marginados. (Rodríguez H. citado por Rivera, 2007).

La clase media y alta representa el 20% de la población y es urbana en su totalidad. Sus dietas son diversas, concentradas, muy ricas, a menudo ejemplares y muy elaboradas, contienen numerosos alimentos de todos los grupos. Conjuga la influencia de varias tradiciones culinarias (española y francesa, fundamentalmente) con la mexicana de alto nivel que tiene una importancia especial. Esta dieta no causa deficiencias, pero en algunos casos genera excesos. (Rivera, 2007).

Desde la perspectiva antropológica, la alimentación es un proceso social que permite al organismo adquirir “las sustancias energéticas, estructurales y catalíticas necesarias para la vida” (De Garine y Vargas, 1997 citado por Ortiz Gómez y Vásquez García 2004).

Este proceso se da en función de los alimentos producidos en denominada región, costumbres de las diferentes sociedades, época del año (navidad, vigilia, pascua), estado fisiológico de quien los consume (lactancia, niñez, mujeres en cinta), diferentes tipos de festividades (bautizos, bodas, cumpleaños), todo ello da paso a un consumo de alimentos propios de cada estado y situación del ser humano.

## 5.3 Aguamiel.

### 5.3.1 Definición.

El aguamiel es un líquido traslucido, de color ambarino, de olor y sabor característicos que se aprecian mediante prueba de catado. (NMX-V-022-1972).

Este fluido es rico en carbohidratos como inulina, sacarosa y fructosa, además contiene pequeñas cantidades de aminoácidos y vitaminas. (Flores Morales *et all.*)

Debido a la gran cantidad de nutrientes es un medio de cultivo fácilmente de proliferar por distintos microorganismos. Comúnmente podemos encontrar microorganismos del género *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Sacharomyces*, *Zymomonas mobilis* y *Acetobacter*. El aguamiel es un líquido dulce (7 a 14° Baumé), este puede ser ácido o ligeramente alcalino, incoloro y transparente. Posee un ligero olor herbáceo y contiene diversos minerales, además de ser rico en carbohidratos y proteínas, presenta un pH promedio cercano a la neutralidad (6.8) con un porcentaje de humedad elevado de 86% una proporción de sólidos solubles de 10.85 °Brix (Ramírez y Gentry; 1982).

El aguamiel se obtiene del género *Agave* dentro de este género existen diversas especies, variedades y subespecies. Las más representativas son los *Agaves salmiana var. Salmiana*, *A. salmiana var. Angustifolia*, *A. salmiana var. Ferox* y *A. salmiana subp. Crassipina* (Cortés y Basurto, 2007 citado por Ramírez Higuera, 2009).

Entre otras especies que también se explotan con el fin de la producción de pulque se encuentran *A. atrovirens Kraw*, *A. mapisaga*, *A. hookeri*, *A. americana*.

En el Valle de México las especies que principalmente se explotan para la producción de pulque son: *A. teometl Zucc.*, *A. weberi Cels.*, *A. altísima Jacobi.*, *A. compliata Trel.*, *A. gracillispina Englem.*, *A. malliflua Trel.*, *A. quitifera Trel.*, *A. mapisaga Trel.* (Gracia, 1994; Ramírez y Gentry, 1982; Ramírez Higuera, 2009).

El néctar de maguey en la época prehispánica fue el dulce más utilizado y se denominaba tilitica-necutli.

Los aztecas empleaban la mayor parte del aguamiel que producían para fabricar el néctar del maguey ya que también era utilizado como remedio energético y de curación para varias enfermedades, pero ante la llegada de los españoles, la miel

de agave fue sustituida por el azúcar de caña y en la época de la colonia la explotación del maguey se redujo a la producción de pulque.

El aguamiel puede ser una fuente importante de elementos nutricionales para consumo humano cuya composición química se ilustra en el siguiente cuadro:

**Tabla 1. Caracterización de aguamiel.**

<b>Componente</b>	<b>Mg/L</b>
Densidad	10.49 0
Acidez	0.680
Glucosa	0.120
Sacarosa	94.50 0
Gomas	6.000
Albuminoides	8.060
Cenizas	4.500

(Loyola, 1956; Cravioto et al., 1953; Ramírez Higuera 2009).

También contiene agua, fructosa, minerales como hierro y zinc en cantidades de 21. 500 y 14.100 mg/L respectivamente y vitamina C (Loyola, 1956; Cravioto et al., 1953; Ramírez Higuera 2009).

El aguamiel, es la savia que se obtiene después de 6 meses de haber realizado el proceso de castrado del agave, cuyos componentes son: agua, sacarosa, glucosa, arabinosa en proporciones mucho menores que la fructosa y la glucosa y sobre todo se ha caracterizado por su contenido de polifruktanos, es decir, inulina. (Ramírez Higuera 2009). Mediante el método HPCL relazado por Ramírez Higuera en el 2009 encontró que el contenido de inulina en la aguamiel es de 15.6780 g/L. Cabe mencionar que los componentes del aguamiel varían de una región a otra, de un maguey a otro, y dependen de la época del año encontrándose diferencias mínimas como se observa en el siguiente cuadro:

**Tabla 2. Comparación de aguamiel de cuatro variedades de agave.**

Componentes del aguamiel	Tlaxcala			Estado de México
	Manzo	Cenizo	Amarillo	<i>A. salmiana</i>
Densidad g/cm <sup>3</sup>	1.298	1.268	1.231	1.112
PH	6.300	6.400	6.600	6.845
Índice de refracción	1.352	1.353	1.365	1.349
Sólidos Solubles (°Brix)	11.440	11.010	12.670	22.000
Acidez (%)	1.650	1.410	1.470	1.567
Humedad (%)	87.000	87.900	86.000	87.400
Proteínas(g/L)	3.410	3.110	2.490	3.323
Cenizas(g)	0.534	0.413	0.480	0.419
Azúcares totales (g/L)	8.650	10.021	8.069	32.130

(Ramírez Higuera 2009)

Para medir la calidad del aguamiel se formuló y hace valer la NMX-V-022-1972 donde hace distinción en la calidad del aguamiel como se indica a continuación:

**Tabla 3. Parámetros a considerar para determinar la calidad del aguamiel según la NMX-V-022-1972.**

Especificaciones	Tipo I		Tipo II
	Mínimo	Máximo	Menor de:
pH	6.6	7.5	4.5
Densidad grados Baumé (Be)	5.0	7.0	4.5
Índice de refracción con refractómetro de inmersión a 20 °C	59.0	100.0	5.6
Sólidos totales g/100ml	13.0	17.0	7.0
Azúcares reductores totales(en glucosa) g/100ml	8.0	12.0	6.0
Azúcares reductores directos (en glucosa) g/100 ml	2.0	3.0	3.0
Gomas (en glucosa) g/100 ml	2.0	6.0	0.2
Proteínas mg/100 ml	300.0	600.0	100.0
Cenizas mg/100ml	300.0	430.0	180.0
Acidez mg/100ml como ácido láctico	0.9	1.0	4.0

(NMX-V-022-1972)

Color: Debe tener un color ambarino, propio del producto.

Olor: Debe ser el característico del producto.

Sabor: El sabor del aguamiel debe ser dulce.

Aspecto: Debe tener aspecto traslucido.

### **5.3.2 Estudios encontrados de aguamiel.**

Existen distintos estudios realizados al aguamiel, Ramos Zablah Claudia Margarita en diciembre del 2004 presentó una tesis titulada, “Métodos de conservación para retardar la fermentación de aguamiel”. Donde realizó varios tratamientos en los que se describe el uso de la pasteurización y esterilización combinadas con la adición de conservadores. Ella dedujo que el tratamiento que le dio mejores características fue pasteurizar el aguamiel y agregar conservador. Solo que no comenta cuanto tiempo logró extender la vida útil del aguamiel.

En diciembre del 2008 Sánchez Maldonado Marco Polo realizó un estudio donde pretendía eliminar el olor del aguamiel, por medio del uso de carbón activado, logrando eliminar el olor a las nueve horas.

En el 2011 Meza Freire Virginia Margarita presenta una investigación que lleva como título: “Obtención de una bebida isotónica nutritiva carbonatada a partir del extracto del penco de cabuya negra (*Agave Americana L*)”. Donde concluye que la carbonatación realizada dura solamente un día y hace énfasis que puede tratarse de una bebida funcional ya que el aguamiel tiene distintas propiedades benéficas. Otro dato importante es que los tratamientos que más aceptabilidad organoléptica tuvieron fue las formulaciones con un pH 5, 0.1% de sorbato de potasio y 0.2% de ácido cítrico.

También existen estudios donde el aguamiel se utiliza para elaborar un producto secundario que es la miel de agave. Vásquez Torres Amalia en el 2009 realizó un estudio donde evaluó dos procesos para la obtención de miel del *Agave atrovirens kraw*. Donde los dos tratamientos (calor a vacío y por calor) presentaron similitud en cuanto a sólidos solubles totales, pH y densidad. Sin embargo el mejor tratamiento fue el de calor a vacío ya que en inulina y azúcares totales este tratamiento obtuvo valores mayores, al igual que en la viscosidad, color y brillantez. Algo que llama la atención es la presencia de aminoácidos ya que reporta que en el testigo encontró histidina y valina, en el tratamiento por calor encontró histidina y arginina, y en el tratamiento por calor al vacío encontró metionina, tirosina, y arginina.

Flores Morales *et al.* realizaron un trabajo denominado “Evaluación fisicoquímica del aguamiel de tres variedades de maguey pulquero”. Donde concluyen que el tipo de agave no es un factor determinante de las características del aguamiel que se obtiene.



#### 5.4 Estudio de los parámetros que se medirán en aguamiel.

Para analizar el aguamiel tomaremos en cuenta varios parámetros a los que hace referencia la norma mexicana NMX-V-022-1972 estos tipos de estudios son: PH, densidad, sólidos solubles, azúcares reductores, proteínas y cenizas. Este tipo de pruebas lo complementamos con un análisis microbiológico, para determinar el tipo de proceso térmico adecuado para su conservación, de la misma manera incorporamos un análisis colorimétrico ya que es de gran importancia, este análisis en primera instancia nos da una idea clara de la calidad del aguamiel antes de ser procesado y por ende un producto final con mejores características.

##### 5.4.1 Color.

El color es de gran importancia en nuestro mundo, imaginemos un mundo a blanco y negro.

Iniciaremos con una definición breve de lo que es el color, el color se define como la parte visible del espectro electromagnético que puede ser captado e interpretado por el sentido de la vista. Cuando la luz toca una superficie, esta refleja una parte, la parte de la luz que se refleja es captada por el ojo humano e interpretada como color. (QuimiNet, 2012).

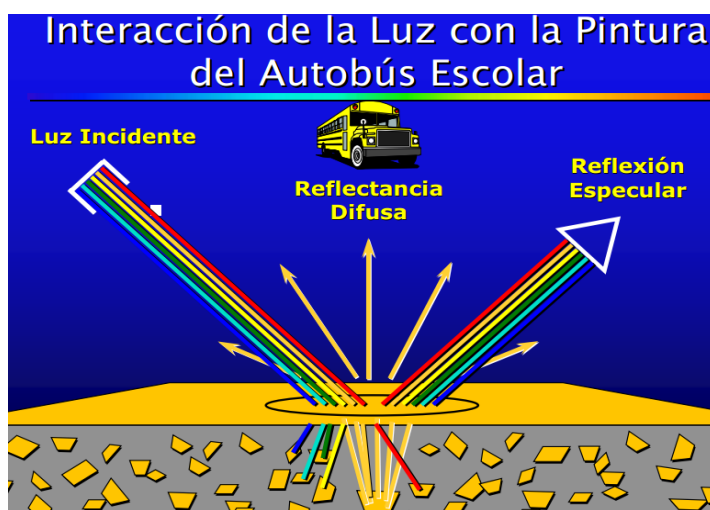


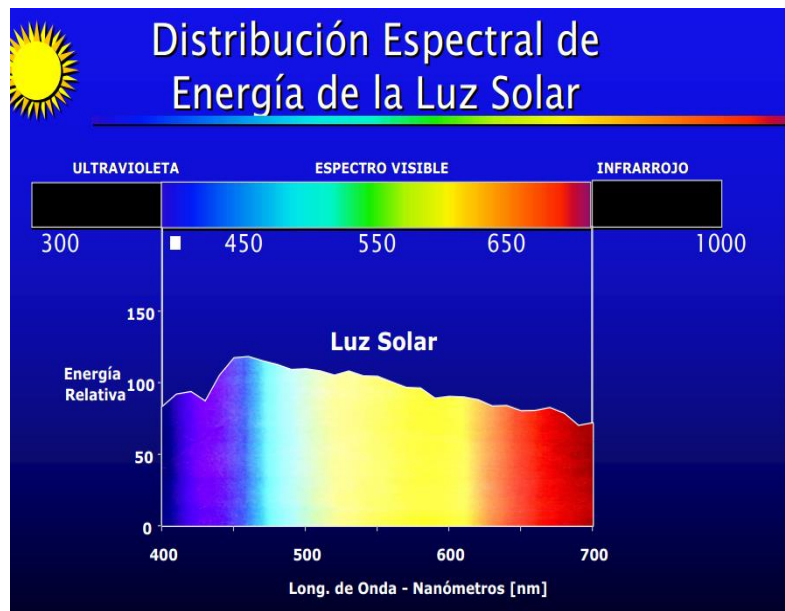
Ilustración 2. Interacción de la luz con la pintura (HunterLab, 2001).

Para la percepción del color es necesario que intervengan tres elementos, una fuente de luz, un objeto y un observador. (HunterLab, 2001).

La fuente de luz podría emitir luz blanca la cual al pasarla por un prisma se logra mirar todas las longitudes de onda del espectro visible, los objetos captan y

reflejan un tipo de onda dependiendo de su color, mientras las ondas ajenas a este son rechazadas.

Las ondas de luz se miden en nanómetros siendo los valores del espectro de luz visible de 400nm a 700nm. Un nanómetro es  $10^{-9}$  metros (HunterLab, 2001) o sea 0.000000001 metros.



**Ilustración 3. Distribución espectral de la energía de luz solar (HunterLab, 2001).**

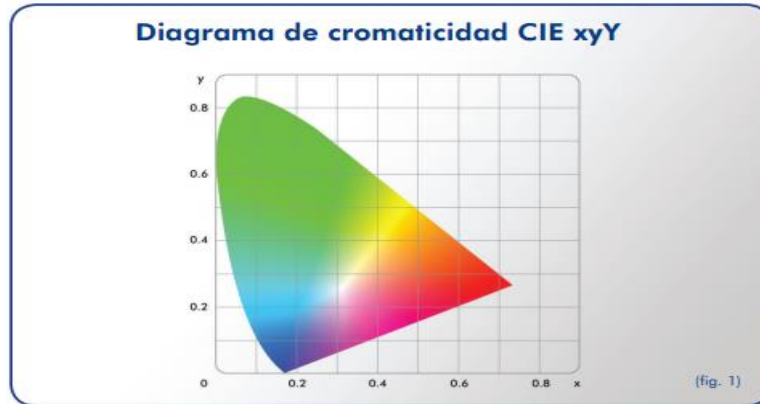
Para el estudio del color se han propuesto diferentes modelos (RGB, CMYK, XYZ, xyY) que permiten identificar los colores y hacer réplicas de los colores.

Los primeros intentos de este tipo de modelos fueron creados en los años 30 por la CIE (Comisión Internacional de la Iluminación), quien estableció una serie de normas para los diferentes espacios de color que representan el espectro visible. (LaCIE Group).

La CIE desarrollo el sistema de color XYZ o estándar.

EL modelo RGB se basa en colores primarios aditivos. Por el contrario el CIE-XYZ se basa en tres primarios imaginarios con caracterización espectral (XYZ), estos se combinan para formar todos los colores visibles. (LaCIE Group).

Más tarde la CIE quería representar el sistema tridimensional en una hoja de papel, lo que los llevo a formar un sistema bidimensional, lo que se conoce como diagrama de cromaticidad CIE xyY.



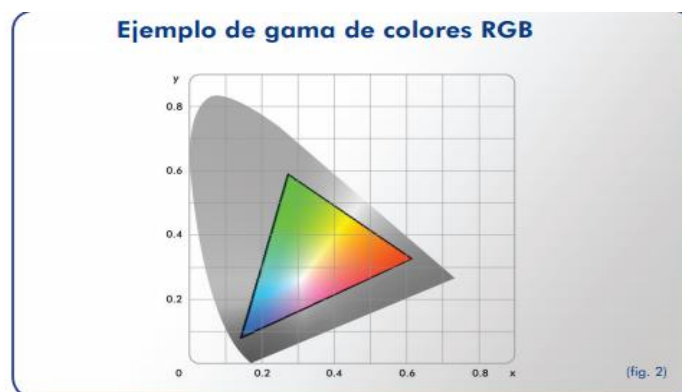
**Ilustración 4. Diagrama de cromaticidad CIE xyY**

(LaCIE Group).

La representación de los colores depende del espacio de color del dispositivo que muestra las imágenes.

Este tipo de modelos ha evolucionado a lo largo de los años.

El modelo RGB se basa en un diagrama triangular ya que en la mayoría de los casos, la representación de los colores se basa en tres colores primarios.



**Ilustración 5. Colores RGB.**

(LaCIE Group).

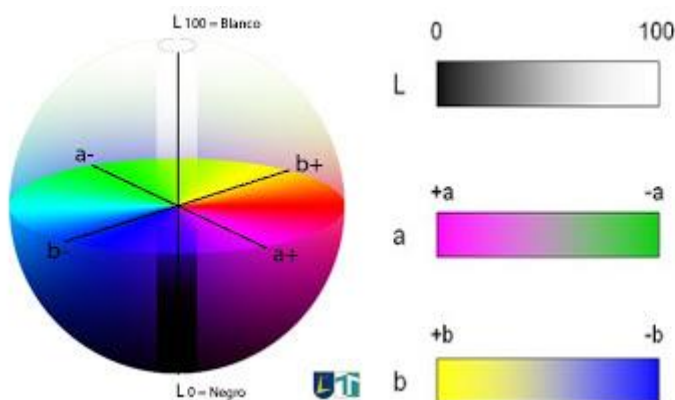
En 1976 la CIE desarrollo un modelo al cual denomino CIELAB, este modelo consiste en un sistema tridimensional donde se encuentran todos los colores visibles (LaCIE Group). Y está representado por las coordenadas L, a y b donde:

L\*: se encuentra la luminosidad del color estando situados el color blanco y el negro en los extremos y los diferentes grises entre ellos. EL negro se encuentra en el valor 0 y el blanco en el valor 100.

a\*: en este eje se encuentran en sus extremos el magenta y el verde, aunque normalmente se le conoce como el eje rojo verde

b\*: en este eje se encuentran en sus extremos el color azul y amarillo

Las coordenadas a y b parten de un centro en común y sus valores pueden tener signos positivos y negativos. (Luis Fco. Rivera 2010)



**Ilustración 6. Sistema de colores CIE Lab.**

(Luis Fco. Rivera 2010)

Actualmente el modelo CIELAB es el que se utiliza en la evaluación del color en alimentos, de la misma manera se han venido ocupando los espectrofotómetros.

El color en alimentos nos puede dar información sobre el producto que estamos obteniendo, de esta manera nos damos cuenta si un mango no es aun apto para disfrutar su dulzura, o si un aceite de oliva es de baja calidad. Otro aspecto

importante al analizar el color de un alimento nos puede dar información si este ha sido contaminado, un ejemplo de ello, es el pan que se encuentra enmohecido.

También nos puede dar una idea de la vida útil del producto, por ejemplo al escoger frutos o verdura en el mercado podemos identificar si el fruto lo queremos para el mismo día que lo compramos, o bien podemos dejar que madure en nuestra alacena.

Existen alimentos que tienen colores atractivos los cuales con el simple hecho de observar nos producen una cierta atracción o rechazo hacia ellos.

Para el estudio del color en alimentos se utilizan aparatos que se conocen como colorímetros, este tipo de aparatos se basan en el modelo CIELAB.

#### **5.4.2 Análisis Microbiológico.**

La microbiología es la ciencia que se encarga del estudio de los organismos más pequeños, minúsculos, invisibles a simple vista, llamados microorganismos o microbios y procede del vocablo griego:

Micro = Pequeño

Bios = Vida

Logos = Estudio, tratado

(Andino Rugama y Yorling Castillo 2010.)

Aunque para llegar a hacer de la microbiología una ciencia tuvieron que pasar muchísimos años e infinidad de descubrimientos.

No se sabe a ciencia cierta desde cuando existen los microorganismos, pero si se sabe que desde hace varios miles de años se han venido utilizando en pro a la humanidad, algunos ejemplos de esto son la elaboración de pan, donde intervienen las levaduras otro ejemplo es la elaboración de vino. También se sabe que Antony Van Leewenhoek en el año 1683 (Caballero Torres *et al*, 2008) fue el primero en observar y describir a los microorganismos los cuales llamo animálculos. Más tarde en el año de 1765 Lázzaro Spallanzani (caballero Torres *et al*, 2008) comprobó que el tratamiento térmico repetido podía evitar o retardar la descomposición de alimentos estos experimentos los realizo con el fin de refutar la biogénesis pero sin obtener resultados ya que no logro convencer a los científicos de esa época. Theodore Schwann 1837 realizo los primeros experimentos relacionados con la fermentación y la putrefacción, originada por microorganismos pero tampoco logro resultados convincentes (Caballero Torres *et al*, 2008).

Francois Appert en 1809 desarrollo el método de conservación de carnes en frascos de vidrio, que mantenía en agua hirviendo durante periodos variables. Este método conocido como `appertización` constituyo la base del enlatado de alimentos, a pesar de que Appert no era un científico y probablemente ignoraba el alcance del descubrimiento en el que había trabajado. (Caballero Torres *et al*, 2008).

Tras los experimentos de Louis Pasteur en el año de 1854 fue posible la conservación de alimentos por medio de un tratamiento térmico denominado pasteurización. Pasteur realizó sus experimentos en la industria vinícola ahora la pasteurización se utiliza en gran cantidad de productos líquidos.

Louis Pasteur y John Tyndall demostraron definitivamente que al igual que los organismos macroscópicos, los microbios son solo producidos por otros microbios (Caballero Torres *et al*, 2008).

En 1876 Robert Koch un médico rural alemán empezó a estudiar el mundo de la microbiología obteniendo como resultado de sus investigaciones el descubrimiento del carbunco (*Bacillus anthracis*). Posteriormente Koch y sus colaboradores descubrieron las bacterias que causan la tuberculosis y el cólera. (Andino Rugama y Yorling Castillo 2010.)

Dimitri Ivanobsky en 1892 descubre el virus del mosaico del tabaco.

Durante todo el siglo XIX se descubrieron y estudiaron los agentes causantes de enfermedades en el hombre y animales. A finales del siglo XIX nace lo que es la microbiología agrícola. (Andino Rugama y Yorling Castillo 2010.)

En nuestra área nos enfocamos en lo que se conoce como microbiología de alimentos sin embargo es necesario conocer los diferentes tipos de microorganismos para saber dónde estamos ubicados y es necesario saber las formas de reproducción y necesidades de los microorganismos para de esta manera poder combatirlos y eliminarlos, con el fin de evitar infecciones e intoxicaciones. Por otro lado también podemos manipularlos para de esta manera obtener beneficios en pro a la humanidad.

El desarrollo de la biología molecular simplificó la clasificación de los organismos, a tres dominios: archaea que incluye bacterias que viven en condiciones extremas (termófilas, halófilas, y metanogénicas), procariontes y eucariontes. (Caballero Torres, et all 2008).

Para la conservación de alimentos nos ayudamos de tratamientos térmicos, químicos y físicos. Para lograr un tratamiento adecuado debemos conocer el tipo de microorganismos que deseamos atacar.

### **5.4.3 pH.**

Los ácidos y las bases, son dos tipos de compuestos químicos que presentan características opuestas. Su existencia se conoce desde la antigüedad, cuando su diferenciación se efectuaba por el nada recomendable procedimiento de comprobar su sabor: los ácidos suelen ser agrios mientras que las bases presentan apariencia jabonosa y sabor amargo. (Biblioteca de investigadores). Por supuesto existen sustancias que de esa manera tan primitiva no se pueden estudiar.

Los ácidos (del latín acidus que significa agrio) son considerados tradicionalmente como cualquier compuesto químico que en solución acuosa posee sabor agrio, reacciona con los metales activos con desprendimiento de hidrogeno y neutraliza las bases. (Biblioteca de investigadores).

Las bases son sustancias que en solución acuosa poseen sabor amargo, aspecto jabonoso y neutralizan los ácidos.

Al mezclar soluciones acidas con soluciones básicas damos el paso a formación de sales.

Los conocimientos modernos de los ácidos y las bases parten desde 1834, cuando el físico inglés Michael Faraday descubrió que ácidos, bases y sales disueltas en agua pueden conducir la corriente eléctrica ya que se disocian en partículas con carga o iones. (Guerrero Hernán 2006)

La acidez o basicidad de una solución depende de la concentración de iones hidronio  $[H^+]$  o hidroxilo  $[OH^-]$ . Entre mayor sea la concentración de iones hidrógeno en una solución, aumenta la acidez de la solución, y viceversa, entre mayor sea la concentración de iones hidroxilo, aumenta la alcalinidad o basicidad de la solución. (Antonio Cuevas Quintes 2004).

Concentración de los iones hidronio e hidroxilo en función del pH.

pH	[H <sub>3</sub> O <sup>+</sup> ]	[OH <sup>-</sup> ]
0	1.0	0.00000000000001
1	0.1	0.0000000000001
2	0.01	0.000000000001
3	0.001	0.00000000001
4	0.0001	0.000000001
5	0.00001	0.00000001
6	0.000001	0.0000001
7	0.0000001	0.000001
8	0.00000001	0.00001
9	0.000000001	0.00001
10	0.0000000001	0.001
11	0.00000000001	0.01
12	0.000000000001	0.1
13	0.0000000000001	1.0
14	0.00000000000001	1.0

\* El producto [H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>][OH<sup>-</sup>] siempre será igual a 10<sup>-14</sup> moles/L.

### Ilustración 7. Concentración de iones hidronio.

(Biblioteca de investigadores)

La concentración de iones H<sup>+</sup> indica el grado de acidez, o basicidad, de una disolución acuosa a 25 °C; sin embargo el uso de exponentes no es sencillo y hace difícil su manejo. Por lo anterior en 1908 el bioquímico danés Sören Peter Lauritz Sørensen, propuso que en lugar de concentraciones de ion H<sup>+</sup> se usaran sus logaritmos negativos y que ese índice logarítmico se representara por el símbolo de pH. La definición original de Sørensen establece:

pH = Logaritmo negativo de la concentración de iones hidrogeno.

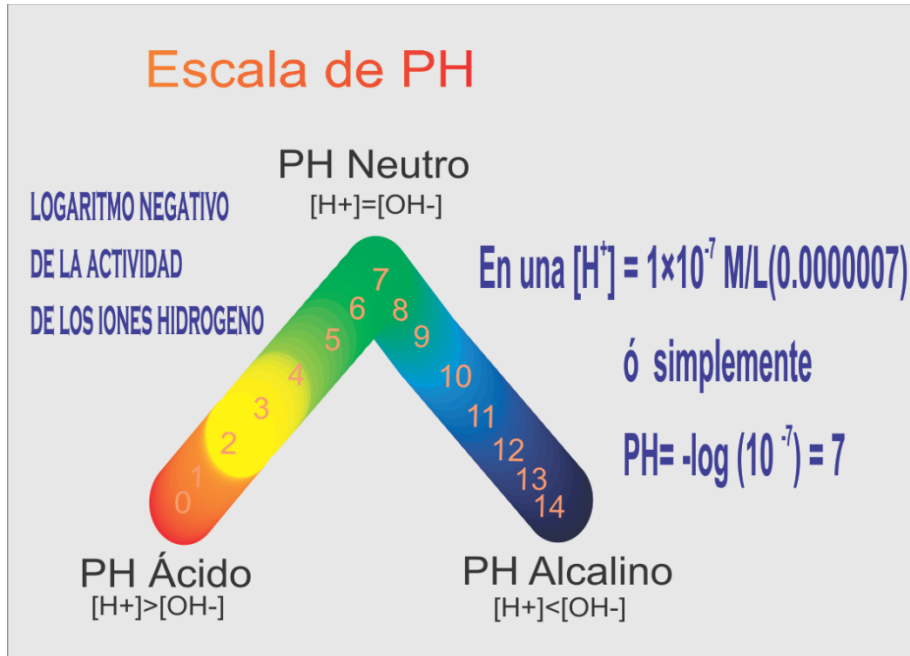
$$\text{pH} = -\log [\text{H}^+] = \log 1/\text{H}^+$$

(Sánchez Roció, et al)

El pH es un parámetro que mide el potencial de hidrógeno, en soluciones líquidas.



Para ilustrar la escala de pH tenemos el siguiente diagrama:



**Ilustración 8 Escala de pH.**

(Elaboración propia)

El número siete es el punto de las aguas donde un valor mayor nos representa soluciones básicas teniendo como máximo de basicidad el número 14. Por otro lado los valores menores a siete nos representan soluciones ácidas siendo el valor más ácido un pH de 0.

Existen distintas maneras de medir el pH, existen métodos colorimétricos, para ello podemos utilizar papel de tornasol. El papel tornasol toma una coloración rosa cuando está en solución ácida y en una solución básica toma un color azulado. También podemos utilizar un potenciómetro, también conocido como pH-metro que es un aparato más sofisticado que consta de un electrodo de vidrio, medidor de pH y un electrodo de referencia.

La medición del pH es importante ya que gran cantidad de reacciones químicas son posibles en determinados grados de acidez o basicidad. En alimentos la función del crecimiento de microorganismos está dada por distintos factores, por ejemplo la disponibilidad de agua, temperatura y otro aspecto importante a considerar es el pH.

Los aditivos antimicrobianos ya que son sustancias químicas tienen mayor acción en determinados pH. Esto puede deberse a los hidrogeniones liberados en la solución o alimento que provocan la baja del pH del medio y por lo tanto disminuye la viabilidad de muchos microorganismos, especialmente bacterias. Un ejemplo de conservante que actúa de este modo es el ácido acético. O a la parte no disociada de la molécula del conservante porque es la que tiene acción microbiana por su capacidad de atravesar la membrana celular del organismo y desarrollar su actividad generalmente a nivel enzimático.

Por lo tanto, la acción del conservante está estrechamente ligada al pH del medio en que se encuentra, ya que en fusión de este se tiene más o menos, concentración de la forma no disociada, que es la que presenta acción conservante. (N. Cubero *et al*, 2002).

El pH de la mayoría de los alimentos varía entre 3.0 y 7.0 en pocos casos se encuentra en el lado alcalino; solo las frutas y sus derivados tienen un pH ácido que llega a ser 2.2. La inhibición de las reacciones enzimáticas y del crecimiento microbiano en ocasiones se llega a efectuar, si el producto lo permite, por una reducción del pH, mediante la adición de los diferentes ácidos disponibles como aditivos. (Salvador Badui Dergal. 1993).

Uno de los factores que nos determina el tipo de proceso requerido para un alimento es su pH ya que la resistencia térmica de las esporas está indirectamente ligada con la acidez del medio en que se desarrollan.

Existen varias clasificaciones de los alimentos con respecto a su acidez. Desde un punto de vista práctico se pueden reconocer tres clases de alimentos:

**Tabla 4. Clasificación de los alimentos de acuerdo a su acidez.**

Alimentos de baja acidez	pH > 4.5
Alimentos ácidos	pH 4.0 a 4.5
Alimentos de alta acidez	pH < 4.0

Fuente: (Navarrete Lopez Andres, 2004 ).

Los alimentos que tienen un pH inferior a 4.5 basta con someterlos a un proceso de pasteurización y alimentos que tienen un pH mayor a 4.5 requieren un tratamiento más severo como la esterilización comercial.

(Navarrete López Andrés, 2004).

#### **5.4.4 Densidad.**

En todo el universo existe materia, para el estudio de esta, se han implementado gran cantidad de estudios, existen análisis que son más laboriosos y específicos de la materia que estemos analizando, algunos ejemplos podrían ser la toxicidad de un alimento o los componentes de este. También hay análisis más comunes, que no deben ni podrían faltar a la hora de analizar cualquier tipo de materia. El realizar este tipo de análisis nos da una idea rápida de lo que estamos analizando.

Por ejemplo cuando analizamos un sólido, un líquido o un gas, al determinarle la densidad nos proporciona información rápida de algunas de sus características y la forma de manipularlo.

La densidad es una propiedad física de la materia que describe el grado de compacidad de una sustancia. La densidad describe cuan unidos están los átomos de un elemento o las moléculas de un compuesto. Mientras más unidas están las partículas individuales de una sustancia, más densa es la sustancia. Puesto que las diferentes sustancias tienen densidades diferentes, la medida de la densidad es una vía útil para identificar las sustancias. (Joom Shaper, 2013).

La densidad es una magnitud donde intervienen la masa y el volumen. Para determinar la densidad se utiliza la siguiente fórmula:

$$D = m/v$$

Donde:

D= Densidad

m= masa

v= volumen

A lo largo del tiempo las técnicas para medir la densidad han ido evolucionando y cambiando, de esta manera para medir la densidad de determinadas sustancias se han utilizado instrumentos específicos, un ejemplo de esto es el lactodensímetro que se utiliza para determinar la densidad de la leche. Para medir la densidad de un sólido podemos utilizar una bureta con agua. Esto para determinar su volumen, ya que la masa la podemos determinar por medio de una balanza.

Para determinar la densidad es necesario conocer la masa y el volumen de la materia en estudio.

Para medir la densidad de líquidos nos podemos ayudar de un picnómetro, que es un recipiente con un volumen conocido, y de una balanza para determinar su masa, de esta manera obtendremos los datos necesarios para realizar el cociente de dichas magnitudes.

Para medir la densidad de un sólido es necesario medir el volumen, para esto nos podemos ayudar de una bureta con agua y observar que volumen de agua es desplazado al introducir dicho sólido. Esto nos remonta a la antigua roma donde Hierón II le pidió a Arquímedes que Analizara su nueva corona y le dijera si en verdad era de oro macizo o si el orfebre lo había engañado.

Arquímedes sabía que la corona podía ser aplastada o fundida y transformarla en un cubo de un volumen conocido, pero el rey Hierón no estaba de acuerdo con ese método, pues supondría la destrucción de la corona. Desconcertado Arquímedes al tomar un baño de inmersión, observo al momento de introducirse en el agua, que esta era desplazada y dedujo que de esta manera podría calcular el volumen de la corona sin deformarla. Dando origen al siguiente principio:

Todo cuerpo sumergido en el seno de un fluido, sufre una fuerza ascendente (empuje) cuyo valor es igual al peso del fluido desalojado (J Falco, 2001).

#### **5.4.5 Azúcares reductores.**

Los azúcares reductores pertenecen a la familia de los hidratos de carbono, estos últimos se caracterizan y obedecen a la fórmula  $C_nH_{2n}O_n$  por tanto están constituidos por hidrogeno, carbono y oxígeno. En la década de 1980 se reconoció que dicho concepto era erróneo ya que los estudios estructurales de estos revelaron que no eran hidratos, pues no contenían moléculas intactas de agua. En la actualidad los hidratos de carbono se definen como aldehídos o cetonas polihidroxilados, o bien derivados de éstos. (12 S/A)

Los hidratos de carbono son una familia de sustancias ampliamente distribuidas entre los alimentos.

Para poder entender y estudiar la estructura y funciones de los hidratos de carbono, estos se han clasificado de distintas maneras, una de ellas divide a los hidratos de carbono en distintos grupos dependiendo de las unidades de moléculas presentes en ellos. (Fernández Sevilla, 2005).

**Tabla 5. Clasificación de carbohidratos de acuerdo a su tamaño.**

<b>Carbohidratos</b>	<b>Definición</b>
Mono y disacáridos	Son los hidratos de carbono más simples, consisten en cadenas carbonadas lineales de entre 3 y 8 carbonos
Oligosacáridos	Se denomina de esta forma a las cadenas de monosacáridos que contienen desde unas pocas unidades hasta varios cientos de estos monómeros enlazados
Polisacáridos	Son largas cadenas poliméricas de monosacáridos que constituyen los tejidos de reserva de plantas. Por ejemplo almidón, celulosa, dextranos, xilanos.

(Fernández Sevilla, 2005)

En los carbohidratos existe una variedad de reacciones de interés industrial, de las cuales podemos mencionar: oxidación, reducción, isomerización, formación de acetales, entre otras, glicosilación, formación de cianhidrinas, pero estas últimas carecen de interés industrial alimentario.

**Tabla 6. Aspectos generales de las reacciones de obscurecimiento.**

Aspectos generales de las reacciones de obscurecimiento					
Mecanismo	O <sub>2</sub> necesario	Grupos amino necesarios	Temperatura elevada	PH optimo	Azucares reductores
Caramelizarían	No	No	Si	Alcalino/ Acido	Si
Reacción de Maillar	No	Si	No	Alcalino	Si
Oxidación					
Ac. Ascórbico	Si	No	No	Ligeramente acido	No
Polifenol Oxidasa	Si	No	No	Ligeramente acido	No

(Badui Dergal, 2006)

En este tema nos interesan las reacciones donde intervienen los azucares reductores, que son las reacciones de Maillard y la reacción de caramelización.

#### **5.4.5.1 Reacciones de Maillard.**

Las reacciones de Maillard también conocidas como reacciones de oscurecimiento generan gran cantidad de compuestos algunos de estos compuestos son melanoidinas coloreadas, que van desde amarillo claro hasta café oscuro e incluso negro, y afectan el sabor, el aroma y el valor nutritivo de los productos involucrados. Además dan lugar a la formación de compuestos mutagénicos o potencialmente carcinogénicos, como la acrilamida. (Badui Dergal, 2006)

Para que dichas reacciones se lleven a cabo se requiere azúcar reductor (aldosa o cetosa) y un grupo amino libre, proveniente de un aminoácido o una proteína. Estas reacciones las observó por primera vez el químico francés Louis-Carnille Maillard, en 1913. (Badui Dergal, 2006).

#### **5.4.5.2 Caramelización.**

Esta reacción también llamada pirolisis, ocurre cuando los azúcares se calientan por arriba del punto de fusión. La reacción se lleva tanto a pH ácido como alcalino y se acelera con la adición de ácidos carboxílicos y de algunas sales.

Los compuestos que se generan al llevar a cabo esta reacción son macromoléculas llamadas melanoidinas. Durante la transformación también se sintetiza una serie de compuestos de bajo peso molecular y muy olorosos, como furanos, furanonas, lactonas, pironas, aldehídos, ésteres y pirazinas. (Badui Dergal, 2006)

Para la identificación de azúcares reductores nos podemos ayudar de la técnica de Benedict, Tollens o Fehling.

#### **5.4.6 Sólidos solubles.**

Los sólidos solubles nos ayudan a determinar el contenido de sacarosa presente en una solución.

Para la determinación de sólidos solubles se hace referencia al contenido de °Brix presentes en una solución.

Al momento de determinar la cantidad de °Brix presentes en una muestra nos podemos ayudar de la refractometría o aerometría.

La refractometría se basa en los cambios del índice de refracción que sufre una sustancia cuando otra es disuelta en ella. De esta manera podemos modificar el contenido de sólidos solubles si a un determinado líquido le agregamos azúcar.

Para medir los °Brix podemos ayudarnos del refractómetro de mano.

La aerometría consiste en la medición de los cambios en la densidad que se producen cuando una sustancia es diluida en otra. El instrumento empleado en esta medición es el aerómetro, densímetro o hidrómetro. (Bello O, 2010).

La determinación de °Brix nos da una idea de:

- ✗ El alcohol que podemos producir en un mosto
- ✗ La determinación del estado de madurez de un fruto
- ✗ La susceptibilidad de fermentación de dicha sustancia.
- ✗ El dulzor de una sustancia.

Por lo general la medición de °Brix se realiza en zumos de frutas.

#### **5.4.7 Proteínas.**

Las proteínas son sustancias orgánicas nitrogenadas complejas que se hallan en las células animales y vegetales. Su misión en el organismo es de dos tipos: Una de tipo estructural, formando parte del propio organismo y otra de tipo funcional. (Teijón Rivera José María, 2001).

El químico holandés Mulder investigó en 1839 las propiedades de las albúminas, sustancias como las que se encuentran en la leche y huevos. Atribuyó a estas sustancias albuminoides una fórmula química que contenía Carbono, Hidrogeno, Oxígeno y Nitrógeno; basándose en ello, el científico sueco Berzelius (uno de los fundadores de la química moderna) sugirió que estas sustancias deberían llamarse proteínas (del griego proteios, primero) ya que podría tratarse de las sustancias biológicas de mayor importancia. Las investigaciones posteriores demostraron que las proteínas están implicadas en todos los procesos celulares. (Vásquez C. *et al*, 2005).

Las proteínas son macromoléculas formadas por cadenas de alrededor de 20 diferentes aminoácidos, unidos entre sí por medio de enlaces peptídicos y se encuentran como mezclas complejas en tejidos orgánicos. (Herrera R. Carlos *et al*, 2003). La conformación y función de las proteínas están determinadas por los aminoácidos que las componen, y por cómo se alinean formando la llamada cadena peptídica. (Vásquez C. *et al*, 2005).

Constituyen los componentes estructurales de las células y la mayoría se encuentra en el tejido muscular y las vísceras. El resto se distribuye en tejidos blandos (colágeno), hueso, dientes, sangre y fluidos corporales.

Las hormonas, las enzimas o las gammaglobulinas son proteínas, al igual que las estructuras cromosómicas. Quizás las proteínas más importantes sean las enzimas, catalizadores que determinan el ritmo y el rumbo de la bioquímica. (Teijón Rivera José María, 2001). Cada especie tiene proteínas características, lo que confiere su carácter específico tanto genético como inmunológico. (Vásquez C. *et al*, 2005).

#### **5.4.7.1 Desnaturalización de proteínas.**

Cada tipo de molécula posee, en su estado nativo, una forma tridimensional característica que es conocida como su conformación o estructura.

El mantenimiento de esta estructura es fundamental para el normal funcionamiento de la proteína en cuestión, y una pérdida de esta conformación suele implicar una alteración en la misión biológica de la molécula proteica. (Teijón Rivera José María, 2006) A la pérdida de la estructura tridimensional de la proteína se le conoce como desnaturalización.

Las principales causas de desnaturalización de proteínas son:

- Un cambio significativo del pH
- Temperaturas altas
- Tratamiento con disolventes orgánicos
- Radiación ultravioleta
- Vibración ultrasónica
- Presión hidrostática
- Enfriamiento.

En muchos de los casos la desnaturalización es irreversible y en otros es reversible si el tratamiento no ha sido el suficiente para romper los enlaces covalentes fuertes.

Las proteínas tienen un papel fundamental en la calidad estructural y sensorial de numerosos alimentos frescos o procesados, por ejemplo en la consistencia y textura de la carne, leche, queso, pasta. La calidad de los alimentos a menudo depende de la calidad estructural y físico-química de su fracción proteica.

A la hora de elaborar alimentos nos podemos ayudar de las propiedades funcionales que logran las proteínas en éstos; podemos tener efecto emulsificante, captación de aromas, formación de espuma, formación de masa,



viscosidad, solubilidad, hidratación, gelificación y nos pueden ayudar a dar diferentes tipos de textura.

Para medir el beneficio que podemos obtener al consumir determinados alimentos podemos mirar la calidad proteica de los alimentos, para obtener este valor se toma en cuenta el contenido de aminoácidos presentes en las proteínas, la digestibilidad, los requerimientos que tiene el cuerpo de los diferentes aminoácidos. Se han desarrollado métodos para realizar ese trabajo en los que podemos enumerar: el valor biológico (VB), utilización de la proteína neta (NPU), coeficiente de eficiencia biológica (PER), y en la actualidad el más utilizado es la puntuación de los aminoácidos de las proteínas corregida según su digestibilidad (PDCAAS).

Existen diferentes métodos para la cuantificación de proteínas, encontramos métodos que se basan en: la propiedad de las proteínas para absorber luz en el UV (métodos de absorción), en la formación de derivados químicos (métodos derivados fluorimétricos) y en la capacidad que tienen las proteínas para unir diferentes colorantes (métodos derivados colorimétricos). (Fernández Reyes Emilio).

Los métodos Biuret, Lowry, Bradford, BCA, son métodos colorimétricos y son algunos de los más utilizados a la hora de analizar el contenido de proteínas.

## **5.5 Tratamientos térmicos y Tecnologías emergentes para la conservación de alimentos**

Los microorganismos se encuentran en todos lados, es por ello que debemos ser cuidadosos a la hora de manipular alimentos. Entre los microorganismos podemos encontrar microorganismos patógenos y microorganismos alterantes. Para la conservación de los alimentos es necesario eliminar este tipo de contaminación ya que afectan las características del alimento y en casos extremos pudiendo enfermar al consumidor y provocar deceso del mismo.

De igual forma debemos inactivar enzimas que deterioran los alimentos.

Para evitar este tipo de alteraciones existen gran variedad de tratamientos.

Entre los que podemos encontrar tratamientos térmicos, tratamientos físicos, o bien adición de sustancias químicas.

Los más antiguos que se han utilizado son tratamientos de secado por sol, salaciones, en alimentos sólidos.

Por otro lado en alimentos líquidos, se ha venido utilizando la pasteurización, que ha tenido buenos resultados y se sigue utilizando en la industria de lácteos y zumos de fruta.

Otro tratamiento térmico importante es la esterilización ya que nos ayuda a conservar los alimentos enlatados por un periodo de tiempo aún más largo y sin necesidad de refrigerar dichos productos. Algunos ejemplos de esto son frijoles enlatados, chiles, puré de tomate. Para llegar a la esterilización no necesariamente se tendrán que eliminar todos los microorganismos contenidos en el producto. Existe lo que se llama esterilización comercial donde permite que el alimento contenga cierta cantidad y tipos de microorganismos.

En la actualidad contamos con diferentes tratamientos térmicos que podemos aplicar, ejemplo de ello son: calor seco, calor húmedo, microondas, pasteurización, esterilización en el actual trabajo nos es imprescindible ahondar en los dos últimos.

#### **5.5.1 Pasteurización.**

La pasteurización es como ya se ha mencionado un tratamiento térmico empleado para la conservación de alimentos líquidos, este tratamiento es relativamente suave, el alimento se calienta a temperaturas inferiores a 100°C. (P. Fellows, 2000). Este descubrimiento se atribuye al químico Louis Pasteur. (Fresán 1997).

La pasteurización en alimentos poco ácidos ( $\text{pH} > 4.5$  como la leche por ejemplo), se usa para minimizar posibles riesgos para la salud por microorganismos patógenos y para prolongar la vida útil de los alimentos durante varios días. En los alimentos ácidos ( $\text{pH} < 4.5$ , como la fruta embotellada por ejemplo), se usa para prolongar la vida útil de los alimentos durante meses por destrucción de microorganismos responsables del deterioro (levaduras u hongos) y por inactivación de enzimas. En ambos tipos de alimentos provoca cambios mínimos en el valor nutritivo y las características organolépticas del alimento en cuestión.

(P. Fellows, 2000).

En 1856 un industrial de Lille, solicitó la ayuda de Pasteur para analizar algunos problemas relacionados con la producción de alcohol. Pasteur realizó varios estudios sobre vinos, enfocados a descubrir el ¿por qué? se acetificaba el vino.

(Fresán 1997).

Previamente los estudios de Leeuwenhoek quien ya había descubierto las levaduras, Cagniard de la Tour había observado que la transformación de la

cebada y lúpulo, solo era posible cuando se encontraban presentes unas pequeñas levaduras y que además estas se reproducían por gemación (Fresán 1997).

Retomando la historia nos lleva a los pensamientos de filósofos que existían en la otra era.

En ese entonces la generación espontánea se pensaba como ley universal la cual fue arraigada por Aristóteles (384-322 AC) quien fue un filósofo griego, tras observar durante mucho tiempo una charca que fue perdiendo humedad hasta quedar como fango y al ciclo de lluvias siguiente después de un tiempo aparecieron peces. Esto lo llevó a pensar que los peces se generaban por medio del fango y de la misma manera las moscas se generaban por carne podrida. (Gómez Cerón 2007). Entre muchos otros vagos pensamientos.

Van Helmont (1574-1644) quien afirmaba que podía crear escorpiones a través de agua y hojas de albahaca o también podría generar ratones por medio de ropa sucia y granos de trigo apoyaba las creencias de Aristóteles.

Francisco Redi (1627-1697) retomo la teoría de Aristóteles y atreves de sus experimentos que consistían en poner carne en frascos y luego taparlos herméticamente no aparecían moscas. Este experimento lo llevó a la conclusión que las moscas se generaban a través de huevecillos; pero los defensores de la abiogénesis argumentaron que para la generación espontánea se lleve a cabo es necesario la presencia de aire.

Más tarde John Needham (1713-1781) llevó a cabo numerosos experimentos, los cuales consistían en preparar unos caldos de carne con vegetales y meterlos en frascos además de taparlos con corcho y posteriormente someterlos a un tratamiento térmico hasta el punto de ebullición. Needham intuía que los microorganismos morirían pero, ¡oh sorpresa!, después de varios días los frascos contenían microbios, este experimento mal diseñado apoyo a la teoría de abiogénesis, digo mal diseñado ya que el corcho no sellaba la entrada y permitía la entrada de los microorganismos, o no envasaba adecuadamente.

Otro de los defensores de la biogénesis fue Lazzaro Spallanzani (1729-1799) quien retomó los experimentos de Needham solo que Spallanzani selló herméticamente la mitad de frascos y la otra mitad la dejó como lo había hecho Needham e igual que a Francisco Redi le retribuían que para que la abiogénesis se lleve a cabo es necesaria la presencia de oxígeno.

Fue hasta los estudios y experimentos de Louis Pasteur quien demostró que la vida se generaba a través de la vida (biogénesis) por medio de un experimento donde al igual que los otros sabios, utilizaba caldo susceptible de proliferación microbiana con la variante que los recipientes utilizados no estaban sellados herméticamente ni tapados, lo que Pasteur diseñó fueron recipientes con cuello de cisne, lo que permitió la entrada de aire pero no de los microorganismos. Pasteur creía y había demostrado que en el ambiente existían gran cantidad de partículas las cuales eran movidas y suspendidas en el viento. Estas partículas sin duda alguna eran las causantes de la descomposición de sus caldos.

El mismo Pasteur al estar trabajando con vinos añadía sustancias químicas para detener la fermentación del vino. La adición de químicos no lo condujo a nada, después ideó dar un leve calentamiento al vino lo cual no agradaba a los industriales de ese tiempo, ya que creían que generaría cambios en la composición y sabor de los vinos, pero fue ahí donde nace lo que ahora se conoce como pasteurización.

La forma de pasteurizar era calentando el líquido en un recipiente a una temperatura de 60 grados centígrados por treinta minutos, seguida de un envasado aséptico para su posterior enfriamiento y refrigeración. Conforme la tecnología avanza se han establecido nuevos métodos de pasteurización por sus siglas en inglés: LTLT (Low Temperature Long Time), HTST (High Temperature Short Time), UHT (Ultra High Temperature).

Este tipo de técnicas juegan con los parámetros de temperatura y tiempo por ejemplo el tratamiento LTLT se maneja a 60°C por treinta minutos, el HTST maneja 75°C por quince segundos y el tratamiento UHT hace referencia a un tratamiento de 140 °C por .15 segundos donde los dos primeros tratamientos tendrán que invertir en la refrigeración del producto para evitar la descomposición del mismo. El tercer tratamiento durara por mucho más tiempo sin refrigeración.

La pasteurización se puede aplicar en alimentos a granel o alimentos envasados. Algunos alimentos líquidos (cerveza y zumos de fruta) se pasteurizan envasados. Los alimentos envasados en recipientes de vidrio se suelen pasteurizar con agua caliente para evitar el riesgo de shock térmico (rotura del envase por un cambio brusco de temperatura). Las máximas diferencias de temperatura entre el envase y el agua son de 20°C para el calentamiento y de 10 °C para el enfriamiento. Los envases metálicos o de plástico se tratan con una mezcla de aire-vapor o con agua caliente, ya que en ellos el riesgo de shock térmico es mínimo.

(P. Fellows, 2000).

### **5.5.2 Esterilización.**

La esterilización por calor es aquella operación unitaria en la que los alimentos son calentados a una temperatura suficientemente elevada y durante un tiempo suficientemente largo como para destruir en los mismos la actividad microbiana y enzimática. (P. Fellows, 2000).

Los alimentos sometidos a este tratamiento tienen una vida de anaquel superior a seis meses mantenidos a una temperatura ambiente. (P. Fellows, 2000).

Por definición la esterilización es la destrucción total de los microorganismos y esporas presentes en la materia que se desee liberar de microorganismos, aunque en la industria alimentaria se hace referencia a lo que se llama esterilización comercial esto significa que los alimentos comercialmente esterilizados pueden contener una cierta cantidad y tipos de microorganismos. Para poder lograr la esterilización existen diferentes métodos y tratamientos que se pueden realizar.

Para llevar a cabo una esterilización podemos emplear métodos térmicos y físicos. Entre los primeros encontramos todos aquellos que intervengan con la eliminación de los microorganismos por medio de la destrucción de sus proteínas, evitando así el buen funcionamiento de la célula provocando su muerte o provocando la ausencia de dicho microbio. Ejemplos de esto son calor húmedo y el calor seco cuyas temperaturas tendrán que superar los 100 °C, rayos UV y rayos gamma que actúan a nivel nuclear modificando la secuencia de ADN provocando un descontrol en el microorganismo. Filtración y ultrafiltración se consideran tratamientos físicos ya que estos tipos de tratamientos separan la materia de interés por un lado y por el otro quedan los microorganismos atrapados en los poros del filtro, estos poros son del orden de micrómetros.

#### **5.5.2.1 Calor húmedo.**

El calor húmedo se combina con presión para lograr hacer más eficiente el proceso. Se maneja con temperaturas de 120 °C y presiones de 1.2 pascales dependiendo de las características de lo que se desee lograr. Se emplea con éxito en laboratorios de microbiología (para la esterilización de medios de cultivo, esterilización de material de laboratorio), en la industria alimentaria para lograr inactivar encimas, bacterias, hongos, virus, logrando de esta manera un producto de alta durabilidad sin la necesidad de refrigeración (esterilización de latas).

### **5.5.2.2 Calor seco**

El calor seco por otra parte tiene dos finalidades, como principal la de destruir microorganismos y la eliminación de agua.

### **5.5.3 Tratamientos físicos**

Se considera tratamientos físicos a aquellos que impliquen una barrera para el microorganismo, ejemplo de ello son tratamiento por filtración, altas presiones hidrostáticas

#### **5.5.3.1 Filtración.**

Micro y ultrafiltración son tratamientos físicos a los que se puede recurrir para la eliminación de microorganismos, en este tipo de tratamientos se aplican lo que se conocen como micro filtros, los cuales solo permiten el paso de los componentes del líquido que se desea esterilizar, quedando atrapados los microorganismos en los poros. Su aplicación está limitada como ya se mencionó, solo a líquidos.

#### **5.4.3.2 Altas presiones hidrostáticas.**

La presión hidrostática es el peso resultante de una columna de líquido, este peso se ha venido utilizando para la eliminación de microorganismos y de enzimas, aunque en las enzimas no ha tenido gran éxito.

Las presiones que se manejan son del orden de Mpa pudiendo utilizar presiones hasta de 1000 Mpa.

### **5.5.4 Tratamientos químicos.**

Su fundamento es la inactivación de microorganismos así como organismos superiores, la inactivación se produce de distintas maneras en algunos casos se destruye la pared celular del microbio en casos diferentes se alteran las condiciones del microorganismo provocando que este pueda ejercer sus actividades vitales.

Entre los tratamientos químicos podemos aplicar distintas sustancias las cuales pueden ser gases o líquidos.

Existe gran cantidad de gases que se pueden utilizar para la esterilización entre los más utilizados encontramos óxido de etileno, óxido de propileno, formaldehído, bromuro de metilo, ácido peracético, ozono, betapropiolactona, vapores de hidrogeno.

De igual manera existen gran cantidad de líquidos utilizados para la esterilización tales como glutaraldehído, Idroforos.

### **5.6 Dióxido de carbono.**

El dióxido de carbono a temperatura ambiente es un gas ligero inodoro e incoloro, no inflamable y con un pH ligeramente ácido. Su fórmula química es  $\text{CO}_2$  y fue descubierto por Joseph Black aproximadamente en el año de 1750. (Lentech). Su nombre en otros idiomas es, en inglés: carbon dioxide. Francés: bioxyde de carbone, gas carbonique. Italiano: biossido di carbonio, anidride carbonica. Aleman: kohlen-dioxid. (Lück Erick, 1977)

También lo podemos encontrar en su forma sólida conocido como hielo seco, esto solo pasa a una temperatura de  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  y para encontrarlo en su forma líquida es necesario crear una atmósfera con una presión de 415.8 kpa. De esta manera es soluble en agua dando paso a ácido carbónico ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ). (Lentech)

$\text{CO}_2$ . Peso molecular 44,21 a temperatura ambiente y presión normal, gas incoloro, incombustible, de olor y sabor ácidos. Su densidad es 1,5 veces superior a la del aire. A  $0^\circ\text{C}$  sometido a una presión de 34,85 Bar el dióxido de carbono se convierte en un líquido incoloro. Su solubilidad en agua a temperatura ambiente es de 11/1, superior a la de muchos otros gases. (Lück Erick, 1977).

El dióxido de carbono está ampliamente distribuido en el ambiente, proveniente de reacciones químicas, ejemplo de esto es la respiración de seres vivos, combustión de combustibles fósiles, a raíz de la revolución industrial las emisiones de  $\text{CO}_2$  han ido en aumento.

Para la obtención de este gas de forma pura se acostumbra extraerlo de la mezcla gaseosa procedente de la combustión del cok, haciéndolo pasar por columnas de absorción en las que se fija el  $\text{CO}_2$  en forma de bicarbonato. (Lück Erick, 1977).

El dióxido de carbono se puede aplicar en productos lácteos, productos cárnicos, y es sin duda alguna subutilizado en bebidas, ya sean vinos, licores y refrescos.

En la industria vinícola se emplea el dióxido de carbono en una cantidad de 15 gr/l y de 7 a 8 Bares de presión para apagar el mosto. Estas condiciones provocan la casi total inhibición de los microorganismos vinícolas. A este sistema de conservación de le conoce como Seitz-Böhi. (S/A, 2011)

Por otro lado se utiliza para la fabricación de refrescos, en un proceso que se llama carbonatación. La carbonatación se puede considerar como la saturación de un líquido con  $\text{CO}_2$  gaseoso. En instalaciones antiguas, se emplea el método de pre-jarabe consiste en introducir por separado el agua carbonatada y el jarabe

azucarado en la botella o en otro tipo de envase. En la actualidad, este procedimiento se ha sustituido por el llenado con la premezcla, en el que el jarabe, el agua carbonatada y el CO<sub>2</sub> gaseoso se combinan en la proporción adecuada antes de ser transferidos como una bebida completa hacia la maquina llenadora. La vista final se forma antes del envasado, por lo que el control de la carbonatación y las proporciones relativas del jarabe y de agua tienen una importancia crítica. (H. Varman Alan1994).

El papel fundamental de la carbonatación es conseguir un íntimo contacto entre el CO<sub>2</sub> gaseoso y el líquido que tiene que ser carbonatado. Los factores que determinan el grado de carbonatación son:

1. La presión del sistema.
2. La temperatura del líquido.
3. El tiempo de contacto entre el líquido y el CO<sub>2</sub>.
4. El área interfacial entre el líquido y el CO<sub>2</sub>.
5. La afinidad del líquido por el CO<sub>2</sub> (La afinidad aumenta según aumenta el contenido en azúcar).
6. La presencia de otros gases.

(H. Varman Alan1994).



## Capítulo VI

### METODOLOGÍA.

Para llevar a cabo la carbonatación y evaluación de la vida de anaquel del aguamiel fue necesario separar las tareas en los siguientes puntos: Diseñar y crear el carbonatador, obtener el aguamiel directamente del agave, caracterizar lo que obtuvimos del agave, aplicar métodos de conservación (pasteurización y esterilización), carbonatar la savia del agave y evaluar la vida de anaquel del aguamiel.

#### 6.2 Diseño y desarrollo del carbonatador.

En la siguiente figura se ilustran las partes que se usaron para construir el carbonatador.



Ilustración 9. Partes del carbonatador.

(Elaboración propia)

### Herramientas.

Machuelo de 1/4, broca de 1/4, taladro, pinzas, desarmador.

## 6.3 Obtención de aguamiel.

### 6.3.1 Herramientas.

Barra, machete, raspador, garrafón de 5 litros, 1 vaso.

### 6.3.2 Proceso de quebrado de maguey.

#### 6.3.2.1 Selección del agave.

El agave se seleccionó conforme a su edad para la producción de aguamiel se tomó en cuenta la edad del maguey (entre ocho y nueve años de edad). Se tomó en cuenta el tamaño del maguey.



A)



B)



C)

### Ilustración 10. Selección del agave.

#### 6.3.2.2 Eliminación de espinas.

Al momento de quebrar el maguey se abrió paso con un cuchillo para no dañarse con las espinas del agave. Se quitan todas las espinas que pudiesen causar daño.



A)

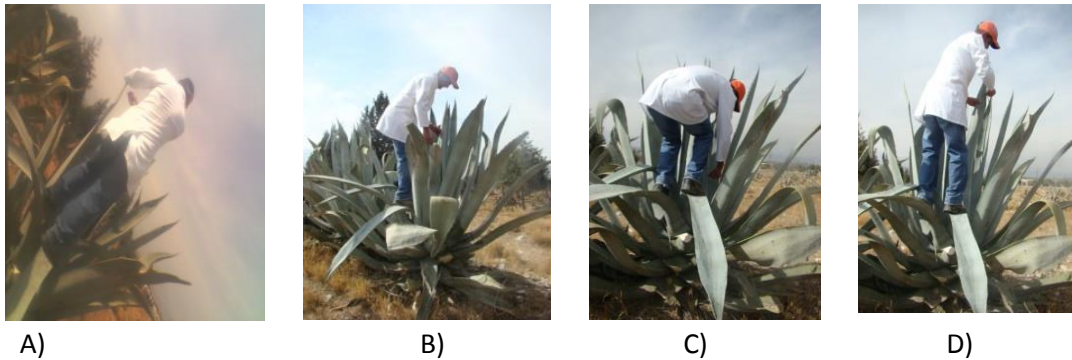


B)

### Ilustración 11. Abrir paso.

### 6.3.2.3 Posicionamiento.

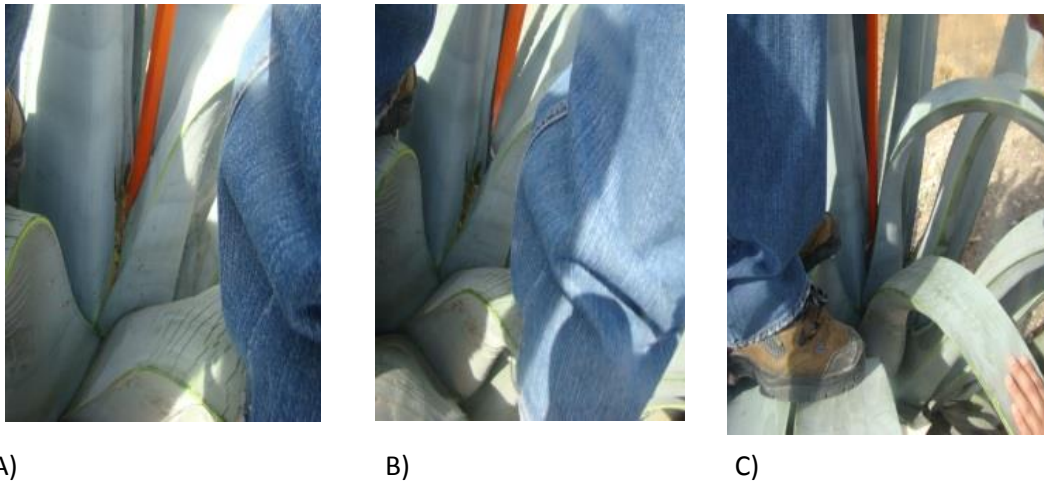
Se aproximó al centro del maguey, ubicándose en el escapo floral.



**Ilustración 12. Posicionarse cerca del escapo floral.**

### 6.3.2.4 Comenzar a herir al agave.

Con la barra se picó las orillas del escapo floral, como queriendo hacer un hueco, cuidando no dañar las hojas próximas al escapo floral.



**Ilustración 13. Hiriendo al agave.**

### **6.3.2.5 Eliminación del escapo floral.**

Se movió la barra y el escapo floral hacia los lados, hasta conseguir quebrar el escapo floral. Una vez hecho esto se siguió intentando hasta que salió el escapo floral.



A)



B)



C)

**Ilustración 14. Retirando el escapo floral.**

### **6.3.2.5 Acondicionamiento del hueco.**

Una vez que se retiró el escapo floral, se procedió a picar y raspar el hueco resultante.



A)



B)



C)



D)

**Ilustración 15. Picando y raspando.**



### **6.3.2.6 Hueco resultante.**

Se obtuvo un hueco de aproximadamente 20 cm de diámetro (ilustración 16)



**Ilustración 16. Recinto donde se acumulara el aguamiel.**

El hueco se tiene que dejar así por tres días, después se tapó con manta.

En el hueco se acumuló el aguamiel, la cual se retiró con un vaso y se depositó en garrafón de 5 litros.

Es importante que cada vez que saque el aguamiel se debe raspar el hueco para evitar la cicatrización de este.

### **Recolección de aguamiel (cosecha).**

Para llevar a cabo la cosecha de aguamiel es necesario un recipiente donde depositar el aguamiel, ya sea una botella o garrafón.

En la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro localizada en las coordenadas geográficas 25° 22' de latitud norte y 101° 02' longitud oeste y a una altitud de 1742 msnm y ubicada en la colonia Buenavista, municipio de Saltillo, a los 7 km al sur de esta ciudad sobre la carretera 57 (Saltillo -Zacatecas) se obtuvo la muestra con la que se estuvo trabajando.

El clima de esta región es muy seco, semicálido, con invierno fresco, extremo, con lluvias en verano, y una precipitación invernal superior al 10% del total anual.

La precipitación anual media es de 350-400mm; régimen de lluvias: la temporada lluviosa es de junio a octubre. el mes con lluvias más abundante es julio y marzo es el mes más seco y una precipitación invernal superior al 10%del total anual. (Marzo 2011 S/A).

El día 19 de septiembre del año en curso se procedió a quebrar el maguey de donde se obtuvieron las muestras.

El maguey se estuvo raspando diario dos veces al día la cavidad se cubrió con manta para evitar el acceso de los mosquitos y contaminación exterior.

#### **6.4 Caracterización del aguamiel sin gasificar.**

Se realizaron los análisis de azúcares reductores, proteínas, densidad, sólidos solubles, color, pH, y microbiológico; como más adelante se describe. A excepción del análisis microbiológico, para llevar este análisis a cabo, se realizaron diluciones, ya que debido a la gran cantidad de microorganismos presentes en el aguamiel no es posible realizar un análisis microbiológico por el método del más probable.

#### **6.5 Carbonatación**

Para realizar la carbonatación primero se desinfectó el área de trabajo con cloro seguido de alcohol. También se prosiguió a crear un ambiente estéril con la ayuda de mecheros bunsen y por último la desinfección del carbonatador PVC 001 y los envases donde se conservó el aguamiel.

Una vez creado el ambiente aséptico se procedió a filtrar el aguamiel con gasa esterilizada (121°C por 15 minutos), recibiendo el filtrado en el carbonatador PVC 001. Se selló la entrada de dicho material y se sometió a un tratamiento de 5 LPM de CO<sub>2</sub> con una duración de 15 minutos y una presión de 35 psi. La temperatura del aguamiel al inicio del proceso fue de 4°C. Una vez realizado el proceso de carbonatación se envasó en recipientes de 100 ml y se procedió a pasteurizar y/o a esterilizar las muestras.

#### **6.6 Métodos de conservación**

##### ***6.6.1 Utilización de la pasteurización.***

Esta se realizó en baño maría a una temperatura de 75°C por un periodo de 15 minutos.

La temperatura se midió con ayuda de un termómetro debidamente desinfectado al momento de llegar la temperatura a 75°C. Empezó a transcurrir el tiempo de pasteurización.

Se preparó un baño de hielo. En un inserto se depositaron 3 litros de agua con 5 kg de hielo. Al momento de enfriar el líquido se tomaron los frascos en donde se llevó a cabo la pasteurización y se sometieron al baño de agua fría por 15 minutos.

### **6.6.2 Utilización de la esterilización.**

La esterilización se realizó en autoclave a una temperatura de 121 °C por 15 minutos. El aguamiel se depositó en recipientes con capacidad de 200 ml solo que en cada recipiente se agregó una cantidad de 100 ml. y al momento de retirar los frascos de la autoclave se dejó enfriar a temperatura ambiente.

## **6.7 Caracterización de aguamiel carbonatada.**

### **6.7.1 Análisis microbiológico del aguamiel.**

Se utilizaron los siguientes medios de cultivo: Agar Papa y Dextrosa (PDA) para el conteo en placa de hongos y levaduras, RMS para la detección de Lactobacilos y Bacterias ácido lácticas, agar RMS para recuento de *Enterobacteriaceae*. Los análisis se realizaron con un intervalo de 168 horas (7 días) para ir monitoreando la vida útil del producto.

El día 28 de noviembre se preparó el medio de cultivo, se dejó solidificar, se envolvió en petro-film, y se guardó en refrigeración. Esto para ser utilizado al día siguiente ya que por cuestiones de tiempo, no era humanamente posible realizar preparación de medio y siembra así como los demás análisis realizados.

A la hora de sembrar se utilizó una campana de flujo laminar la cual se desinfecto con alcohol previo a su uso. Se esterilizó material como puntillas, aza, vasos de precipitados, también se desinfecto la micro pipeta.

Para efectuar la siembra tomamos 100µl de aguamiel.

### **6.7.2 Determinación de color en aguamiel.**

Se usó el colorímetro y se tomó la lectura tres veces. Tomando en cuenta los parámetros L\* a\* b\*.

### **6.7.3 Determinación de pH en aguamiel.**

Materiales.

Vasos de precipitado de 100 ml.

Potenciómetro

Termómetro

Reactivos.

Solución amortiguadora de PH 4

Solución amortiguadora de PH 7

Agua destilada

Para llevar a cabo la medición de pH primero se calibró el potenciómetro.

Como paso número uno llenamos un vaso de precipitados con la solución amortiguadora con pH 4, presionamos el botón calibrar esperamos que nos pida la solución con pH 4, una vez que eso suceda metemos el electrodo en dicha solución cuidando de no tocar las paredes del vaso con el electrodo. Esperamos

que se establezcan los números del potenciómetro, presionamos la tecla confirmar y esperamos que nos pida la solución amortiguadora con pH de 7 y repetimos el paso anterior. Previo enjuague y secado del electrodo.

Ya que hemos calibrado el potenciómetro medimos el pH del aguamiel y anotamos la temperatura.

A la hora de calibrar y medir pH cuidamos que el electrodo no haga contacto con las paredes del recipiente y tomamos la temperatura del líquido.

#### **6.7.4 Determinación de la Densidad en aguamiel.**

Para medir la densidad fue necesaria la ayuda del picnómetro, la balanza analítica y un termómetro.

Se tomó el picnómetro con guantes para evitar poner peso adicional proveniente de la grasa de los dedos u otro tipo de materia o sudor. Se procedió a pesar el picnómetro vacío, se tomó el peso en gramos, se llenó el picnómetro con el aguamiel carbonatada, se retiró el exceso de aguamiel con un clínex, se volvió a tomar el peso en gramos del picnómetro lleno y para la determinación de la densidad se utilizó la fórmula siguiente  $D = \frac{(P-PS)}{25.120ml}$  donde;

P=picnómetro con muestra

PS= picnómetro sin muestra

V= volumen del picnómetro = 25.120ml

Por último se expresan los resultados en g/ml.



### 6.7.5 Determinación de azúcares reductores en aguamiel.

Se realizó una curva de calibración con una solución de glucosa en una concentración de 0.1 g/ml.

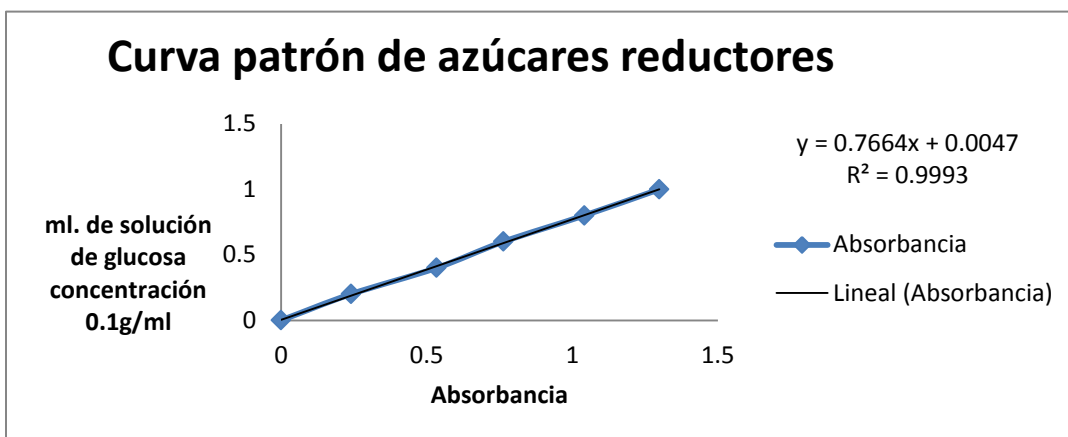


Ilustración 17. Curva patrón de azúcares reductores.

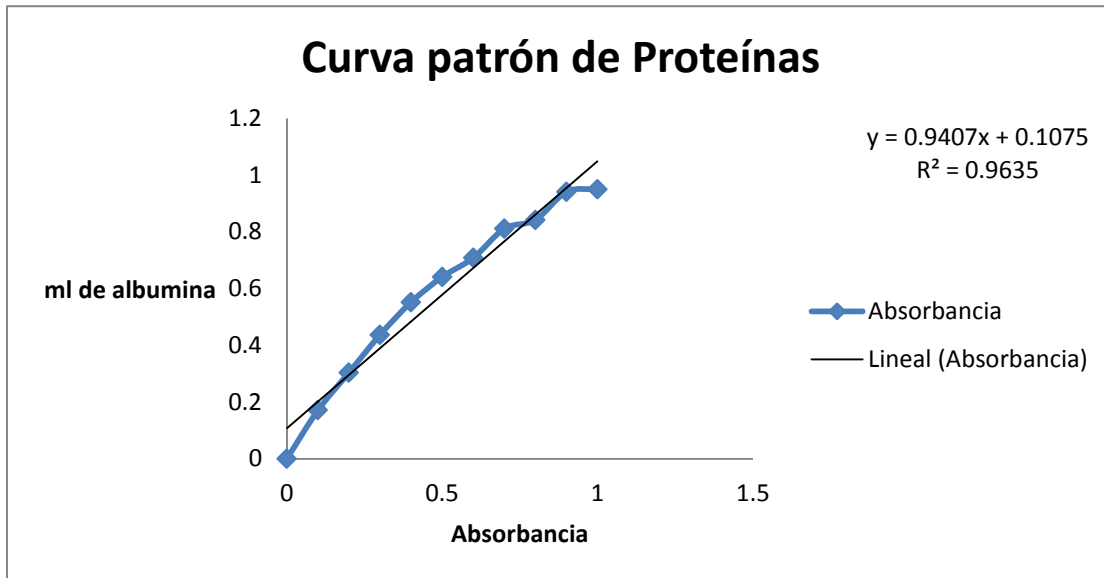
Posteriormente se realizó la medición de los azúcares reductores en la muestra.

### 6.7.6 Determinación de Proteínas por el método de Lowry en aguamiel carbonatada.

La determinación de proteínas se realizó por el método de Lowry que se describe enseguida;

Materiales	Reactivos
Tubos de ensayo	Reactivo A: $\text{Na}_2\text{CO}_3$ al 2% y NaOH 0,1 M
Pipetas	Reactivo B1: $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ al 1 %
Espectrofotómetro	Reactivo B2: Tartrato de sodio y potasio al 2%
Celdillas	Reactivo C: Se prepara mezclando los reactivos: A, B1 y B2, en proporciones 50 : 0,5 : 0,5 (en volumen).
Vortex	Reactivo de Folin-ciocalteau: Reactivo comercial diluido a $\frac{1}{4}$ Solución patrón de albumina de huevo (1 mg/ml). Aguamiel

Para la determinación de proteínas se construyó una curva patrón a partir de una solución de albumina de huevo (1 mg/ml).



**Ilustración 18. Curva de calibración para proteínas.**

#### **6.7.7 Determinación de Sólidos solubles (°Brix) en aguamiel carbonatada.**

La medición de sólidos solubles se realizó directamente en el refractómetro.

Como primer paso se esperó a que el aguamiel tomara la temperatura ambiente paso seguido con la ayuda de un gotero se depositó una cantidad de 0.2 ml (una gota) y se tomó directamente la lectura en el refractómetro. Los resultados fueron expresados en °Brix.

#### **6.7.8 Evaluación de la vida de anaquel.**

Se realizaron los análisis antes descritos cada 7 días, durante 21 días.

## Capitulo VII.

### Análisis de resultados.

Caracterización de aguamiel.

- Color
- pH
- Solidos solubles
- Densidad
- Azucares reductores
- Proteínas
- Análisis microbiológico

### Color.

#### Color en aguamiel.

La luminosidad en el aguamiel se ve afectada en los procesos de conservación, siendo la pasteurización el tratamiento que más guarda la característica de luminosidad.

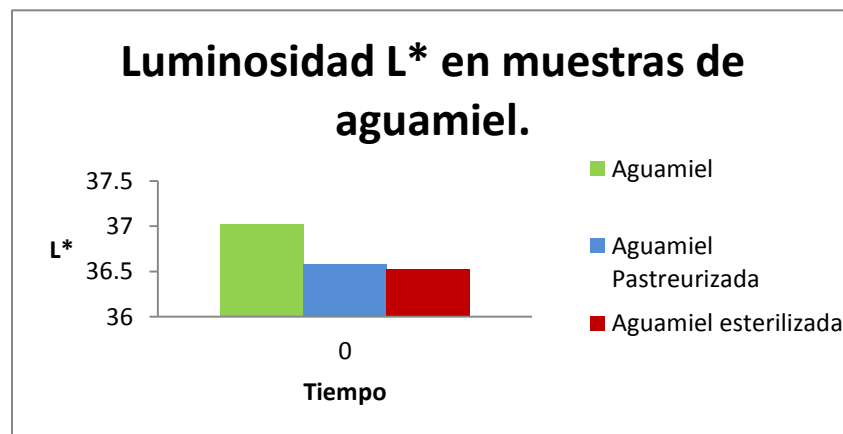
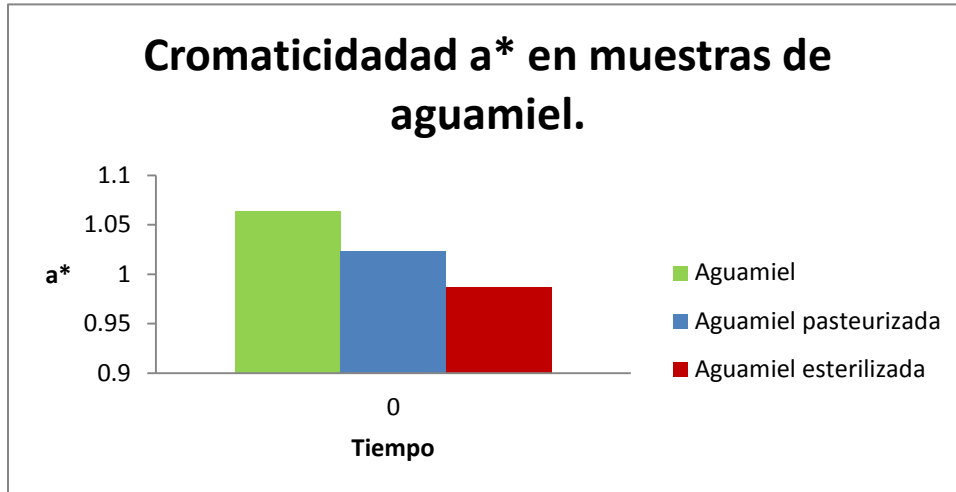


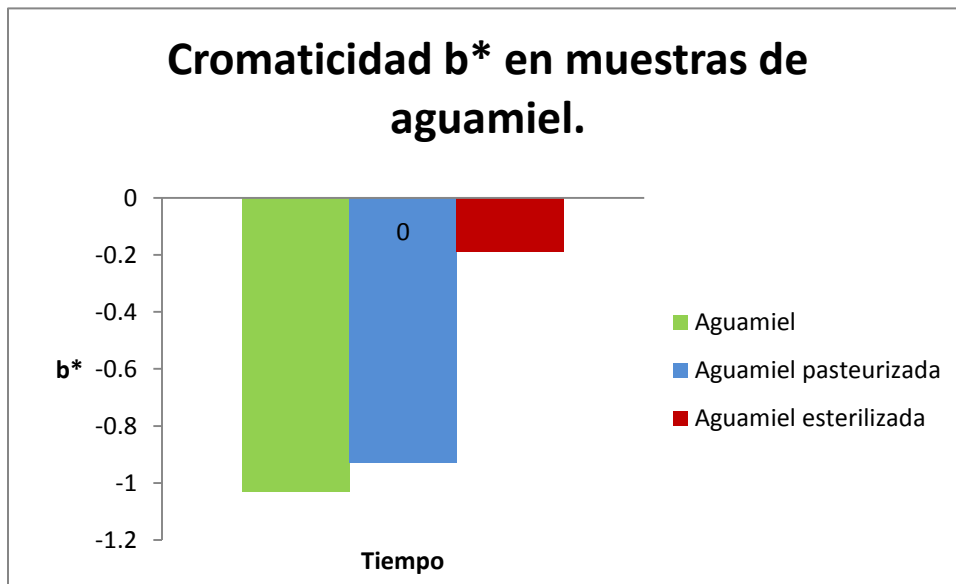
Ilustración 19. Luminosidad L\* en muestras de aguamiel.

La cromaticidad  $a^*$  inicialmente tiene un valor de 1.06, en los procesos de conservación este factor se ve afectado, teniendo un pequeño cambio en aguamiel pasteurizada y un cambio más notorio en aguamiel esterilizada.



**Ilustración 20. Cromaticidad a\* en muestras de aguamiel.**

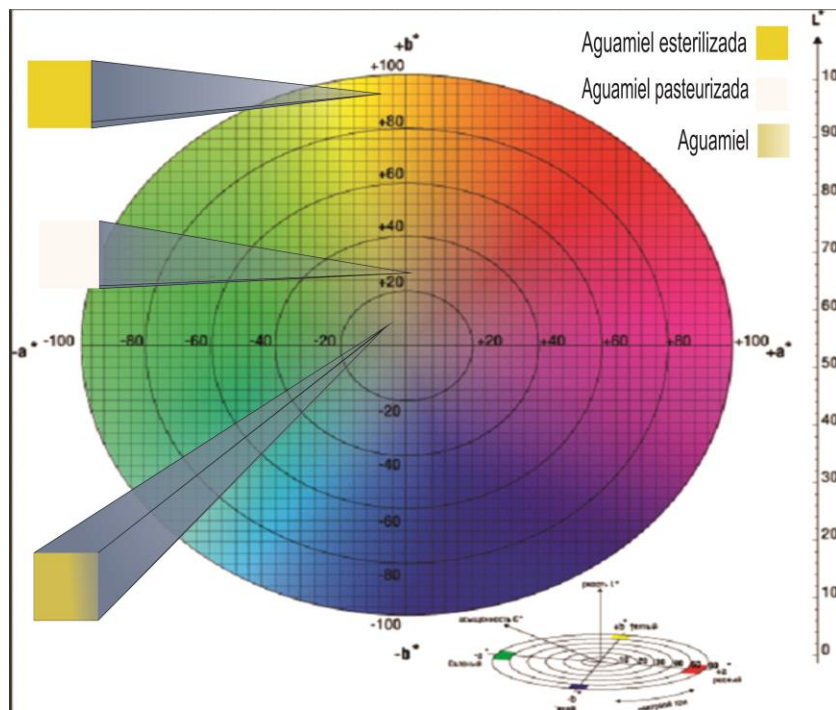
La cromaticidad en b\*, al igual que la cromaticidad en a\* tiene un cambio más notorio en aguamiel esterilizada. En aguamiel pasteurizado es prácticamente el mismo valor.



**Ilustración 21. Cromaticidad b\* en muestras de aguamiel.**

Con las gráficas anteriores determinamos que el aguamiel esterilizada tiene un cambio notorio en el color, las características colorimétricas del aguamiel y aguamiel pasteurizada son muy semejantes numéricamente, sin embargo visualmente si existe una diferencia de color, el aguamiel sin tratar, presenta un color ámbar claro, en cambio el aguamiel pasteurizada presenta un color blanco lechoso y el aguamiel esterilizada, presenta un color ámbar intenso.

El color del aguamiel numéricamente presenta diferencias mínimas y visiblemente los cambios se hacen notar. En el siguiente esquema se muestra el color del aguamiel como lo percibe el ojo humano. Las diferencias se deben a que las mediciones se realizaron directamente en el frasco de vidrio.



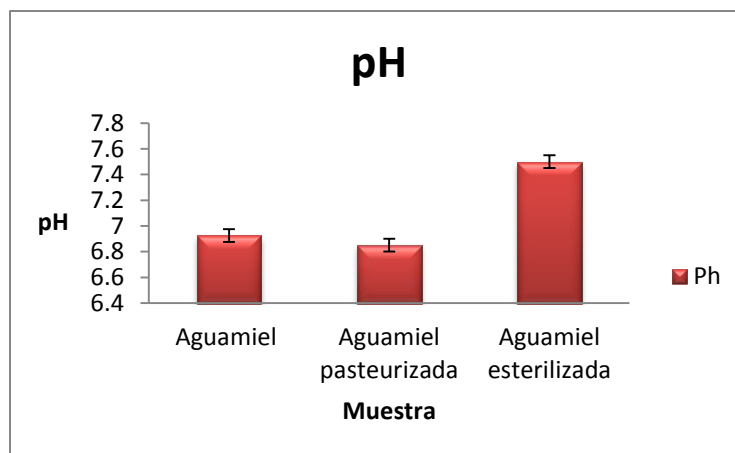
**Ilustración 22. Color del aguamiel.**

### **pH.**

En esta grafica se comparó el pH del aguamiel natural y el pH de los tratamientos.

Podemos observar que el pH del aguamiel es muy cercano a la neutralidad, en cambio en aguamiel pasteurizado es un poco ácido, esto puede deberse a la acción bacteriana en el proceso de calentamiento, ya que inicialmente el aguamiel tiene gran cantidad de microorganismos, mismos que se activan en el transcurso que llega la temperatura de inactivación.

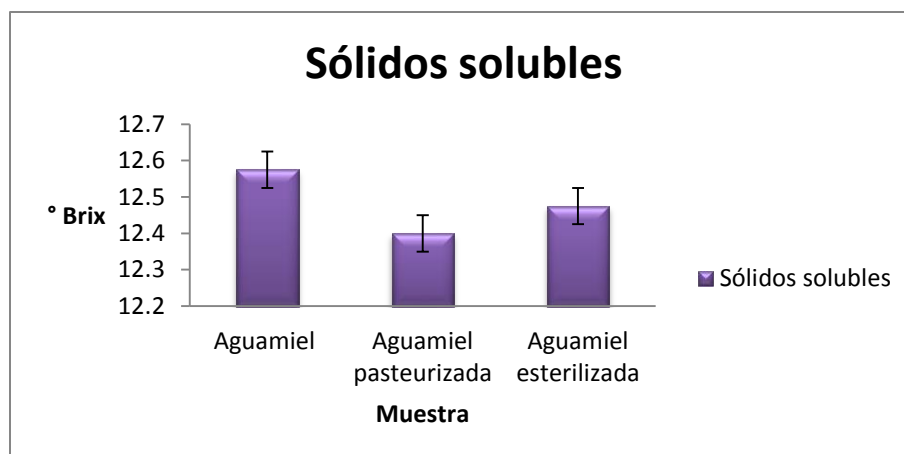
En el proceso de esterilización se ve claramente que la acción bacteriana no tiene efecto sobre la acidificación de la muestra.



**Ilustración 23. PH en muestras de aguamiel.**

### **Sólidos solubles.**

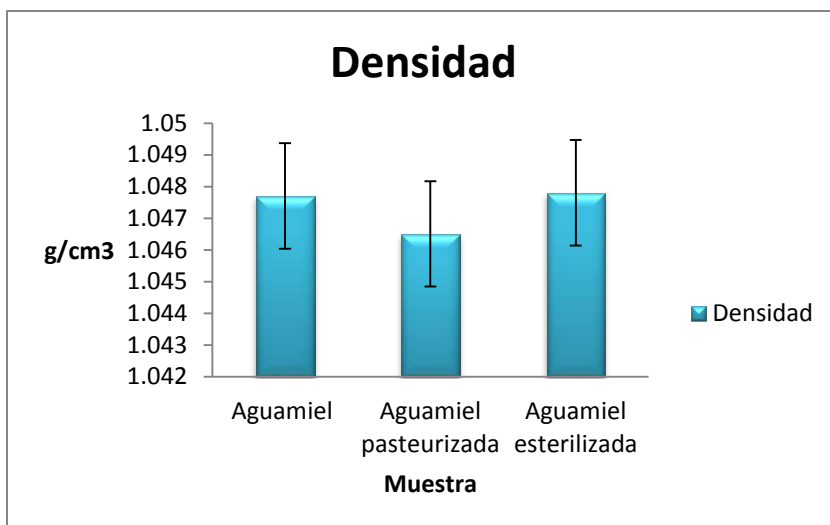
Los grados °Brix se determinaron en la muestra a una temperatura de 24°C y estadísticamente no presentan un cambio significativo en los procesos de conservación.



**Ilustración 24. Sólidos solubles en las muestras de aguamiel.**

### **Densidad.**

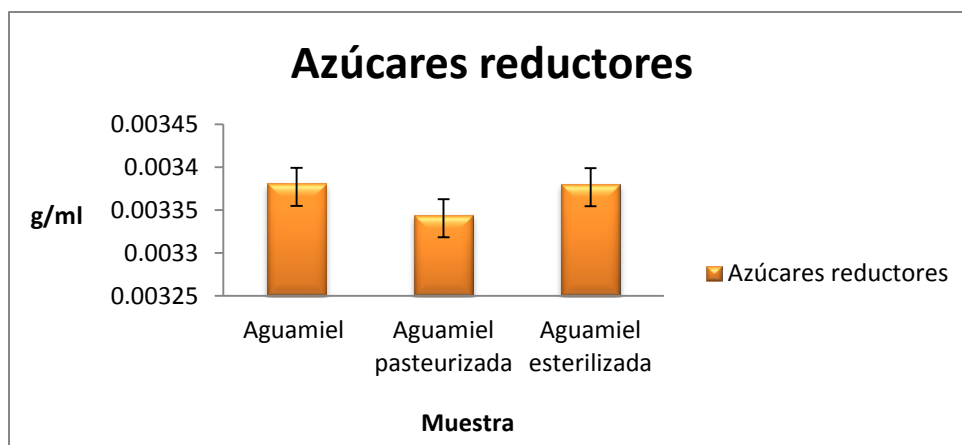
Para la determinación de la densidad fue necesario tomar en cuenta la temperatura al igual que en la determinación de grados °Brix fue de 24°C y no se presentó diferencia significativa entre los tratamientos.



**Ilustración 25. Densidad en muestras de aguamiel.**

### **Azúcares reductores.**

En las tres muestras se obtuvieron prácticamente los mismos miligramos por mililitro de azúcares reductores lo que quiere decir que los tratamientos de conservación no afectaron el contenido de azúcares reductores en la muestra.

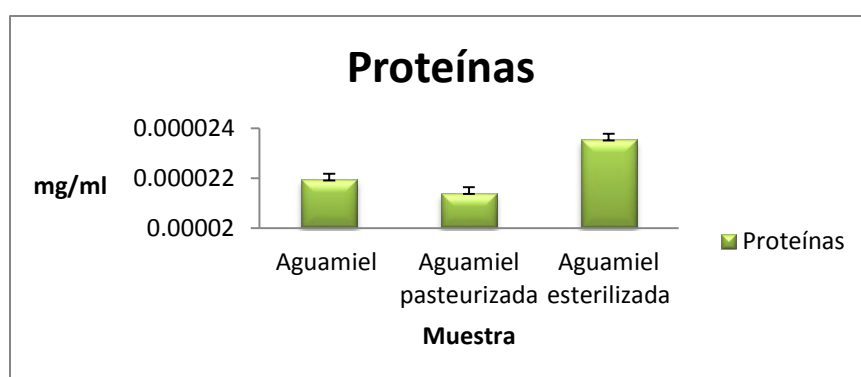


**Ilustración 26. Azúcares reductores en muestras de aguamiel.**

### **Proteínas.**

Las proteínas muestran diferencia significativa en los tratamientos, obteniendo la mayor cantidad en la aguamiel esterilizada, lo que indica que la esterilización favorece la disponibilidad de tirosina y triptófano en la muestra, ya que el fundamento del método de Lowry para la identificación de proteínas, se basa en la combinación de la reacción de Biuret con la reducción del reactivo de Folin-Ciocalteu (ácido fosfomolibdico-fosfotúngstico). Provocada por los residuos de tirosina y triptófano que son aminoácidos presentes en las proteínas.

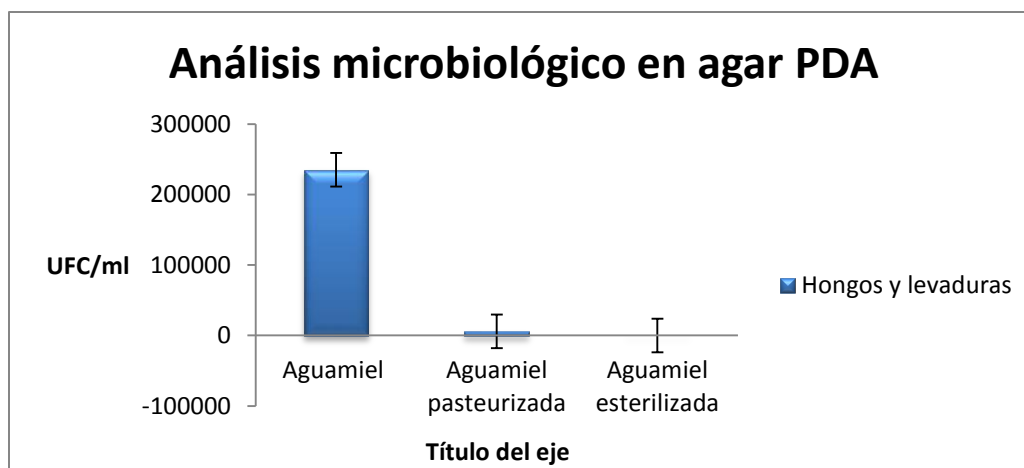
Sin embargo para comprobarlo es necesario realizar pruebas por el método de cromatografía de gases, para la determinación de aminoácidos.



**Ilustración 27. Proteínas en muestras de aguamiel.**

### **Análisis microbiológico en agar PDA.**

Al realizar el análisis microbiológico en muestras de aguamiel. Tal como lo dice la literatura, se encuentran gran cantidad de microorganismos (hongos y levaduras), los que logramos reducir en un 97.5% con el método de pasterización y logrando la eliminación total de microorganismos con el método de esterilización.

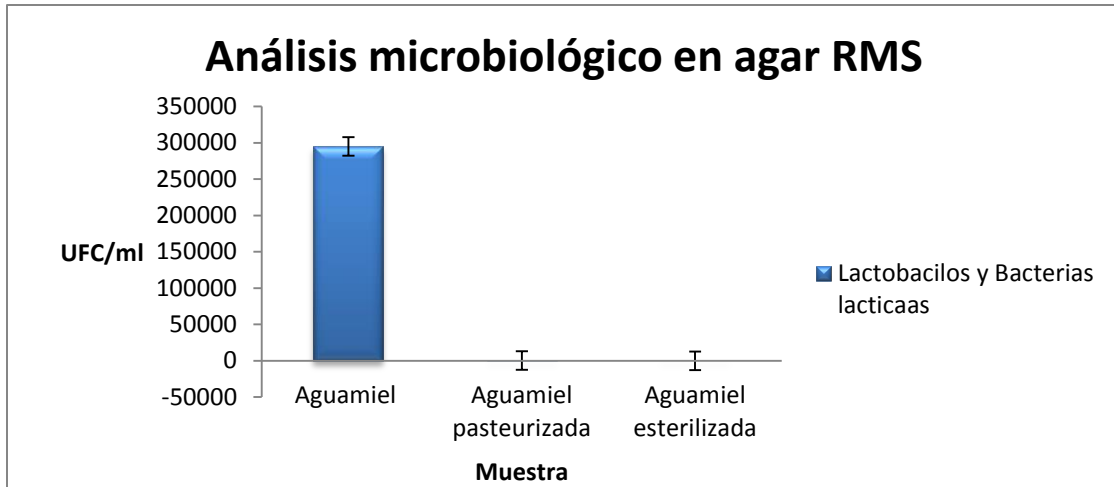


**Ilustración 28. Hongos y levaduras en muestras de aguamiel.**



### **Análisis microbiológico en agar RMS.**

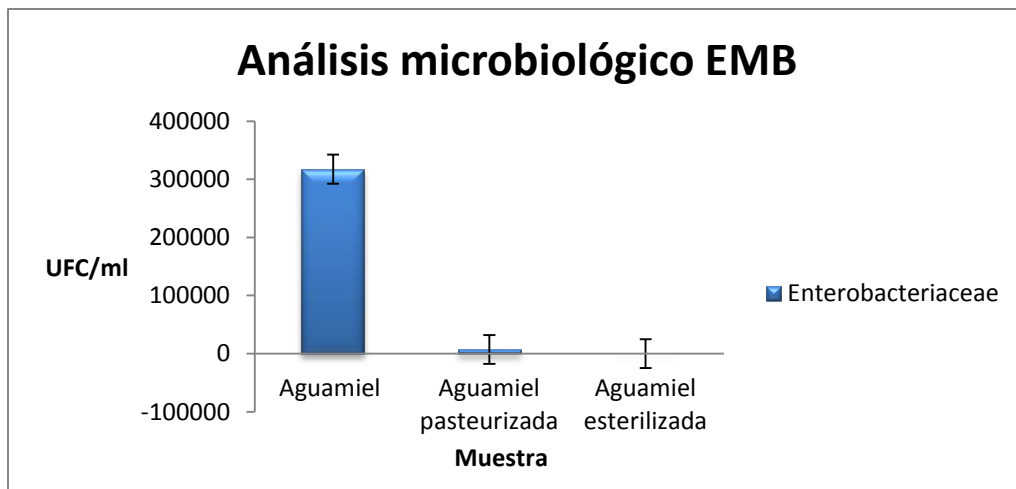
De igual forma las bacterias lácticas y lactobacilos presentes en la muestra de aguamiel, fueron reducidos en un 99.1 % en el tratamiento de pasteurización y erradicados en el tratamiento de esterilización.



**Ilustración 29. Análisis microbiológico en agar RMS**

### **Análisis microbiológico en agar EMB.**

Las *Enterobacteriaceae* al tener una población inicial de 317.500 fueron reducidas en un 97,7% en el tratamiento de pasteurización y logrando la eliminación total en el tratamiento de esterilización.

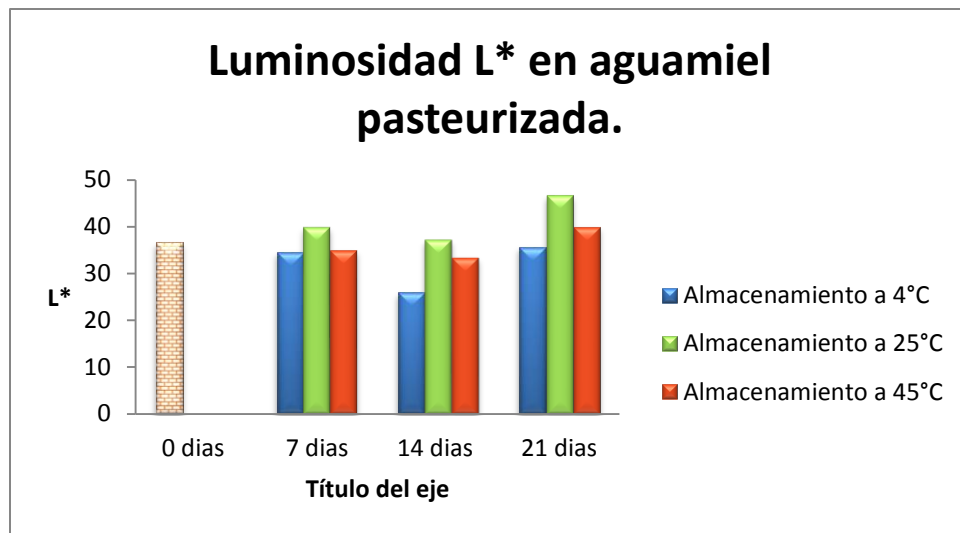


**Ilustración 30. Análisis microbiológico en agar EMB.**

## Evolución de los análisis a través del tiempo.

### **Color en aguamiel pasteurizado.**

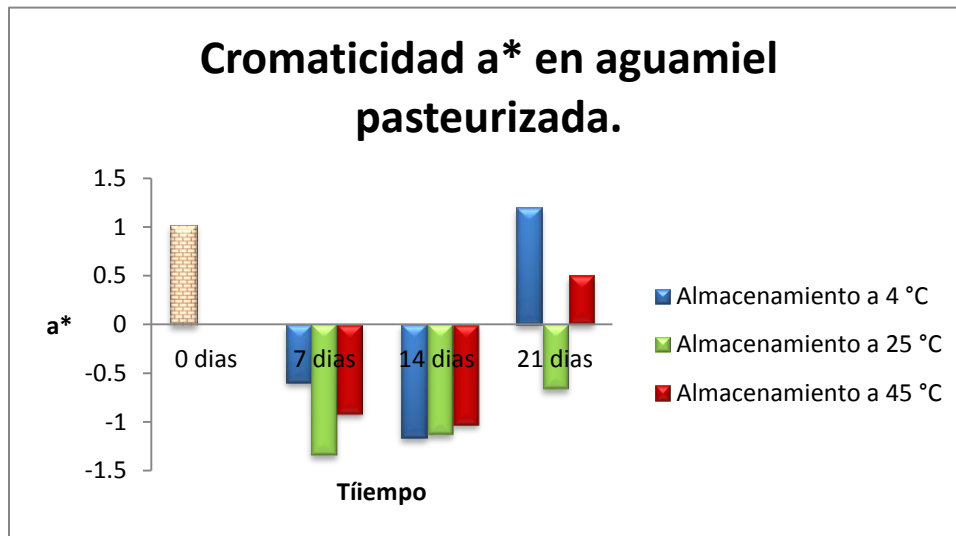
En el siguiente grafico se representa la luminosidad  $L^*$  a través del tiempo, en aguamiel pasteurizada, observamos que si almacenamos el aguamiel a temperatura de refrigeración la luminosidad se ve afectada, resultando un color más opaco en los 14 días de almacenamiento. En el almacenamiento a 25 °C existe un incremento en la luminosidad respecto al patrón y en las muestras almacenadas a 45 °C la luminosidad prácticamente se mantiene en los valores del patrón.



### **Ilustración 31. Luminosidad $L^*$ a través del tiempo, en aguamiel pasteurizada.**

La cromaticidad  $a^*$  tiene una gran variación en prácticamente todas las temperaturas de almacenamiento. A 4 °C mostro un comportamiento extraño, primero disminuyo drásticamente, dirigiéndose a los tonos azules en los primeros 14 días para después aumentar y dirigirse a los tonos amarillos. En el almacenamiento a 25°C el cambio en los valores fue drástico en los primeros 7 días el color se dirigió permaneciendo este cuadrante.

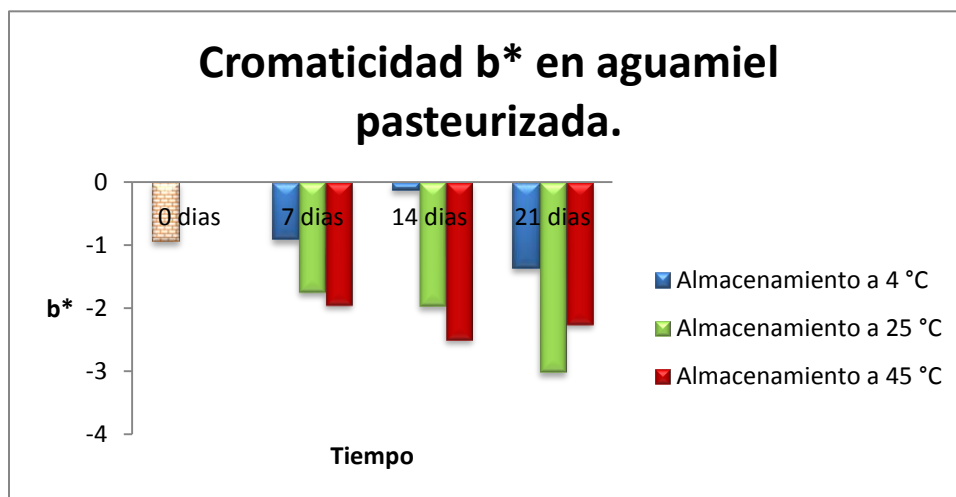
Las muestras almacenadas a 45°C también los valores tienden a colores verdes en los primeros 14 días, y a los 21 días la cromaticidad en a\* toma valores positivos.



**Ilustración 32. Cromaticidad a\* a través del tiempo, en aguamiel pasteurizada.**

La cromaticidad b\* en todas las temperaturas de almacenamiento permanecen negativas aproximándose a los colores azulados, siendo la temperatura de refrigeración la que más conserva las características del patrón. Con el paso del tiempo la muestra almacenada a 25 °C fueron disminuyendo aproximándose a colores azulados claro está que sin llegar a dicho color.

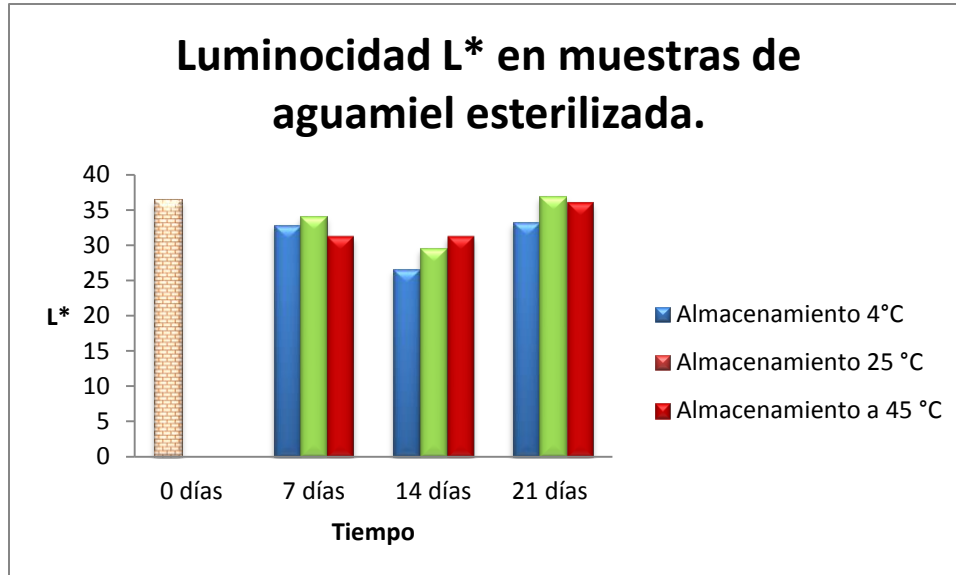
El almacenamiento a 45 °C es el que más se aleja del patrón.



**Ilustración 33. Cromaticidad b\* a través del tiempo en aguamiel pasteurizada.**

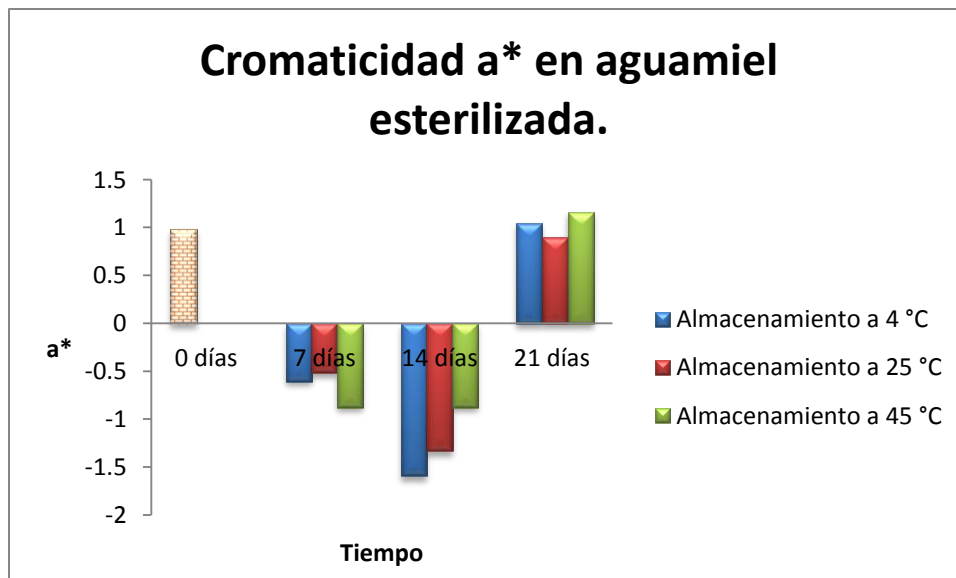
### Color de aguamiel esterilizado.

La luminosidad  $L^*$  en muestras de aguamiel esterilizada no presentan diferencia significativa a través del tiempo. La temperatura de almacenamiento se podría decir que tiene una influencia mínima en los cambios de luminosidad.



**Ilustración 34. Luminosidad  $L^*$  a través del tiempo, en muestras de aguamiel esterilizada.**

La cromaticidad  $a^*$  en aguamiel esterilizada cambia en los primeros 7 días, a los 14 días el cambio es más notorio y a los 21 días la cromaticidad vuelve a tomar valores semejantes al patrón.



**Ilustración 35. Cromaticidad  $a^*$  a través del tiempo, en aguamiel esterilizada**

En la cromaticidad  $b^*$  de aguamiel esterilizada ninguna temperatura se asemeja a la cromaticidad del patrón.

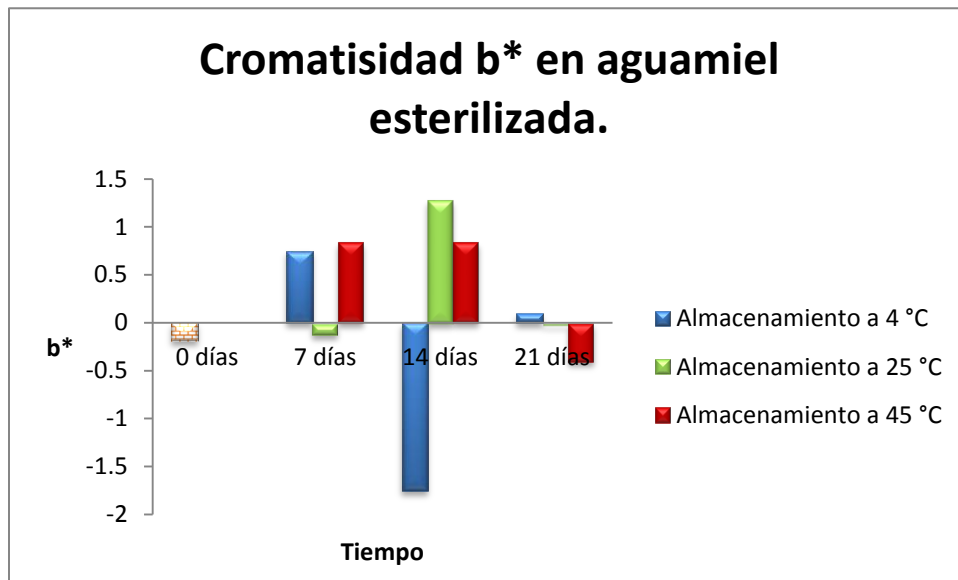


Ilustración 36. Cromaticidad  $b^*$  a través del tiempo, en aguamiel esterilizada.

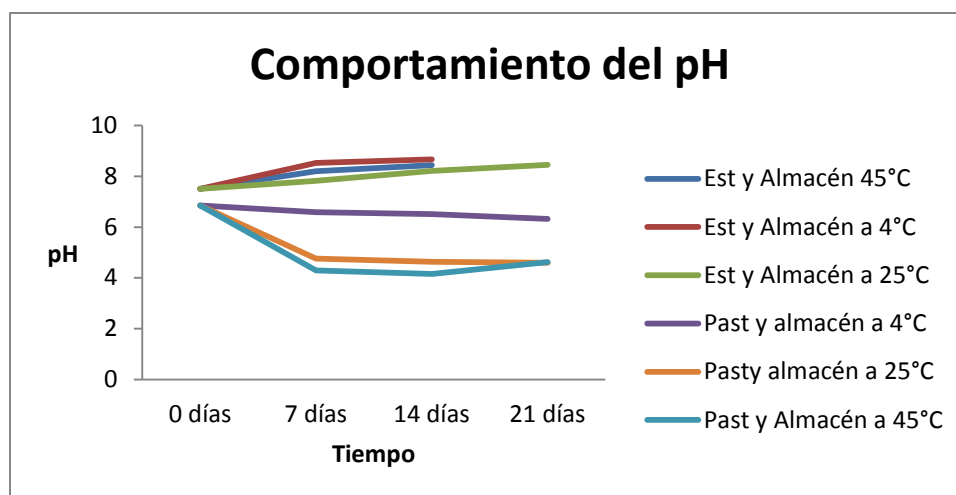
### **pH.**

Las muestras con mayor acidez se presentan en los tratamientos de pasteurización almacenadas a 25°C y 45°C, alcanzado un pH de 4 a los 14 días. En la muestra almacenada a temperatura de refrigeración no existió algún tipo de variación.

El valor de pH en muestras de aguamiel pasteurizadas almacenadas a 25°C, y 45 °C muestran un cambio de pH. Mostrando la acidificación de las muestras. Estos dos tratamientos presentaron un aroma desagradable. Esto indica el crecimiento microbiano y descomposición de la muestra.

En cambio en las muestras esterilizadas, el pH alcanzo un valor arriba de 8 mostrando un aroma agradable, sin importar la temperatura de almacenamiento.

En las muestras de esterilización no se presenta un cambio significativo, lo que indica que podemos dejar las muestras a temperatura ambiente y podemos asegurar que este parámetro no se verá afectado.

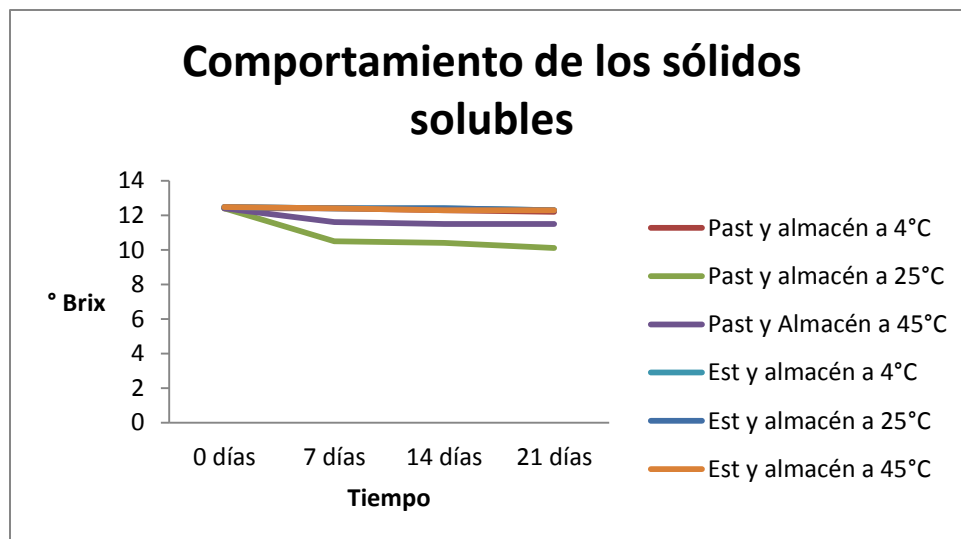


**Ilustración 37. Comportamiento del pH a travez del tiempo.**

### **Sólidos solubles.**

Los sólidos solubles en las muestras de: pasteurización con almacenamiento a 4°C, esterilización con almacenamiento en 4°C, 25°C, y 45°C prácticamente mantienen la cantidad de °Brix, lo que indica que estos tratamientos son eficientes para conservar los sólidos solubles.

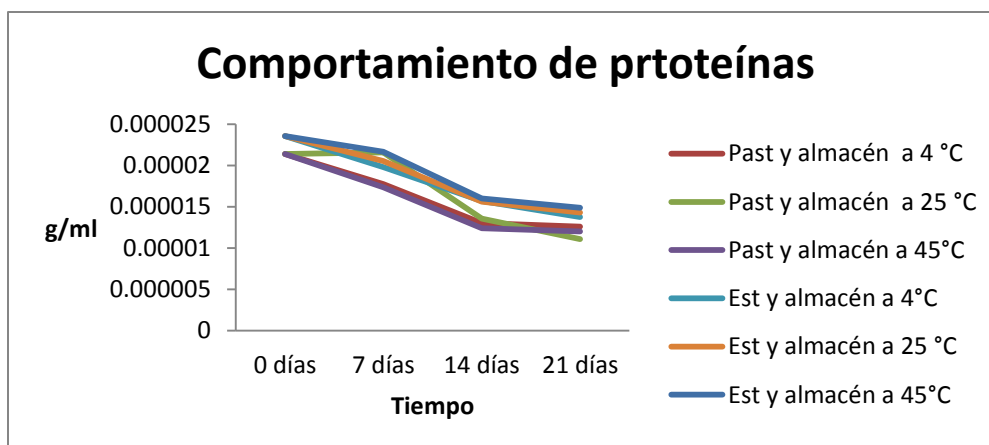
El tratamiento que mostro más acidificación fue la pasteurización con almacenamiento de 25°C reduciendo los sólidos solubles a 10.5, y el tratamiento de pasteurización con almacenamiento de 45 °C se redujo casi en un ° Brix. Este par de tratamientos no son los adecuados para la conservación de solidos solubles.



**Ilustración 38. Comportamiento de los solidos solubles a traves del tiempo.**

### **Proteínas.**

El contenido de proteínas se ve afectado por el paso del tiempo. En los tratamientos de pasteurización el contenido de proteínas es menor que en el de esterilización, sin embargo ambos tratamientos se ven afectados con el transcurso del tiempo. Sin importar la temperatura de almacenamiento.

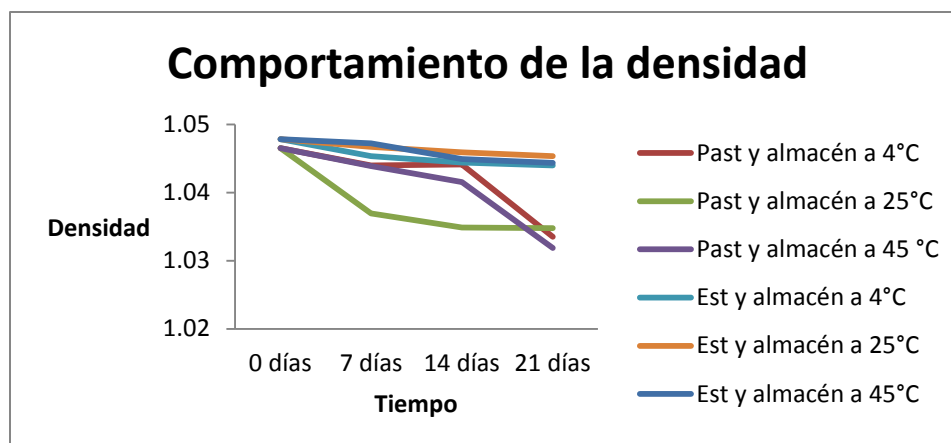


**Ilustración 39. Comportamiento de las proteínas a traves del tiempo.**

### **Densidad.**

En las muestras de esterilización el cambio de la densidad es mínimo, a través del tiempo las muestras van perdiendo densidad, sin importar la temperatura de almacenamiento.

En la pasteurización el cambio de la densidad es notorio, encontrando cierta similitud en las temperaturas de almacenamiento de 4°C y 45°C, siendo la primera la que presenta un cambio menor. En cambio en el tratamiento de pasteurización con almacenamiento a 25°C la densidad presento una caída en los primeros 7 días, para posteriormente mostrar un cambio mínimo.

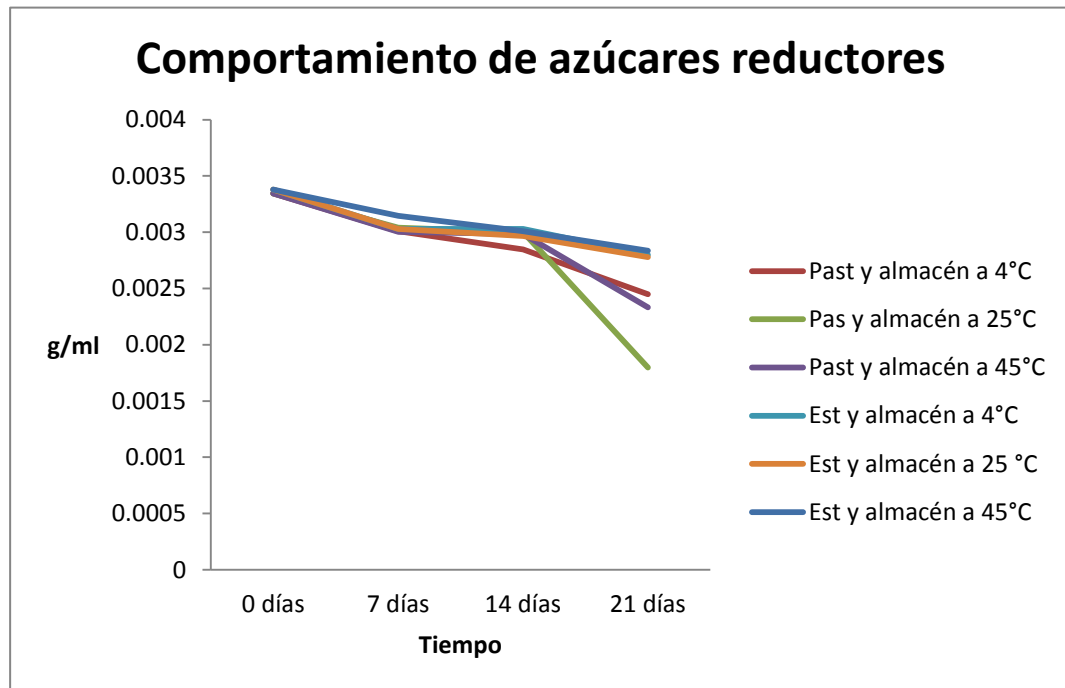


**Ilustración 40. Comportamiento de la densidad a traves del tiempo.**



### ***Azúcares reductores.***

El contenido de azúcares reductores en aguamiel se va deteriorando a través del tiempo. Los tratamientos que mejor conservan dicho componente, son los de esterilización, sin importar la temperatura de almacenamiento. En cambio el tratamiento de pasteurización presenta una caída a los 14 días, observando la más drástica a temperatura de 25°C, enseguida la muestra que se conservó a 45°C y la menos drástica se mostró en la temperatura de refrigeración.

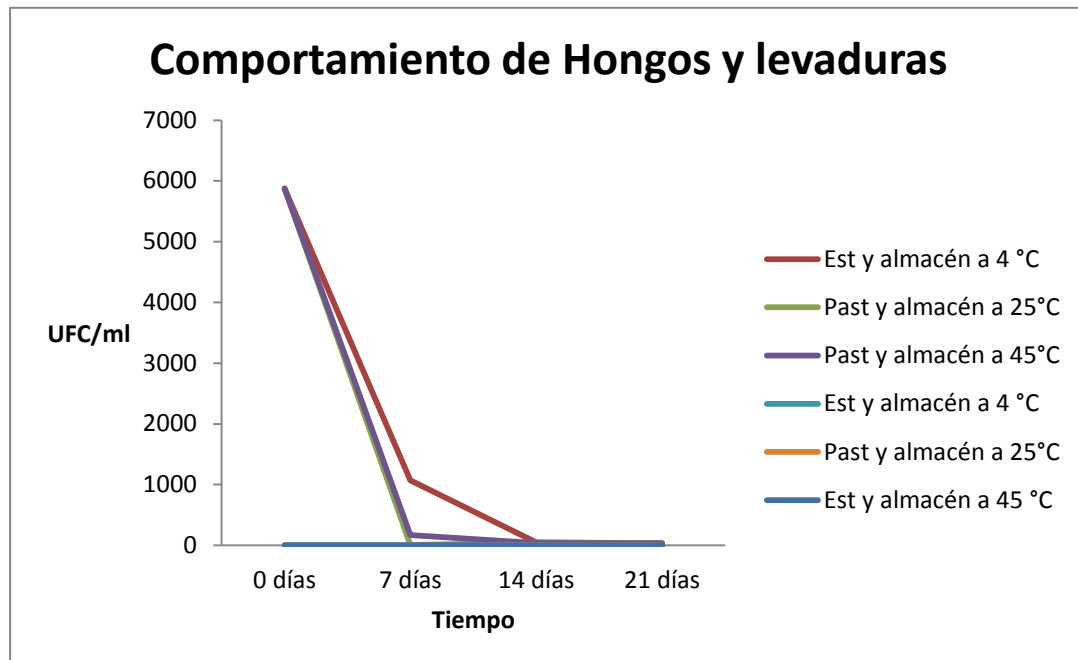


**Ilustración 41. Comparación de azúcares reductores a través del tiempo.**

### **Análisis microbiológico en PDA.**

Con la pasteurización, se logró la reducción en el contenido de hongos y levaduras, sin embargo las muestras quedaron con una cantidad considerable de microorganismos mismos que fueron disminuyendo en los primeros 7 días. Los microorganismos que perduraron por más tiempo son los contenidos en muestras de refrigeración, indicando que la eliminación de microorganismos es mayor en temperaturas de 25°C y 45°C.

En las muestras esterilizadas no se observó desarrollo de microorganismos. Comprobando que este tratamiento fue el adecuado para la destrucción total de microorganismos.

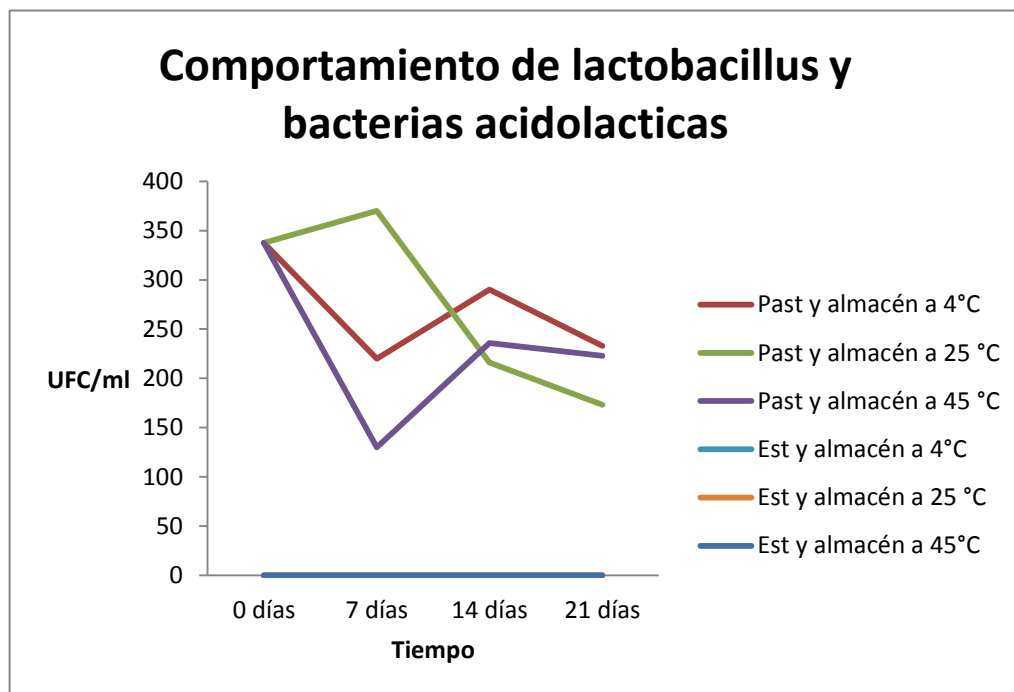


**Ilustración 42. Comportamiento de hongos y levaduras a través del tiempo.**

### **Análisis microbiológico en RMS.**

En el tratamiento de pasteurización con almacenamiento a 25°C el contenido de microorganismos presento un aumento en los primeros 7 días, para una posterior caída. En los tratamientos donde se almaceno a 4°C y 45°C el desarrollo de microorganismos tuvo fluctuaciones, en los primeros 7 días, el contenido de bacterias ácido lácticas disminuyó, posteriormente tuvo un aumento.

En aguamiel pasteurizada el contenido de lactobacilos y bacterias ácido lácticas muestra una cantidad considerable, mismos que se mantienen a través del tiempo con fluctuaciones mínimas.

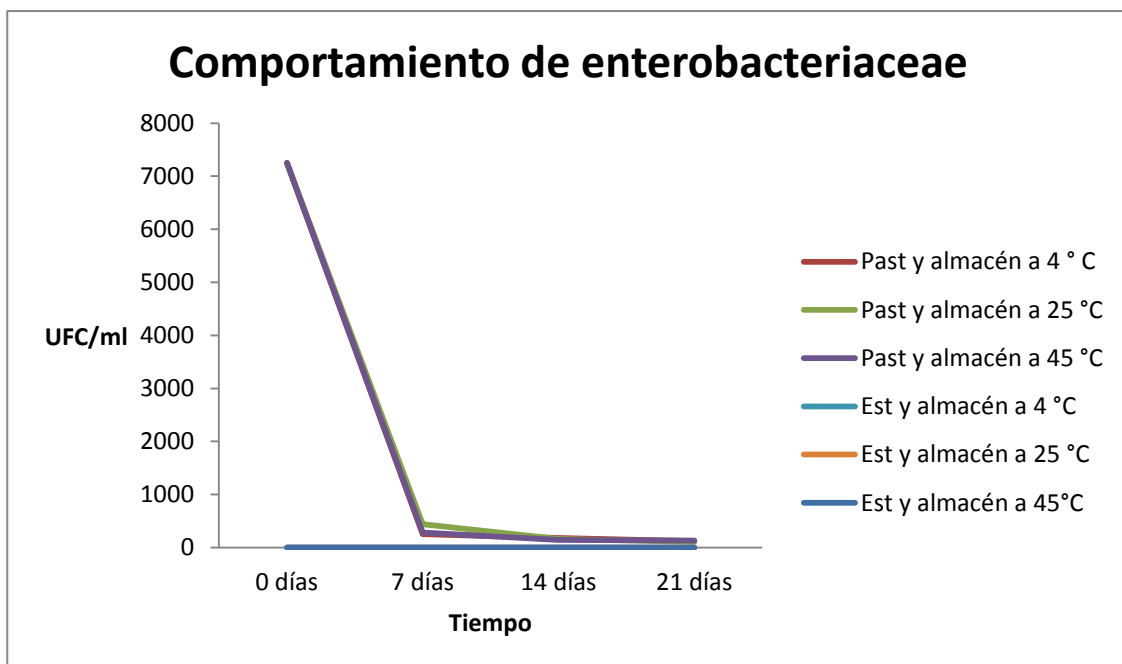


**Ilustración 43. Comparación del desarrollo de Bacterias ácido lácticas y lactobacilos.**

### **Análisis microbiológico en agar EMB.**

A través del tiempo las *Enterobacteriaceae* fue disminuyendo, mostrando una caída drástica en los primeros 7 días sin importar las temperaturas de almacenamiento. Esto en las muestras pasteurizadas.

En las muestras esterilizadas no existió desarrollo alguno de estos microorganismos.



**Ilustración 44. Comparación de las UFC de *Enterobacteriaceae*.**

## Capítulo VIII

### Discusión.

El aguamiel es un líquido muy inestable.

En la NMX-V-022-1972 describen al aguamiel con un color traslucido ambarino, el aguamiel puede ir cambiando de color hasta convertirse en pulque. Inicialmente tiene el color del agua (incoloro), conforme pasa el tiempo el aguamiel acumulado en el agave se va tornando de color ámbar, para posteriormente tomar un color blanquecino. Esto pasa en pocas horas a partir de que el agave empieza a exudar la savia.

En la determinación de la densidad Ramírez y Gentry reportan una variación de 7 a 14 °Baumé. Ramírez Higuera reporta la densidad de cuatro variedades de agave, reportando en *A. salmiana* una densidad de 1.112. La densidad en este experimento se determinó en  $\text{g/cm}^3$  con la ayuda de un picnómetro a la temperatura de 26 °C teniendo como resultado  $1.048 \text{ g/cm}^3$ . Al utilizar la fórmula  $^{\circ}\text{Brix} = (140/\rho) - 30$  resulta 4.46 °Brix esta discrepancia puede deberse a que el aguamiel es muy variable conteniendo más sólidos en tiempo de sequía.

Ramírez y Gentry reportan un pH de 6.8, Ramírez Higuera reporta 6.83, Ramos Sabah reporta un pH de 4.31 y en la NMX-V-022-1972 especifica que el aguamiel debe encontrarse entre un rango de 4.5 como mínimo y 7.5 como máximo. En este experimento coincidimos con Ramírez Higuera 2009, Ramírez y Centro 1982, con un pH inicial de 6.8 y en el tratamiento de esterilización se alcanzó un pH de 8.5.

En sólidos solubles Ramírez y Gentry 1982 reportan 10.85 °Brix, Ramírez Higuera 2009 reporta 22°B, Ramos Zablah encontró 11.2 °Brix. Como ya lo mencione el aguamiel es un líquido muy variable, en este estudio la muestra con que se estuvo trabajando presento 12.4 °Brix. Debido a que la recolección de la muestra se realizó en periodo de lluvias.

Los azúcares reductores reportados por Ramírez Higuera en el 2009 son de 32.030 g/L, en la NMX-V-022-1972 especifica que el número de azúcares reductores debe estar en un rango 6 a 12 g/100ml en cambio en este estudio se encontraron 3.4079 g/L. En el contenido de sólidos solubles Ramírez Higuera reporta 22 °Brix y nuestra muestra presento 12.4 °Brix esto podría explicar la diferencia en la presencia de azúcares reductores, entre lo reportado por Ramírez y este estudio.

Las proteínas encontrada por Ramírez Higuera en el 2009 fueron 3.323 g/L. En la NMX-V-022-1972 especifica que el contenido de proteínas debe situarse entre 100 y 600 mg/ 100 ml. En este estudio encontramos 0.02194 g/L. La determinación de proteínas en el estudio de Ramírez Higuera se realizó por el método de Khendal y en este análisis se determinaron por el método de Lowry.

Cervantes Mario y Pedroza Rodríguez en el 2007 reportaron  $30 \times 10^3$  UFC/ml para hongos levaduriformes, en este estudio coincidimos con la dilución. Reportando  $230 \times 10^3$  UFC/ml.

No se encontraron estudios que especifiquen la cantidad de Lactobacilos y bacterias acido lácticas, ni estudios donde especifiquen el número de *Enterobacteriaceae*.

No se encontraron estudios sobre la determinación del color del aguamiel los documentos encontrados solo hacen mención que el aguamiel tiene color blanquecino o color ámbar. Imaginen un mundo sin color creo que no sería nada agradable. Sería todo aburrido, todo casi igual. Por la razón antes descrita se fue necesario realizar un estudio sobre el color.

## Capitulo IX.

### Conclusiones.

1. Se logró carbonatar el aguamiel.
2. El proceso de pasteurización logró conservarse a temperatura de refrigeración pero mostraba un olor a pañal de bebe. A las temperaturas 25°C y 45°C mostró cambios drásticos en los primeros 7 días de almacenamiento.
3. En el proceso de esterilización el olor se asemeja a un olor caramelo, los parámetros azúcares reductores y proteínas, conservaron los mismos valores, durante el tiempo de monitoreo.
4. El recuento de lactobacilos y bacterias ácido lácticas no disminuyo a través del tiempo.
5. Se logró reducir la carga microbiana con el tratamiento de pasteurización, pero solamente por los primeros 7 días.
6. El aguamiel esterilizado logro conservar las características de un alimento adecuado para su consumo.

## Capitulo X

### Recomendaciones.

1. Si se piensa industrializar el aguamiel, se tienen que hacer modificaciones en el proceso de recolección. Se tendrá que implementar un sistema de control de calidad HACCP.
2. A la hora de quebrar el agave es necesario cubrirse con vata y guantes para evitar las quemaduras provocadas por ácido oxálico.
3. Si existió contacto con el ácido oxálico, la comezón o ardor se pueden mitigar con tierra. Nunca lavar con agua ya que el ácido reacciona con el agua y es más intenso el ardor.
4. Para terminar con el ardor es necesario desintegrar el ácido oxálico con calor. La técnica es calentar una tela y ponerla en la parte afectada.
5. Es indispensable evitar que los insectos y todo tipo de fauna, pueda ingresar al recinto donde se acumula el aguamiel.
6. Para conservar el aguamiel se recomienda el método de esterilización ya que presenta una vida de anaquel más larga en comparación al tratamiento de pasteurización.
7. La esterilización le dio características, como cambio de olor y cambio de color. Se tendrá que realizar un estudio de evaluación sensorial para determinar si realmente el aguamiel esterilizado es más agradable a las personas.
8. Para compensar la pérdida de nutrientes que se efectúa en la esterilización es posible la fortificación de este.
9. Si se desea obtener un aguamiel carbonatado, el proceso de carbonatación se tendrá que realizar después del proceso de conservación. Para evitar la re-contaminación de aguamiel, se necesita procesar en un sistema cerrado.
10. Para cubrir el hueco donde se acumula el aguamiel se necesita adecuar una sombra de plástico para que en tiempo de lluvias cubra dicho orificio y evitar que el aguamiel acumulada se contamine con agua.



## Capítulo XI.

### BIBLIOGRAFÍA:

Badui Dergal S. Química de los alimentos. México, 2006, Cuarta edición, Reacciones de oscurecimiento o pardeamiento, pag. 59-69.

Badui Dergal Salvador. Química de los alimentos. Efecto del pH. P 292. Recuperado desde: <http://www.utu.edu.uy/Escuelas/departamentos/canelones/vitivinicultura/Laboratorio/Primer%20semestre%20Teorico/pH.pdf>.

Balerio Andrea. Sörensen, El pionero del pH. Recuperado desde: <http://alquimicos.blogspot.mx/2010/03/sren-srensen-el-pionero-del-ph.html>. El día 13 septiembre del 2013.

Bello O. Los sólidos solubles totales. Recuperado desde: <http://lossolidossolublestotales.blogspot.mx/> el día 4 de septiembre del 2013.

Control de color en la industria alimenticia <http://sensing.konicaminolta.com.mx/wp-content/uploads/2011/05/FoodIndustryApps.pdf>

Cuevas Quintero A. Brambila Horta Beatriz. Química II. Escala y rango de pH. Edición actualizada 2004. Recuperado desde: <http://books.google.com.mx/books?id=i1H7p7WRUq0C&pg=PA117&dq=concentracion+de+hidr%C3%B3geno+e+hidroxilo&hl=es&sa=X&ei=VXYzUsPbIOSKiALd9YCAC&ved=0CC0Q6AEwAA#v=onepage&q=concentracion%20de%20hidr%C3%B3geno%20e%20hidroxilo&f=false> el día 9 de septiembre del 2013.

Encuesta Nacional de Nutrición 1999. Cuernavaca, Mor: Instituto Nacional de Salud pública, Secretaria de salud; INEGI 2000.

Falco J. Método de Arquímedes para determinar densidades. Universidad San Andrés, 2001. Recuperado desde: [http://www.fisicarecreativa.com/informes/informecanica/densidades\\_udesa1.pdf](http://www.fisicarecreativa.com/informes/informecanica/densidades_udesa1.pdf) El día 05 de septiembre del 2013.

Fernández Reyes Emilio *et all*. Métodos para la cuantificación de proteínas. Recuperado desde: <http://www.uco.es/dptos/bioquimica-biolmol/pdfs/27%20M%C3%89TODOS%20PARA%20LA%20CUANTIFICACI%C3%93N%20DE%20PROTE%C3%8DNAS.pdf> el día 23 de septiembre del 2013

Fernández Sevilla José María. Estructura función de los hidratos de carbono: azúcares, almidón, glucógeno, celulosa. Recuperado desde: <http://www.ual.es/docencia/jfernand/ATA/Tema5/Tema5-HidratosCarbono.pdf> el día 29 de agosto de 2013.

Flores Morales A. Mora Rosalva. Evaluación fisicoquímica de tres variedades de maguey pulquero (*Agave spp*). Escuela Nacional de ciencias biológicas. Santo Tomas. México D.F. CP. 11340

Fresán Magdalena. Luis Pasteur el vencedor del mundo invisible. Recuperado desde: <http://books.google.com.mx/books?id=FZoHasA37SkC&pg=PA31&dq=louis+pasteur+y+la+fermentacion&hl=es&sa=X&ei=meT7UdJgiuelAoirglAF&ved=0CC0Q6AEwAA#v=onepage&q=louis%20pasteur%20y%20la%20fermentacion&f=false> el día 02 de agosto a las 12:34 P.M.

Gómez Cerón Hugo. Generación espontánea. Recuperado desde <http://benitobios.blogspot.mx/2007/08/generacin-espontnea.html> el día 02 de agosto de 2013 a las 02:05 P.M.

Guerrero Hernán y Pojul Carlos. Sociedad Acuariologica del plata. El pH. Recuperado desde: [http://www.sadelplata.org/articulos/guerrero\\_060901.pdf](http://www.sadelplata.org/articulos/guerrero_060901.pdf) el día 15 de septiembre del 2013

González Toro Carmen. Monitoreo de la calidad del agua. El pH. Recuperado desde: <http://academic.uprm.edu/gonzalezc/HTMLobj-862/maguaph.pdf> el día 15 de septiembre del 2013.

Gonzales M. Determinación de sólidos solubles y su aplicación en la elaboración de vinos. Recuperado desde: [http://vinodefruta.com/medicion\\_de\\_los\\_ss\\_marco.htm](http://vinodefruta.com/medicion_de_los_ss_marco.htm). El día 4 de septiembre del 2013.

Herrera R. Carlos et all. Bioquímica de alimentos. Pretinas p 33-37. Primera edición 2003. Recuperado desde: [http://books.google.com.mx/books?id=8VpJ8foyDiIC&pg=PA33&dq=introduccion+a+Proteinas+\(alimentos\)&hl=es&sa=X&ei=c45UuWsEerMyQGH34HYAQ&ved=0CC0Q6AEwAA#v=onepage&q=introduccion%20a%20Proteinas%20\(alimentos\)&f=false](http://books.google.com.mx/books?id=8VpJ8foyDiIC&pg=PA33&dq=introduccion+a+Proteinas+(alimentos)&hl=es&sa=X&ei=c45UuWsEerMyQGH34HYAQ&ved=0CC0Q6AEwAA#v=onepage&q=introduccion%20a%20Proteinas%20(alimentos)&f=false) el día 18 de septiembre del 2013.

LACIE [http://www.lacie.com/download/whitepaper/wp\\_colormangement\\_3\\_es.pdf](http://www.lacie.com/download/whitepaper/wp_colormangement_3_es.pdf) el día 23 de septiembre.

León Sánchez R. Méndez López M. El pH y sus efectos. Recuperado desde: [http://docencia.izt.uam.mx/japg/Bioquimica1/Pliegos/pH\\_w6.pdf](http://docencia.izt.uam.mx/japg/Bioquimica1/Pliegos/pH_w6.pdf) el día 13 de septiembre del 2013.

Lentech. Dióxido de Carbono. Recuperado desde: <http://www.lenntech.es/dioxido-de-carbono.htm> el día 16 de octubre de 2013.

Luis Fco. Rivera. Espacio de color lab. Recuperado desde <http://www.lfrivera-itgt.com/2010/04/el-espacio-lab.html> el día 28 de agosto de 2013.

Martínez Jasso I. Villezca P. La alimentación en México: un estudio a partir de la encuesta nacional de ingresos y gastos en los Hogares. Recuperado desde: <http://www.inegi.org.mx/inegi/contenidos/espanol/prensa/contenidos/articulos/socio-demograficas/alimento03.pdf> el día 19-03-13.

Navarrete López A. Introducción a la tecnología de los alimentos. Tratamiento térmico p 54-59. Segunda edición 2004. Recuperado desde: <http://books.google.com.mx/books?id=V2lqmVapJWkC&pg=PA55&dq=potencial+d e+hidrogeno+en+alimentos&hl=es&sa=X&ei=jN83Uu-2EMqmiQLT4YGwDg&ved=0CC0Q6AEwAA#v=onepage&q=potencial%20de%20h idrogeno%20en%20alimentos&f=false> El día 17 de septiembre del 2013.

Principios básicos de medida y percepción del color <http://www.hunterlab.com/pdf/color-s.pdf>

Quintanar Duarte Enrique. Física principios con aplicaciones. Densidad. Sexta edición, 2006.

Ramírez Higuera A. Evaluación del efecto prebiótico del aguamiel de maguey (*Agave salmiana*) En *Lactobacillus delbruekii subsp. Bulgaricus*. Recuperado desde:

[www.google.com.mx/url?sa=f&rct=j&url=http://www.biotechnologia.upibi.ipn.mx/recursos/posgrado/Tesis/mc\\_aramirez.pdf&q=tesis+de+aguamiel&ei=2fJiUcaHMvSI2AWlqYDgBg&usg=AFQjCNHixDLa9Yw\\_I7kwA1vK2iO5Suu\\_Qg](http://www.google.com.mx/url?sa=f&rct=j&url=http://www.biotechnologia.upibi.ipn.mx/recursos/posgrado/Tesis/mc_aramirez.pdf&q=tesis+de+aguamiel&ei=2fJiUcaHMvSI2AWlqYDgBg&usg=AFQjCNHixDLa9Yw_I7kwA1vK2iO5Suu_Qg) el día 08-04-13 a las 11:56 AM

Ramos Zablah C. Métodos de conservación para retardar la fermentación en aguamiel. Tesis. 2004.

Rivera Barragán María. La educación en nutrición, Hacia una prospectiva social en México. Recuperado desde: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0864-34662007000100015&script=sci\\_arttext](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0864-34662007000100015&script=sci_arttext) El día 21-03-13. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México, D.F.

Shaper J. Historia de la magnitud densidad. Laboratorio Costarricense de Metrología (LACOMET) 2013. Recuperado desde: [http://www.lacomet.go.cr/index.php?option=com\\_content&view=article&id=208:articulo-1&catid=84:densidad&Itemid=266](http://www.lacomet.go.cr/index.php?option=com_content&view=article&id=208:articulo-1&catid=84:densidad&Itemid=266) El día 05 de septiembre del 2013.

Teijón Rivera José María, Bioquímica estructural. Proteínas p 53- 73. Segunda edición 2001. Recuperado desde: <http://books.google.com.mx/books?id=BPOTvYykwAC&pg=PA53&dq=proteinas+definicion&hl=es&sa=X&ei=qc85UtPLKMfIyAHpw4B4&ved=0CC0Q6AEwAA#v=onepage&q=proteinas%20definicion&f=false> el día 18 de septiembre del 2013

Teijón Rivera José María et all. Fundamentos de bioquímica estructural. Proteínas clasificación y propiedades. P 71-87. Segunda edición 2006. Recuperado desde: <http://books.google.com.mx/books?id=avt8LFmp8q4C&pg=PA71&dq=propiedades+de+las+proteinas&hl=es&sa=X&ei=7-g5UqXCJ4rhygHU8oH4CA&ved=0CDMQ6AEwAQ#v=onepage&q=propiedades%20de%20las%20proteinas&f=false> el día 18 de septiembre del 2013.

Vara Rangel R. Caracterización estructural de paredes celulares de piña de maguey pulquero (agave salmiana) por espectroscopia de infrarrojo por transformadas de Fourier.

Vásquez Candela C. et all. Alimentación y nutrición. Proteínas p 25-27. Segunda edición. Recuperado desde <http://books.google.com.mx/books?id=F-xV6RuI96kC&pg=PA25&dq=importanci+de+las+proteinas+en+alimentos&hl=es&sa=X&ei=m845UvrVMZT9yAH1wIGIDg&ved=0CDgQ6AEwAg#v=onepage&q=importanci%20de%20las%20proteinas%20en%20alimentos&f=false> El día 18 de septiembre del 2013.

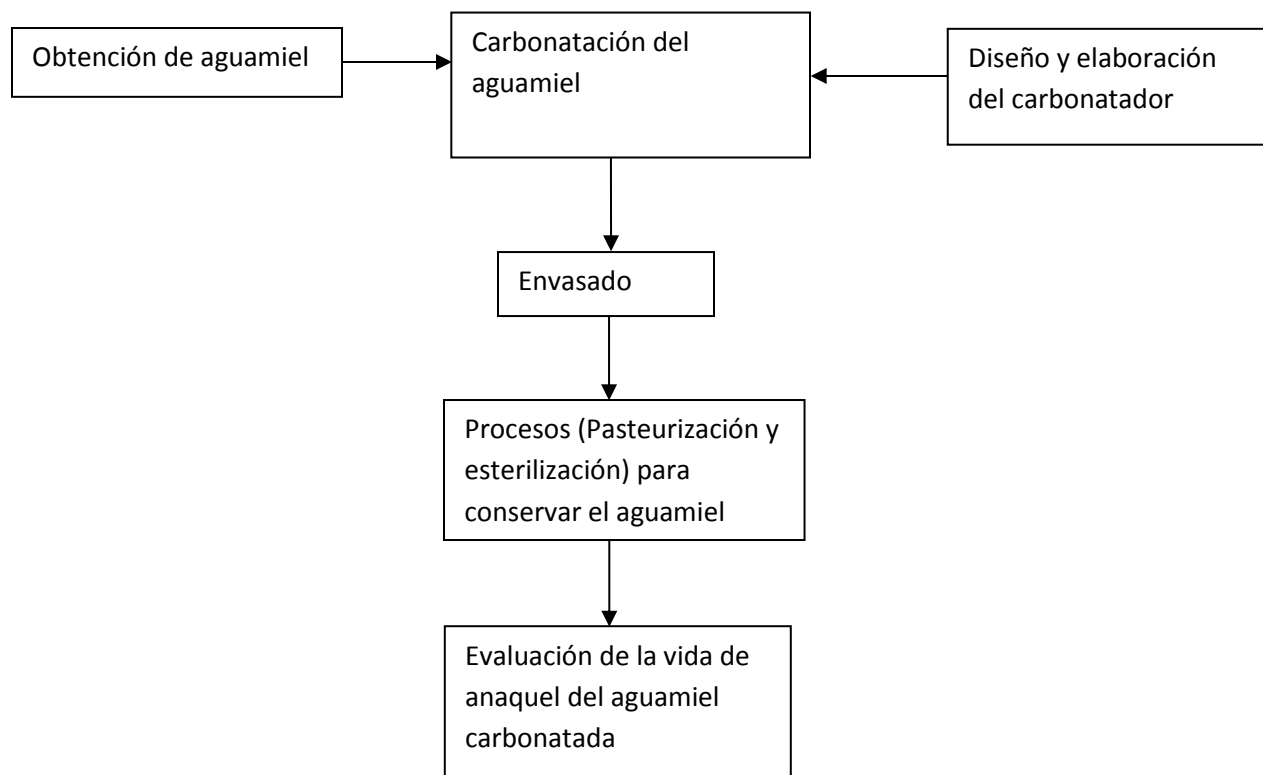
S/A [http://docencia.izt.uam.mx/japag/RedVirtualJAP/CursoDRosado/1\\_Introducciona laBioquimica/2-2\\_PresentationpH.pdf](http://docencia.izt.uam.mx/japag/RedVirtualJAP/CursoDRosado/1_Introducciona%20laBioquimica/2-2_PresentationpH.pdf) el día 17 de septiembre de 2013.

S/A. Capos Experimentales de la UAAAN. Recuperado desde: <http://www.uaaan.mx/DirInv/comeaa/Campos%20Experimentales2011.pdf> el Día 10 03 13

S/A. La generación espontánea. Recuperado desde: <http://www.uv.es/~orilife/textos/Pasteur.pdf> el día 02 de agosto del 2013 a las 03:15 P.M.

## Anexos.

### Diagrama General.



### Formato para la curva de calibración de azúcares reductores.

Tubo	Solución de glucosa al 0.01%	Agua destilada	Solución de DNS	Agua destilada	Leer a 540 nm
1	0.0 ml	1.0 ml	0.5 ml	5ml	
2	0.2 ml	0.8 ml	0.5 ml	5ml	
3	0.4 ml	0.6 ml	0.5 ml	5ml	
4	0.6 ml	0.4 ml	0.5 ml	5ml	
5	0.8 ml	0.2 ml	0.5 ml	5ml	
6	1.0 ml	0.0 ml	0.5 ml	5ml	

#### Nota:

Siempre que se añade una sustancia a otra se realizó la respectiva agitación. Después de agregar el DNS y antes de agregar los 5 ml de agua destilada, los tubos se sometían a baño de agua hirviendo por 5 minutos después de esto se

pasan a enfriar en baño de hielo para proseguir a leer en el espectrofotómetro a 540 nm.

Se calibra el espectrofotómetro con el blanco que solo contiene DNS y H<sub>2</sub>O.

Y se miden los azúcares reductores como se muestra en la tabla siguiente:

**Formato para la medición de azúcares reductores en la muestra.**

Tubo		Aguamiel	Agua destilada	Solución de DNS	Agua destilada	Leer a 540 nm
Past 1	R1	1 ml	0 ml	0.5 ml	5ml	
	R2	1 ml	0 ml	0.5 ml	5ml	
	R3	1 ml	0 ml	0.5 ml	5ml	
Past 2	R1	1 ml	0 ml	0.5 ml	5ml	
	R2	1 ml	0 ml	0.5 ml	5ml	
	R3	1 ml	0 ml	0.5 ml	5ml	
Past 3	R1	1 ml	0 ml	0.5 ml	5ml	
	R2	1 ml	0 ml	0.5 ml	5ml	
	R3	1 ml	0 ml	0.5 ml	5ml	
Est 1	R1	1 ml	0 ml	0.5 ml	5ml	
	R2	1 ml	0 ml	0.5 ml	5ml	
	R3	1 ml	0 ml	0.5 ml	5ml	
Est 2	R1	1 ml	0 ml	0.5 ml	5ml	
	R2	1 ml	0 ml	0.5 ml	5ml	
	R3	1 ml	0 ml	0.5 ml	5ml	
Est 3	R1	1 ml	0 ml	0.5 ml	5ml	
	R2	1 ml	0 ml	0.5 ml	5ml	
	R3	1 ml	0 ml	0.5 ml	5ml	

### Formato de la curva de calibración para proteínas.

Tubo	Agua	Albumina de huevo [1mg/ml]	Reactivo C	Folin Diluido	Abs.580 nm	Proteínas mg/ml
0	1.0 ml	0.0 ml	5 ml	0.5 ml		
1	0.9 ml	0.1 ml	5 ml	0.5 ml		
2	0.8 ml	0.2 ml	5 ml	0.5 ml		
3	0.7 ml	0.3 ml	5 ml	0.5 ml		
4	0.6 ml	0.4 ml	5 ml	0.5 ml		
5	0.5 ml	0.5 ml	5 ml	0.5 ml		
6	0.4 ml	0.6 ml	5 ml	0.5 ml		
7	0.3 ml	0.7 ml	5 ml	0.5 ml		
8	0.2 ml	0.8 ml	5 ml	0.5 ml		
9	0.1 ml	0.9 ml	5 ml	0.5 ml		
10	0.0 ml	1.0 ml	5 ml	0.5 ml		

#### NOTA:

Ya que se deposita el agua y la albumina se prepara el reactivo C con los Reactivos A, B1 y B2 en proporciones de 50: 0.5: 0.5 ml

Después se pipetea el reactivo C a todos los tubos y se deja reposar durante 15 minutos en la obscuridad (los tubos envueltos en papel aluminio), para después añadir el reactivo de Folin (diluido ¼) y se agita en el vortex posteriormente se deja reposar 30 minutos en la obscuridad.

### Formato para la determinación de proteínas por el método de Lowry.

Tubo		Agua	Aguamiel	Reactivo C	Folin-Diluido	Abs.580 nm	Proteínas mg/ml
Pas. 1	R1	0.0 ml	1.0 ml	5 ml	0.5 ml		
	R2	0.0 ml	1.0 ml	5 ml	0.5 ml		
	R3	0.0 ml	1.0 ml	5 ml	0.5 ml		
Pas. 2	R1	0.0 ml	1.0 ml	5 ml	0.5 ml		
	R2	0.0 ml	1.0 ml	5 ml	0.5 ml		
	R3	0.0 ml	1.0 ml	5 ml	0.5 ml		
Pas. 3	R1	0.0 ml	1.0 ml	5 ml	0.5 ml		
	R2	0.0 ml	1.0 ml	5 ml	0.5 ml		
	R3	0.0 ml	1.0 ml	5 ml	0.5 ml		
Est. 1	R1	0.0 ml	1.0 ml	5 ml	0.5 ml		
	R2	0.0 ml	1.0 ml	5 ml	0.5 ml		
	R3	0.0 ml	1.0 ml	5 ml	0.5 ml		
Est. 2	R1	0.0 ml	1.0 ml	5 ml	0.5 ml		
	R2	0.0 ml	1.0 ml	5 ml	0.5 ml		
	R3	0.0 ml	1.0 ml	5 ml	0.5 ml		
Est. 3	R1	0.0 ml	1.0 ml	5 ml	0.5 ml		
	R2	0.0 ml	1.0 ml	5 ml	0.5 ml		
	R3	0.0 ml	1.0 ml	5 ml	0.5 ml		

Se calibra el espectrofotómetro con el blanco que preparamos en el tubo 0 y se toma la lectura de cada uno de los tubos de las muestras.

Para observar la curva los datos obtenidos se vacían en el programa de Excel graficando absorbancia (eje de las x) y ml de albumina.

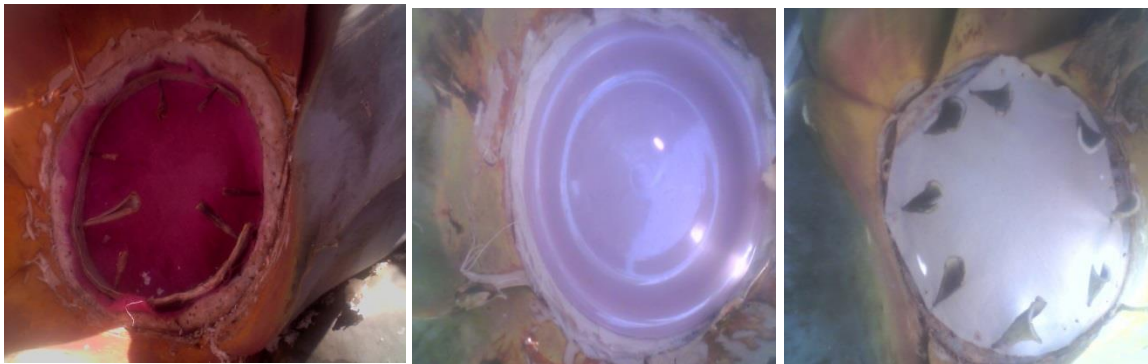
Enseguida se utiliza la ecuación para el cálculo de las proteínas en mg/ml.



En la siguiente imagen se muestra el hueco doonde se recolecto el aguamiel.



Para la recoleccion de aguamiel se hicieron varios intentos para cubrir este hueco.



a)

b)

c)

En la figura a) el hueco se cubrio con peyon dando como resultado el acceso a gran cantidad de insectos. El hueco de la figura b) se tapo con plastico dando como resultado la sudoracion excesiva del maguay, condensacion de liquidos y malos olores. Por ultimo en la figura c) se muestra la forma en la que se obtuvo el aguamiel para el experimento.

Aguamiel esterilizada.



Hueco del maguay con aguamiel.

