

pràctiques de:
INICIACIÓ A LA BROMATOLOGIA
- protocols d'anàlisi química -
(anàlisi química d'aliments)



recopilades, adaptades i posades a punt per:

Francesc Fernández i Borràs
professor d'Anàlisi i Química Industrial

pràctiques de:
INICIACIÓ A LA BROMATOLOGIA
(anàlisi química d'aliments)

recopilades, adaptades i posades a punt per:

Francesc Fernández i Borràs
professor d'Anàlisi i Química Industrial

ÍNDEX

	codi	pàg
<i>Pròleg de l'autor</i>	--	4
<i>Tractament previ de les mostres</i>	1.1	5
<i>Preparació de dissolucions reactives</i>	3.1	7
<i>Substàncies volàtils a 100°C</i>	4.1	9
<i>Humitat pel mètode de dissolvents</i>	4.2	11
<i>Proteïna bruta</i>	5.1	13
<i>Caseïna a la llet en pols</i>	5.2	17
<i>Greix brut de mostres sòlides</i>	6.1	19
<i>Determinació de cendres</i>	7.1	22
<i>Fibra bruta</i>	7.2	24
<i>pH de l'aigua</i>	8.1	27
<i>Residu sec a l'aigua</i>	8.2	29
<i>Duresa de l'aigua</i>	8.3	31
<i>Alcalinitat de l'aigua</i>	8.4	33
<i>Diòxid de carboni lliure a l'aigua</i>	8.5	36
<i>Amoni a l'aigua</i>	8.6	38
<i>Determinació del calci</i>	9.1	40
<i>Halurs en aigua</i>	9.2	43
<i>Halurs no volàtils en aliments sòlids</i>	9.3	45
<i>Identificació de plom</i>	10.1	48
<i>Identificació de mercuri</i>	10.2	51
<i>Identificació d'arsènic</i>	10.3	52
<i>Fòsfor per espectrofotometria</i>	11.1	54
<i>Ferro en aigua (espectrofotometria)</i>	11.2	58
<i>Ferro en aliments (espectrofotometria)</i>	11.3	61
<i>Sodi per fotometria de flama</i>	12.1	64
<i>Humitat per centrifugació (greixos)</i>	13.1	67
<i>Humitat per dessecació (greixos)</i>	13.2	68
<i>Punt de fusió en greixos</i>	13.3	70
<i>Acidesa en greixos</i>	13.4	72
<i>Residu sòlid en greix</i>	13.5	74
<i>Índex de saponificació</i>	13.6	76
<i>Índex de iode en greixos</i>	13.7	78
<i>Índex de peròxids (greix)</i>	13.8	80
<i>Insaponificable d'un greix</i>	13.9	82
<i>Àcids oxidats en greix</i>	13.10	84
<i>Identificació de midó en productes càrnics</i>	15.1	87
<i>Sucres reductors</i>	15.2	88
<i>Sucres totals</i>	15.3	91
<i>Determinació espectrofotomètrica del midó</i>	15.4	93
<i>Anàlisi organolèptica del vi</i>	16.1	97
<i>Títol alcohomètric del ví</i>	16.2	99

	codi	pàg
<i>Acidesa volàtil del ví</i>	16.3	101
<i>Acidesa total del vi</i>	16.4	104
<i>Extracte sec total del vi</i>	16.5	106
<i>Acidesa total del vinagre</i>	16.6	108
<i>Greix en llet</i>	17.1	110
<i>Fenolftaleïna a la llet en pols</i>	17.2	113
<i>Lactosa a la llet</i>	17.3	114
<i>Carotens i xantofiles en el pebre roig</i>	19.1	116
<i>Farina de plomes (microscopia)</i>	20.1	120
<i>Àcids grassos per C.G.</i>	22.1	121
<i>Aminoàcids per C.G.</i>	22.2	125
 <i>Apèndix I: Butlletí d'Anàlisi</i>	--	131
<i>Apèndix II: Proposta de treballs de recerca</i>	--	133
<i>Bibliografia</i>	--	134

PRÒLEG DE L'AUTOR

D'entrada, vull demanar disculpes per autoadjudicar-me el títol d'autor, doncs no soc el creador dels mètodes descrits, sinó que només m'he limitat a fer una recopilació de mètodes clàssics d'anàlisi i únicament en alguns pocs casos he fet alguna petita adaptació.

Els protocols d'anàlisi que es descriuen corresponen als cursos d'anàlisi química d'aliments subvencionades pel CECOT i el Fons Social Europeu, que es realitzaren a l'IFP de Terrassa. Aquestes pràctiques estan adreçades a:

- Selecció de pràctiques per cicles professionals de Grau Mitjà o Superior de Química.
- Selecció de pràctiques per estudiants universitaris de Química Analítica, Veterinària, Farmàcia o Agricultura i estudis de postgrau i màsters d'aquestes especialitats.
- Consulta per professionals d'aquestes especialitats que treballin en el camp de l'anàlisi química d'aliments.

Tot desitjant que aquesta obra els hi sigui útil:

L'Autor

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 1.1
TRACTAMENT PREVI DE LES MOSTRES		

OBJECTE I FONAMENTS

La pràctica té per objecte el deixar les mostres en condicions per poder procedir a la seva anàlisi posterior.

Les mostres per anàlisi cal que estiguin homogeneïtzades, per tal de que siguin representatives del conjunt de població que representen. També, si són sòlides, cal que estiguin reduïdes a l'estat de pols o farina (molturades), per tal de facilitar el seu atac pels diversos agents químics. A més la molturació implica una millor homogeneïtzació (representativitat) de la mostra, especialment en aquells casos, bastant freqüents, en que es treballa amb poca quantitat de substància problema.

A les mostres líquides, és, en general, suficient amb una bona agitació mecànica.

En aquesta pràctica descriurem el tractament previ per una mostra sòlida, des d'un cop ja efectuada la presa de mostra.

El mètode descrit és apropiat per preparats alimentaris granulats i en pols groller, pinsos, cereals, llegums secs, turtós, farines de carn i de peix, i substàncies de característiques semblants a les esmentades.

MATERIAL

Drap de cotó.

Espàtula gran.

Estufa de dessecació

Full gran de paper (mida aproximada DIN A2).

Molí de laboratori (pot servir un molinet domèstic de cafè).

Pinzell.

REACTIUS

Aigua corrent.

Aigua destil·lada.

Alcohol etílic.

METODOLOGIA

- 1.-Escampar la mostra en un munt pel full de paper.
- 2.-Amb l'espàtula, dividir el munt en quatre quadrants aproximadament iguals.
- 3.-Fer un altre munt amb dos quadrants oposats, rebutjant els altres dos.
- 4.-Anar procedint de la forma esmentada fins obtenir un munt de la mida adient per ésser contingut als flascons d'emmagatzemar mostra (ocupant aproximadament els 2/3 del seu volum) i

guardar dins els esmentats flascons.

5.-Prendre una part de mostra de la mida adient pel molí i molturar fins reduir a farina, agitant alhora manualment el molí per tal d'evitar centrifugacions selectives del material. Guardar la mostra molturada en el flascons per mostra molturada.

6.-Abans i després de procedir a la molturació, cal netejar l'interior del molí amb el pinzell, i, si cal, amb un drap mullat amb aigua i alcohol i escorregut. El pinzell es neteja posteriorment amb aigua i alcohol i s'asseca a l'estufa.

CÀLCULS

No és precís cap mena de càlcul en la realització d'aquesta pràctica.

OBSERVACIONS

La molturació d'aquelles mostres que precisin d'un temps perllongat d'ús del molí s'efectua amb uns quant cops, intercalant períodes de descans per evitar escalfaments.

Les mostres amb alt contingut de greix, cal molturar-les en successius i breus períodes, amb agitació manual del molí, per evitar la formació de grums.

Les mostres d'alt contingut d'humitat, poden presentar dificultats de molturació; en aquest cas, cal procedir prèviament a una dessecació de la mostra (determinant alhora el contingut d'humitat).

Si el fet d'assecar les mostres d'alt contingut d'humitat presentés algun inconvenient (com, per exemple pèrdua, variació o alteració dels components a analitzar), pot procedir-se a liquar la mostra (pot emprar-se una liquidadora domèstica convencional); en aquest cas cal tenir cura de transvasar al pot de mostra tot el contingut liquat, per tal que la mostra sigui representativa i homogeneïtzar bé abans de prendre la porció necessària per l'anàlisi.

Qüestionari 1.1.- Tractament previ de les mostres

1.- Quines precaucions cal tenir en consideració a l'utilitzar un molinet corrent de cafè per molturar les mostres?

2.- Descriure detalladament la metodologia a seguir per la preparació prèvia de les següents mostres:

blat

llardons

cubets de brou

enciam (per anàlisi que inclou determinació de substàncies que es descomponen amb la calor)

3.- Descriure la preparació de la següent mostra:

Mostra: Caramel farcit de composició molt heterogènia, d'uns 10 grams de pes (per determinació de sucres reductors).

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 3.1
PREPARACIÓ DE DISSOLUCIONS REACTIVES		

OBJECTE I FONAMENTS

Es tracta d'establir un procediment general per la preparació de dissolucions reactives.

MATERIAL

Agitadors magnètics.
Balança analítica.
Balança granatària.
Dessecador.
Embuts
Estufa de dessecació.
Filtres de paper, ràpids.
Flascons de polietilè de 1 litre, amb tap roscat.
Matrassos aforats de diferents volums.
Paper de filtre.
Pesasubstàncies.
Pipetes aforades de diferent volums.
Plaques calefactores.
Varetes.
Vasos de precipitats de diferents volums.

REACTIUS

(A més de les pròpies substàncies reactives en sí)
Àcid clorhídric concentrat PA.
Aigua destil·lada.
Amoníac concentrat PA.

METODOLOGIA

La metodologia adient varia segons les característiques de cada dissolució reactiva a preparar.

CÀLCULS

Partirem del criteri de tenir les dades de la concentració de la dissolució que pretenem preparar en grams/litre. Per passar de normalitat a grams/litre apliquem l'expressió següent:

$$c = N \cdot pe$$

a on c és la concentració en grams/litre, N la normalitat i pe és el pes equivalent.

La quantitat que cal pesar per preparar un volum v de dissolució de concentració c, és:

$$m = c \cdot v$$

Si la quantitat resultés excessivament petita es pot pesar una quantitat més gran i fer dissolucions posteriorment.

Per preparar una dissolució diluïda a partir d'una altra més concentrada, el volum que cal agafar de dissolució concentrada és:

$$V_c = \frac{V_d \cdot C_d}{C_c}$$

a on Vc és la quantitat que cal prendre de dissolució concentrada, Vd el volum de dissolució diluïda que cal preparar, Cd la seva concentració (en grams/litre, molaritat o normalitat) i Cc la concentració de la dissolució concentrada (en grams/litre, molaritat o normalitat).

OBSERVACIONS

Cal seguir sempre les precaucions d'ús inherents a cada producte.

Qüestionari 3.1. - Preparació de dissolucions reactives

1.- Definir els següents conceptes:

- a) reactiu pa
- b) reactiu sv
- c) material volumètric classe A
- d) material volumètric classe B
- e) volum per contingut
- f) volum per vessament
- g) reactiu pr
- h) solució extemporània

2.- Precaucions a la preparació i conservació de reactius de les següents característiques:

- a) dissolucions de reactius molt corrosius
- b) dissolucions de reactius reductors
- c) dissolucions de reactius oxidants
- d) dissolucions molt inestables

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 4.1
SUBSTÀNCIES VOLÀTILS A 105 °C		

OBJECTE I FONAMENTS

Es tracta d'una gravimetria per volatilització. A la major part de les mostres, quasi tota la matèria volàtil és aigua, per la qual cosa el mètode s'anomena també "determinació d'humitat per dessecació en estufa".

El mètode és aplicable a totes aquelles substàncies que no presentin caramelització o qualsevol tipus de descomposició o volatilització a la temperatura de 105 °C .

MATERIAL

Balança analítica.

Estufa de dessecació.

Dessecador.

Pesasubstàncies.

REACTIUS

Agent dessecant (gel de sílice o d'altres).

METODOLOGIA

- 1.- Pesar una quantitat de substància entre 5 i 20 grams en un pesasubstàncies tarat completament sec (guardat al dessecador).
- 2.- Posar el pesasubstàncies amb la mostra a l'estufa a una temperatura no inferior a 105°C i no superior a 110° durant 2 hores.
- 3.- Treure el pesasubstàncies amb la mostra de l'estufa i passar a un dessecador fins assolir la temperatura ambient.
- 4.- Pesar.
- 5.- Repetir successivament des de el punt 2, però amb temps de permanència a l'estufa de $\frac{1}{2}$ hora, fins pes constant.

CÀLCULS

El resultat s'expressa com "humitat i matèries volàtils a 105°C", segons la fórmula següent:

$$\% = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \cdot 100$$

a on :

m_1 = pes inicial de pesasubstàncies + mostra.

m_2 = pes de pesasubstàncies + mostra un cop assolit el pes constant.

m_0 = pes del pesasubstàncies.

% = % d'humitat i matèries volàtils a 105°C

OBSERVACIONS

Per aquelles mostres que puguin presentar projeccions de material, amb la consegüent pèrdua, cal mesclar-hi un quantitat de sorra rentada i tarada.

Qüestionari 4.1.- Substàncies volàtils a 105°C

- 1.- Fer un llistat d'agents dessecants, indicant els seus camps d'aplicació i els seus avantatges i inconvenients.
- 2.- Deduir raonadament la fórmula utilitzada a l'apartat "càlculs" .
- 3.- Explicar, elaborant el protocol d'anàlisi, el procediment a seguir per mostres que puguin presentar projecció de material a 105°C (i que no sigui utilitzant sorra).
- 4.- Són les següents substàncies aptes per la seva determinació d'humitat i matèries volàtils a 105°C? (indicar "aptes", "amb sorra" i "no aptes"):
 - a) arròs
 - b) sagí de porc
 - c) sucre
 - d) mescla d'aminoàcids
 - e) pinso per gallines
- 5.- Suggestir un mètode alternatiu per les substàncies de l'apartat anterior classificades com "no apte".
- 6.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 4.2
HUMITAT PEL MÈTODE DELS DISSOLVENTS		

OBJECTE I FONAMENTS

El mètode determina la quantitat total d'aigua no combinada; està especialment indicat per greixos i substàncies semilíquides. L'aigua de la mostra es destil·lada mitjançant arrossegament amb xilol, i mesurat el seu volum per arreplegament sobre un tub graduat.

MATERIAL

Aparell especial que consta d'un tub cilíndric, graduat en ml i proveït de clau de purga a l'extrem inferior, amb un coll esmerilat a la part superior per connectar amb un refrigerant de reflux i un tub entre el coll i el cilindre graduat que comunica amb un tub paral·lel a en aquest.

Balança analítica.

Manta calefactora.

Matràs de coll curt, esmerilat, de 500 ml.

Refrigerant de reflux.

REACTIUS

Pedra tosca.

Xilè.

METODOLOGIA

Assegurar la total netedat del muntatge, en especial a l'interior del tub graduat. Si es precís, procedir a un prerentat amb mescla cròmica, abans de netejar amb aigua destil·lada i acetona. Assecar.

- 1.- Pesar al voltant de 25 grams de mostra, en el matràs.
- 2.- Afegir 150 a 200 ml de xilè i uns quants trossos de porcellana porosa o de pedra tosca.
- 3.- Muntar l'aparell i procedir a destil·lar fins que el xilè separat sigui net i no separi més aigua.
- 4.- Deixar en repòs fins perfecta separació de les capes de xilè (superior) i aigua (inferior). Llegir el volum d'aigua.

CÀLCULS

Calcular el contingut d'aigua expressat en percentatge:

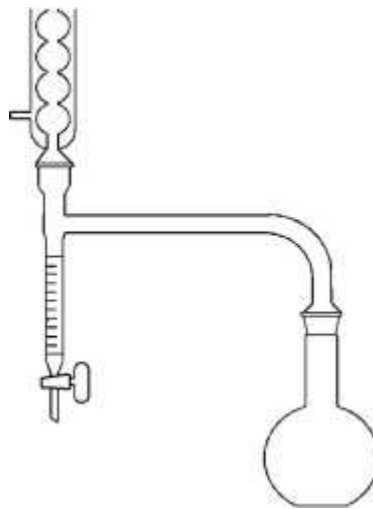
$$\text{Aigua(\%)} = \frac{100 \cdot V}{m}$$

a on V és el volum arreplegat d'aigua en cc, llegit en el tub graduat, i m el pes de la mostra en grams.

OBSERVACIONS

Cal tenir compte que no quedin gotes d'aigua adherides a la paret del tub (ni gotes de dissolvent a la fase aquosa).

ESQUEMA DEL MUNTATGE:



Qüestionari 4.2.- Humitat pel mètode dels dissolvents

- 1.- Relacionar 10 substàncies amb les quals resulti especialment indicat el procediment d'aquesta pràctica.
- 2.- Deduir raonadament la fórmula utilitzada a l'apartat de "càlculs".
- 3.- Quina és la funció de la pedra tosca (o de la porcellana porosa)?
- 4.- Perquè es destria el xilè com a dissolvent?
- 5.- Quins altres dissolvents podríem utilitzar, a més del xilè?
- 6.- Per què en aquesta pràctica, el resultat s'expressa com "humitat", i a l'anterior com "humitat i matèries volàtils"?
- 7.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

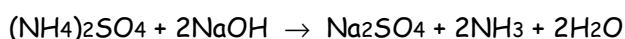
Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 5.1
PROTEÏNA BRUTA		

OBJECTE I FONAMENTS

El mètode aquí descrit es l'anomenat mètode de Kjeldhal.

Entenem per proteïna bruta el nitrogen total de la mostra expressat com proteïna. El mètode no és apte per substàncies amb enllaços N-N, NO i NO₂.

La mostra és sotmesa a un atac amb àcid sulfúric concentrat, en el decurs del qual el nitrogen passa a forma amoniacal (com sulfat amònic); l'amoni del sulfat amònic passa a amoníac lliure per tractament amb hidròxid de sodi:



i l'amoníac format és separat per destil·lació i arreplegat sobre una quantitat exactament coneguda d'àcid titulat. L'amoníac format es determina per valoració de l'excés d'àcid titulat.

MATERIAL

Aparell semimicro Kjeldhal segons l'esquema adjunt.

Balança analítica.

Bateria digestora de mantes elèctriques.

Bureta de 25 ml.

Campana-vitrina extractora.

Flascó rentador.

Matràs erlenmeyer de 100 ml o de 250 ml.

Matràs Kjeldhal forma pera de coll llarg de 100 ml.

Pipeta de 25 ml

Pipeta de 5 ml.

Proveta de 25 ml.

REACTIUS

Àcid clorhídric 0'1 N, titulat.

Àcid sulfúric concentrat.

Aigua destil·lada.

Dissolució d'hidròxid de sodi 50% p/v.

Indicador mixt Shiro-Thasiro.

Mescla catalítica .

Paper de fumar.

Preparació dels reactius:

INDICADOR MIXTE.- Mesclar dues parts de solució de roig de metilè al 0'2 % amb una part de blau de metilè al 0'2 %, ambdues en alcohol etílic del 96. Guardar en flascó tapat. Viratge: roig violat a verd grisós.

SOLUCIÓ DE SOSA AL 50 % P/V .- Dissoldre 500 grams NaOH i 50 grams de tiosulfat de sodi en aigua fins a 1 litre, agitant contínuament i tot refredant el recipient en bany d'aigua freda, parant compte de no fer esquitxades.

MESCLA CATALÍTICA.- Mesclar i homogeneïtzar 150 grams de sulfat de potassi pa, 4 grams d'òxid cúpric pa i 12 grams de sulfat cúpric cristal·litzat pa. Molturar fins reduir a pols fi i homogeneïtzar la mescla de nou.

METODOLOGIA

- 1.- Pesar, en un paper de fumar, al qual se l'hi haurà separat la part engomada, una quantitat de mostra molturada i homogeneïtzada que contingui entre 100 i 120 mil·ligrams de proteïna bruta.
- 2.- Passar la mostra, embolcallada en el paper de fumar, a l'interior del matràs Kjeldhal.
- 3.- Afegir al voltant de 2'5 grams de mescla catalítica i 6 ml d'àcid sulfúric concentrat . Tapar el matràs amb un embut petit.
- 4.- Escalfar la mostra amb la bateria escalfadora en vitrina-campana i l'extractor engegat; l'escalfament serà suau els 5 primers minuts i fort després. Continuar l'escalfament fins que el líquid sigui de color verd-blau clar i totalment transparent. El temps de digestió varia segons el tipus de mostra (al voltant de $\frac{3}{4}$ d'hora).
- 5.- Refredar, i quan el líquid sigui fred, afegir entre 5 i 10 ml d'aigua destil·lada, rentant el coll del matràs.
- 6.- Passar el líquid al destil·lador, rentant el matràs tres o quatre cops amb petites quantitats d'aigua destil·lada.
- 7.- Amb totes les claus de l'aparell tancades, afegir de 20 a 25 ml de dissolució de sosa, deixant una petita quantitat a l'embut perquè actuï com tancament hidràulic.
- 8.- Rentar l'embut amb aigua destil·lada, deixant passar tot el líquid de rentat, excepte una petita porció que actuarà de tanca hidràulica.
- 9.- Destil·lar i arreplegar l'amoníac en un erlenmeyer de 100 ml, sobre 25 ml de HCl 0'1 N titulat, amb unes gotes d'indicador mixt.
- 10.- Després d'arreplegar uns 40-50 ml de destil·lat, comprovar que ja no destil·la amoníac, mitjançant un paper indicador.
- 11.- Valorar l'excés de l'àcid titulat amb dissolució titulada de NaOH 0'1 N.
- 12.- Periòdicament, efectuar un blanc amb el paper de fumar del tipus emprat. El volum corresponent d'àcid titulat emprat es considera que és el consumit a la valoració del blanc. Cal que el paper de fumar sigui sempre de la mateixa marca i tipus; en cas contrari, s'efectuarà una comprovació en blanc.
- 13.- Un cop acabat el procés, procedir a la neteja de l'aparell, procedint de la següent manera: continuant el pas de vapor, i amb les dues aixetes tancades, omplir amb aigua destil·lada l'embut; l'extrem del refrigerant es submergeix amb uns 100 ml d'aigua destil·lada. Es detura la producció de vapor i s'obre lleugerament l'aixeta de l'embut, tancant-la abans que tota l'aigua passi a l'interior de l'aparell. La reducció de pressió succiona l'aigua del vas a l'interior de l'aparell, netejant-lo. L'aixeta del tub de purga s'obre per buidar el líquid arreplegat a la camisa exterior. Es repeteix el procés tornant a permetre la producció de vapor.

CÀLCULS

Per expressar el resultat com contingut en nitrogen:

$$\%N = \frac{(V \cdot N - V' \cdot N') \cdot 14}{m} \cdot 100$$

% N = Contingut de nitrogen de la mostra, expressat en %

V = Volum, en ml de l'àcid titulat.

N = Normalitat de l'àcid titulat.

V' = Volum de base titulada emprat a la valoració.

N' = Normalitat de la base emprada a la valoració.

m = massa pesada de mostra, en mil·ligrams.

si la normalitat de la base = normalitat de l'àcid = 0'1000 N i el volum de l'àcid es de 25 ml, l'expressió anterior quedarà de la forma:

$$\%N = \frac{(25 - V') \cdot 14}{m} \cdot 100$$

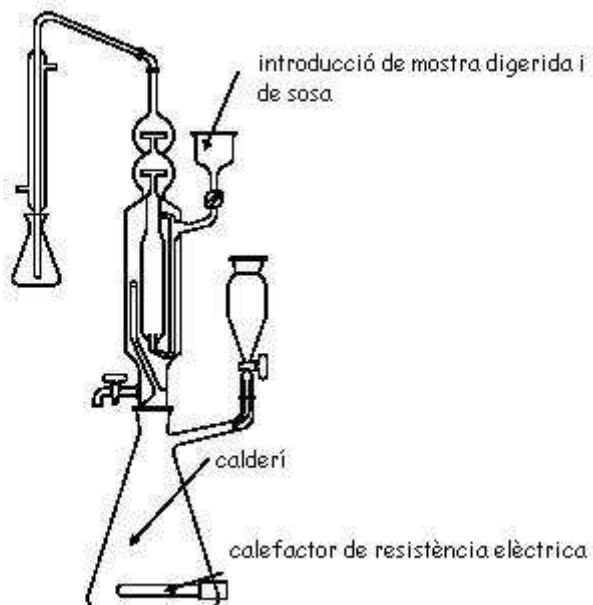
per expressar el resultat en contingut de proteïna bruta, cal multiplicar el contingut de nitrogen per un factor que depèn del tipus de mostra, i que, en general, té un valor que oscil·la al voltant de 6'25.

OBSERVACIONS

Hi han altres tipus de mescles catalítiques (les més emprades, a més de l'esmentada, són a base de seleni o de mercuri). L'objectiu de les mescles catalítiques es escurçar el temps de digestió, que de no usar-se mescla catalítica, es perllongaria varies hores. Cal tenir en compte que la majoria de les mescles catalítiques són tòxiques, i s'ha d'anar en compte de no respirar els seus vapors i evitar contacte amb la pell.

Per la dosificació de la mescla catalítica, podem fer una estimació experimental del volum aproximat de 2'5 grams i estalviar-nos haver de pesar-la cada cop.

Aparell Kjeldhal semimicro per determinació de nitrogen:



Qüestionari 5.1.- Determinació de la proteïna bruta

- 1.- Escriure les reaccions que tenen lloc en el decurs de la pràctica.
- 2.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 3.- Deduir raonadament la fórmula utilitzada en els càlculs.
- 4.- Calcular el factor de conversió de nitrogen a proteïna per una mostra d'un petit pèptid format per la següent seqüència d'aminoàcids:
glicina-alanina-glicina-glicina
- 5.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 5.2
CASEÏNA A LA LLET EN POLS		

OBJECTE I FONAMENTS

Es basa en dissoldre la llet en pols en aigua tèbia i precipitar la caseïna en el seu punt isoelèctric. S'aïlla la caseïna pura eliminant el sèrum i les impureses per rentat i es determina el nivell proteic del precipitat, deduït el blanc corresponent. El mètode és aplicable en llet en pols descremada, semidescremada i completa.

MATERIAL

Muntatge complet per la determinació de la proteïna bruta i , a més:

Balança analítica.

Bany d'aigua amb termòstat per 40°C.

Centrífuga amb capacitat per 4.000 rpm.

Embut cònic.

Flascó rentador.

Paper de filtre Albet 240 o similar.

Pipeta aforada de 20 ml.

Pipetes aforades de 5 ml (2).

Placa calefactora.

Vareta de vidre.

Vas de precipitats de 100 ml.

Vasos de precipitats de 250 ml (2).

REACTIUS

Reactius necessaris per la determinació de la proteïna bruta i , a més:

Àcid acètic al 10 % (Portar 100 ml d'àcid acètic glacial fins a 1000 ml).

Acetat de sodi 1 M (Pesar 20'5 grams d'acetat de sodi pa i dissoldre fins 250 ml.).

METODOLOGIA

- 1.- Pesar 2 grams de mostra en un vas de pp de 100 ml i dissoldre en 40 ml d'aigua destil·lada escalfada a 40-45°C.
- 2.- Centrifugar a 4000 rpm durant 15 minuts.
- 3.- Prendre 20 ml de dissolució, transferir a un vas de 100 ml i escalfar en bany d'aigua a 40°C durant 10 minuts.
- 4.- Afegir 5 ml d'àcid acètic al 10% i deixar precipitar durant 10 minuts.
- 5.- Agregar 5 ml de dissolució d'acetat de sodi i esperar 10 minuts.

- 6.- Filtrar sobre paper de filtre i rentar amb aigua destil·lada fins quallada de caseïna pura.
- 7.- Determinar el contingut en nitrogen del precipitat, segons el mètode de Kjeldhal.

CÀLCULS

El factor de conversió de nitrogen a proteïna per la caseïna pura és de 6'38:

$$\text{Caseïna(\%)} = N \cdot 6'38$$

essent N el % de nitrogen (veure pràctica 5.1).

Qüestionari 5.2.- Caseïna a la llet en pols

- 1.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 2.- Quina és la funció de l'àcid acètic i de l'acetat de sodi en el procediment d'aquesta pràctica?
- 3.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 6.1
GREIX BRUT EN MOSTRES SÒLIDES		

OBJECTE I FONAMENTS

L'objecte de la pràctica és la determinació de substàncies solubles en èter (la major part de l'extracte soluble en èter és greix), mitjançant extracció continua amb un aparell de Soxhelt Tradicional i normativament, aquesta extracció s'efectua amb èter etílic, però està comprovat empíricament que els resultats obtinguts amb èter de petroli PA són quasi bé tan satisfactoris i fins i tot lleugerament més reproduïbles. L'avantatge d'utilitzar èter de petroli és que disminueix el perill d'inflamació, i, sobre tot, el perill d'explosió.

MATERIAL

Balança analítica.
Bomba de buit amb equipament de protecció ó trompa de buit.
Estufa de dessecació.
Evaporador rotatori amb bany termostàtic.
Extractor tipus Soxhelt.
Placa calefactora.
Tub d'assaig de 2 cm de diàmetre.

REACTIUS

Cotó desengreixat.
Èter de petroli, qualitat per anàlisi.
Paper de filtre.

METODOLOGIA

- 1.- Preparar un cartutx cilíndric de paper de filtre, amb l'ajut del tub d'assaig per fer de motlle, i ataconar interiorment el cul del cartutx amb una mica de cotó desengreixat.
- 2.- Pesar uns 5 grams de mostra, i introduir-la a l'interior del cartutx. Posar un tap de cotó desengreixat, fent una lleugera pressió, i tancar el cartutx.
- 3.- Pesar, estant completament sec, el matràs de l'extractor Soxhelt.
- 4.- Muntar l'equip extractor i omplir el cos central amb èter fins que sigui succionat al matràs, i afegir en el matràs una mica més d'èter.
- 5.- Introduir el cartutx preparat amb la mostra en el cos central.
- 6.- Procedir a l'extracció connectant el refrigerant i engegant la placa calefactora. Es suficient amb 15-20 cicles; en tot cas, durant les últimes extraccions l'èter del cos central estarà completament incolor.
- 7.- Abans de començar l'última succió, desconnectar la placa calefactora, treure el matràs i

substituir-lo ràpidament per un altre.

8.- Eliminar l'èter per destil·lació en evaporador rotatori al buit i introduir el matràs amb el residu a l'estufa de dessecació a 105°C durant 1 hora. Refredar en dessecador i pesar. Comprovar la pesada per intervals de dessecació de 20 minuts fins pesada constant.

CÀLCULS

El resultat s'expressa com "contingut en greix brut, pel mètode d'extracció contínua sense hidròlisi prèvia":

$$\% \text{ greix brut} = \frac{m' - m''}{m} \cdot 100$$

a on:

m' = pes del matràs amb el residu.

m'' = pes del matràs sense residu.

m = pes de la mostra.

OBSERVACIONS

Cas d'efectuar el buit amb bomba, cal protegir-la amb el corresponent equipament de protecció. El cartutx ha de construir-se correctament per tal d'evitar pèrdues de mostra durant el procés d'extracció, que serien arrossegades al matràs, donant l'anàlisi un error per excés.

EXTRACTOR SOXHELT:



Qüestionari 5.3.- Greix brut de mostres sòlides

- 1.- Deduir raonadament la fórmula utilitzada a l'apartat "càlculs".
- 2.- Redactar l'apartat de "metodologia", pel cas de que no disposéssim d'evaporador rotatori (suggeriment: fixar-se amb el funcionament i disseny de l'aparell extractor Soxhelt).
- 3.- Suggerir alguna variant en el disseny de l'aparell Soxhelt que faciliti el treball en el cas del supòsit de la qüestió 2.
- 4.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 7.1
DETERMINACIÓ DE CENDRES		

OBJECTE I FONAMENTS

Determinació de cendres per incineració. El contingut de cendres dona una idea del contingut total de minerals a la mostra.

MATERIAL

Balança analítica.
Cremador de Bunsen.
Dessecador.
Estufa de dessecació.
Forn elèctric amb regulació de temperatura.
Gresol de ceràmica per cendres.
Triangle de ceràmica.
Vitrina extractora.

REACTIUS

Aigua oxigenada aprox. de 30 volums (si escau).

METODOLOGIA

- 1.- Pesar al voltant de 5 grams de mostra (menys si es tracta de productes voluminosos o que tinguin tendència a augmentar de volum al cremar-se), en un gresol prèviament calcinat i tarat.
- 2.- Incinerar la mostra amb el cremador Bunsen, col·locant el gresol en posició inclinada sobre el triangle, fins desaparició dels fums (treballar a la vitrina-extractora).
- 3.- Introduir el gresol amb la mostra a l'interior d'un forn a 550°C fins obtenció de cendres blanques, gris clar o gris-roig.
- 4.- Refredar en dessecador.
- 5.- Pesar ràpidament.

ÀLCULS

El resultat s'expressa com "percentatge de cendra bruta sobre la matèria natural":

$$\% \text{ (cendres)} = \frac{m' - m''}{m - m''} \cdot 100$$

a on:

m' = pes del gresol amb les cendres.

m'' = pes del gresol .

m = pes del gresol amb la mostra.

OBSERVACIONS

Si es sospita, pel color de les cendres, que la calcinació no és total, després de refredar, afegir unes gotes d'aigua oxigenada, introduir uns minuts a l'estufa a 105°C i després $\frac{1}{4}$ d'hora en el forn a 550°C.

Qüestionari 7.1 .- Determinació de cendres

- 1.- Deduir raonadament la fórmula utilitzada en els càlculs.
- 2.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 3.- Descriure un mètode per determinar les cendres d'una mostra líquida.
- 4.- Per què cal pesar ràpidament les cendres?
- 5.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 7.2
DETERMINACIÓ DE LA FIBRA BRUTA		

OBJECTE I FONAMENTS

Determinació de la fibra bruta, mitjançant separació de la resta de components per disgregació hidrolítica i filtració.

MATERIAL

Allargadora per gresol de 30 mm.
Balança analítica.
Estufa de dessecació.
Flascó rentador.
Forn de mufla amb termòstat.
Gresol amb placa filtrant del no 2, de 30 mm.
Manta calefactora per balons de 1 litre.
Manxó de cautxú per gresol de 30 mm.
Matràs forma baló de 1 litre.
Matràs Kitasato de 2 l i boca de 30 mm.
Refrigerant de reflux.
Tap de cautxú, foradat, de 30 mm.
Trompa de buit.
Vareta políptica.
Vas de pp de 50 ml.

REACTIUS

Acetona RA.
Àcid sulfúric aprox. 0'26 N.
Aigua destil·lada.
Hidròxid de potassi aprox. 0'23 N.
Paper indicador
Silicona antiescumant.

Preparació dels reactius

ÀCID SULFURIC APROX 0'26 N.- En un vas de pp de 250 ml, amb 100 ml d'aigua destil·lada, afegir, poc a poc i agitant contínuament amb compte, 14'5 ml d'àcid sulfúric ra del 96 %; esperar que es refredi i transferir a un matràs aforat de 2 litres: completar amb aigua destil·lada fins l'arrasament i homogeneïtzar. Transferir a dos flascons de 1 litre amb tap hermètic.

HIDROXID DE POTASSI APROX 0'23 N.- En un granatari, pesar ràpidament 30'5 grams d'hidròxid de potassi ra del 85 %. Transferir a un vas de pp de 500 ml amb 250 ml d'aigua

destil·lada i agitar fins total dilució. Si es produeix escalfament notable, esperar que es refredi. Filtrar al buit sobre placa filtrant i transferir el filtrat a un matràs aforat de 2 l. Homogeneïtzar. Transferir a 2 flascons de polietilè de 1 l amb tap hermètic.

METODOLOGIA

- 1.- Pesar uns 3 grams de mostra i transferir al baló de 1 l amb l'ajut d'una petita quantitat d'aigua destil·lada.
- 2.- Afegir 250 ml d'àcid sulfúric 0'26N i unes gotes d'antiescumant. Portar a ebullició en manta calefactors.
- 3.- Connectar el refrigerant de reflux i mantenir l'ebullició durant 30 minuts, sacsejant el matràs de tant en tant per evitar adherències de material a les parets del matràs.
- 4.- Desconnectar la manta calefactors i afegir a través del cap del refrigerant, uns 50 ml d'aigua destil·lada, per detenir l'ebullició. Desconnectar el refrigerant.
- 5.- Filtrar, amb buit molt suau, sobre placa filtrant calcinada a 550°C, rentant el residu varies vegades amb aigua molt calenta.
- 6.- Transferir el residu arrossegat a l'interior del gresol filtrant, de nou a l'interior del matràs, amb l'ajut de petites quantitats d'aigua destil·lada i de la vareta políptica.
- 7.- Afegir 250 ml d'hidròxid de potassi 0'23N i unes gotes d'antiescumant. Portar a ebullició i procedir com en els punts 3, 4 i 5.
- 8.- Transferir quantitativament el residu de l'interior del matràs a l'interior del gresol filtrant, amb l'ajut d'aigua ben calenta.
- 9.- Continuar els rentats del gresol filtrant amb aigua calenta fins la neutralitat del líquid filtrat (comprovar amb paper indicador).
- 10.- Rentar 3 cops amb acetona ra.
- 11.- Assecar el gresol filtrant en estufa de dessecació a 110°C i refredar en dessecador. Pesar i repetir aquest punt fins pes constant.
- 12.- Introduir 1 hora al forn a 500°C. Refredar en dessecador i pesar.

CÀLCULS

El resultat s'expressa en "percentatge de fibra bruta sobre mostra total":

$$\%(fibra\ bruta) = \frac{m' - m''}{m} \cdot 100$$

a on:

m = pes de la mostra.

m' = pes del gresol amb el residu.

m'' = pes del gresol amb el residu calcinat.

OBSERVACIONS

Es convenient manipular els recipients calents amb guants d'amiant o pinces per matrassos amb folre d'amiant.

Qüestionari 7.2.- Determinació de la fibra bruta

- 1.- La placa filtrant cal que estigui calcinada prèviament a 550°C, i posteriorment es treballa calcinant la placa amb la mostra a 500°C (50°C menys). Per quin motiu?
- 2.- Quan la placa filtrant ha estat utilitzada per 6 ó 7 determinacions de fibra bruta, es rebutja. Per què?
- 3.- Deduir raonadament la fórmula utilitzada en els càlculs.
- 4.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 5.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 8.1
pH DE L'AIGUA		

OBJECTE I FONAMENTS

Determinació potenciomètrica del pH de l'aigua, amb un pHmetre equipat amb elèctrode de vidre.

MATERIAL

Elèctrode combinat de vidre específic per determinacions de pH.

Flascó rentador.

pHmetre.

Vasos de pp de 50 ml (3).

REACTIUS

Aigua destil·lada.

Dissolució amortidora estàndard de pH=4'00.

Dissolució amortidora estàndard de pH=7'00.

Dissolució de KCl 3M

METODOLOGIA

1.- Connexió:

1.1.- Connectar l'aparell a la xarxa elèctrica.

1.2.- Connectar l'elèctrode combinat a la base coaxial .

1.3.- Amb el selector en posició 0, accionar l'interruptor.

2.- Calibració (un cop cada dia, abans de començar el treball):

2.1.- Posar el comandament "temperatura" en el valor corresponent a la temperatura de les dissolucions amortidores (subministrades amb l'aparell).

2.2.- Netejar l'elèctrode amb aigua destil·lada i assecar amb un mocador de paper, amb compte de no fer ratllades.

2.3.- Submergir l'elèctrode en la dissolució amortidora de pH=7 i esperar que s'equilibri.

2.4.- Situar el selector en posició de pH. La lectura s'estabilitza en 30 segons aproximadament.

2.5.- Accionar el comandament de calibració fins obtenir la indicació 7'00 de manera estable; retornar el selector a la posició zero.

2.6.- Retirar l'elèctrode, netejar amb aigua destil·lada i assecar-lo amb cura.

2.7.- Submergir l'elèctrode en un altre vas amb dissolució amortidora de pH=4'00. Situar el selector en "pH".

2.8.- Un cop estabilitzada la lectura, portar el comandament "slope" a la posició necessària per que la lectura sigui 4'00. Portar el selector a zero.

2.9.- Retirar l'elèctrode, rentar-lo amb aigua destil·lada i assecat-lo amb cura. Si l'elèctrode no ha d'ésser utilitzat immediatament, guardar-lo protegit dins el caputxó amb KCl 3M.

3.- Mesura del pH:

3.1.- Després de rentar l'elèctrode amb aigua destil·lada i assecat-lo, submergir-lo a la dissolució problema.

3.2.- Situar el comandament "temperatura" en la posició corresponent a la temperatura del problema.

3.3.- Situar el selector en posició pH. Un cop estabilitzada, la lectura indica el pH del problema. Finalitzada la lectura, retornar el selector a 0.

3.4.- Retirar l'elèctrode de la dissolució, rentar amb aigua destil·lada i assecat amb suavitat amb un mocador de paper. Si no s'ha de tornar a utilitzar, submergir-lo en KCl 3M.

OBSERVACIONS

El mateix procediment és útil per la determinació del pH en vi, suc de fruita i d'altres líquids alimentaris.

Qüestionari 8.1.- pH de l'aigua

1.- Indicar com es prepara 1 litre de dissolució amortidora de pH=4'00, partint d'àcid acètic 2M i acetat de sodi (pK_a de l'àcid acètic = 4'74)

2.- Indicar com es prepara 1 litre de dissolució amortidora de pH=7'00 partint d'àcid acètic 2M, aigua destil·lada i acetat de sodi.

3.- Indicar com es prepara 1 litre de dissolució amortidora a pH=7'00 partint de dissolució d'hidròxid amònic 2M (pK_b = 4'74), aigua destil·lada i clorur amònic.

4.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 8.2
DETERMINACIÓ DE RESIDU SEC A L'AIGUA		

OBJECTE I FONAMENTS

Determinació del residu sec en aigua a 180°C.

MATERIAL

Balança analítica.

Bany Maria.

Càpsula de porcellana o de vidre Pírex de 250 ml.

Dessecador.

Estufa de dessecació de temperatura regulable.

REACTIUS

Aigua destil·lada, lliure de residu.

METODOLOGIA

- 1.- Pesar una càpsula de 250 ml, completament neta i seca.
- 2.- Mesurar 200 ml d'aigua en una proveta.
- 3.- Passar aproximadament 1/3 de l'aigua mesurada a la càpsula i posar en un bany Maria.
- 4.- Anar afegint la resta de l'aigua problema a mida que es va evaporant. Continuar l'evaporació fins sequedat aparent.
- 5.- Passar la càpsula amb el residu a l'estufa a 180°C, fins pes constant.

CÀLCULS

El resultat s'expressa com "residu sec a 180°C, en mil·ligrams per litre d'aigua":

$$\text{Residu sec} = 5.000 \cdot (m - m')$$

a on:

m = pes de la càpsula + residu.

m' = pes de la càpsula.

OBSERVACIONS

5.000 és el factor de càlcul resultant de:

$$\frac{1.000 \text{ miligrams/gram}}{0'2 \text{ litres de mostra}}$$

Cal que l'aigua utilitzada en el bany Maria sigui aigua destil·lada lliure de residus, per tal d'evitar incrustacions a la paret externa de la càpsula.

Qüestionari 8.2.- Determinació de residu sec a l'aigua

- 1.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític
- 2.- Deduir raonadament la fórmula utilitzada en els càlculs
- 3.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 8.3
DURESA DE L'AIGUA		

OBJECTE I FONAMENTS

Anomenem duresa de l'aigua al seu contingut de sals de calci i magnesi, mesurada en graus hidrotimètrics francesos (°HTF), de manera que 1 °HTF equival a una quantitat tal de calci que originaria 1 centígram de carbonat de calci per cada litre d'aigua.

El contingut total de (calci + magnesi) expressats com a °HTF és la duresa total. La duresa remanent que resta després de provocar la precipitació per escalfament en el punt d'ebullició de les sals precipitables de calci i magnesi és la duresa permanent, i la concentració de les sals precipitables de calci i magnesi és la duresa temporal.

Un mètode ràpid, senzill i fiable de determinació de la duresa total i permanent de l'aigua, consisteix amb la valoració complexomètrica amb dissolució de la sal disòdica de l'àcid etilendiamintetraacètic (EDTA-Na₂), complexona II.

Les reaccions de la complexona són de captació (bloqueig), dels cations Ca⁺⁺ i Mg⁺⁺, determinants de la duresa de l'aigua, inserint-los a l'interior de la molècula.

MATERIAL

Bureta de 25 ó de 50 ml.

Embut cònic.

Flascó rentador.

Matrassos erlenmeyer de 250 ml.

Paper de filtre de pas ràpid.

Placa calefactora.

Proveta de 100 ml.

Vas de precipitats de 250 ml.

Vidre de rellotge.

REACTIUS

Dissolució titulada de EDTA-Na₂ 0'01M.

Aigua destil·lada exempta de duresa.

Dissolució amortidora de pH=10 (es prepara amb 67'5 grams de clorur amònic i 570 ml d'amoníac concentrat i es completa al volum a 1 litre amb aigua destil·lada).

Negre d'eriocrom T (0'15 grams en 25 ml de metanol).

METODOLOGIA

Per la duresa total:

1.- Passar 100 ml d'aigua problema a un erlenmeyer de 250 ml.

- 2.- Afegir 2 ml de dissolució amortidora i 2 gotes d'indicador.
- 3.- Valorar amb la solució titulada de complexona II fins viratge de roig a blau dèbil persistent.

Per la duresa permanent:

- 1.- Passar 100 ml d'aigua problema a un vas de precipitats de 250 ml.
- 2.- Tapar amb vidre de rellotge i portar a ebullició suau per 15 minuts. Parar compte de que el volum no minvi excessivament.
- 3.- Transferir les esquitxades del vidre de rellotge al vas, amb l'ajut d'una petita quantitat d'aigua destil·lada exempta de duresa.
- 4.- Filtrar sobre un matràs erlenmeyer, rentant amb una petita quantitat d'aigua destil·lada exempta de duresa.
- 5.- Procedir amb el filtrat com en els punts 2 i 3 del subapartat anterior.

CÀLCULS

Treballant de la manera esmentada a l'apartat "metodologia", la duresa és igual al volum consumit de complexona II.

Òbviament, la duresa temporal és la diferència entre la duresa total i la permanent.

OBSERVACIONS

Si és tractés d'aigua de duresa molt elevada es pot procedir prenent una mostra de 10 ml, amb pipeta aforada i afegint aigua destil·lada exempta de duresa fins completar aproximadament 100 ml. En aquest cas la duresa seria:

$$^{\circ}\text{HTF} = 10 \cdot \text{vol complexona.}$$

Qüestionari 8.3.- Duresa de l'aigua

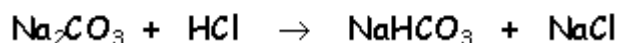
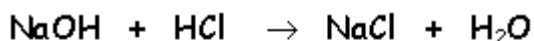
- 1.- Escriure les reaccions que tenen lloc durant la valoració.
- 2.- Calcular les quantitat utilitzades de clorur amònic i amoníac ($pK_b = 4.74$) emprades a la preparació de dissolució amortidora de $pH=10$.
- 3.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 4.- Deduir raonadament perquè, treballant amb les condicions especificades a la metodologia, la duresa en $^{\circ}\text{HTF}$ coincideix molt aproximadament amb el volum consumit de reactiu.
- 5.- Per què cal mantenir un control del pH durant la valoració?
- 6.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref:8.4
ALCALINITAT DE L'AIGUA		

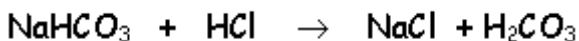
OBJECTE I FONAMENTS

Es tracta de determinar el contingut de hidròxids, carbonats i bicarbonats presents a l'aigua. Es fa una valoració amb una dissolució valorada d'un àcid mineral fort, referida als punts d'equivalència corresponents als OH^- i CO_3^{2-} (pH=8'3, corresponent a la zona de viratge de la fenolftaleïna) i del HCO_3^- (pH=4'5, corresponent a la zona de viratge del taronja de metilè). En una mostra poden coexistir carbonats i bicarbonats junts ó hidròxids i carbonats junts, però no hidròxid i bicarbonat.

Les reaccions a la valoració fins el viratge de la fenolftaleïna són del tipus següent (el catió no té perquè ser necessàriament sodi ni l'àcid titulant cal que sigui necessàriament clorhídric):



i, a partir d'aquí, i fins el viratge del taronja de metilè:



essent el bicarbonat reaccionant en aquesta fase el que tenia originàriament la mostra més el procedent de la transformació del carbonat a la fase anterior.

MATERIAL

Bureta de 50 ml.

Matrassos erlenmeyer de 250 ml.

Pipetes (el volum depèn del tipus de mostra).

REACTIUS

Àcid clorhídric titulat 0'1N (o de normalitat menor).

Aigua destil·lada.

Fenolftaleïna al 0'5% en aigua/alcohol 1:1.

Taronja de metilè al 0'05% en aigua.

METODOLOGIA

1.- Prendre 100 ml de mostra i transvasar a un erlenmeyer de 250 ml.

2.- Afegir dues gotes d'indicador de fenolftaleïna i valorar fins desaparició del color (rosa a

incolores). Anotar el volum consumit (V_1).

3.- Afegir dues gotes d'indicador de taronja de metilè i continuar la valoració fins viratge (groc taronja a roig). Anotar el volum total consumit (V_2). Cas de que es presentin dificultats per apreciar el canvi de color a les proximitats del punt d'equivalència, bullir el matràs durant uns minuts, deixar refredar i continuar la valoració.

4.- Fer un assaig en blanc amb aigua destil·lada i restar dels valors del problema els obtinguts a l'assaig en blanc.

CÀLCULS

Els resultats s'expressen en mil·liequivalents per litre d'aigua.

Si $V_2 = V_1$ (viratge immediat del taronja de metilè), la mostra únicament conté hidròxids.

Si $V_2 = 2 \cdot V_1$ la mostra únicament conté carbonats.

Si $V_1 = 0$ la mostra únicament conté bicarbonats.

Si $V_1 = V_2 = 0$ la mostra té alcalinitat negativa.

Si $V_2 > 2 \cdot V_1$ la mostra conté carbonats i bicarbonats.

Si $V_2 < 2 \cdot V_1$ la mostra conté carbonats i hidròxids.

Tenint en compte les consideracions anteriors i anomenant:

V_H al volum consumit d'àcid titulant corresponent als hidròxids.

V_C ídem pels carbonats.

V_B ídem pels bicarbonats.

i que aquests volums són zero per aquells components inexistents, podrem calcular-los amb les expressions:

$$\begin{aligned} V_1 &= V_C + V_H \\ V_2 - V_1 &= V_C + V_B \end{aligned}$$

el contingut alcalí en mil·liequivalent/litre es calcula segons:

$$\begin{aligned} [\text{OH}^-] &= V_H \cdot N \cdot 10 \\ [\text{CO}_3^{2-}] &= V_C \cdot N \cdot 10 \\ [\text{HCO}_3^-] &= V_B \cdot N \cdot 10 \end{aligned}$$

a on N és la normalitat de l'àcid titulant.

OBSERVACIONS

La normalitat de l'àcid titulant estarà en funció del contingut alcalí de la mostra.

Tots els reactius, així com l'aigua utilitzada a les dissolucions i assaigs en blanc, cal que siguin de baix contingut en CO_2 . El CO_2 d'una mostra o d'una aigua destil·lada pot eliminar-se mitjançant una reducció de pressió per trompa de buit durant 15 minuts o per ebullició durant 15 minuts (i deixant refredar en un ambient exempt de CO_2).

Si l'alcalinitat de l'aigua és molt alta, prendrem una quantitat de mostra inferior a 100 ml, (que

dissoldrem amb aigua destil·lada si el volum resultant és incòmode per la valoració). En aquest cas, els càlculs seran:

$$X = \frac{V \cdot N \cdot 1.000}{v}$$

essent **X** el resultat (de carbonats, hidròxids o bicarbonats, segons correspongui), **V** el volum consumit, en ml, de reactiu (V_H , V_C ó V_B , segons correspongui) i **v** el volum de mostra en ml.

Qüestionari 8.4.- Alcalinitat de l'aigua

- 1.- Per què no poden coexistir a la mateixa mostra hidròxids forts i bicarbonats?
- 2.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 3.- Deduir raonadament les fórmules utilitzades en els càlculs.
- 4.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 8.5
DETERMINACIÓ DE CO₂ LLIURE A L'AIGUA		

OBJECTE I FONAMENTS

El mètode està basat en la reacció del CO₂ lliure de l'aigua amb el NaOH per formar bicarbonat. El mètode és aplicable per mostres d'aigua que no tinguin quantitats apreciables d'hidròxid amònic, amines, fosfats, borats, silicats, sulfurs i nitrits. També pot interferir la presència d'àcids minerals i de sals d'àcid fort i base dèbil, i en menor grau, la presència d'alumini, ferro crom i coure.

MATERIAL

Bureta.
 Matràs aforat de 1 litre.
 Matràs erlenmeyer.
 Pipeta de 20 ml.
 Placa calefactora.
 Probeta de 100 ml.
 Tub de goma.

REACTIUS

Aigua destil·lada.
 Fenolftaleïna 0'5% en aigua alcohol 1:1.
 Hidròxid de sodi 1N titulat.

METODOLOGIA

- 1.-Preparar dissolució de NaOH 0'02N a partir de 20 ml de NaOH titulat 1N i arrasant fins a 1 litre amb aigua destil·lada exempta de diòxid de carboni (prèviament portada a ebullició durant 15 minuts o mitjançant buit).
- 2.- Mesurar 100 ml de mostra, i passar a un matràs erlenmeyer de 250 ml.
- 3.- Afegir 5 gotes de dissolució hidroalcohòlica de fenolftaleïna i valorar amb la dissolució preparada a l'apartat 1, fins viratge (roig a incolor).

CÀLCULS

El resultat s'expressa en diòxid de carboni lliure en mg per litre:

$$\text{mg/l de CO}_2 = \frac{V \cdot 0'02 \cdot 44.000}{V}$$

a on:

V = ml consumits de NaOH 0'02N.

v = volum de mostra, en ml.

OBSERVACIONS

Cal valorar ràpidament, i que l'agitació sigui molt suau, per tal de no absorbir CO₂ atmosfèric..
Cal preparar diàriament la dissolució de NaOH 0'02N.

Qüestionari 8.5.- CO₂ lliure a l'aigua

- 1.- Escriure la reacció que té lloc durant la valoració
- 2.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 3.- Deduir raonadament la fórmula utilitzada en els càlculs.
- 4.- Per què cal preparar diàriament la dissolució de NaOH 0'02N?
- 5.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 8.6
DETERMINACIÓ D'AMONI A L'AIGUA		

OBJECTE I FONAMENTS

L'amoníac destil·lat de la mostra és arreplegat sobre àcid bòric amb un indicador adient i valorat amb àcid sulfúric titulat.

El mètode és aplicable a mostres amb contingut amoniacal superior a 2 mg/litre d'ió amoni.

MATERIAL

Balança analítica.

Bureta de 25 ml.

Equip de destil·lació per arrossegament de vapor.

Flascó rentador de polietilè.

Matràs aforat de 1 litre

Matràs erlenmeyer de 250 ml.

Proveta de 250 ml.

REACTIUS

Àcid bòric PA, solució al 2 %.

Àcid sulfúric 0'005N

Aigua destil·lada.

Indicador Tshiro-Tasiro.

Òxid de magnesi PR.

Preparació dels reactius

ACID BORIC AL 2 %.- Dissoldre 2 grams d'àcid bòric PA en aigua destil·lada fins a 100 ml.

INDICADOR TSHIRO TASIRO.- Dissoldre 0'125 grams de roig de metilè i 0'080 grams de blau de metilè en 100 ml d'alcohol etílic del 96 % (PA).

ACID SULFURIC 0'005N.- Dissoldre 50 ml d'àcid sulfúric 1N titulat fins a 1 litre amb aigua destil·lada.

METODOLOGIA

1.- Posar en funcionament l'equip de destil·lació uns 5 minuts, fent passar vapor d'aigua, per eliminar possibles restes d'amoníac.

2.- Posar 250 ml de mostra en el matràs de destil·lació, junt amb 1 gram d'òxid de magnesi i iniciar la destil·lació.

- 3.- Arreplegar el destil·lat en un matràs erlenmeyer de 250 ml en el que hi ha 10 ml d'àcid bòric i dues gotes d'indicador, estant el pic del col·lector del refrigerant submergit en el líquid del matràs.
- 4.- Després d'arreplegar entre 50 i 100 ml de destil·lat, comprovar que no destil·la més amoníac amb un tros de paper indicador.
- 5.- Valorar el destil·lat amb la dissolució d'àcid sulfúric (viratge de verd a violat).

CÀLCULS

El resultat s'expressa com a mg de NH_4^+ per litre:

$$\text{NH}_4^+(\text{mg/l}) = V \cdot f \cdot 0'09 \cdot 4$$

a on **V** es el volum d'àcid sulfúric gastat a la valoració i **f** el factor de correcció de la normalitat de l'àcid.

OBSERVACIONS

El factor **f** es 1 si treballem a partir de dissolucions "noves" titulades de normalitat garantida.

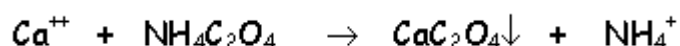
Qüestionari 8.6.- Determinació d'amoni a l'aigua

- 1.- Escriure la reacció que té lloc durant la valoració.
- 2.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 3.- Deduir raonadament la fórmula utilitzada en els càlculs.
- 4.- A que és degut que l'àcid bòric (un àcid), no interfereix en el resultat de la valoració amb àcid sulfúric (també un àcid)?
- 5.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

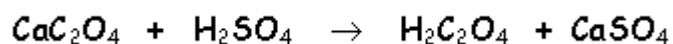
Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 9.1
DETERMINACIÓ DEL CALCI		

OBJECTE I FONAMENTS

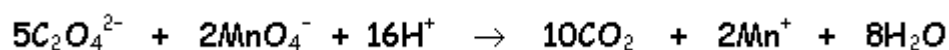
L'ió calci es precipitable quantitativament com oxalat de calci, per acció de l'oxalat amònic:



El precipitat d'oxalat càlcic és soluble en àcid sulfúric, passant a la forma d'àcid oxàlic:



L'àcid oxàlic format es valora amb dissolució titulada de permanganat potàssic:



MATERIAL

Balança analítica
 Bany d'aigua
 Cremador Bunsen
 Erlenmeyer de 250 ml
 Flascó rentador
 Forn de mufla amb regulació de temperatura
 Gresol de placa filtrant del núm. 4
 Gresol per cendres
 Matràs aforat de 250 ml
 Triangle de ceràmica
 Vitrina-campana extractora

REACTIUS

Àcid clorhídric d=1'14
 Àcid nítric 40 °Bé
 Àcid sulfúric d=1'13
 Aigua destil·lada
 Amoníac d=0'98
 Dissolució al 30 % (p/v) d'àcid cítric
 Dissolució al 5 % (p/v) de clorur amònic
 Dissolució de verd de bromogresol al 0'04 %

Dissolució saturada d'oxalat amònic

Dissolució titulada de permanganat potàssic 0'1 N

METODOLOGIA

- 1.- Pesar al voltant de 5 grams de mostra en un gresol de cendres.
- 2.- Posar el gresol inclinat sobre un triangle de ceràmica i escalfar amb la flama oxidant del cremador Bunsen, fins carbonització (a la campana-vitrina).
- 3.- Calcinar a 550°C fins convertir en cendres (es pot aprofitar per determinar el contingut de cendres totals).
- 4.- Transvasar les cendres a un matràs erlenmeyer de 250 ml i afegir 40 ml d'àcid clorhídric (d=1'14), 60 ml d'aigua destil·lada i unes gotes d'àcid nítric.
- 5.- Portar a ebullició i mantenir-la uns 30 minuts.
- 6.- Refredar i transvasar quantitativament a un matràs aforat de 250 ml, completant el volum amb aigua destil·lada i homogeneïtzar.
- 7.- Filtrar (sense rentar el filtre !) i arrebregar una porció alíquota de filtrat que contingui entre 10 i 40 mil·ligrams de calci i passar-la a un matràs erlenmeyer de 250 ml; afegir 1 ml de la dissolució d'àcid cítric i 5 ml de la dissolució de clorur amònic; completar el volum aproximadament a uns 100 ml amb aigua destil·lada.
- 8.- Portar a ebullició, afegint 10 gotes de dissolució de verd de bromogresol i 30 ml de dissolució calenta d'oxalat amònic. Si apareix un precipitat, dissoldre amb unes gotes d'àcid clorhídric de d=1'14
- 9.- Afegir amoníac fins viratge de l'indicador.
- 10.- Col·locar l'erlenmeyer en un bany d'aigua a ebullició per 30 minuts, deixant reposar el precipitat format.
- 11.- Retirar l'erlenmeyer del bany i deixar reposar 1 hora. Filtrar amb un gresol del no 4, rentant l'erlenmeyer i el gresol amb aigua fins la total eliminació de l'excés d'oxalat amònic (ve indicada per l'absència de clorurs - assaig amb nitrat de plata en medi àcid-).
- 12.- Dissoldre el precipitat fent passar pel filtre uns 50 ml d'àcid sulfúric de d=1'13.
- 13.- Esbandir el gresol amb aigua calenta fins un volum aproximat de 100 ml.
- 14.- Escalfar fins 70-80°C i valorar amb dissolució de permanganat de potassi 0'1 N fins obtenció de color rosa persistent durant al menys 1 minut.

CÀLCULS

1 ml de permanganat 0'1000 N equival a 2'004 mil·ligrams de calci.

Expressar el resultat en % de calci a la mostra:

$$\text{Ca}(\%) = \frac{f \cdot V \cdot 501}{m \cdot v} \cdot 100$$

OBSERVACIONS

Si la mostra està constituïda exclusivament de matèries minerals (no orgàniques), com, per exemple, un corrector mineral per pinsos, procedir a la dissolució mitjançant àcid clorhídric sense incineració prèvia.

Si es sospita que el contingut en magnesi a la mostra és molt alt, procedir a una segona precipitació amb oxalat de calci.

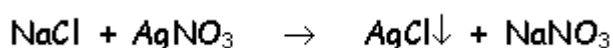
Qüestionari 9.1.- Determinació del calci

- 1.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 2.- Deduir raonadament la fórmula utilitzada en els càlculs.
- 3.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 9.2
DETERMINACIÓ D'HALURS EN AIGUA		

OBJECTE I FONAMENTS

El mètode es basa en la reacció dels halurs amb el nitrat de plata, formant-se un precipitat quantitatiu d'halur de plata:



A la mostra se li addiciona una quantitat exactament coneguda de dissolució titulada de nitrat de plata, determinant-se l'excés de nitrat de plata per valoració amb dissolució titulada de tiocianat

MATERIAL

Bureta de 25 ml.

Flascó rentador.

Matràs erlenmeyer 250 ml esmerilat 29/32, amb tap.

Pipeta aforada de 25 ml.

Proveta de 10 ml.

Proveta de 100 ml.

REACTIUS

Àcid nítric concentrat.

Aigua destil·lada

Dissolució 0'1N, titulada, de sulfocianur potàssic.

Dissolució de nitrat de plata 0'1000N, titulada.

Dissolució saturada de sulfat fèrric amònic.

Nitrobenzè.

Dissolució titulada de tiocianat potàssic.- Dessecar al voltant de 10 grams de tiocianat potàssic pa a 105°C durant dues hores, deixar refredar en dessecador i pesar amb exactitud de 1 mg, al voltant de 9'717 grams. Dissoldre fins a un litre en aigua destil·lada. Buscar el factor de la dissolució mitjançant valoració amb dissolució titulada de nitrat de plata 0'1000 N.

Dissolució saturada de sulfat fèrric.- Dissoldre lentament en 200 mil·lilitres d'aigua destil·lada, sulfat fèrric amònic, qualitat PA, fins que la dissolució no n'hi admeti més. Clarificar la dissolució amb 2 ml d'àcid nítric concentrat. Filtrar.

METODOLOGIA

- 1.- Passar 100 ml d'aigua problema a un matràs erlenmeyer de 250 ml, esmerilat 29/32. Afegir unes gotes d'àcid nítric concentrat i 25 ml de dissolució de nitrat de plata 0'1000N (aparició d'un precipitat blanc).
- 2.- Afegir uns 7 ml de nitrobenzè i 1 ml de dissolució de sulfat fèrric-amònic. Tapar i agitar amb energia.
- 3.- Rentar el tap i el coll del matràs amb un raig d'aigua destil·lada. Valorar amb la dissolució de tiocianat potàssic fins viratge a color salmó.

CÀLCULS

El resultat s'expressa com "contingut total d'halurs, expressat com clorur de sodi":

$$\text{grams / litre de NaCl} = \frac{(2'5 - V \cdot N) \cdot 58'45}{100}$$

a on V és el volum gastat, en ml, durant la valoració, de tiocianat de potassi i N la seva normalitat (exacta).

OBSERVACIONS

Cal que els reactius emprats estiguin totalment exempts de clorurs; cas de sospitar presència de clorurs, cal efectuar un assaig en blanc.

El mètode també pot ser aplicat a vi i líquids en general. Si la mostra té una contingut excessivament alt d'halurs, diluir prèviament en aigua destil·lada.

Qüestionari 9.2.- Determinació d'halurs en aigua

- 1.- Escriure la reacció que té lloc durant la valoració.
- 2.- Quina és l'acció del nitrobenzè en aquesta pràctica?
- 3.- Suggestir un procediment substitutori de l'ús del nitrobenzè.
- 4.- Deduir raonadament la fórmula utilitzada en els càlculs.
- 5.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 6.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 9.3
HALURS NO VOLÀTILS EN ALIMENTS SÒLIDS		

OBJECTE I FONAMENTS

El mètode es basa en la reacció dels halurs amb el nitrat de plata, formant-se un precipitat quantitatiu d'halurs de plata.

A la mostra se li addiciona una quantitat exactament coneguda de dissolució titulada de nitrat de plata, determinant-se l'excés de nitrat de plata per valoració amb dissolució titulada de tiocianat. La substància orgànica interfereix a la valoració, i és eliminada prèviament per calcinació.

MATERIAL

Balança analítica.
Cremador Bunsen.
Bureta de 25 ml.
Flascó rentador.
Forn per cendres.
Gresol per cendres.
Matràs erlenmeyer de 250 ml, esmerilat 29/32 amb tap.
Pipeta aforada de 25 ml.
Proveta de 10 ml.
Suport, cèrcol i nou.
Triangle de ceràmica.
Vitrina extractora.

REACTIUS

Dissolució de nitrat de plata 0'1000N, sv
Dissolució 0'1N, sv, de sulfocianur potàssic.
Dissolució saturada de sulfat fèrric amònic.
Àcid nítric concentrat.
Nitrobenzè.
Aigua destil·lada

Preparació dels reactius

DISSOLUCIÓ TITULADA DE TIOCIANAT POTÀSSIC.- Dessecar al voltant de 10 grams de tiocianat potàssic a 105°C durant dues hores, deixar refredar en dessecador i pesar exactament, al voltant de 9'717 grams. Dissoldre fins a un litre en aigua destil·lada. Buscar el factor de la dissolució mitjançant valoració amb dissolució titulada de nitrat de plata 0'1000 N.

DISSOLUCIÓ SATURADA DE SULFAT FÈRRIC-AMÒNIC.- Dissoldre lentament en 200 mil·lilitres d'aigua destil·lada, sulfat fèrric-amònic, qualitat PA, fins que la dissolució no n'hi admeti més. Clarificar la dissolució amb 2 ml d'àcid nítric concentrat. Filtrar.

METODOLOGIA

- 1.- Pesar exactament uns 5 grams de mostra en un gresol calcinat i tarat, i fer cendres segons la metodologia de la pràctica 7.1.
- 2.- Dispersar les cendres amb una petita quantitat d'aigua destil·lada i unes gotes d'àcid nítric 6 N, i transvasar, rentant el gresol, a un vas de pp de 100 ml.
- 3.- Filtrar sobre un erlenmeyer esmerilat de 250 ml; rentar el residu sobre el filtre amb petites porcions d'aigua destil·lada, fins test de clorurs negatiu del filtrat (el volum final ha d'ésser al voltant de 100 ml) i acidificar amb una mica d'àcid nítric.
- 4.- Afegir 25 ml de dissolució titulada de nitrat de plata 0'1000N (aparició d'un precipitat blanc) i a continuació, entre 7 i 10 ml de nitrobenzè.
- 5.- Tapar l'erlenmeyer i agitar enèrgicament durant 1 minut; destapar i arrossegar amb aigua destil·lada les porcions de partícules i de dissolució adherides al tap i a les parets de l'erlenmeyer.
- 6.- Afegir 1 ml de dissolució saturada de sulfat fèrric amònic i valorar amb dissolució titulada 0'1 N de sulfocianur potàssic, fins coloració rosa salmó suau.

CÀLCULS

El resultat s'expressa com "contingut total d'halurs, expressat en clorur de sodi":

$$\%(\text{ClNa}) = \frac{(2'5 - V \cdot N) \cdot 58'45}{m} \cdot 100$$

a on **V** és el volum gastat, en ml, durant la valoració, de tiocianat de potassi, **N** la seva normalitat i **m** la massa de la mostra en mil·ligrams.

OBSERVACIONS

Cal que els reactius emprats estiguin totalment exempts de clorurs; cas de sospitar presència de clorurs, cal efectuar un assaig en blanc.

Si el contingut de clorurs és molt elevat, pot filtrar-se la mostra reduïda a cendres (punt 3), sobre un matràs aforat de 250 ml, arrasar amb aigua destil·lada, homogeneïtzar i treballar amb una porció alíquota.

Qüestionari 9.3.- Halurs no volàtils en aliments sòlids

- 1.- Per què aquest procediment no és apte per la determinació d'halurs volàtils?
- 2.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 3.- Escriure les reaccions que tenen lloc en els subapartats 4 i 6 de l'apartat de "metodologia".
- 4.- Deduir raonadament la fórmula utilitzada en els càlculs.
- 5.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 10.1
IDENTIFICACIÓ DE PLOM		

OBJECTE I FONAMENTS

Es tracta d'identificar la presència de plom en aliments.

La matèria orgànica es destrueix per tractament amb àcid perclòric i addició dels reactius de Carrez i s'identifica el plom segons el procediment d'Arribas Gimeno.

MATERIAL

Balança granatària
Centrífuga
Comptagotes
Flascó rentador
Paper de filtre.
Pipetes graduades de 2 ml
Placa calefactora
Tubs d'assaig de 20 ml
Tubs d'assaig de 3 ml
Varetes de vidre
Vasos de pp de 25 ml
Vasos de pp de 50 ml
Vidres de rellotge

REACTIUS

Àcid clorhídric aprox. 2N (1 part d'àcid clorhídric pa del 35 % en 5 parts d'aigua destil·lada).

Àcid nítric concentrat.

Àcid perclòric del 30 % (Mesclar a parts igual, aigua destil·lada amb àcid perclòric del 60 % pa) AEDT al 5 % (pesar 5 grams de AEDT pa i portar a volum fins 100 ml en aigua destil·lada).

Aigua destil·lada.

Aigua oxigenada al 3 %.

Carbonat de sodi 1N (53 grams de carbonat de sodi anhidre pa fins 1 litre en aigua destil·lada).

Cromat potàssic 0'5N (4'9 grams de cromat potàssic pa fins a 100 ml en aigua destil·lada).

Hidròxid de sodi 1N i 0'1N sv.

Nitrat amònic 0'5N (4'05 grams de nitrat amònic pa en aigua destil·lada fins a 100 ml)

Paper indicador.

Reactiu de Carrez I (24 grams d'acetat de zinc pa i 3 grams d'àcid acètic glacial pa fins a 100 ml en aigua destil·lada).

Reactiu de Carrez II (10'6 grams de ferrocianur potàssic trihidrat pa en aigua destil·lada fins 100 ml).

Sulfat amònic, dissolució (13'2 grams de sulfat amònic pa en aigua destil·lada fins 100 ml).

METODOLOGIA

- 1.- Es pren una quantitat de mostra homogeneïtzada i molturada de al voltant de 1 gram i es passa a un vas de pp de 50 ml.
- 2.- S'afegeixen 5 ml d'àcid perclòric al 30 % i es deixa en repòs durant 1/2 hora, tapant amb un vidre de rellotge i agitant de tant en tant.
- 3.- Afegir 10-15 ml d'aigua destil·lada i filtrar sobre una vas de pp, fins arregar uns 10 -15 ml de filtrat.
- 4.- Addicionar al filtrat 2 ml de reactiu Carrez I, agitant 5 minuts sobre placa magnètica.
- 5.- Afegir 2 ml de reactiu Carrez II i agitar en placa magnètica 5 minuts.
- 6.- Filtrar, fins arregar uns 15 ml de filtrat, sobre un vas de pp petit, i apartar uns 5 ml per la pràctica 10.3 (determinació d'arsènic).
- 7.- Afegir, agitant, dissolució de carbonat de sodi 1N fins reacció alcalina.
- 8.- Afegir 3 ml més de dissolució de carbonat de sodi i portar a ebullició suau durant 5 minuts.
- 9.- Centrifugar; la *no aparició de precipitat indica assaig negatiu de plom*, i no cal seguir (en tot cas, efectuar el punt 10 si es desitja determinar mercuri i/o arsènic). Si apareix precipitat, continuar.
- 10.- Separar el líquid clar (reservar-lo per la pràctica 10.2 -determinació de mercuri-). Rentar el precipitat amb aigua calenta, separant-lo dels líquids de rentat mitjançant centrifugació.
- 11.- Assecar el màxim possible el precipitat amb una tira de paper de filtre i tractament al bany Maria.
- 12.- Tractar el precipitat amb 1 ml d'àcid nítric concentrat i escalfar acuradament a la flama (compte amb les projeccions!) fins quasi sequedat. Si el residu enfosqueix notablement, afegir unes gotes d'aigua oxigenada.
- 13.- Afegir 1 ml d'aigua destil·lada, 10 gotes de nitrat amònic 0'5 N i 1 gota d'àcid nítric diluït; deixar 5 minuts al bany Maria, centrifugar i separar el líquid clar .
- 14.- Al líquid clar, afegir 1 ml de HCl 2N i continuar, si escau, fins total precipitació. Si obtenim precipitat, continuem al punt següent, i si no, passem al punt 16.
- 15.- Rentar el pp amb aigua bullint, centrifugant i separant el líquid quan encara està calent. Passar el líquid clar a un tub d'assaig i afegir dues gotes de cromat potàssic 0'5N; *precipitat groc indica plom en quantitats considerables* (en aquest cas, no cal seguir). En tot cas, reservar el precipitat per la pràctica 10.2
- 16.- Al líquid procedent del punt 14, afegir-hi 20 gotes de dissolució de sulfat amònic, escalfar fins ebullició i després deixar 10 minuts al bany Maria. La *no aparició de precipitat confirma assaig negatiu del plom* (no cal seguir). Si apareix precipitat, centrifugar, rentant el residu amb aigua destil·lada i descarregar el líquid.
- 17.- Afegir al pp 1 ml de AEDT al 5%. Escalfar lleugerament i centrifugar. Separar el líquid.
- 18.- Al líquid procedent del punt anterior, afegir dissolució de sosa fins pH alcalí i unes gotes de dissolució de sulfur sòdic; *precipitat negre indica presència de plom*.

INTERPRETACIÓ DELS RESULTATS

- Assaig del punt 9 negatiu (no hi ha precipitat) = **NEGATIU**.
 - Assaig del punt 16 negatiu = **NEGATIU**.
 - Assaig del punt 18 positiu = **POSITIU (Presència de Pb)**.
 - Assaig del punt 15 positiu = **POSITIU (Presència de Pb en quantitat gran)**.
-

Qüestionari 10.1.- Identificació de plom

- 1.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 2.- Escriure les reaccions dels assaigs corresponents als subapartats 9, 15, 16 i 18 de l'apartat "metodologia".
- 3.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 10.2
IDENTIFICACIÓ DE MERCURI		

OBJECTE I FONAMENTS

Es tracta d'identificar la presència de mercuri en aliments.

La matèria orgànica es destrueix per tractament amb àcid perclòric i addició dels reactius de Carrez i s'identifica el mercuri segons el procediment d'Arribas Gimeno.

MATERIAL

El mateix que per la pràctica 10.1 i a més, una placa de gotes.

REACTIUS

(A més de part dels necessaris per la pràctica 10.1).

Amoníac 2N sv.

Clorur estannós, dissolució 2N.

Hidròxid de sodi 2N sv.

METODOLOGIA

- 1.- Si s'ha obtingut residu en el punt 15 de la pràctica 10.1, continuar pel punt següent; en cas contrari passar al punt 3.
- 2.- Al residu del punt 15 de la pràctica 10.1 s'hi afegeix 1 ml d'amoníac 2N; mesclar i centrifugar. **Aparició de pp negra indica mercuri (en forma mercuriosa)** i no cal seguir. De no aparèixer pp negra, passar al punt següent.
- 3.- A un clot d'una placa de gotes, s'hi dipositen 3 gotes de dissolució de clorur estannós i s'hi va afegint gotes d'hidròxid de sodi 2N fins total dilució de l'eventual pp format inicialment, fins pH alcalí. Afegir 3 gotes del líquid separat al punt 10 de la pràctica 10.1; **aparició d'un pp negra indica presència de mercuri**.

Qüestionari 10.2.- Identificació de mercuri

- 1.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 2.- Escriure les reaccions que tenen lloc en els subapartats 2 i 3 de l'apartat "metodologia".
- 3.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 10.3
IDENTIFICACIÓ D'ARSÈNIC		

OBJECTE I FONAMENTS

Es tracta d'identificar la presència d'arsènic en aliments.

La matèria orgànica es destrueix per tractament amb àcid perclòric i addició dels reactius de Carrez i s'identifica l'arsènic segons el procediment de G. Charlot.

MATERIAL

(A més del necessari per la pràctica 10.1 fins el punt 6)

Bany Maria.

Centrífuga.

Flascons comptagotes.

Paper de filtre.

Tubs d'assaig de 3 ml.

Tubs de centrífuga.

Vitrina de gasos.

REACTIUS

(A més dels necessaris per la pràctica 10.1 fins el punt 6)

Àcid clorhídric aprox. 2N (1 part d'àcid clorhídric concentrat pa i 5 parts d'aigua).

Alumini en làmines.

Antimoni porfiritzat pa.

Hidròxid de sodi 4N (33 grams d'hidròxid de sodi pa fins a 100 ml en aigua destil·lada).

Nitrat de plata, dissolució (2'5 grams de nitrat de plata fins a 10 ml en aigua destil·lada).

METODOLOGIA

- 1.- A 1 ml de la dissolució preservada al punt 6 de la pràctica 10.1, afegir 1 ml de HCl 2N. Separar per centrifugació l'eventual aparició de precipitat.
- 2.- Prendre 4 gotes de la dissolució anterior i afegir 8 gotes de sosa i 2 o 3 petites làmines d'alumini, en un tub d'assaig.
- 3.- Situar a la boca de tub d'assaig una tira de paper de filtre impregnat amb 2 o 3 gotes de dissolució de nitrat de plata i escalfar 2 minuts l bany Maria; **aparició d'una taca de color variable del groc al negre indica assaig positiu** i no cal seguir; en cas contrari, continuar.
- 4.- Prendre unes 10 gotes de la dissolució del punt 1, afegir una punta d'espàtula d'antimoni en pols i portar a ebullició.
- 5.- Continuar com en els punts 2 i 3. **Aparició de la taca esmentada confirma la presència d'arsènic.**

OBSERVACIONS

El mètode no es efectiu en presència de mercuri i quantitats notables de coure.

Qüestionari 10.3.- Identificació d'arsènic

- 1.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític
- 2.- Escriure les reaccions que tenen lloc en el subapartat 3 de l'apartat "metodologia".
- 3.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 11.1
FÒSFOR PER ESPECTROFOTOMETRIA		

OBJECTE I FONAMENTS

Els compostos fosforats formen amb el reactiu nitromolibdovanadat amònic un compost ortofosforat de coloració groga característica que absorbeix la llum a 430 nm.

MATERIAL

Balança analítica.
 Bany de sorra.
 Cremador Bunsen.
 Espectrofotòmetre.
 Flascó rentador.
 Forn de mufla.
 Gresol d'incineració de porcellana.
 Matràs aforat de 500 ml.
 Pipetes aforades de 10 ml (2).
 Triangle ceràmic.
 Tubs d'assaig de 30 ml, boca esmeril·lada, amb tap (2).

Per la corba de calibrat:

(A més de part del material anterior)
 Estufa de dessecació.
 Matràs aforat de 1 litre.
 Matrassos aforats de 100 ml (4)
 Pipeta aforada de 1 ml.
 Pipeta aforada de 2 ml
 Tubs d'assaig de 30 ml, boca esmeril·lada, amb tap (5).

REACTIUS

Àcid clorhídric concentrat pa.
 Àcid nítric concentrat aprox. del 70 %.
 Carbonat de calci pa.
 Fosfat monopotàssic, pa (per la corba de calibrat).

Reactiu de nitromolibdovanadat, preparat a partir de la dissolució preparada de molibdat amònic i la de metavanadat amònic, segons el mètode descrit a continuació:

Dissolució de molibdat amònic: Dissoldre en aigua calenta 100 grams de molibdat amònic tetrahidratat, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; afegir 10 ml d'amoníac concentrat, transferir a matràs aforat de 1 litre, refredar, arrasar i homogeneïtzar.

Dissolució de metavanadat amònic: Dissoldre 2'35 grams de metavanadat amònic, NH_4VO_3 , en un

vas de 500 ml amb 400 ml d'aigua destil·lada calenta i afegir lentament una mescla prèviament preparada de 7 ml d'àcid nítric concentrat amb 13 ml d'aigua. Transferir a matràs aforat de 1000 ml, refredar, arrasar amb aigua destil·lada i homogeneïtzar.

Preparació del reactiu de nitromolibdovanadat. En matràs aforat de 1 litre, mesclar 200 ml de dissolució de molibdat amònic amb 200 ml de dissolució de metavanadat amònic; afegir 134 ml d'àcid nítric concentrat i completar amb aigua destil·lada fins l'arrasament.

METODOLOGIA

- 1.- Preparar una corba de calibrat segons el procediment indicat al final d'aquest apartat.
- 2.- Pesar una quantitat de mostra que contingui entre 2'5 i 10 mil·ligrams de fòsfor en un gresol de cendres.
- 3.- Mesclar amb una quantitat aproximada de 1 gram de carbonat de calci i fer cendres a 550°C.
- 4.- Passar les cendres a un vas de 100 ml amb 10 ml d'aigua, rentant el gresol amb àcid clorhídric concentrat, fins que no faci efervescència, i afegir 10 ml més d'àcid. (treballar en vitrina extractora)
- 5.- Evaporar fins a sequedat, mitjançant calefacció a ebullició suau (en vitrina extractora!).
- 6.- Refredar i dissoldre el residu amb 10 ml d'àcid nítric aproximadament del 10 %, preparat amb 1 part de nítric concentrat i 5 ó 6 d'aigua; escalfar uns 5 minuts, portant a ebullició, però sense arribar a sequedat (vitrina extractora!).
- 7.- Afegir aigua destil·lada i filtrar sobre matràs aforat de 250 ml, rentant el residu amb aigua destil·lada; arrasar i homogeneïtzar.
- 8.- Transferir 10 ml de la dissolució anterior a un tub d'assaig de 30 ml amb boca esmeril·lat i afegir 10 ml del reactiu de nitromolibdovanadat. Mesclar i deixar reposar 10 minuts. Procedir anàlogament amb un blanc format per 10 ml d'aigua destil·lada i 10 ml del reactiu.
- 9.- Llegir l'absorbància a 430 nm, calibrant el 100 % de transmissió (absorbància 0), amb el blanc. Determinar la concentració corresponent amb la corba de calibrat.

Preparació de la corba de calibrat

- 1.- Pesar 4'394 grams de fosfat monopotàssic patró, prèviament dessecat, dissoldre en matràs aforat de 1 litre amb aigua destil·lada, arrasar i homogeneïtzar. Aquesta dissolució mare conté 1 mil·ligram de fòsfor per litre (si no s'ha pesat la quantitat indicada, fer la correcció adient).
- 2.- Preparar dissolucions de calibrat passant porcions de 1, 2, 3 i 4 ml a matrassos aforats de 100 ml, arrasar amb aigua destil·lada i homogeneïtzar. Les dissolucions així preparades corresponen a concentracions de 10, 20, 30 i 40 mil·ligrams/litre.
- 3.- Passar 10 ml de cadascuna de les dissolucions de calibrat a tubs d'assaig de 30 ml amb boca esmeril·lada, junt amb 10 ml de reactiu de nitromolibdovanadat; tapar i mesclar. Procedir igualment amb un blanc format amb 10 ml d'aigua destil·lada i esperar 10 minuts pel desenvolupament del color.
- 4.- Llegir l'absorbància a 430 nm enfront del blanc a absorbància zero.
- 5.- Construir la corba de calibrat, representant en abscisses les concentracions i en ordenades les absorbàncies.

CÀLCULS

El resultat s'expressa en % de fòsfor:

$$P(\%) = \frac{2'5 \cdot C}{m}$$

a on **P(%)** és el contingut de fòsfor en tant per cent, **C** la concentració corresponent segons la corba de calibrat i **m** el pes de la mostra en grams.

OBSERVACIONS

Les quantitats a pesar de cada tipus de mostra són:

mostra	quantitat (grams)	observacions
ametlles (pelades)	1'500	Es molturarà amb un molinet fins fer farina
farina de civada	1'800	Es molturarà amb un molinet fins fer farina
cacauets (pelats)	1'800	Es molturarà amb un molinet fins fer farina
ordi	1'700	Es molturarà amb un molinet fins fer farina
porc (magre)	6'400	Es tallarà a petites tires fines abans de pesar, i s'assecarà parcialment en estufa abans de fer cendres.
pèsols frescs	5'500	Abans de pesar, cal xafar la mostra en un morter, i s'assecarà parcialment en estufa abans de fer cendres.
pèsols secs	1'800	Es molturarà amb un molinet fins fer farina
ous (sense closca)	3'900	Es bat amb una forquilla abans de pesar.
mongetes seques	1'500	Es molturarà amb un molinet fins fer farina
faves seques	2'000	Es molturarà amb un molinet fins fer farina
faves tendres (sense beina)	5'300	Abans de pesar, cal xafar la mostra en un morter, i s'assecarà parcialment en estufa abans de fer cendres.
lentilles seques	1'600	Es molturarà amb un molinet fins fer farina
ostres (part comestible)	4'500	Es tallarà a petites tires fines abans de pesar, i s'assecarà parcialment en estufa abans de fer cendres.
formatge	1'000	Es ratllarà abans de pesar
vedella (part magra)	3'200	Es tallarà a petites tires fines abans de pesar, i s'assecarà parcialment en estufa abans de fer cendres.

Qüestionari 11.1.- Fòsfor total (espectrofotometria)

- 1.- Per què s'hi afegeix carbonat de calci a la mostra en el moment de fer cendres?
- 2.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític
- 3.- Deduir raonadament la fórmula utilitzada en els càlculs
- 4.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 11.2
FERRO EN AIGUA (ESPECTROFOTOMETRIA)		

OBJECTE I FONAMENTS

La ortofenantrolina reacciona amb el Fe^{++} , originant un complex de color roig característic que absorbeix notablement a les regions de l'espectre visible de al voltant dels 505 nm. El Fe^{+++} no presenta absorció en aquesta longitud d'ona i cal reduir-lo prèviament a Fe^{++} mitjançant un agent reductor adient, com pe. el clorhidrat d'hidroxilamina. La reacció és quantitativa i reproducible dins d'un ampli ventall de pH, essent l'òptim el comprès entre 6 i 9.

MATERIAL

Cubetes per espectrofotòmetre.
Dosificador comptagotes
Espectrofotòmetre
Flascó rentador
Matrassos aforats de 100 ml (2).
pHmetre
Pipeta aforada de 2ml
Pipeta aforada de 50 ml
Pipetes aforada de 5 ml
Vasos de pp de 100 ml (2).

Per la corba de calibrat:

(A més de part del material anterior)
Balança analítica
Bureta de 25 ml
Matràs erlenmeyer de 250 ml
Matrassos aforats de 100 ml (6)
Pipeta aforada de 1 ml
Pipeta aforada de 2 ml
Pipeta aforada de 5 ml
Vasos de pp de 100 ml

REACTIUS

1,10-fenantrolina (Dissoldre 0'50 grams de ortofenantrolina monohidrat en aigua destil·lada, escalfant i agitant. Deixar refredar i portar a volum fins a 100 ml).
Clorhidrat d'hidroxilamina (Dissoldre 10 grams en 100 ml d'aigua destil·lada).
Àcid sulfúric concentrat i àcid sulfúric diluït.
Amoníac concentrat i amoníac diluït.
Aigua destil·lada.

Per la corba de calibrat:

Sulfat d'amoní ferrós, pa.

Dissolució de permanganat de potassi 0'1 N (no cal que estigui titulada).

METODOLOGIA

- 1.- Preparar una corba de calibrat tal com es descriu al final d'aquest apartat.
- 2.- Prendre 50 ml de la mostra, i transferir a un vas de pp de 100 ml.
- 3.- Afegir 5 ml de la dissolució de clorhidrat d'hidroxilamina i 2 ml de dissolució de reactiu d'ortofenantrolina.
- 4.- Comprovar que el pH estigui comprés entre 6 i 9, i si no ho està, corregir amb dissolució d'amoníac o d'àcid sulfúric.
- 5.- Transferir a un matràs aforat de 100 ml, arrasar i homogeneïtzar.
- 6.- Procedir des del el punt 2 amb un blanc d'aigua destil·lada exempta de ferro.
- 7.- Esperar un temps mínim de 1 hora i llegir l'absorbància a 505 nm, calibrant el 0 d'absorbància (100 % de transmissió) amb el blanc.
- 8.- Determinar la concentració corresponent a la corba de calibrat.

Obtenció de la corba de calibrat:

- 1.- Dissoldre 0'7022 grams de sulfat ferrós amònic pa, amb l'ajut d'unes gotes d'àcid sulfúric concentrat, en un erlenmeyer de 250 ml.
- 2.- Afegir, amb bureta, dissolució de permanganat de potassi fins coloració rosa persistent.
- 3.- Transferir a un matràs aforat de 1 litre, arrasar i homogeneïtzar; un cm³ d'aquesta dissolució mare conté 0'1 mil·ligrams de ferro (si no s'ha pesat exactament la quantitat indicada, fer la correcció adient).
- 4.- Preparar dissolucions de treball, transferint a vasos de precipitats de 100 ml amb 50 ml d'aigua destil·lada exempta de ferro, porcions de 0 ml (blanc), 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml i 5 ml de dissolució mare, junt amb 5 ml de solució de clorhidrat d'hidroxilamina i 2 ml de solució del reactiu d'ortofenantrolina.
- 5.- Comprovar i corregir el pH (entre 6 i 9), amb l'ajut, si escau, d'amoníac o d'àcid sulfúric.
- 6.- Transferir les dissolucions de treball a matrassos aforats 100 ml, arrasar i homogeneïtzar.
- 7.- Esperar un temps mínim de 1 hora i llegir les absorbàncies a 505 nm enfront del blanc.
- 8.- Construir una gràfica representant en absisses les concentracions en mil·ligrams/litre i en ordenades l'absorbància (les dissolucions de treball de 1, 2, 3, 4 i 5 ml de solució mare corresponen respectivament a concentracions de 1, 2, 3, 4 i 5 mil·ligrams/litre).

CÀLCULS

El resultat s'expressa en ppm (parts per milió); una part per milió equival a un mil·ligram de ferro per cada litre d'aigua:

$$\text{ppm(Fe)} = \frac{100}{v} \cdot C$$

essent *v* el volum de la mostra en ml i *C* la concentració determinada a la corba de calibrat.

OBSERVACIONS

Per aigües d'alt contingut en ferro, procedir amb quantitat menors de mostra; en tot cas, la quantitat de mostra haurà de ser tal que el contingut de ferro haurà d'estar comprès entre 0'1 i 0'5 mil·ligrams.

El mètode és apte per aigües incolores i que no continguin quantitats apreciables de coure i/o cobalt.

Si en lloc d'un espectrofotòmetre es disposa d'un colorímetre a filtres, treballar amb un filtre de ventall dins del marge entre 460 i 520 nm.

Qüestionari 11.2.- Ferro en aigua (espectrofotometria)

- 1.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 2.- Deduir raonadament la fórmula utilitzada en els càlculs.
- 3.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 11.3
FERRO EN ALIMENTS (ESPECTROFOTOMETRIA)		

OBJECTE I FONAMENTS

(Veure l'apartat corresponent de la pràctica 11.2)

MATERIAL

Gresol per cendres
Triangle ceràmic
Cremador Bunsen
Forn de mufla
Vasos de pp de 100 ml (2).
Matrassos aforats de 100 ml (2).
Pipeta aforada de 5 ml
Pipeta aforada de 2 ml
Embut cònic
Flascó rentador
Dosificador comptagotes
Espectrofotòmetre
Cubetes per espectrofotòmetre.
pHmetre
Balança analítica

Per la corba de calibrat:

(Veure pràctica 11.2)

REACTIUS

(Veure pràctica 11.2)

METODOLOGIA

- 1.- Preparar una corba de calibrat tal com es descriu a la pràctica 11.2
- 2.- Pesar una quantitat de mostra que contingui entre 0'1 i 0'5 mil·ligrams de ferro en un gresol de cendres calcinat i tarat.
- 3.- Fer cendres a 525°C.
- 4.- Dissoldre les cendres amb una petita quantitat d'àcid sulfúric diluït (aprox. 1:5) i filtrar sobre vas de pp de 100 ml; rentar ràpidament amb petites porcions d'aigua destil·lada fins completar un volum total no superior a 50 ml.
- 5.- Continuar com en els punts 3 al 8 de la metodologia de la pràctica 11.2.

CÀLCULS

El resultat s'expressa en ppm (parts per milió); una part per milió equival a un mil·ligram de ferro per cada kg de substància:

$$\text{ppm(Fe)} = \frac{100}{m} \cdot C$$

essent **m** el pes de la mostra en grams i **C** la concentració determinada a la corba de calibrat, en mil·ligrams/litre.

OBSERVACIONS

El mètode és apte per substàncies que no continguin quantitats apreciables de coure i/o cobalt. Per mostres d'alt contingut amb coure, com per exemple alguns pinsos compostos per porcs, vedells o d'altres, cal separar prèviament el ferro del coure per precipitació del ferro amb amoníac i posterior redissolució del precipitat per rentat amb dissolució àcida (pH < 2). Si en lloc d'un espectrofotòmetre es disposa d'un colorímetre a filtres, treballar amb un filtre dins del marge entre 460 i 520 nm.

La quantitat a pesar de mostra serà al voltant dels següents valors (en grams):

ametlles pelades	6'600
farina de civada	6'800
farina de blat (integral)	10'000
llegums secs	3'100
cacauets pelats	10'000
ordi	6'300
espinacs	7'000
ostres (part comestible)	5'700
carn de vedella	8'600

Aquelles mostres que presentin un contingut notable d'humitat (com p.e. espinacs, ostres i carn), caldrà tallar-les amb tissores en trossos petits abans de pesar-les i després assecar en estufa parcialment abans de fer cendres.

Qüestionari 11.3.- Ferro en aliments (espectrofotometria)

- 1.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 2.- Deduir raonadament la fórmula utilitzada en els càlculs.
- 3.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".
- 4.- El coure interfereix notablement en aquesta determinació. Dissenyar una metodologia per separar el coure de la mostra segons el procediment indicat a l'apartat "observacions"; cal raonar-ho amb els càlculs adients (suggeriment: tenir en compte els productes de solubilitat dels hidròxids de ferro i de coure i l'efecte del pH).

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 12.1
SODI PER FOTOMETRIA DE FLAMA		

OBJECTE I FONAMENTS

El sodi presenta un emissió característica de color groc, del tipus de "línia atòmica", al cremar en el sí d'una flama, una substància que contingui compostos de sodi.

La calcinació de la mostra no és estrictament necessària, però la realitzem per facilitar una millor dilució i una filtració més còmoda.

MATERIAL

Equipament per fotometria de flama, amb filtre per sodi o amb selector de longitud d'ona.

Vasos petits (contenidors de mostra).

Flascó rentador.

Balança analítica.

Vas de pp de 100 ml.

Vidre de rellotge.

Pipeta graduada de 5 ml.

Embut cònic.

Matràs aforat de 250 ml.

Paper de filtre.

Gresol per cendres.

Triangle ceràmic.

Cremador Bunsen.

Forn de mufla.

Dessecador.

Comptagotes.

Per la corba de calibrat:

Matràs aforat de 1 litre.

Matrassos aforats de 100 ml (5).

Paper mil·limetrat.

Pipetes aforades de 5, 10 i 25 ml.

REACTIUS

Aigua destil·lada exempta de CO_2 (expulsió del CO_2 mitjançant ebullició).

Àcid clorhídric concentrat pa.

Clorur de sodi pa (per la corba de calibrat).

Gas combustible.

METODOLOGIA

- 1.- Pesar al voltant de 2 grams de mostra i fer cendres (no cal que siguin completament blanques, a no ser que es vulgui determinar simultàniament el contingut en cendres de la mostra - en aquest cas s'aconsella pesar una mica més-).
- 2.- Es transfereixen les cendres a un vas de pp de 100 ml, i es dissol en aigua i una mica d'àcid clorhídric, tapant amb un vidre de rellotge si es produeix efervescència.
- 3.- Es porta a ebullició suau durant 5 minuts, tenint cura de que el volum no minvi excessivament.
- 4.- Es filtra sobre matràs aforat de 250 ml i s'arrasa amb aigua destil·lada exempta de CO₂.
- 5.- Es porta una porció de mostra a un vaset portamostres i es passa pel fotòmetre de flama, prèviament calibrat segons s'indica a l'apartat "Preparació de la corba de calibrat".

Preparació de la corba de calibrat:

- 1.- Pesar 0'2542 grams de clorur de sodi pa prèviament dessecat.
- 2.- Dissoldre en aigua destil·lada exempta de CO₂.
- 3.- Transferir a matràs aforat de 1 litre, arrasar i homogeneïtzar.
- 4.- Transferir quantitats de solució mare de 5, 10, 25, 50 i 75 ml a matrassos aforats de 100 ml. Arrasar amb aigua destil·lada i homogeneïtzar.
- 5.- Ajustar la resposta 0 de l'aparell amb aigua destil·lada i la resposta 100 amb la dissolució mare i llegir les emissions de les diferents dissolucions de treball (és convenient reajustar el 0 i el 100 abans de cada lectura).
- 6.- Construir la corba de calibrat, representant l'emissió en ordenades i la concentració de sodi en absisses. Les concentracions corresponents de cada dissolució de treball són:

ml dissolució mare	conc. dis. treball (mg/ml)
5	0'005
10	0'010
25	0'025
50	0'050
75	0'075
sol. mare	0'100

En el cas (molt probable), de que el pes mesurat de NaCl patró no sigui exactament l'esmentat (però que sempre serà un valor molt proper), les concentracions de treball seran les indicades multiplicades pel factor de correcció **s/0'2542**, en el qual **s** és el pes, en grams, de patró de NaCl.

CÀLCULS

El resultat s'expressa en % de sodi:

$$\text{Na}(\%) = \frac{C \cdot V \cdot 100}{m}$$

essent **C** la concentració que correspon segons la corba de calibrat, en mg/ml, **V** el volum fins el qual es dissol la mostra i **m** el pes de la mostra en mil·ligrams.

OBSERVACIONS

Si el contingut de sodi de la mostra és baix, és convenient diluir la mostra a un volum inferior als 250 ml esmentats a la metodologia.

Si el contingut de sodi fos tan alt que al llegir l'emissió del problema el valor quedés fora de l'escala, es pot prendre una porció de la dissolució i diluir-la més. En aquest cas, cal multiplicar l'expressió de l'apartat anterior (càlculs), pel corresponent factor de dilució.

Qüestionari 12.1.- Sodi per fotometria de flama

- 1.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 2.- Deduir raonadament la fórmula utilitzada en els càlculs.
- 3.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".
- 4.- Cal construir la corba de calibrat en la mateixa sessió de treball en que es determina el Na de la mostra: Per què?
- 5.- Idear un mètode alternatiu de determinació de sodi per fotometria de flama, sense construcció de corba de calibrat (suposarem la linealitat de la resposta).

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 13.1
HUMITAT PER CENTRIFUGACIÓ EN GREIXOS		

OBJECTE I FONAMENTS

El mètode no dona una idea rigorosament exacta de la proporció d'humitat, però resulta apropiat si volem tenir una idea aproximada el més ràpidament possible del contingut d'aigua en un oli o en un greix líquid.

MATERIAL

Centrífuga elèctrica.
Placa agitadora amb imant de tefló.
Proveta de 25 ml.
Tubs de centrífuga de 10 ml, graduats (2).
Vas de pp de 250 ml.

METODOLOGIA

- 1.- Transvasar uns 100 ml de mostra a un vas de pp de 100 ml i agitar 1 minut en placa agitadora.
- 2.- Transferir 2 porcions de 10 ml exactes a 2 tubs de centrífuga graduats, de 10 ml; centrifugar per 5 minuts. El volum centrifugat d'aigua ens dona una idea aproximada del contingut d'humitat a la mostra.

Qüestionari 13.1.- Humitat per centrifugació (greixos)

- 1.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 2.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 13.2
HUMITAT PER DESSECACIÓ EN GREIXOS		

OBJECTE I FONAMENTS

El mètode determina la quantitat total d'aigua i matèries volàtils a 105-110°C en greixos i olis; utilitza un senzill artifici per evitar la projecció de la mostra durant el procés de dessecació, consistent en mesclar-la amb sorra.

MATERIAL

Balança analítica.
Dessecador.
Estufa de dessecació.
Pesasubstàncies.

REACTIUS

Gel de sílice.
Sorra rentada i dessecada.

METODOLOGIA

- 1.- Pesar un pesasubstàncies net i sec ple fins aprox. 1/3 de la seva capacitat de sorra rentada i perfectament assecada (per calefacció a temperatura superior als 110°C).
- 2.- Pesar, en el pesasubstàncies amb sorra, uns 10 grams de mostra.
- 3.- Dessecar a l'estufa fins pes constant, a 105°C.

CÀLCULS

El resultat s'expressa com "humitat i matèries volàtils a 105°C":

$$H(\%) = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \cdot 100$$

a on:

m1 = pes de pesasubstàncies + sorra

m2 = pes de pesasubstàncies + sorra + mostra (humida)

m3 = pes de pesasubstàncies + sorra + mostra (seca)

Qüestionari 13.2.- Humitat per dessecació (olis i greixos)

- 1.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 2.- Deduir raonadament la fórmula utilitzada en els càlculs.
- 3.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 13.3
PUNT DE FUSIÓ EN GREIXOS		

OBJECTE I FONAMENTS

Els greixos naturals no tenen punt de fusió net i definit, sinó que presenten un interval de fusió definit per dues temperatures: la inicial o d'estovament lliscant i la final, o de desaparició de l'enterboliment.

MATERIAL

Anells de goma.

Cremador de Bunsen.

Lupa.

Pinces i suports.

Termòmetre fins 70°C, graduat en dècimes de °C.

Tub de Thiele

Tubs tancats per un extrem de aprox. 1'5 mm de diàmetre.

REACTIUS

Àcid sulfúric o un altre líquid no volàtil d'alt punt d'ebullició.

METODOLOGIA

- 1.- Introduir una petita quantitat de greix dins del tub, amb l'ajut d'un fil de platí o d'acer inoxidable (també es pot fondre el greix i ficar-lo a dins tot introduint el tub en ell); la columna de greix serà de 1 cm aproximadament.
- 2.- Introduir el tub amb el greix a l'interior d'un frigorífic durant uns minuts.
- 3.- Acoblar el tub al termòmetre, a les proximitats del bulb, amb l'ajut d'un anell de goma.
- 4.- Introduir el conjunt termòmetre-tub en un tub de Thiele, de manera que el bulb quedi entre les dues bifurcacions del colze, i que no toqui les parets del Thiele (cal fer un muntatge adient amb pinces, nous i suport).
- 5.- Apropar la flama del cremador Bunsen al colze del tub de Thiele, mantenint-lo a la distància suficient per que l'increment de temperatura sigui lent i controlable.
- 6.- Observar, amb l'ajut d'una lupa l'aspecte del tub del greix. La temperatura inicial és aquella en que s'observa un lliscament; la temperatura final és aquella en que desapareix l'enterboliment i el líquid apareix net.

Qüestionari 13.3.- Punt de fusió en greixos

- 1.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 2.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref 13.4
ACIDESA EN GREIXOS		

OBJECTE I FONAMENTS

Es coneix com acidesa o també grau d'acidesa el contingut en tant per cent d'àcids grassos lliures, expressats en àcid oleic.

L'índex d'acidesa expressa els mil·ligrams d'hidròxid de potassi necessaris per neutralitzar 1 gram de matèria grassa.

MATERIAL

Matrassos erlenmeyer de 250 ml (2).

Pipetes de 25 ml (2).

Balança analítica.

Bureta.

REACTIUS

Alcohol etílic pa.

Èter etílic pa.

Fenolftaleïna 1 % (dissoldre 1 gram de fenolftaleïna en 100 ml d'alcohol metílic pa)

Potassi hidròxid 0'1N sv etanòlica

METODOLOGIA

- 1.- Pesar entre 5 i 7 grams de greix en un erlenmeyer de 250 ml.
- 2.- Dissoldre en 25 ml d'alcohol etílic + 25 ml d'èter etílic.
- 3.- Valorar, agitant contínuament, amb dissolució de potassi hidròxid 0'1N sv etanòlica, fins viratge de l'indicador a color rosat.
- 4.- Efectuar un assaig en blanc amb una mescla èter + alcohol igual a l'emprada pel problema.

CÀLCULS

Sigui V el volum de reactiu consumit a la valoració del problema, Vo el volum de reactiu consumit a la valoració del blanc i m el pes de la mostra en grams.

El grau d'acidesa s'expressa com el % d'àcids grassos expressats en àcid oleic:

$$\text{grau d'acidesa} = \frac{2'825 \cdot (V - V_0)}{m}$$

L'índex d'acidesa és la quantitat, en mil·ligrams, d'hidròxid de potassi necessari per neutralitzar un gram de greix:

$$\text{índex d'acidesa} = \frac{5'61 \cdot (V - V_0)}{m}$$

OBSERVACIONS

Per mostres amb grau d'acidesa superior a 2, és convenient emprar hidròxid de potassi sv 0'5N etanòlica en lloc de 0'1N; en aquest cas, i per fer el càlcul, cal multiplicar les expressions anteriors per 5.

Si el greix fos de color intens (cas, per exemple, d'alguns olis de peix en brut o de residus d'oli de balena o d'altres) es precis utilitzar un pHmetre com a medi d'indicació del punt final.

Qüestionari 13.4.- Acidesa en greixos

- 1.- Escriure la reacció que té lloc durant la valoració.
- 2.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 3.- Deduir raonadament les fórmules de l'apartat "càlculs".
- 4.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 13.5
RESIDU SÒLID EN GREIX		

OBJECTE I FONAMENTS

L'objecte és la determinació dels residus sòlids insolubles en èter etílic i alcohol.

MATERIAL

Balança analítica.
Dessecador.
Embut cònic.
Erlenmeyer de 250 ml
Estufa de dessecació.
Paper de filtre.
Proveta de 25 ml.
Vareta de vidre.
Vas de pp de 100 ml

REACTIUS

Alcohol etílic pa.
Èter etílic pa.
Gel de sílice (pel dessecador).

METODOLOGIA

- 1.- Posar un paper de filtre durant uns minuts a l'estufa de dessecació a 105°C, guardar en el dessecador $\frac{1}{2}$ hora, i pesar.
- 2.- Pesar, en un vas de pp de 100 ml, al voltant de 10 grams de mostra i dissoldre en 50 ml de mescla d'èter i alcohol a parts aproximadament iguals.
- 3.- Filtrar sobre un erlenmeyer, rentant el vas amb una mica de mescla èter-alcohol.
- 4.- Rentar el filtre amb petites porcions de mescla èter-alcohol fins que quedi desengreixat.
- 5.- Posar el filtre a l'estufa durant 10 minuts, amb compte de no perdre el residu, i durant $\frac{1}{2}$ hora en el dessecador.
- 6.- Pesar el filtre amb el residu.

CÀLCULS

El resultat s'expressa en tant per cent de residu sòlid insoluble:

$$\%(\text{residu}) = \frac{m_2 - m_1}{m} \cdot 100$$

Essent m_1 el pes del paper de filtre, m_2 el pes del paper de filtre amb el residu i m el pes de la mostra.

Qüestionari 13.5.- Residu sòlid en greix

- 1.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 2.- Deduir raonadament les fórmules de l'apartat "càlculs".
- 3.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 13.6
ÍNDIX DE SAPONIFICACIÓ EN GREIXOS		

OBJECTE I FONAMENTS

L'índex de saponificació expressa el pes en mil·ligrams d'hidròxid de potassi necessari per saponificar 1 gram de greix.

Si el greix es acceptablement pur, el mètode constitueix un sistema de classificació dels olis i greixos, doncs l'índex de saponificació està inversament relacionat amb la longitud dels àcids grassos constituents dels glicèrids del greix.

El mètode és aplicable a olis i greixos amb un contingut de ceres no superior al 5 %.

MATERIAL

Balança analítica.

Bureta.

Matrassos erlenmeyer de 250 ml, esmerilat 29/32 (2).

Pipeta aforada de 25 ml.

Plaques calefactores (2)

Refrigerants de reflux, esmerilat 29/32 (2)

REACTIUS

Àcid clorhídric 0'5N sv

Potassi hidròxid 0'5N sv etanòlica

Fenolftaleïna sol al 1 %.

METODOLOGIA

- 1.- Pesar exactament al voltant de 2 grams de mostra en un erlenmeyer de 250 ml esmerilat.
- 2.- Afegir 25 ml exactes de potassi hidròxid 0'5N sv etanòlica i adaptar-hi el refrigerant de reflux.
- 3.- Portar a ebullició i mantenir-la 60 minuts.
- 4.- Retirar de la font de calor i afegir 4 ó 5 gotes de indicador de fenolftaleïna; valorar quan encara està calent amb la dissolució de HCl 0'5N sv.
- 5.- Realitzar un assaig en blanc en les mateixes condicions.

CÀLCULS

El resultat representa els mil·ligrams d'hidròxid de potassi necessaris per saponificar 1 gram de greix, i s'expressa com "Índex de saponificació":

$$\text{Índex de saponificació} = \frac{56'1 \cdot N \cdot (V - V')}{m}$$

a on:

N = Normalitat de la dissolució d'àcid clorhídric emprada

V = Volum en ml utilitzat de dissolució d'àcid clorhídric a la prova en blanc.

V' = Volum en ml utilitzat de dissolució d'àcid clorhídric a l'assaig.

OBSERVACIONS

Alguns greixos de difícil saponificació necessiten un temps de reflux superior als 60 minuts.

Qüestionari 13.6.- Índex de saponificació en greixos

- 1.- Escriure la reacció de saponificació (subapartats 2 i 3 de la metodologia).
- 2.- Escriure la reacció de valoració (subapartat 4 de la metodologia).
- 3.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 4.- Deduir raonadament la fórmula de l'apartat "càlculs".
- 5.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 13.7
ÍNDIX DE IODE EN GREIXOS		

OBJECTE I FONAMENTS

L'índex de iode d'un greix depèn del seu grau d'insaturació (el iode es fixa en els enllaços insaturats de les cadenes de glicèrids).

Es determina afegint a la mostra un excés de reactiu halogenat i valorant el reactiu que no ha reaccionat.

MATERIAL

Balança analítica

Bureta.

Erlenmeyers de 250 ml, esmerilats 29/32, amb tap (2)

Flascó rentador.

Pipeta aforada de 10 ml.

Pipeta aforada de 25 ml.

Proveta de 10 ml.

Proveta de 100 ml.

REACTIUS

Aigua destil·lada

Midó soluble (dissoldre en aigua calenta, fins ebullició).

Iodur de potassi 10 % p/v (dissolvent 50 grams de iodur de potassi pa, exempt de iode i iodats fins a 500 ml en aigua destil·lada)

Tetraclorur de carboni pa inert al reactiu de Hanus.

Tiosulfat de sodi 0'1N sv

Reactiu de Hanus 0'2N re.

METODOLOGIA

- 1.- Pesar una quantitat de mostra entre 0'2 i 0'25 grams, exempta d'humitat, en matràs erlenmeyer de 250 ml, esmerilat.
- 2.- Dissoldre la mostra en 10 ml de tetraclorur de carboni.
- 3.- Afegir ràpidament 25 ml exactes de reactiu de Hanus.
- 4.- Tapar ràpidament i mesclar amb agitació suau. Deixar reposar a les fosques per 1 hora, sacsejant de tant en tant.
- 5.- Afegir 20 ml de iodur de potassi al 10 % i 100 ml d'aigua. Mesclar.
- 6.- Valorar amb tiosulfat de sodi 0'1N, amb agitació constant, afegint l'indicador de dissolució de

midó soluble una mica abans de finalitzar la valoració (viratge per decoloració).

7.- Realitzar una prova en blanc en idèntiques condicions.

CÀLCULS

L'índex de iode és el pes de iode absorbit per cent parts en pes del greix, i s'expressa com "índex de iode":

$$\text{Índex de iode} = \frac{(V - V')}{m} \cdot 1269$$

OBSERVACIONS

Si no es disposa de reactiu de Hanus, pot preparar-se dissolvent 10 grams de iode monobromur prs en 500 ml d'àcid acètic glacial pa (guardar en flascó topazi).

Qüestionari 13.7. - Índex de iode en greixos

- 1.- Escriure la reacció de fixació del iode en els enllaços insaturats.
- 2.- Quina funció té el iodur de potassi en aquest procediment?
- 3.- Escriure la reacció de valoració (subapartat 6 de la metodologia)
- 4.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 5.- Deduir raonadament la fórmula de l'apartat "càlculs".
- 6.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 13.8
ÍNDIX DE PERÒXIDS EN GREIXOS		

OBJECTE I FONAMENTS

S'anomena "*índex de peròxids*" als mil·liequivalents d'oxigen actiu continguts en un quilogram de greix, calculats a partir del iode alliberat del iodur de potassi, operant en les condicions especificades a la metodologia analítica.

Les substàncies que oxiden el iodur de potassi en les condicions descrites, es suposa que són peròxids o d'altres productes similars provinents de l'oxidació del greix, per la qual cosa l'índex obtingut pot considerar-se, amb prou aproximació, com una expressió quantitativa dels peròxids del greix.

MATERIAL

Balança analítica.

Bureta.

Flascó rentador

Matrassos erlenmeyer esmerilats 29/32, amb tap (2).

Proveta de 10 ml.

Proveta de 100 ml.

Proveta de 25 ml

REACTIUS

Dissolució aquosa extemporània de tiosulfat de sodi 0'01N, preparada a partir de tiosulfat de sodi 0'1N sv (10 ml fins a 100 ml).

Solució indicadora de midó al 1 %.

Dissolució saturada de iodur de potassi (preparació extemporània a partir de iodur de potassi pa).

Aigua destil·lada.

METODOLOGIA

- 1.- Pesar una quantitat adient de greix en un matràs erlenmeyer net i perfectament sec.
- 2.- Afegir 10 ml de cloroform pa i dissoldre ràpidament el greix per agitació; afegir 15 ml d'àcid acètic glacial pa i 1 ml de dissolució saturada de iodur de potassi.
- 3.- Tancar el matràs i agitar suaument per rotació durant 1 minut; deixar 5 minuts en un lloc fosc.
- 4.- Afegir 75 ml d'aigua destil·lada, sacsejar amb energia i valorar el iode alliberat amb dissolució de tiosulfat de sodi 0'01N, utilitzant com indicador dissolució de midó.
- 5.- Realitzar paral·lelament un assaig en blanc.

CÀLCULS

L'índex de peròxids (IP) s'expressa en mil·liequivalents d'oxigen actiu per quilogram de mostra:

$$IP = \frac{(V - V') \cdot N \cdot 1.000}{m}$$

a on:

V = volum de dissolució de tiosulfat de sodi, en ml, consumit a l'assaig.

V' = volum de dissolució de tiosulfat de sodi, en ml, consumit en el blanc.

N = normalitat de la dissolució de tiosulfat de sodi.

m = pes, en grams, de la mostra.

OBSERVACIONS

La quantitat de mostra a pesar serà:

índex presuposat	pes mostra (grams)
0 - 20	1'2 - 2
20 - 30	0'8 - 1'2
30 - 50	0'5 - 0'8
50 - 100	0'3 - 0'5

Per olis d'índexs inferiors a 20 es recomana emprar tiosulfat de sodi 0'002N.

Qüestionari 13.8. - Índex de peròxids en greixos

- 1.- Escriure la reacció entre els peròxids i el iodur de potassi.
- 2.- Escriure la reacció de valoració (subapartat 4 de la metodologia).
- 3.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 4.- Deduir raonadament la fórmula de l'apartat "càlculs". Deduir-ne, a més una altra per índexs de iode baixos (utilització de tiosulfat de sodi 0'002N).
- 5.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 13.9
FRACCIÓ INSAPONIFICABLE EN GREIXOS		

OBJECTE I FONAMENTS

Fracció insaponificable d'un greix és el pes en grams de substàncies no saponificables, insolubles en aigua i solubles en el dissolvent emprat a la determinació, contingudes en 100 grams de greix. El mètode descrit és satisfactori per greixos de contingut insaponificable baix i mig.

MATERIAL

Balança analítica.
Bany d'aigua.
Dessecador.
Embut de decantació de 500 ml.
Estufa de dessecació.
Flascó rentador.
Matrassos esmerilats 29/32 de 250 ml (2)
Muntatge per destil·lació.
Placa calefactora.
Proveta de 25 ml
Proveta de 50 ml
Refrigerant de reflux

REACTIUS

Aigua destil·lada.
Alcohol etílic del 96% pa.
Èter de petroli pe 40-60 °C pa.
Gel de sílice.
Hidròxid de potassi 2N, sol alcohòlica (dissoldre 28'3 grams de hidròxid de potassi del 85 % en lletilles pa fins a 250 ml en alcohol etílic del 96 % pa).

METODOLOGIA

- 1.- Pesar exactament al voltant de 5 grams de greix exempt d'humitat en un matràs esmerilat 29/32.
- 2.- Afegir 50 ml de solució alcohòlica d'hidròxid de potassi 2N i deixar 1 hora a reflux suau.
- 3.- Separar la font de calor i afegir per la part superior del refrigerant 50 ml d'aigua destil·lada; sacsejar i deixar refredar.
- 4.- Transvasar el contingut del matràs a un embut de decantació, rentant el matràs en petites porcions d'èter de petroli, fins totalitzar 50 ml.

- 5.- Agitar enèrgicament durant 1 minut. Deixar en repòs per separar les dues fases. Passar a un altre embut de decantació la fase sabonosa hidroalcohòlica.
- 6.- Extraure la fase sabonosa del segon embut de decantació amb 50 ml d'èter de petroli; separar les dues fases, transferint la fase sabonosa al matràs de reflux i la fase etèria al 1er embut de decantació.
- 7.- Passar la fase sabonosa del matràs de reflux al segon embut de decantació, rentant amb 50 ml d'èter de petroli; fer una altra extracció.
- 8.- Rebutjar la fase sabonosa i reunir totes les fases etèries en el 1r embut de decantació. Rentar tres cops amb porcions de 50 ml de alcohol-aigua (1:1).
- 9.- Transferir la fase etèria a un matràs de 250 ml esmerilat 29/32, sec i prèviament tarat i eliminar el dissolvent per destil·lació al bany d'aigua bullint (pot utilitzar-se, per comoditat un muntatge de Shoxlet).
- 10.- Assecar en estufa a 105°C per 20 minuts i refredar en dessecador. Repetir la operació fins pes constant.

CÀLCULS

Resultat expressat en % de fracció insaponificable:

$$\text{Insaponificable(\%)} = \frac{100 \cdot m'}{m}$$

essent m' el pes del residu insaponificable i m el pes de la mostra.

OBSERVACIONS

En els certificats d'anàlisi cal indicar "*mètode de l'èter de petroli*".

Qüestionari 13.9. - Fracció insaponificable en greixos

- 1.- Escriure la reacció de saponificació d'un greix.
- 2.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 3.- Deduir raonadament la fórmula utilitzada en els càlculs.
- 4.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 13.10
ÀCIDS OXIDATS EN GREIXOS		

OBJECTE I FONAMENTS

Aquest mètode determina els àcids oxidats continguts en un greix, expressats com a matèria grassa insoluble en èter de petroli.

MATERIAL

Balança analítica.
 Bany d'aigua.
 Càpsula de porcellana.
 Cremador Bunsen.
 Dessecador.
 Embuts de decantació (2).
 Estufa de dessecació.
 Flascó rentador.
 Forn de mufla,
 Matrassos esmerilats 29/32 de 250 ml (2).
 Placa calefactora.
 Proveta de 100 ml.
 Proveta de 25 ml.
 Proveta de 50 ml
 Refrigerant de reflux.
 Triangle ceràmic.

REACTIUS

Àcid clorhídric 1N sv.
 Aigua destil·lada.
 Alcohol etílic neutre 96 % pa.
 Èter de petroli 40-60°C bidestil·lat pa.
 Èter etílic pa.
 Gel de sílice.
 Hidròxid de potassi 2N sv alcohòlica (per a la seva preparació, consultar la pràctica 13.9).

METODOLOGIA

- 1.- Pesar exactament al voltant de 5 grams de greix exempt d'aigua en un matràs esmerilat 29/32 de 250 ml.
- 2.- Afegir 50 ml de dissolució alcohòlica d'hidròxid de potassi 2N i deixar 1 hora a reflux suau.
- 3.- Separar la font de calor i afegir per la part superior del refrigerant 25 ml d'aigua destil·lada;

sacsejar i deixar refredar.

- 4.- Transvasar el contingut del matràs a un embut de decantació, rentant el matràs amb 25 ml d'aigua destil·lada i 100 ml d'èter etílic pa.
- 5.- Tapar i sacsejar durant 1 minut. Deixar reposar per separar dues capes. Si apareix una emulsió persistent, afegir unes gotes d'àcid clorhídric 1N sv.
- 6.- Separar la capa hidroalcohòlica i transferir-la al matràs de saponificació; passar la capa etèria a un segon embut de decantació, i rentar-la dos cops amb porcions de 40 ml d'aigua destil·lada; ajuntar les aigües de rentat amb la fracció hidroalcohòlica.
- 7.- Connectar el matràs de la fase hidroalcohòlica i de les aigües de rentat de l'èter a un muntatge per destil·lació (pot servir un Shoxlet) i evaporar fins eliminació del alcohol etílic i de les traces d'èter (prova d'olor).
- 8.- Transvasar el contingut del matràs a un embut de decantació, arrossegant el residu amb aigua destil·lada, fins totalitzar un volum de aproximadament 150 ml.
- 9.- Afegir dissolució d'àcid clorhídric 1N sv fins que no quedi escuma després de sacsejar durant 2 minuts (començar de cop amb 51 ml de solució àcida).
- 10.- Afegir 100 ml d'èter de petroli i sacsejar 1 minut; deixar reposar un mínim de 12 hores.
- 11.- Decantar l'aigua àcida i filtrar la fracció etèria sobre un filtre lent.
- 12.- Rentar dues vegades el tub de decantació amb 25 ml d'èter de petroli i filtrar (si cal, fer més rentats amb petites porcions).
- 13.- Dissoldre amb alcohol etílic calent els àcids oxidats (3 o 4 rentats amb porcions de 25 ml) continguts al tub de decantació i al filtre i transferir la solució alcohòlica d'àcids oxidats a un matràs esmerilat 29/32 de 250 ml.
- 14.- Evaporar l'alcohol fins un volum molt petit (uns quants ml).
- 15.- Transvasar el residu a una càpsula de porcellana calcinada i tarada, rentant amb petites porcions d'èter etílic.
- 16.- Evaporar en bany d'aigua, fins desaparició de l'olor d'èter i d'alcohol i aparició d'una olor agre
- 17.- Dessecar en estufa a 103°C durant 1/2 hora; refredar en dessecador. Repetir el procés fins pes constant.
- 18.- Calcinar el residu (per determinar les sals minerals extretes conjuntament amb els àcids oxidats), deixar refredar la càpsula en el dessecador i pesar.

CÀLCULS

Resultat expressat en % d'àcids oxidats:

$$\text{Àcids oxidats(\%)} = \frac{100 \cdot (m' - m'')}{m}$$

a on:

m' = pes en grams de àcids oxidats + sals minerals.

m'' = pes en grams de les sals minerals.

m = pes en grams de la mostra.

OBSERVACIONS

El mètode té caràcter totalment empíric, i cal observar estrictament les condicions descrites. Qualsevol modificació assajada cal que sigui verificada acuradament i contrastada estadísticament.

Qüestionari 13.10.- Àcids oxidats en greix

- 1.- Quin tipus de compostos poden originar-se per l'oxidació dels àcids grassos?; escriure'n la fórmula d'uns quants.
- 2.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 3.- Deduir raonadament la fórmula utilitzada en els càlculs.
- 4.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 15.1
IDENTIFICACIÓ DE MIDÓ EN PRODUCTES CÀRNICS		

OBJECTE I FONAMENTS

El midó es identificable per donar coloració blava amb el iode.

MATERIAL

Balança granatària.
Flascó comptagotes.
Flascó rentador.
Matràs erlenmeyer de 100 ml.
Pipeta de 10 ml.
Placa calefactora.
Tub d'assaig de 30 ml.

REACTIUS

Aigua destil·lada.
Solució iode-iodurada (mesclar 1 gram de iode resublimat prs i 2 grams de iodur de potassi pa en aigua destil·lada fins 200 ml. Guardar en flascó comptagotes).

METODOLOGIA

Partir de mostra triturada:

- 1.- Introduir 10 grs de mostra finament triturada a un erlenmeyer de 100 ml.
- 2.- Afegir uns 40 ml d'aigua destil·lada i portar a ebullició; mantenir la ebullició uns 5 minuts i després refredar exteriorment el matràs al raig d'aigua freda.
- 3.- Prendre amb una pipeta, travessant la capa greixosa superior, 10 ml del líquid inferior i passar-lo a un tub d'assaig.
- 4.- Afegir 5 ml de dissolució iode-iodurada; **coloració blava (o blau-negra) indica assaig positiu.**

Qüestionari 15.1.- Identificació de midó en productes càrnics

- 1.- Escriure la reacció que té lloc al subapartat 4 de la metodologia.
- 2.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 3.- Deduir raonadament la fórmula utilitzada en els càlculs.
- 4.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 15.2
SUCRES REDUCTORS		

OBJECTE I FONAMENTS

Sucres reductors són aquells que com la glucosa, fructosa, lactosa i maltosa presenten un carboni lliure a la seva estructura, i poden reduir, en determinades condicions, les sals cúpriques.

El mètode analític es basa en la eliminació de totes les matèries reductores que no siguin sucres mitjançant defecació a partir dels reactius de Carrez I i II, prèvia dilució dels sucres en medi hidroetanòlic. Valoració dels sucres reductors segons el mètode de Luff.

MATERIAL

Agitador mecànic
Balança analítica
Cremador Bunsen
Bureta de 25 ml
Embut cònic
Flascó rentador
Flascons comptagotes
Matràs aforat de 200 ml
Matràs aforat de 250 ml
Matrassos erlenmeyer esmerilats de 250 ml (2)
Paper de filtre
Pipeta aforada de 10 ml
Pipetes aforades de 25 ml (2)
Pipetes aforades de 5 ml (2)
Pipetes graduades de 25 ml (2)
Placa calefactora
Proveta de 250 ml
Refrigerant de reflux
Rellotge
Tela metàl·lica amb forat al mig de 6 cm de diàmetre

REACTIUS

Etanol al 40 % v/v.
Dissolució de Carrez I (dissoldre 24 grams d'acetat de zinc pa i 3 grams d'àcid acètic glacial pa en aigua destil·lada fins 100 ml).
Dissolució de Carrez II (dissoldre 10'6 grams de ferrocianur potàssic trihidrat pa i afegir aigua destil·lada fins a 100 ml).
Tiosulfat de sodi 0'1N sv.
Dissolució de midó soluble al 1%

Dissolució d'àcid sulfúric 6N.
 Dissolució de iodur de potassi al 30 % p/v
 Pedra tosca granulada.
 Alcohol iso-amílic pa
 Reactiu de Luff de.
 Aigua destil·lada.

METODOLOGIA

- 1.- Pesar 2'5 grams de mostra i introduir-la en un matràs aforat de 250 ml.
- 2.- Afegir 200 ml d'etanol al 40 %(v/v) i mesclar durant 1 hora en agitador mecànic.
- 3.- Afegir 5 ml de dissolució de Carrez I i agitar 1 minut.
- 4.- Afegir 5 ml de dissolució de Carrez II i agitar 1 minut.
- 5.- Arrasar a 250 ml amb dissolució etanòlica; homogeneïtzar i filtrar.
- 6.- Prendre 200 ml del filtrat i evaporar fins reduir el volum aproximadament a la meitat.
- 7.- Transvasar el residu a un matràs aforat de 200 ml, rentant amb aigua calenta; refredar, arrasar amb aigua i filtrar si s'aprecia turbidesa.
- 8.- Prendre 25 ml del reactiu de Luff i passar a un erlenmeyer esmerilat de 250 ml. Afegir una quantitat de la dissolució del problema preparada en el punt 7 que no contingui més de 60 mg de sucres reductors i que el seu volum sigui inferior a 25 ml; afegir-hi aigua amb quantitat suficient per completar els 25 ml de dissolució problema.
- 9.- Afegir una mica de pedra tosca i escalfar amb agitació.
- 10.- Situar ràpidament l'erlenmeyer sobre una tela metàl·lica amb un forat de uns 6 cm de diàmetre i escalfar, regulant la flama de manera que solament s'escalfi el cul de l'erlenmeyer; acoblar immediatament un refrigerant de reflux i fer bullir durant 10 minuts exactes.
- 11.- Refredar immediatament al raig d'aigua freda durant 5 minuts.
- 12.- Afegir 10 ml de dissolució de iodur de potassi, i tot seguit i amb cura, 25 ml d'àcid sulfúric 6N.
- 13.- Valorar amb dissolució de tiosulfat de sodi 0'1N fins aparició de coloració groguenca; afegir un petit raig de dissolució de midó i acabar de valorar.
- 14.- Fer un blanc, sense bullir, amb 25 ml de reactiu de Luff, 25 ml d'aigua, 10 ml de dissolució de iodur de potassi i 25 ml de dissolució d'àcid sulfúric.

CÀLCULS

Establir, per medi de la taula adjunta, la quantitat de glucosa en mil·ligrams que correspon a la diferència dels volums de tiosulfat consumit a les dues valoracions.
 El resultat s'expressa en % de sucres reductors, expressats en glucosa:

$$\text{Sucres reductors (\%)} = \frac{25.000 \cdot q}{v \cdot m}$$

essent **q** els mil·ligrams de glucosa segons la taula adjunta, **v** el volum de la mostra a la valoració i **m** el pes de la mostra en mil·ligrams.

OBSERVACIONS

Si durant l'ebullició es formés una exagerada quantitat d'escuma, pot afegir-se 1 ml d'alcohol iso-amílic (per la part superior del refrigerant).

Reservar la resta del líquid obtingut en el punt 7 i que no s'utilitza, per la determinació de sucres totals (pràctica 15.3).

Per a 25 ml de reactiu de Luff-Schoorl:

tiosulfat 0'1N	glucosa - fructosa		lactosa		maltosa	
ml	mg	inc.	mg	inc.	mg	inc.
1	02'4	2'4	03'6	3'6	03'9	3'9
2	04'8	2'4	07'3	3'7	07'8	3'9
3	07'2	2'5	11'0	3'7	11'7	3'9
4	09'7	2'5	14'7	3'7	15'6	3'9
5	12'2	2'5	18'4	3'7	19'6	3'9
6	14'7	2'5	22'1	3'7	23'5	4'0
7	17'2	2'6	25'8	3'7	27'5	4'0
8	19'8	2'6	29'5	3'7	31'5	4'0
9	22'4	2'6	33'2	3'8	35'5	4'0
10	25'0	2'6	37'0	3'8	39'5	4'0
11	27'6	2'7	40'8	3'8	43'5	4'0
12	30'3	2'7	44'6	3'8	47'5	4'1
13	33'0	2'7	48'4	3'8	51'6	4'1
14	35'7	2'8	52'2	3'8	55'7	4'1
15	38'5	2'8	56'0	3'9	59'8	4'1
16	41'3	2'9	59'9	3'9	63'9	4'1
17	44'2	2'9	63'8	3'9	68'0	4'2
18	47'1	2'9	67'7	4'0	72'2	4'3
19	50'0	3'0	71'7	4'0	76'5	4'4
20	53'0	3'0	75'7	4'1	80'9	4'5
21	56'0	3'1	79'8	4'1	85'4	4'6
22	59'1	3'1	83'9	4'1	90'0	4'6
23	62'2		88'0		94'6	

Qüestionari 15.2.- Sucres reductors

- 1.- Escriure les reaccions que tenen lloc entre els subapartats 8 al 13 (inclosos) de la metodologia
- 2.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 3.- Deduir raonadament la fórmula utilitzada en els càlculs.
- 4.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 15.3
SUCRES TOTALS		

OBJECTE I FONAMENTS

Eliminació de totes les matèries reductores que no siguin sucres mitjançant defecació a partir dels reactius de Carrez I i II, prèvia dilució dels sucres en medi hidroetanòlic. Valoració dels sucres segons el mètode de Luff, prèvia inversió de tots ells.

MATERIAL

(A més del necessari per la pràctica 15.2)

Bany d'aigua.

Matràs aforat de 50 ml.

Pipeta aforada de 25 ml

Pipetes graduades de 20 ml (2)

REACTIUS

(A més dels necessaris per la pràctica 15.2)

Àcid clorhídric 0'1N sv.

Àcid clorhídric 4N (1 part de HCl conc pa i 2 parts d'aigua destil·lada)

Dissolució de roig de metilè al 0'1% en alcohol.

Hidròxid de sodi 0'1N sv.

METODOLOGIA

- 1.- Procedir com en els punts 1 al 7 de la pràctica 15.2.
- 2.- Prendre 50 ml de la dissolució anterior i portar a un matràs aforat de 100 ml; afegir unes gotes de dissolució de roig de metilè i, lentament, àcid clorhídric 4N fins viratge al roig.
- 3.- Afegir 15 ml d'àcid clorhídric 0'1N i submergir en bany d'aigua a ebullició durant 30 minuts.
- 4.- Refredar fins la temperatura ambient i afegir 15 ml de dissolució d'hidròxid de sodi 0'1N; arrasar a 100 ml amb aigua i homogeneïtzar.
- 5.- Procedir com en els punts 8 al 14 de la pràctica 15.2.

CÀLCULS

Establir, per medi de la taula adjunta a la pràctica 15.2, la quantitat de glucosa en mil·ligrams. El resultat s'expressa en % de sucres totals, expressats en glucosa:

$$\text{Sucres totals (\%)} = \frac{50.000 \cdot q}{v \cdot m}$$

essent **q** els mil·ligrams de glucosa segons la taula, **v** el volum de la mostra a la valoració i **m** el pes de la mostra en mil·ligrams.

OBSERVACIONS

Si durant l'ebullició es formés una exagerada quantitat d'escuma, pot afegir-se 1 ml d'alcohol iso-amílic (per la part superior del refrigerant).

Pot expressar-se el resultat en sacarosa, multiplicant l'expressió en glucosa pel factor 0'95.

El tant per cent de sacarosa és igual a la diferència entre els sucres totals i els reductors, expressats en glucosa i multiplicat pel factor 0'95.

Qüestionari 15.3. - Sucres totals

- 1.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 2.- Deduir raonadament la fórmula utilitzada en els càlculs.
- 3.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 15.4
MIDÓ (ESPECTROFOTOMETRIA)		

OBJECTE I FONAMENTS

Eliminació dels sucres per extracció, solubilització del midó i reacció colorimètrica amb reactiu d'antrona.

MATERIAL

Balança analítica.
Bany Maria amb regulació de temperatura.
Centrífuga.
Embut cònic.
Espectrofotòmetre.
Flascó rentador.
Escaleta.
Matràs aforat de 200 ml.
Matràs erlenmeyer de 100 ml.
Matrassos aforats de 100 ml (8)
Paper de filtre
Paper mil·limetrat.
Pipetes de 5 ml.
Tubs d'assaig de 20 ml.
Tubs de centrífuga de 100 ml, amb tap esmerilat.
Tubs per espectrofotòmetre.

REACTIUS

Àcid perclòric del 52% (preparat a partir d'àcid perclòric del 60% pa i aigua destil·lada).
Aigua destil·lada.
Alcohol etílic al 80 % (a partir d'alcohol etílic del 96% pa i aigua destil·lada).
Alcohol etílic del 96 % pa.
Èter de petroli 50-70°C pa.
Reactiu d'antrona (preparació extemporània, màxim 4 dies a 0°C; dissoldre 0'2 grams d'antrona pa en 100 ml d'àcid sulfúric del 96% pa).

METODOLOGIA

- 1.- Pesar entre 0'4 i 2 grams de mostra (segons sigui el seu suposat contingut de midó) en un erlenmeyer de 100 ml.
- 2.- Afegir 25 ml de dissolució alcohol-éter, tapar i sacsejar amb energia 3 o 4 minuts.

- 3.- Passar a un tub de centrífuga de 100 ml, rentant amb una mica d'alcohol-éter i centrifugar; decantar i deixar a banda la dissolució alcohol-éter.
- 4.- Afegir 10 ml d'alcohol etílic calent al 80 %, sacsejar i centrifugar; decantar i deixar a banda la dissolució alcohòlica. Repetir l'extracció amb alcohol.
- 5.- Afegir 5 ml d'aigua destil·lada i agitar.
- 6.- Afegir 6'5 ml de dissolució d'àcid perclòric al 52% i agitar durant 5 minuts; deixar reposar 15 minuts.
- 7.- Afegir 20 ml d'aigua destil·lada i centrifugar. Passar el líquid a un matràs aforat de 100 ml.
- 8.- Repetir els passos 5 i 6, però deixant reposar 30 minuts.
- 9.- Transferir tot (líquid i residu) al matràs aforat, sacsejar, arrasar i homogeneïtzar.
- 11.- Filtrar; prendre 5 ml de filtrat i portar a matràs aforat de 200 ml, arrasar i homogeneïtzar.
- 12.- Pipetejar 5 ml de la dissolució anterior a un tub i afegir 10 ml de reactiu d'antrona; mesclar i escalfar durant 5 minuts en bany d'aigua a 100°C; refredar tot seguit a temperatura ambient i determinar l'absorbància a 630 nm enfront d'un blanc amb aigua i reactiu, abans de que passin 30 minuts.

Corba patró de glucosa

- 1.- Preparar una dissolució mare de glucosa, dissolvent 0'1 grams de D(+)- glucosa anhidra pa fins a 100 ml en aigua destil·lada.
- 2.- Preparar dissolucions de treball dissolvent 1,2,5,7 i 10 ml de dissolució mare de glucosa fins a 100 ml en aigua destil·lada; les concentracions corresponents son de 0'01, 0'02, 0'05, 0'07 i 0'10 mg/ml.
- 3.- Procedir amb cada dissolució de treball com en el punt 12 de la metodologia i construir una corba de calibrat, representant les concentracions de glucosa (abscisses) enfront de l'absorbància (ordenades).

CÀLCULS

Determinar la concentració corresponent de glucosa a la corba de calibrat, expresat en glucosa equivalent.

$$\text{Midó (\%)} = \frac{400 \cdot C}{m}$$

C = concentració de glucosa a la corba de calibrat en mg/ml.

m = massa de mostra en grams.

OBSERVACIONS

Per mostres amb un contingut en sucres alt, cal repetir més cops les extraccions dels primers passos.

Si es vol expressar el resultat com a "midó real", caldrà tenir en compte que el factor de conversió glucosa/midó és de 1'06

Qüestionari 15.4.- Midó (espectrofotometria)

- 1.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 2.- Deduir raonadament la fórmula utilitzada en els càlculs.
- 3.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 16.1
ANÀLISI ORGANOLÈPTICA DEL VI		

OBJECTE I FONAMENTS

Anàlisi basada en l'observació visual i olfactiva i amb la degustació del vi.

MATERIAL

Copes de cristall fi, incolores i perfectament transparents, de forma ovoide o de tulipa.

Tovalla.

Ganivet petit.

Llevataps del tipus de tirabuixó

METODOLOGIA

- 1.- Treure els precintes del tap, tallant tot al voltant del coll i a mig dit de la boca; netejar la boca de l'ampolla amb una tovalla neta i inodora.
- 2.- Treure el tap, amb ajut del llevataps, i tenint cura de que no el travessi i llençar una petita part del vi (per tal d'eliminar eventuais restes del tap).
- 3.- Omplir la copa a 1/3 de la seva capacitat, observant alhora si es formen bombolles més o menys persistents (anotar); sostenir la copa per la base, utilitzant els dits polze, índex i central.
- 4.- Apreciar visualment el color.
- 5.- Sacsejar el vi a la copa i observar l'aspecte i característiques de l'escuma formada.
- 6.- Observar si el vi és tèrbol, clar o brillant i la presència de dipòsits (prova de netedat).
- 7.- Sacsejar amb cura, fent girar el vi i ensumar, apreciand i caracteritzant l'olor.
- 8.- Tastar el vi, sense apurar la copa, fent-lo lliscar suaument per la llengua i deixant-lo uns segons a l'interior de la boca abans d'empassar-se'l o d'escopir-lo.
- 9.- Si s'han de fer altres anàlisis organolèptiques, esbandir-se la boca amb aigua mineral.

INTERPRETACIÓ DELS RESULTATS

Utilitzar les següents qualificacions de color per vins negres o roigs:

- *roig robí*
- *morat*
- *ceba*
- *viratge groguenc*.

Segons l'intensitat del color, el vi negre es classifica en:

- *negre* (també anomenat *tint*)
- *rosat*
- *claret*

segons tingui més o menys color dins d'aquestes qualificacions, es diu que té *molta* o *poca capa*.

En vins blancs, utilitzar les qualificacions següents de color:

- *verd*
- *quasi incolor*
- *groc*
- *daurat*
- *ambre*
- *palla*
- *palla fosca (ó rància)*

Formació d'escuma; observar la quantitat, la persistència i el color.

Els passos 7 i 8 de la metodologia consisteixen la "*degustació o tast*"; cal fer consignar: olors:

vinós, fruitat, floral, jove, àcid, intens, suau, tec, així com olors que puguin denotar defectes o alteracions.

paladar:

amb cos, vellutat, lleuger, fresc, àcid, agre, etc.

L'apreciació aproximada del grau alcohòlic es fa en la degustació, així com la del temps, si bé en aquesta última apreciació també pot ajudar l'observació visual.

OBSERVACIONS

Si s'ha de fer un nombre relativament alt (més de 3 ó 4) d'anàlisis organolèptiques, no s'ha d'empassar el vi, per tal d'evitar alteracions en la capacitat analítica del laborant.

En les hores anteriors a l'anàlisi organolèptica no s'han de menjar ous, formatge, ni beure cap mena de beguda alcohòlica ni fumar ni haver ingerit cap aliment o beguda que deixi regust a la boca.

Qüestionari 16.1.- Anàlisi organolèptica del vi

1.- Per què no s'han de menjar ous durant les hores immediatament anteriors a la pràctica?

2.- Per què no s'ha de menjar formatge durant les hores immediatament anteriors a la pràctica?

3.- Fer un informe ("nota de tast") per cadascun dels vins analitzats on es farà constar (no utilitzar butlletins d'anàlisi; fer-ho en fulls corrents de paper):

color i intensitat del color

capa del color

quantitat, persistència i color de l'escuma (si n'hi ha)

olors

paladar

apreciació aproximada del grau alcohòlic.

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 16.2
TÍTOL ALCOHOMÈTRIC DEL VI		

OBJECTE I FONAMENTS

Es defineix el títol alcohomètric com el nombre de litres d'alcohol continguts en 100 litres de vi, mesurats ambdós a la temperatura de 20°C.

Es determina per destil·lació simple del vi, en medi alcalí (per evitar arrossegament de l'acidesa volàtil) i determinant el contingut alcohòlic del destil·lat per mesura de la seva densitat.

MATERIAL

Areòmetre.

Flascó rentador.

Matràs aforat de 250 ml.

Muntatge per destil·lació, complet, amb columna rectificadora.

Pipeta de 10 ml.

Proveta de 250 ml.

REACTIUS

Aigua destil·lada.

Lleterada de calç (120 grams d'òxid de calci escoriforme pr fins a 1000 ml en aigua destil·lada.

Paper indicador.

Pedra tosca.

METODOLOGIA

- 1.- Mesurar 250 ml de vi en matràs aforat i anotar la temperatura.
- 2.- Introduir el vi en un matràs de destil·lació, amb uns quants trossets de pedra tosca, rentant 3 o 4 cops el matràs aforat amb petites porcions d'aigua destil·lada.
- 3.- Afegir 10 ml de lleterada de calç. Prendre una gota amb una vareta de vidre i comprovar l'alcalinitat amb un tros de paper indicador; si el medi no és alcalí, afegir més lleterada de calç.
- 4.- Muntar l'equip de destil·lació i destil·lar, arreplegant el destil·lat en el mateix matràs aforat utilitzat per mesurar el vi, prèviament rentat amb aigua destil·lada, contenint uns 20 ml d'aigua destil·lada, en la qual s'hi submergeix el pic d'un tub , perllongació de l'extrem de sortida del refrigerant.
- 5.- Destil·lar fins obtenir un volum, com a mínim, de 200 ml.
- 6.- Sacsejar i arrasar amb aigua destil·lada; homogeneïtzar.
- 7.- Transferir el líquid a una proveta i determinar el grau alcohomètric amb un areòmetre graduat en graus alcohòlics aparents (fer servir una lupa d'augment si es presenten dificultats de lectura, i fer un mínim de tres lectures).

CÀLCULS

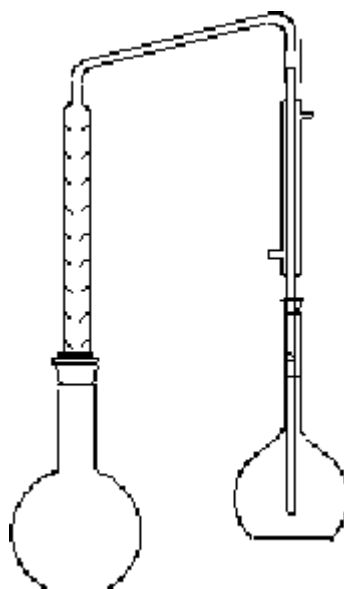
Calcular el grau alcohòlic internacional OIV a 20°C, utilitzant la taula adjunta, afegint o restant al grau alcohòlic aparent (fila superior) a t°C la correcció corresponent.

°C		7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
10	SUMAR	1'16	1'24	1'34	1'44	1'58	1'73	1'89	2'06	2'24	2'43	2'63	2'84
11		1'06	1'16	1'25	1'34	1'46	1'59	1'73	1'88	2'04	2'43	2'63	2'84
12		1'00	1'07	1'15	1'23	1'32	1'43	1'55	1'68	1'82	1'97	2'13	2'27
13		0'90	0'95	1'02	1'10	1'18	1'28	1'38	1'48	1'60	1'72	1'85	1'99
14		0'79	0'85	0'90	0'96	1'03	1'11	1'19	1'28	1'39	1'49	1'59	1'71
15		0'68	0'72	0'77	0'82	0'87	0'94	1'01	1'09	1'17	1'26	1'34	1'44
16		0'55	0'58	0'62	0'66	0'71	0'76	0'82	0'88	0'94	1'01	1'08	1'15
17		0'43	0'46	0'48	0'51	0'55	0'58	0'63	0'67	0'71	0'76	0'81	0'85
18		0'30	0'31	0'33	0'34	0'36	0'39	0'42	0'45	0'47	0'50	0'53	0'56
19		0'15	0'16	0'16	0'17	0'18	0'20	0'21	0'23	0'24	0'26	0'28	0'29
20													
21	RESTAR	0'15	0'16	0'17	0'18	0'19	0'20	0'21	0'23	0'24	0'26	0'28	0'30
22		0'32	0'34	0'35	0'37	0'40	0'42	0'44	0'44	0'48	0'51	0'54	0'57
23		0'49	0'51	0'54	0'56	0'60	0'63	0'67	0'71	0'74	0'78	0'82	0'86
24		0'67	0'70	0'73	0'77	0'81	0'85	0'89	0'94	0'99	1'04	1'09	1'14
25		0'84	0'89	0'93	0'98	1'02	1'07	1'12	1'18	1'24	1'32	1'38	1'44
26		1'04	1'09	1'14	1'19	1'24	1'30	1'36	1'43	1'51	1'57	1'65	1'73
27		1'23	1'28	1'34	1'40	1'46	1'53	1'60	1'68	1'76	1'85	1'93	2'02
28		1'44	1'50	1'56	1'62	1'68	1'75	1'83	1'92	2'02	2'11	2'21	2'31
29		1'64	1'71	1'78	1'85	1'92	2'00	2'08	2'17	2'28	2'39	2'50	2'62
30		1'85	1'93	2'00	2'07	2'15	2'23	2'33	2'45	2'55	2'67	2'79	2'91

OBSERVACIONS

Per vins joves, d'agulla o escumosos (tipus Ribeiro, Empordà, caves, etc..) eliminar prèviament el gas carbònic abans de procedir a la metodologia general. Sacsejar enèrgicament 250 ml de vi en un matràs de 500 ml ben sec, al que s'hi ha afegit 3 gotes de solució al 1 % de silicona soluble.

montatge destil·lació:



Qüestionari 16.2. - Títol alcohomètric del vi

- 1.- Quina és la funció de la pedra tosca en el procediment analític?
- 2.- Quina és la funció de la lletada de calç?
- 3.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 4.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi"
- 5.- Dissenyar un mètode alternatiu per la determinació del títol alcohomètric que no estigui basat en la determinació de la densitat (suggeriment: pot servir un mètode òptic).

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 16.3
ACIDESA VOLÀTIL DEL VI		

OBJECTE I FONAMENTS

L'acidesa volàtil del vi és la deguda a les substàncies àcides volàtils, generalment àcids grassos lleugers de la sèrie acètica.

Es determina per arrossegament amb vapor d'aigua i rectificació dels vapors. No es considera l'acidesa deguda al CO_2 lliure, que cal eliminar, ni la de l'anhidrid sulfurós lliure o combinat, que cal corregir segons el mètode de Jaulmes que considera la influència del SO_2 combinat com la meitat de la del SO_2 lliure.

MATERIAL

Aparell de destil·lació segons l'esquema adjunt.

Balança granatària.

Bureta.

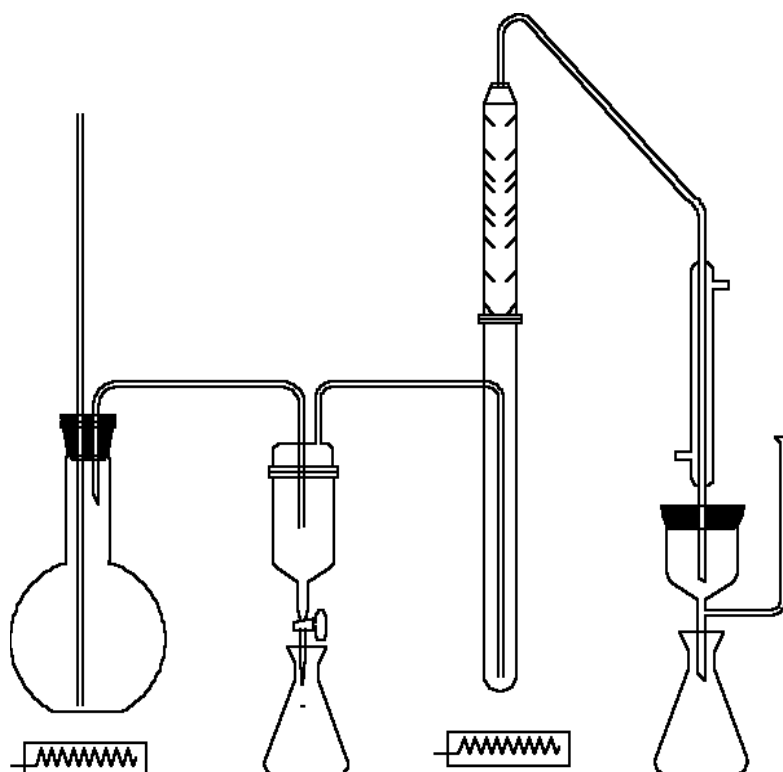
Comptagotes.

Flascó rentador.

Matràs erlenmeyer de 500 ml.

Pipeta aforada de 20 ml

Muntatge per determinació d'acidesa volàtil del vi:



REACTIUS

Àcid clorhídric concentrat pa.

Àcid L(+)-tartàric pa.

Aigua de calç

Aigua destil·lada.

Dissolució de iode 0'01N (diluir iode 0'02N sv en aigua destil·lada).

Fenolftaleïna al 1% en alcohol.

Hidròxid de sodi 0'1N sv

Iodur de potassi, cristalls, pa.

Midó soluble, solució al 1 %.

Sodi tetraborat decahidratat, dissolució saturada.

METODOLOGIA

- 1.- Alimentar el generador de vapor amb aigua de calç o aigua de barita; posar en el borbollador 20 ml de vi exempt de gas carbònic (veure pràctica 16.2).
- 2.- Afegir al vi uns 0'5 grams d'àcid L(+)-tartàric pa.
- 3.- Posar en funcionament el generador de vapor, mantenint oberta la sortida del tub purgador de vapor; després de tancar aquesta, escalfar el borbollador (durant l'operació, cal regular que el volum de líquid en el borbollador no passi excessivament dels 20 ml inicials).
- 4.- Destil·lar 250 ml en uns 10 minuts.
- 5.- Valorar amb hidròxid de sodi 0'1N v amb presència de fenolftaleïna.
- 6.- Valorar el sulfurós lliure, afegint una gota de HCl concentrat pa i valorar el SO₂ lliure amb solució de iode 0'01N, afegint 2 ml de solució de midó soluble (indicador) i un cristall de iodur de potassi pa.
- 7.- Determinar l'àcid sulfurós combinat amb acetaldehid, afegint 20 ml de dissolució saturada de tetraborat sòdic decahidratat pa (el líquid pren una coloració rosa pàl·lid) i valorar de nou amb dissolució de iode 0'01N.

CÀLCULS

Es calcula l'acidesa volàtil expressada en grams/litre d'àcid acètic.

$$\text{Acidesa volàtil} = 0'03 \cdot \left(V - \frac{V'}{10} - \frac{V''}{20} \right)$$

a on:

V = volum en ml de NaOH 0'1N

V' = volum en ml de iode 0'01N a l'oxidació del sulfurós lliure

V'' = volum en ml de iode 0'01N a l'oxidació del sulfurós combinat.

OBSERVACIONS

Continguts alts d'àcid sòrbic falsegen el resultat, per la qual cosa és convenient fer una determinació a part d'àcid sòrbic a fi d'efectuar la corresponent correcció.

Pot substituir-se el muntatge de destil·lació específic de l'acidesa volàtil per un destil·lador Kjeldhal semimicro, perfectament net, sense cap mena de residu de dissolució de sosa a l'interior del cos, treballant amb volums de mostra inferiors i fent les correccions adients en el mètode de treball i en els càlculs corresponents.

Qüestionari 16.3.- Acidesa volàtil del vi

- 1.- Escriure les reaccions dels subapartats 5, 6 i 7 de la metodologia.
- 2.- Deduir raonadament la fórmula utilitzada en els càlculs.
- 3.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 4.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 16.4
ACIDESA TOTAL DEL VI		

OBJECTE I FONAMENTS

L'acidesa total del vi es defineix com el total d'àcids titulables al portar el vi a pH = 7 per addició d'una solució alcalina valorada. No es consideren com integrants de l'acidesa total l'anhidrid sulfurós lliure o combinat ni l'àcid carbònic.

Per realitzar aquesta pràctica, cal abans fer la 16.3 amb una mostra del mateix vi problema.

MATERIAL

Bureta de 25 ml.
 Matràs Kitasato de 2 litres.
 pHmetre amb elèctrode de vidre.
 Pipeta aforada de 20ml.
 Placa magnètica agitadora amb imant de tefló.
 Proveta de 250 ml.
 Tap ajustable al matràs Kitasato.
 Trompa de buit.
 Vas de pp de 100 ml.

REACTIUS

Hidròxid de sodi 0'1N sv.

METODOLOGIA

- 1.- Posar entre 100 i 200 ml de vi en un matràs Kitasato de 2 litres i fer el buit per eliminar el CO₂; desconnectar el buit en el moment en que s'atura el despreniment de bombolles.
- 2.- Prendre 20 ml del vi desgassificat i transferir a un vas de 100 ml.
- 3.- Situar el vas sobre una placa magnètica, instal·lar el muntatge per la mesura potenciomètrica del pH i afegir des d'una bureta dissolució d'hidròxid de sodi 0'1N sv, fins que el pHmetre marqui pH = 7.

CÀLCULS

S'expressa en meq/litre, segons l'expressió:

$$\text{Acidesa total} = 10 \cdot \frac{V}{2} - 0'35 \cdot V' - 0'35 \cdot V''$$

També pot expressar-se en grams d'àcid tartàric:

$$\text{Acidesa total} = 0'75 \cdot \left(\frac{V}{2} - 0'035 \cdot V' - 0'025 \cdot V'' \right)$$

essent:

V = volum en ml de NaOH 0'1N.

V' = volum en ml de iode 0'01N utilitzat per l'oxidació de l'anhídrid sulfurós lliure (pràctica 16.3)

V'' = volum en ml de iode 0'01N utilitzat per l'oxidació de l'anhídrid sulfurós combinat (pràctica 16.3).

OBSERVACIONS

Alguns laboratoris i organismes enològics, consideren com a punt de viratge el de pH = 8'2 en lloc de 7, per tractar-se d'una valoració d'àcids dèbils amb una base forta.

Qüestionari 16.4.- Acidesa total del vi

- 1.- Escriure la reacció que té lloc durant la valoració.
- 2.- Deduir raonadament la fórmula utilitzada en els càlculs.
- 3.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 4.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 16.5
EXTRACTE SEC TOTAL DEL VI		

OBJECTE I FONAMENTS

Es coneix com a extracte sec o matèria seca total al conjunt de substàncies no evaporables per destil·lació.

Es calcula indirectament mesurant la densitat del "residu sense alcohol", és a dir la que tindria el vi sense alcohol, restituint el volum corresponent amb aigua.

MATERIAL

Densímetre.

Flascó rentador.

Matràs aforat de 250 ml.

Muntatge per destil·lació, complert, amb columna rectificadora.

Proveta de 250 ml.

REACTIUS

Aigua destil·lada.

Pedra tosca.

METODOLOGIA

- 1.- Destil·lar el vi tal com es descriu a la pràctica 16.2, però sense addicionar lleterada de calç.
- 2.- Passar el residu de destil·lació al matràs en el que s'hi mesurà el volum, rentant el matràs de destil·lació amb aigua destil·lada; arrasar i homogeneïtzar.
- 3.- Determinar la densitat.

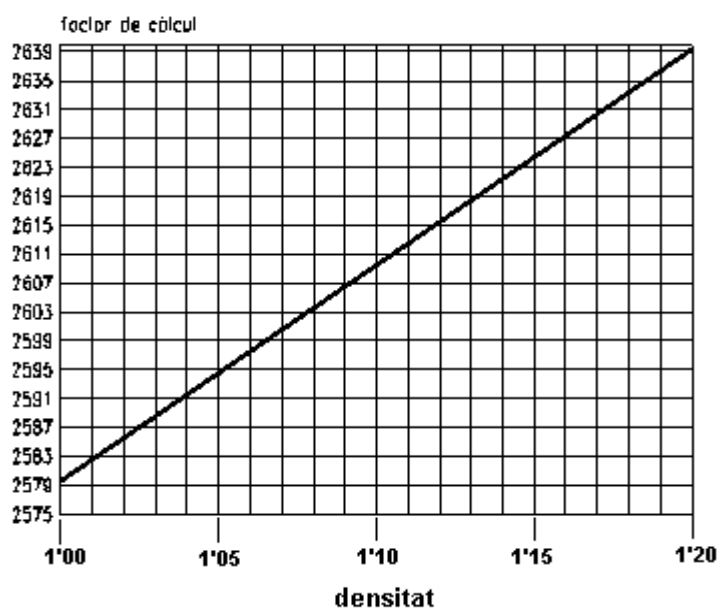
CÀLCULS

L'extracte sec s'expressa per la quantitat de sacarosa que, dissolta en aigua fins a 1 litre, dóna una dissolució de la mateixa densitat que el residu sense alcohol, referit a 20°C, segons la fórmula següent:

$$\text{Extracte sec} = F \cdot (d - 1)$$

en que **d** és la densitat del destil·lat en g/cc (amb una precisió mínima de fins la mil·lèsima) i **F** és un factor de càlcul empíric que depèn de la densitat i que es determina amb el gràfic adjunt:

FACTOR DE CàLCUL
residu sense alcohol i extracte sec



Qüestionari 16.5.- Extracte sec total del vi

- 1.- Deduir raonadament la fórmula utilitzada en els càlculs.
- 2.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 3.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 16.6
ACIDESA TOTAL DEL VINAGRE		

OBJECTE I FONAMENTS

L'acidesa total del vinagre es determina mitjançant una volumetria de neutralització en presència de fenolftaleïna alcohòlica com indicador.

MATERIAL

Bureta de 50 ml.
Matràs erlenmeyer de 250 ml.
Pipeta aforada de 10 ml.

REACTIUS

Aigua destil·lada.
Fenolftaleïna alcohòlica al 1 %.
Hidròxid de sodi 0'5N sv.

METODOLOGIA

- 1.- Mesurar 10 ml de vinagre i transferir al matràs erlenmeyer.
- 2.- Afegir l'aigua destil·lada suficient (100 ml com a mínim), recent bullida i freda, per aconseguir una coloració suficientment dèbil com per poder apreciar el viratge de la fenolftaleïna.
- 3.- Afegir 6 gotes de dissolució de fenolftaleïna i valorar amb hidròxid de sodi 0'5N fins viratge a rosat.

CÀLCULS

El resultat s'expressa en grams d'àcid acètic per 100 ml de vinagre:

$$\text{Grau acètic} = a \cdot 10 \cdot 0'03$$

essent **a** el volum, en ml d'hidròxid de sodi 0'5N.

Qüestionari 16.6.- Acidesa total del vinagre

- 1.- Escriure la reacció de valoració (subapartat 3 de la metodologia).
- 2.- Deduir raonadament la fórmula utilitzada en els càlculs.
- 3.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 4.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".
- 5.- Descriure una metodologia per un vinagre suau i de coloració extraordinàriament intensa.

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 17.1
GREIX EN LLET		

OBJECTE I FONAMENTS

El greix s'extreu amb dissolvents orgànics i es determina gravimètricament el seu contingut.

MATERIAL

Balança analítica.
Baló de 250 ml, esmerilat.
Dessecador.
Embut de decantació de 300 ml.
Estufa de dessecació.
Matràs erlenmeyer esmerilat, de 250 ml, amb tap.
Muntatge per destil·lació.
Pipeta aforada de 2 ml.
Proveta de 10 ml.
Proveta de 25 ml.

REACTIUS

Aigua destil·lada.
Alcohol etílic 96% v/v pa.
Amoníac al 25 % pa.
Èter de petroli de pe 40-60°C pa.
Èter etílic pa exempt de peròxids.

METODOLOGIA

- 1.- En un matràs erlenmeyer esmerilat de 250 ml es pesen uns 10 ml de llet. Si la mostra no és homogènia (pot succeir si es tracta de llet natural, no homogeneïtzada), s'escalfa lentament en un vas de pp de 250 ml uns 100 ml de llet, fins a 35°C i es sacseja suaument fins dissoldre els grums, evitant la formació d'escuma; deixar refredar i pesar uns 10 ml en el matràs erlenmeyer esmerilat de 250 ml.
- 2.- Afegir 1'5 ml de dissolució d'amoníac al 25 % i mesclar; afegir 10 ml d'alcohol etílic del 96 % v/v i mesclar amb suavitat.
- 3.- Afegir 25 ml d'èter etílic pa, tancar l'erlenmeyer i sacsejar vigorosament durant 1 minut, obrint de tant en tant el tap (amb cura).
- 4.- Afegir 25 ml d'èter de petroli, rentant el coll del matràs i el tap; tancar i sacsejar, ara una mica més suaument que abans durant 30 segons.
- 5.- Transferir a un embut de decantació, rentant amb una petita quantitat dels dissolvents i d'aigua destil·lada.

- 6.- Deixar en repòs fins una total separació de dues capes (línia de separació ben definida i capa superior completament nítida).
- 7.- Transvasar la capa inferior al matràs erlenmeyer, poc a poc, mitjançant l'aixeta de l'embut.
- 8.- Afegir uns 10 ml d'aigua destil·lada a l'embut de decantació; sacsejar durant 30 segons, deixar separar les dues capes i transferir la capa inferior a l'erlenmeyer; repetir altre cop amb 10 ml més d'aigua destil·lada. Transferir la capa inferior a l'erlenmeyer esmerilat de 250 ml.
- 9.- Repetir dos cops els passos 3 al 8, però utilitzant solament 15 ml d'èter etílic i 15 d'èter de petroli en els passos 3 i 4.
- 10.- Transferir la capa superior de l'embut de decantació a un baló esmerilat, net, sec i tarat i evaporar per destil·lació fins que no persisteixi olor de dissolvent; dessecar a l'estufa fins pes constant.

CÀLCULS

El resultat s'expressa en % de greix:

$$\text{Greix(\%)} = \frac{m_1 - m_2}{p_1 - p_2} \cdot 100$$

expressió a la qual:

m₁ = pes del baló amb el residu greixós.

m₂ = pes del baló.

p₁ = pes de l'erlenmeyer ple de mostra.

p₂ = pes de l'erlenmeyer.

OBSERVACIONS

a).- El mètode és utilitzable en llet en pols, condensada o evaporada, prèvia la seva conversió en llet líquida. Es pesa la quantitat necessària per fer 100 ml de llet líquida, es restitueix fins a 80 ml amb aigua destil·lada, i es passa a matràs aforat de 100 ml, rentant amb aigua destil·lada i arrasant i homogeneïtzant; a partir d'aquí es procedeix com a la metodologia descrita. Els 10 ml de llet es prenen amb pipeta aforada i no cal pesar-los; els càlcul són:

$$\text{Greix(\%)} = \frac{m_1 - m_2}{m} \cdot 1.000$$

essent **m** la quantitat de llet pesada.

b).- Cal comprovar que l'èter etílic estigui totalment exempt de peròxids (perill d'explosió).

Assaig de peròxids en èter.- Transferir 10 ml d'èter etílic a una proveta esmeril·lada proveïda de tap de vidre, neta i seca, afegir 1 ml de dissolució al 10 % de iodur de potassi acabat de preparar, sacsejar i deixa 1 minut en repòs. No s'ha de formar coloració groga en cap de les dues capes.

Conservació de l'èter etílic.- Submergir-hi làmines de zinc tallades en tires (80 cc per litre, al menys), preparades submergint zinc pa en una dissolució àcida diluïda de sulfat cúpric pentahidrat pa durant 1 o 2 minuts i rentar després amb aigua destil·lada.

Qüestionari 17.1.- Greix en llet

- 1.- Deduir raonadament la fórmula utilitzada en els càlculs.
- 2.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 3.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 17.2
FENOLFTALEÏNA A LA LLET EN POLS		

OBJECTE I FONAMENTS

Sovint, a la llet destinada al consum animal se li afegeix fenolftaleïna, fàcilment identificable en presència de dissolució alcalina, per tal d'evitar que sigui destinada al consum humà.

MATERIAL

Flascó rentador.
Pipeta de 2 ml.
Proveta de 10 ml.
Tap pel tub d'assaig.
Tub d'assaig.

REACTIUS

Aigua destil·lada.
Hidròxid de sodi 2N sv.

METODOLOGIA

- 1.- Posar en un tub d'assaig uns 0'5 grams de llet en pols, afegir 10 ml d'aigua destil·lada i sacsejar fins aconseguir una emulsió uniforme.
- 2.- Afegir 2 ml de dissolució d'hidròxid de sodi 2N sv.
- 3.- Observar; la presència de fenolftaleïna a la mostra es manifesta per l'aparició d'una sèrie de punts de color roig-rosat que es van fent més grossos i va intensificant el seu color, per anar desapareixent després de passar un temps.

Qüestionari 17.2.- Fenolftaleïna a la llet en pols

- 1.- De vegades, la llet destinada a consum animal es sotmesa a un procés de desengreixat ("desnatat") i el greix és parcialment restituit amb olis vegetals de baixa qualitat. Suggestir un procediment per detectar aquesta eventualitat.
- 2.- Una altra forma de desnaturalitzar la llet en pols, es afegir-hi farina d'alfals deshidratat finament molturada. Com es detecta fàcilment aquesta eventualitat?
- 3.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 4.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 17.3
LACTOSA EN LLET		

OBJECTE I FONAMENTS

Aquest mètode és el descrit a la norma FIL-28:1964 de la Federació Internacional de Lleteria.

El mètode és aplicable a les llets naturals, homogeneïtzades, esterilitzades, i, prèvia reconstitució, a les llets concentrades, evaporades, condensades i en pols.

El contingut en lactosa es determina indirectament, un cop desproteïnitzada la llet, per valoració de la quantitat d'halogen reduït al final de la reacció entre la lactosa i el reactiu de iodur potàssic-cloramina.

MATERIAL

Bureta.

Embut cònic.

Flascó rentador.

Matràs aforat de 100 ml.

Matrassos erlenmeyer amb tap, de 100 ml (2)

Paper de filtre.

Pipeta aforada de 20 ml.

Pipetes aforades de 10 ml (3)

Pipetes aforades de 5 ml (2)

Proveta de 25 ml..

Proveta de 50 ml.

REACTIUS

Àcid clorhídric 2N sv.

Aigua destil·lada.

Dissolució de cloramina T 0'040N (5'70 grams/litre).

Iodur de potassi (dissolució incolora extemporània al 10 %, de iodur de potassi pa en aigua destil·lada).

Midó soluble, sol al 1 %.

Reactiu d'àcid tungstènic (dissoldre 7 grams de tungstat de sodi 2-hidrat pa en 870 ml d'aigua destil·lada; afegir 0'1 ml d'àcid ortofosfòric al 85% pa i 70 ml d'àcid sulfúric 1N sv).

Solució de midó soluble al 1 %

Tiosulfat de sodi 0'05N (Dissoldre 25 ml de tiosulfat de sodi 1N sv fins a 500 ml en aigua destil·lada).

METODOLOGIA

- 1.- Prendre 10 ml de llet homogeneïtzada (veure pràctica 10.1) i passar a un matràs aforat de 100 ml.
- 2.- Afegir 25 ml d'aigua destil·lada, 40 ml del reactiu d'àcid tungstènic i mesclar suaument, completar, tot seguit, amb aigua destil·lada fins l'arrasament, mesclar i deixar que sedimenti el precipitat.
- 3.- Filtrar i arregar en un matràs sec.
- 4.- Prendre 10 ml del filtrat i transferir a un matràs erlenmeyer de 100 ml.
- 5.- Afegir 5 ml de la dissolució de iodur de potassi i 20 ml de dissolució de cloramina T; mesclar, tapar i mantenir a les fosques durant 1 1/2 hores a temperatura ambient.
- 6.- Afegir una mica d'aigua destil·lada i 5 ml de dissolució d'àcid clorhídric 2N.
- 7.- Valorar amb dissolució de tiosulfat de sodi 0'05N, afegint indicador de midó soluble quan falti una mica pel final de la valoració.
- 8.- Efectuar un assaig en blanc seguint exactament el mètode descrit, però emprant 10 ml d'aigua destil·lada en lloc del filtrat de llet.

CÀLCULS

Tenint en compte les dissolucions efectuades i que un ml de tiosulfat 0'05N equival a 0'0072 grams de lactosa, expressant el contingut de lactosa en grams/litre:

$$\text{lactosa(grams/litre)} = f \cdot 7'2 \cdot t \cdot V$$

essent V el volum de dissolució de tiosulfat (menys el volum corresponent del blanc), t un factor per corregir el volum de precipitat (0'992 per llet sencera i 0'996 per llet descremada) i f el factor de la dissolució de tiosulfat.

OBSERVACIONS

La dissolució de tiosulfat és molt inestable i cal que sigui de preparació extemporània, o, en tot cas, cal determinar el factor abans de cada valoració.

Qüestionari 17.3.- Lactosa en llet

- 1.- Descriure les reaccions dels subapartats 2, 4 i 7 de la metodologia.
- 2.- Deduir raonadament la fórmula utilitzada en els càlculs.
- 3.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 4.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 19.1
CAROTENS I XANTOFILES EN PEBRE ROIG		

OBJECTE I FONAMENTS

Els colorants naturals vegetals carotens i xantofiles presenten una retenció selectiva sobre alúmina.

La concentració de carotens o xantofiles de cada fracció es determina espectrofotomètricament.

MATERIAL

Balança analítica.

Columna cromatogràfica amb sistema de buit, segons esquema adjunt, de uns 2 cm de Φ .

Embut cònic.

Embut petit per sòlids.

Flascó rentador.

Matràs aforat de 100 ml.

Matrassos aforats de 50 ml (2)

Pesasubstàncies.

Pipeta aforada de 1 ml.

Pipeta aforada de 2 ml.

Pipetes aforades de 25 ml.

Pipetes aforades de 5 ml.

Pipetes graduades de 5 i 10 ml.

Provetes de 100 i 50 ml.

Espectrofotòmetre

Cubetes per espectrofotòmetre

REACTIUS

Aigua destil·lada.

Alúmina per cromatografia en columna, activitat mitjana.

Dissolució de Na_2SO_4 al 10 % (dissoldre 50 grams de sulfat de sodi pa fins a 500 ml en aigua)

Dissolució patró de Sudan I (dissoldre 0'1241 grams de Sudan I pa en 500 ml d'acetona-isopropanol(1/1) pa).

Dissolvent HAET (hexà, acetona, etanol i toluè, tots de qualitat pa, en les proporcions 10/7/6/7).

Hexà pa.

Hexà-acetona 90/10 (qualitat pa en les proporcions indicades).

Hexà-acetona 96/4 (qualitat pa en les proporcions indicades).

Hexà-acetona-metanol 80/10/10 (qualitat pa en les proporcions indicades).

KOH al 40 %, dissolució metanòlica (dissoldre 47'1 grams d'hidròxid de potassi pa del 85% en

alcohol metílic fins a 100 ml, i filtrar amb placa porosa si es presenta residu insoluble).
Na₂SO₄ anhidre pa.

METODOLOGIA

- 1.- Pesar exactament al voltant de 0'5 grams de farina de pebre roig i passar a un matràs aforat de 100 ml.
- 2.- Pipetejar 30 ml de dissolvent HAET en el matràs aforat; tancar i sacsejar 1 minut.
- 3.- Afegir 1 ml d'aigua, tancar, sacsejar 1 minut i deixar reposar 16 hores a les fosques.
- 4.- Afegir 2 ml de dissolució metanòlica de KOH al 40 %, agitar 1 minut i deixar reposar 1 hora a les fosques.
- 5.- Afegir, amb pipeta, 30 ml d'hexà, agitar 1 minut i afegir dissolució de Na₂SO₄ al 10 % fins omplir part del coll del matràs (no cal arrasar exactament); tancar i sacsejar amb energia durant 2 minuts.
- 6.- Deixar reposar 1 hora a les fosques.
- 7.- Preparar una columna cromatogràfica al buit segons l'esquema. Omplir-la fins 10-12 cm amb alúmina, posant l'alúmina en petites capes i trepitjar-les amb suavitat; posar-hi pel damunt una capa de 1 cm de sulfat de sodi anhidre.
- 8.- Posar 5 ml de la capa superior (zona del coll) del matràs a la columna; fer buit molt suau fins que quedin els 5 ml absorbits a la part superior de la columna.
- 9.- Passar per la columna hexà-acetona(96/4), fins que comenci a sortir líquid per la part inferior de la columna.
- 10.- Passar hexà-acetona(90/10) fins eluir la banda de carotens, arrebegant el líquid en un matràs aforat de 50 ml; portar a volum amb el dissolvent hexà-acetona(90/10) i homogeneïtzar.
- 11.- Passar hexà-acetona-metanol(80/10/10) fins eluir la banda de les xantofiles, arrebegant el líquid en un matràs aforat de 50 ml; portar a volum amb el mateix dissolvent i homogeneïtzar.
- 12.- Llegir en espectrofotòmetre l'absorbància de la dissolució de carotens a 435 nm i la de la dissolució de xantofiles a 475 nm, enfront d'un blanc dels dissolvents emprats en cada cas.

Determinació dels factors de correcció de l'espectrofotòmetre

- 1.- Recalibrar l'espectrofotòmetre de manera que entre 470 i 480 nm, l'absorbància de la dissolució patró de Sudan I (acabada de preparar), tingui el màxim d'absorbància a 475 nm.
- 2.- Determinar l'absorbància de la dissolució extemporània de patró de Sudan I, a 435 nm i a 475 nm i calcular els factors de correcció.

CÀLCULS

El resultat s'expressa en mil·ligrams/Kg (ppm):

$$\text{Carotens} = 255 \cdot A_{435} \cdot \frac{V_f}{V_d} \cdot \frac{F_{435}}{m}$$

$$\text{Xantofiles} = 212 \cdot A_{475} \cdot \frac{V_f}{V_d} \cdot \frac{F_{475}}{m}$$

expressions en les quals:

A₄₃₅ = Absorbància a 435 nm.

A₄₇₄ = Absorbància a 475 nm.

V_f = Volum final de la porció eluïda.

V_d = Volum de la porció que es passa per columna.

F₄₃₅ = Factor de correcció espectrofotomètric a 435 nm.

F₄₇₅ = Factor de correcció espectrofotomètric a 475 nm.

m = pes de la mostra en grams.

Els valors dels factors de correcció són:

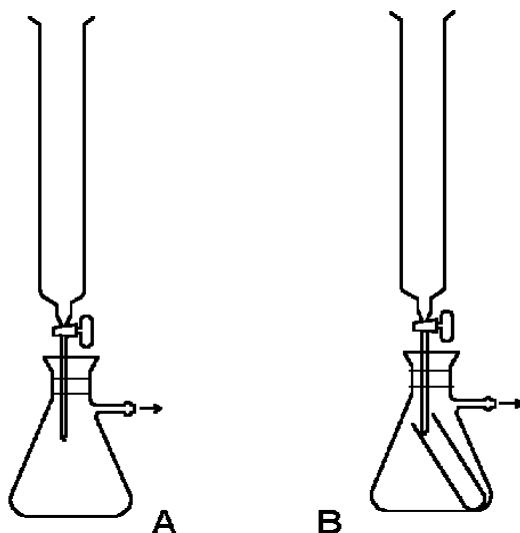
$$F_{435} = \frac{0'460}{A_{435}^o} \text{ (carotens)}$$

$$F_{475} = \frac{0'561}{A_{475}^o} \text{ (xantofiles)}$$

a on els **A_o** són les absorbàncies de la dissolució patró de Sudan I.

OBSERVACIONS

El mètode és aplicable, canviant la quantitat a pesar i els volums d'elució i d'arrasament dels eluïts, per alfals deshidratat, moresc, curri i pinsos de contingut gras no excessivament alt.



Muntatge per cromatografia en columna al buit:

A) Sense arreplegar fracció.

B) Arreplegant fracció.

Qüestionari 19.1.- Carotens i xantofiles en pebre roig

- 1.- Deduir raonadament les fórmules utilitzades en els càlculs (considerant que l'activitat òptica del Sudan I en les condicions esmentades equival a la de 255 mg de carotens i 212 mg de xantofiles, considerant les elucions fins el punt 9).
- 2.- Quin objectiu té l'addició de KOH (subapartat 4 de la metodologia)?
- 3.- Per quin motiu es deixa reposar la mostra a les fosques en els punts 3, 4 i 6 de la metodologia?
- 4.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 5.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 20.1
FARINA DE PLOMES (MICROSCOPIA)		

OBJECTE I FONAMENTS

La farina de plomes té un alt contingut de proteïnes, però es tracta de proteïnes de difícil digestió, i, per tant, de baixa qualitat nutritiva.

No s'utilitza en preparats alimentaris de consum humà; el seu ús queda limitat als pinsos per consum animal.

També s'utilitza fraudulentament per adulterar farines de carn o de peix.

La farina de plomes és identificable microscòpicament.

MATERIAL

Microscopi i accessoris per microscopia.

REACTIUS

Lactofenol (mesclar 20 grams d'àcid fènic, 10 grams d'àcid làctic, 20 grams de glicerina i 10 grams d'aigua destil·lada, tots els productes qualitat microscopia).

METODOLOGIA

- 1.- Posar 2 gotes de lactofenol en un porta i escampar-hi, deixant-ho caure amb l'ajut d'una espàtula vibratòria una petítíssima quantitat de mostra finament polvoritzada.
- 2.- Tapar amb el "cubre" i observar en el microscopi a 200-400 augments; la presència de plomes es manifesta per la visualització de petites estructures en forma de "canya de bambú".

Qüestionari 20.1.- Farina de plomes (microscopia)

- 1.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 2.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 22.1
ÀCIDS GRASSOS PER CG		

OBJECTE I FONAMENTS

Els èsters metílics dels àcids grassos poden ésser separats i quantificats per cromatografia de gasos.

La separació i quantificació dels àcids grassos constitueix un mètode fiable i ràpid per la tipificació i classificació d'un greix.

La metilació té lloc en dues fases; una primera fase amb la interacció del metilat de sodi com agent saponificant en medi metanòlic (agent esterificant) i una segona fase mitjançant l'acció del metanol acidificat amb àcid clorhídric.

MATERIAL

Balança analítica.

Balança granatària.

Baló de 250 ml, esmerilat.

Columna de les característiques indicades a la metodologia.

Cromatògraf de gasos proveït amb registrador-integrador, equipament complementari i detector d'ionització de flama.

Cronòmetre.

Fluxòmetre de bombolla.

Matràs aforat de 100 ml.

Microxeringa per C.G., graduada, de 10 μ l.

Pipetes aforades de 25 ml.

Placa calefactora.

Refrigerant de reflux.

Tubs d'assaig de 10 ml, amb tap roscat.

REACTIUS

Àcid clorhídric 1'25N en alcohol metílic (Obtenir àcid clorhídric gasós i anhidre fent caure àcid sulfúric gota a gota sobre àcid clorhídric concentrat, segons mostra l'esquema adjunt. Cal treballar en vitrina de gasos i tenir cura d'evitar succions, observant contínuament el procés. La quantitat absorbida de HCl es determina per pesades successives, fins arribar a una concentració lleugerament superior a la desitjada. S'admet una certa tolerància, per la qual cosa podem utilitzar una balança granatària).

Aire sintètic qualitat cromatogràfica.

Dissolució saturada de NaCl (dissoldre NaCl pa en aigua destil·lada fins saturació).

Hexà pa.

Hidrogen qualitat cromatogràfica

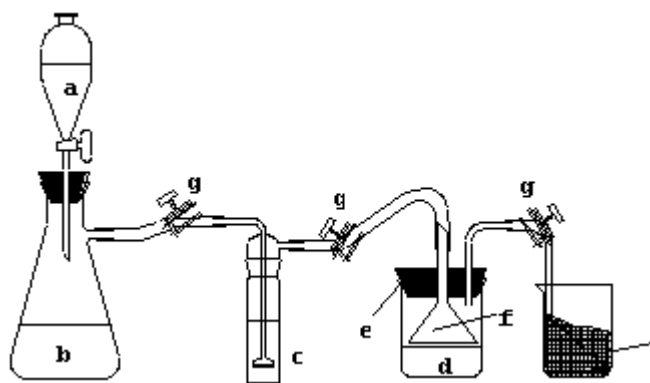
Metilat de sodi 0'2N (dissoldre 1'102 grams de metilat de sodi ps fins 1 litre en metanol pa).

Nitrogen qualitat cromatogràfica.

Trioleat de glicerina pa.

Esquema muntatge per preparar HCl en metanol:

a) Àcid sulfúric concentrat. b) Àcid clorhídric concentrat (35 %). c) Torre de dessecació d) Metanol e) Tap. f) Embut. g) Pines de Hoffman. h) Gel de sílice.



METODOLOGIA

- 1.- Pesat al voltant de 1 gram de greix perfectament homogeneïtzat en el baló de 250 ml.
- 2.- Afegir 25 ml de dissolució de metilat de sodi 0'2N, connectar el refrigerant de reflux i portar a ebullició, mantenint-la com a mínim durant 5 minuts.
- 3.- Interrompre la calefacció i afegir 25 ml de la dissolució metanòlica d'àcid clorhídric; connectar de nou el refrigerant de reflux i portar a ebullició un mínim de 5 minuts més.
- 4.- Refredar, però sense arribar a baixar massa la temperatura (el baló a de quedar francament tebi) i transferir a un recipient de coll llarg i estret (pot servir un matràs aforat de 100 ml), esbandint amb 10 ml d'hexà, que es transferiran també al matràs aforat.
- 5.- Sacsejar imprimint moviments suaus de rotació durant 1 o 2 minuts.
- 6.- Afegir dissolució saturada de clorur de sodi, fins que la fase hexànica ocupi la zona del coll del matràs. Deixar sedimentar fins que quedi ben clarificada la dissolució hexànica (es pot ajudar imprimint rotacions molt suaus al matràs, en posició vertical, i reposant el cul del matràs sobre la taula de treball).
- 7.- Prendre amb microxeringa, prèviament neta amb hexà, uns 2 µl de la fase hexànica i injectar en el cromatògraf de gasos (si no s'injecta al moment, poden guardar-se 4 o 5 ml de fase hexànica en tubs de 10 ml amb tap roscat, durant uns quants dies).

Paràmetres cromatogràfics :

Gas portador = nitrogen

Flux gas portador = 50 ml/mn.

Columna = 15% etilenglicolsuccinat sobre pols refractari de 40/60 malles. 2 m X 4 mm diam int. Condicionada de 15 a 24 hores a 220°C (sense connectar al detector) a un flux de gas portador de 20 ml/mn.

Detector = Ionització de flama (DIF), amb flama d'hidrogen-aire.

Temperatura de columna = 200 °C

Temperatura injecció = 250 °C.

Temperatura detector = 250 °C.

Atenuació de sensibilitat = entre 1.000 i 2.000.

Velocitat registre = 5 mm/mn.

El flux de gas portador es verifica amb un fluxòmetre de bombolla i un cronòmetre a la sortida de la columna. El valor que aquí és dona és únicament orientatiu. El valor òptim es determina experimentalment de manera que el metiloleat (preparat a partir d'un patró de trioleat de glicerina) presenti un temps de retenció de al voltant de 14 o 15 minuts. Un cop establert el flux òptim, l'utilitzarem en totes les determinacions fins que la columna comenci a envellir.

CÀLCULS

Expressarem el resultat com composició relativa dels àcids grassos en %, referits al total d'àcids grassos. Considerem que la quantitat de cada component es proporcional a l'àrea del pic corresponent (aquesta aproximació no és exacta del tot, però és suficientment satisfactòria pel que fa als àcids grassos).

El percentatge d'un determinat àcid gras serà:

$$p(\%) = \frac{A_i}{A_T} \cdot 100$$

essent A_i l'àrea corresponent del pic de l'àcid gras i A_T la suma de les àrees de tots els pics de tots els àcids grassos.

OBSERVACIONS

Abans de realitzar aquesta pràctica caldrà efectuar un estudi previ i unes quantes pràctiques senzilles per familiaritzar a l'estudiant amb l'ús del cromatògraf de gasos, si és el cas de que no es té experiència prèvia.

Per un càlcul més exacte caldria tenir en compte els factors de resposta dels diferents àcids grassos, determinats teòricament considerant l'estructura dels èsters metílics i la resposta relativa del DIF per cada configuració química, o, millor encara, experimentalment utilitzant patrons dels diferents àcids grassos; però, tanmateix, el càlcul sense tenir en compte aquests factors, són, en general suficientment aproximats per fer una caracterització i classificació del greix analitzat.

Si es tracta d'àcids grassos lliures o d'oleïnes industrials d'acidesa superior al 80 %, pot ometres la metanolisi alcalina.

El mètode no és apte per greixos amb un contingut d'insaponificable superior al 2 % (la majoria de greixos no superen aquest valor).

Qüestionari 22.1.- Àcids grassos per CG

- 1.- Per què la temperatura de condicionament de la columna és superior a la temperatura de treball?
- 2.- Com es detecta l'envelliment de la columna?
- 3.- Deduir raonadament les fórmules utilitzades en els càlculs.
- 4.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.
- 5.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".
- 6.- Per què pot ometir-se la metanolisi alcalina en els àcids grassos lliures?
- 7.- Com serien els càlculs si tinguéssim en compte els factors de resposta?
- 8.- Idear l'esquema d'un protocol d'anàlisi per calcular els factors de resposta, treballant amb patrons purs d'àcids grassos.

Iniciació a la bromatologia (pràctiques)	Protocols d'anàlisi	Ref: 22.2
AMINOÀCIDS PER CG		

OBJECTE I FONAMENTS

Els trifluorobutilèsters dels aminoàcids poden ésser separats i quantificats per cromatografia de gasos. Aquest trifluorobutilèsters aminoacídics experimenten una retenció selectiva depenent de la temperatura, amb etilenglicoladipat (EGA) o amb metil-fenil-silcona ("rubber"), (OV-17)

La obtenció dels trifluorobutilèsters requereix:

1r.- Hidròlisi de les proteïnes.

2n.- Trifluorobutilació mitjançant fases intermèdies: a) Conversió en metilèsters. b) Conversió dels metilèsters a butilèsters. c) Obtenció de trifluorobutilèsters.

S'utilitza ornitina com estàndard intern, per ser un aminoàcid inexistent a les mostres objecte de l'anàlisi.

Cal preparar simultàniament amb els problemes, una mescla estàndard d'ornitina i els aminoàcids que interressi determinar, a fi de calcular els factors de resposta i els temps de retenció relatius de cada aminoàcid respecte l'ornitina.

MATERIAL

Balança analítica.

Balança granatària.

Baló de 250 ml, esmerilat.

Columna de les característiques indicades a la metodologia.

Cromatògraf de gasos proveït amb registrador-integrador, equipament complementari i detector d'ionització de flama.

Cronòmetre.

Rellotge avisador.

Fluxòmetre de bombolla.

Matrassos aforats de 100 ml.

Microxeringa per C.G., graduada, de 10 µl.

Pipetes aforades de 25 ml.

Placa calefactora.

Refrigerant de reflux.

Tubs d'assaig de 10 ml, amb tap roscat.

Evaporador rotatori ("Buchi") amb dispositiu de buit.

Bomba de buit.

Bany termostàtic d'aigua.

Instal·lació protectora de la bomba de buit.

Bany de parafina amb agitador i termòstat regulable.

Bateries d'agitadors magnètics.

Per mostres amb contingut de sucres alt, cal, a més:

Matràs esmerilat forma baló de 1000 ml.

3 embuts de decantació esmerilats (tant a la boca com a la clau), o bé 1 que caldrà rentar cada cop que calgui, de 500 ml.

Columna amb placa filtrant i clau, esmerilat femella, de 2 cm de \varnothing .

REACTIUS

Àcid clorhídric 1'25N en alcohol metílic, obtingut segons el procediment emprat a la pràctica 22.1.

Àcid clorhídric 1'25N en butanol, obtingut mitjançant procediment similar a l'utilitzat per l'obtenció del HCl 1'25N/metanol.

Aigua destil·lada.

Aire sintètic qualitat cromatogràfica.

Hexà pa.

Hidrogen qualitat cromatogràfica

Nitrogen qualitat cromatogràfica.

Clorur de metilè anhidre, grau espectromètric.

Anhídrid trifluoracètic, qualitat C.G.

Parafina líquida transparent incolora.

Gel de sílice (per dessecació).

Clorur càlcic (per dessecació).

Àcid clorhídric ~6N ($\frac{1}{2}$ HCl conc. i $\frac{1}{2}$ H₂O dest.).

HCl 0'1N pa.

Clorhidrat d'ornitina patró.

Dissolucions d'aminoàcids patró per test: En un matràs aforat de 50 ml, dissoldre 130 mg de patró d'aminoàcid en 20-25 ml de HCl 0,1N (si es presenten dificultat per dissoldre algun aminoàcid, afegir unes gotes de HCl concentrat), arrasar fins a 50 ml amb HCl 0'1N (una dissolució per cada aminoàcid). Procedir igualment amb l'ornitina.

Per mostres amb contingut de sucres alt, cal, a més:

Reïna Dovex 50 WX-8 (40 cc).

Paper indicador.

Amoníac 2N

NaOH diluït.

Nitrat de plata.

METODOLOGIA 1 (per mostres amb contingut de sucres baix o moderat)

1.- Pesar una quantitat de mostra, homogeneïtzada i molturada, que contingui uns 200-250 mg de proteïna.

2.- Hidrolitzar amb HCl 6N a reflux (~110 °C) durant 22 hores.

3.- Deixar refredar. Filtrar, rentant el residu i arreplegant el filtrat.

4.- Evaporar al buit a uns 60 °C fins sequedat quasi total. Redisoldre amb aigua destil·lada i repetir l'evaporació 2 cops més.

5.- Dissoldre en petites quantitats de HCl 0'1 N i passar a un matràs aforat de 100 ml. Arrasar i homogeneïtzar.

6.- Passar 25 ml a un matràs esmerilat de forma pera de 100 ml. Afegir 2 ml de l'estàndard intern d'ornitina. Simultàniament, preparar una mostra estàndard amb 2 ml de l'estàndard intern

i 2 ml de dissolució patró de cadascun dels aminoàcids que volem determinar. A partir d'aquí, precedirem paral·lelament amb aquesta mostra estàndard.

7.- Evaporar al buit a 60 °C fins sequedat.

8.- Deixar un mínim de 15 hores en un dessecador al buit.

9.- Afegir 10 ml de metanol/HCl 1'25N i agitar durant 30 minuts en placa magnètica, a temperatura ambient i el flascó tapat.

10.- Evaporar a 60 °C fins sequedat.

11.- Afegir 10 ml de n-butanol/HCl 1'25N, tapar amb un tap de CaCl₂ i escalfar en un bany de parafina a 100 °C ± 1 °C durant 2'5 hores i agitació magnètica.

12.- Evaporar al buit a 60 °C fins sequedat.

13.- Afegir 4 ml de diclorometà i 1 ml d'anhídrid trifluoracètic.

14.- Col·locar durant 15 minuts a temperatura ambient i tapat.

15.- Passar 2 ml a un tub de pressió amb tanca hermètica a rosca i deixar 5 minuts a 150 °C (ó 5 hores a l'ambient).

16.- Refredar el tub amb aigua freda i guardar en frigorífic. Treure del frigorífic només el temps necessari per injectar en el CG, a fi de que les condicions de estàndard i problema siguin idèntiques..

17.- Injectar 2 µl en el CG.

METODOLOGIA 2 (per mostres amb contingut de sucres elevat)

1.- Procedir com en els punts 1 al 3 de l'apartat anterior.

2.- Evaporar a quasi sequedat al buit a 60 °C.

3.- Diluir en aigua destil·lada i portar a pH aprox. de 3, mitjançant solució de HCl o de NaOH. El volum final no ha de ultrapassar dels 300 ml.

4.- Passar per una columna de 2 cm de AE farcida amb 40 cc de reïna Dowex WX-8, a un flux màxim de 0'5 ml/mn (es pot deixar a un flux molt més baix i deixar per la nit), segons el procés següent:

a) Activar la columna amb 300 ml de HCl 6N.

b) Rentar amb aigua fins test de clorurs negatiu (prova de turbidesa amb nitrat de plata).

c) Passar la mostra per la columna (retenció dels aminoàcids).

d) Passar aigua destil·lada fins pH neutre (aproximadament).

e) Passar 250 ml d'amoniàc 2N (elució dels aminoàcids)

f) Passar 250 ml d'aigua (arreglar aquestes dues últimes fraccions)

5.- Evaporar al buit a 60 °C fins sequedat.

6.- Procedir seguint des de el punt 5 de la Metodologia 1.

Paràmetres cromatogràfics :

Gas portador = nitrogen

Flux gas portador = 80 ml/mn.

Flux d'hidrogen = 50 ml/mn

Flux d'aire = 450 ml/mn.

Temperatura inicial = 75 °C

Temperatura final = 215 °C.

Gradient de temperatura ("rate") = 4°C/mn

Detector = Ionització de flama.

Sensibilitat = 103 X 2.

Temperatura del detector = 350 °C

Temperatura injector = 200 °C.

Columna = Vidre, de 1'5 metres i 4 mm de diàmetre intern, amb fase estacionària d'etilenglicoladipat al 0'6 % sobre suport "Chromosorb 60-100".

CÀLCULS

$$\%A_x = 400 \cdot \frac{A_x}{A_{si}} \cdot \frac{m_{si}}{m} \cdot F_c$$

a on:

%Ax = % de l'aminoàcid considerat, sobre el total de la mostra.

Ax = àrea del pic de l'aminoàcid considerat.

Asi = àrea del pic de l'estàndard intern (ornitina).

msi = massa d'estàndard intern (ornitina)

m = massa de mostra.

Fc = factor de correcció del aminoàcid.

El factor de correcció (**Fc**) es calcula considerant:

$$F_c = \frac{1}{F_r} = \frac{F_s}{F}$$

a on:

Fr = factor de resposta relatiu = **F/F_e**

essent **F** el factor de resposta absolut de l'aminoàcid (*Àrea/massa*) i **F_e** el factor de resposta absolut de l'estàndard (*Àrea de l'estàndard / massa de l'estàndard*).

OBSERVACIONS

El temps de hidròlisi de les mostres pot reduir-se considerablement, utilitzant la pressió (en autoclau). Kaiser, Gehrke i altres investigadors han utilitzat l'autoclau (4 hores a 145 °C), obtenint resultats tan acceptables i reproduïbles com els obtinguts per hidròlisi a 110 °C.

Basant-me en el mètode dels esmentats investigadors, he comprovat empíricament una relació entre el temps d'hidròlisi i la temperatura adient d'hidròlisi, que respon a la següent expressió:

$$e^{[a+b(418-T)]} = \theta$$

en que **T** és la temperatura en Kelvin i **θ** el temps en hores, essent **a** i **b** constants característiques per cada aminoàcid; per la lisina aquests valors son aproximadament de *a=1'300* i *b=0'0488* (determinats empíricament). Teòricament, cal esperar lleugeres desviacions dels valors i la reproductibilitat de **a** i **b** per la serina, tirosina, isoleucina, valina i leucina, desviacions bastant més apreciables per la metionina i ja del tot inadmissibles pel triptòfan.

El mètode no és vàlid per determinar cistina i arginina (el pics no apareixen utilitzant columna EGA) ni pel triptòfan que queda destruït quasi totalment a la hidròlisi àcida. La metionina queda parcialment destruïda a l'hidròlisi.

Si volem determinar cistina i/o arginina, cal utilitzar una columna de OV-17, però cal observar que pel que fa a la resta d'aminoàcids, els resultats obtinguts amb aquesta columna son bastant menys fiables que els obtinguts amb la columna EGA.

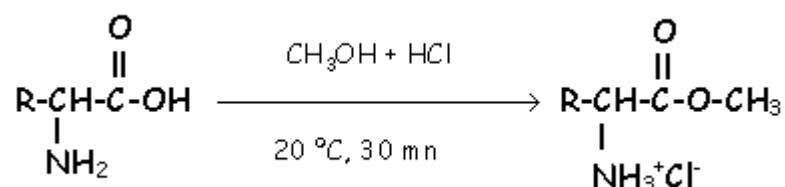
Per determinar triptòfan, alguns autors ha investigat amb hidròlisis alcalines o amb dissolucions d'àcid tioglicòlic.

L'error per defecte per la metionina, pot compensar-se multiplicant el resultat obtingut pel factor empíric 1'25. Els resultats són, de totes maneres, poc reproduïbles si els comparem amb els altres aminoàcids, però bastant més bons que el mètodes semiquantitatius per cromatografia en capa fina.

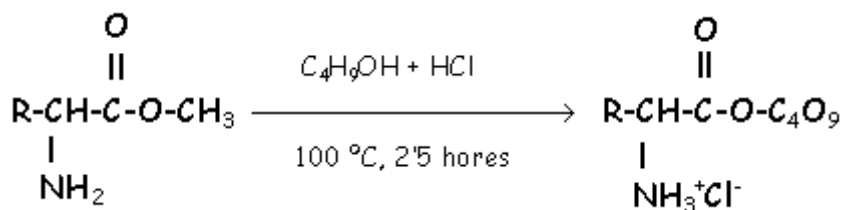
Pot suprimir-se el pas de la metilació fent la butilació amb n-butanol/HCl 3N; i fent un tractament amb ultrasons durant 15 minuts a 100 °C

Esquema de les reaccions químiques del procés:

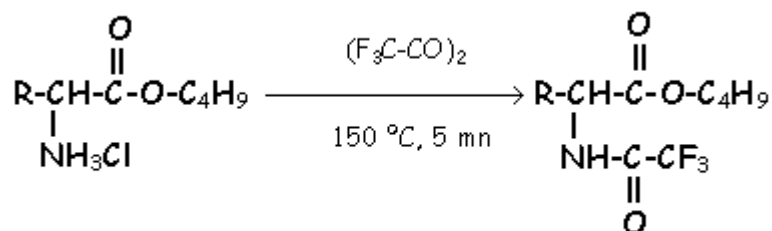
Metilació:



Butilació:



Trifluoroacetilació:



Aspecte dels cromatogrames

Els temps de retenció relatius dels aminoàcids, referits a l'ornitina, amb columnes EGA com la utilitzada en aquesta pràctica, són:

aminoàcid	t_R
alanina	0'26
valina	0'29
isoleucina	0'36
glicina	0'37
leucina	0'41
prolina	0'44
treonina	0'47
serina	0'53
hidroxiprolina	0'63
metionina	0'66
fenilalanina	0'70
asparagina	0'72
glutamina (+ ac. glutàmic)	0'83
tirosina	0'89
ornitina	1'00
lisina	1'07

L'àcid glutàmic i la glutamina apareixen com un únic pic, per produir-se una transformació de l'àcid glutàmic en glutamina durant el procés. El resultat s'expressa com "àcid glutàmic + glutamina expressats com glutamina".

El primer pic que apareix immediatament després de la injecció correspon al dissolvent (diclorometà). A continuació emergeix un pic irregular i asimètric que correspon a l'excés de reactiu. De vegades també poden aparèixer tot seguit un cert nombre de petits pics que corresponen a productes de descomposició i impureses.

Qüestionari 22.2. - Aminoàcids per CG

- 1.- Deduir raonadament les fórmules utilitzades en els càlculs
- 2.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític
- 3.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".
- 4.- Idear un procediment per determinació d'aminoàcids per CG, basat en aquest, en el cas de que no disposéssim de patró intern d'ornitina.
- 5.- Dissenyar un protocol d'anàlisi per poder treballar simultàniament amb varies mostres a la vegada.

APÈNDIX I

Model de butlletí d'anàlisi

A la pàgina següent veiem un model de butlletí d'anàlisi de tipus professional. El d'aquest exemple seria pel cas d'un anàlisi. Si es fan diverses anàlisis diferents, cal adjuntar-hi un altre model de full amb els resultats de tots els anàlisis

(aquí hi va el nom i dades de l'empresa)	NOM I COGNOMS:	
	ANÀLISI:	
Ref. mostra:	data inici:	data final:
<u>descripció de la mostra</u>		
<u>dades</u>		
<u>càlculs</u>		
<u>RESULTATS</u>		
<u>observacions</u>		<u>signatura</u>

APÈNDIX II

Proposta de treballs

Això és un suggeriment sobre treballs que poden ser proposats a estudiants de cicles professionals de química (o branques afins) o universitaris.

Proposta 1.- Elaborar un procediment per la determinació de l'acidesa volàtil del vi, utilitzant l'aparell de destil·lació semimicro Kjeldhal. Fer un estudi experimental i estadístic comparatiu d'ambdós mètodes (el tradicional esmentat a la pràctica de l'acidesa volàtil i el nou mètode experimentat. Comentar els resultats obtinguts).

Proposta 2.- Dissenyar una optimització del protocol de la pràctica 22.2 (determinació d'aminoàcids per C.G.) que redueixi el temps d'anàlisi per mostra. Fer les comprovacions experimentals i estadístiques que calgui per confirmar la bondat del procediment.

Proposta 3.- Considerant els següents fets relatius als esterols, elaborar i verificar una metodologia per quantificar esterols en greixos

- a) Els esterols dels greixos estan continguts a la fracció insaponificable¹.
- b) Poden ser separats de la resta dels insaponificables mitjançant TLC² (tots junts en una única taca)³. La fase estacionària és gel de sílice amb indicador de fluorescència i la fase mòbil cloroform.
- c) Els esterols són separables per C.G., amb els següents paràmetres cromatogràfics⁴:
 - columna OV-17 2'5 %, vidre, 2m X $\frac{1}{4}$ " sobre Chromosorb G80/100.
 - detector FID
 - temperatura = 250 °C
 - temperatura d'injecció = 300 °C
 - flux de gas portador = 30 ml/mn
- d) Els esterols són solubles en cloroform i en èter etílic⁵.

¹ Utilitzar l'extracte obtingut en 5 grams de greix dissolt en 0'5 ml de cloroform.

² Cromatografia en capa fina

³ Com a patró de referència, utilitzar 35 µgr de colesterol a cada extrem de la placa. Aplicar un total de 75 – 150 µl de mostra (en banda o en múltiples gotes)

⁴ Aquests paràmetres són orientatius; es poden experimentar variacions.

⁵ S'aconsella fer les extraccions en cloroform i la última dissolució en èter etílic.

BIBLIOGRAFIA

- ARRIBAS JIMENO, S: "**Marcha Analítica de Cationes sin Precipitación de Sulfuros**". Gráficas Summa (Oviedo).
- FERNÁNDEZ, F: "**Introducció a l'Anàlisi Química Instrumental**" EiLibros.
- FERRANDO, R. i HENRY, N.: "**Determinación Microscópica de los Componentes de los Piensos**". Ed. Acribia (Saragossa).
- PANREAC: Col·lecció "**Métodos Analíticos en Alimentaria**". M & E. SA.
- PROBUS SA: "**Métodos de Análisis. Análisis de Piensos y sus Materias Primas**". Probus SA.
- VOGEL, A I: "**Química Analítica Cuantitativa**". Ed. Kapelusz (Buenos Aires)

