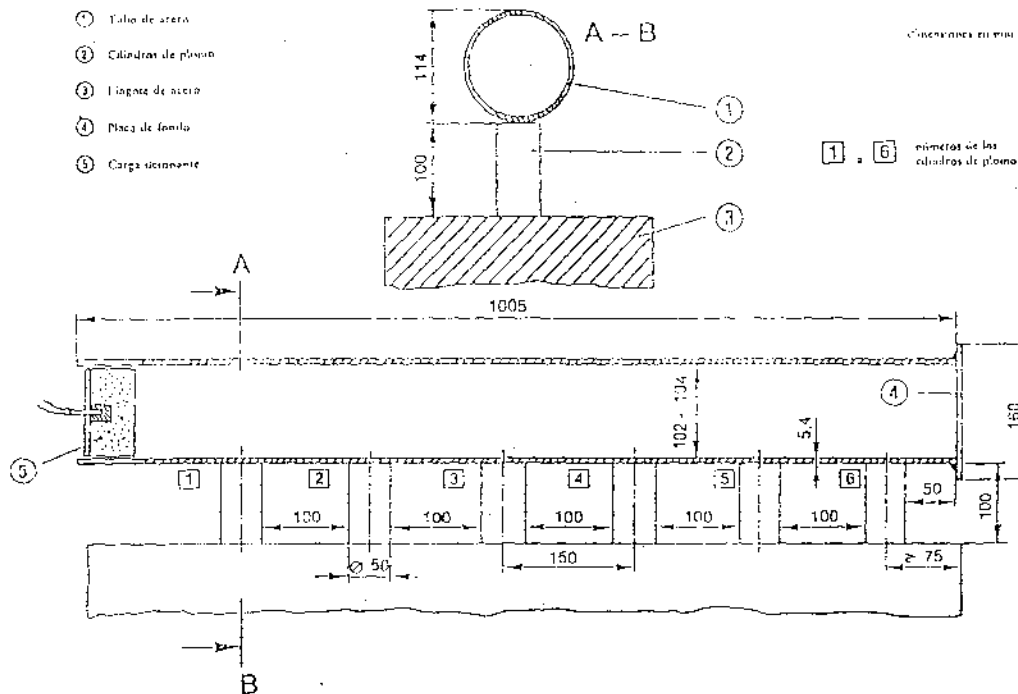


Figura 3  
Colocación del tubo de acero en el lugar de la determinación



**17511** ORDEN de 18 de julio de 1989 por la que se aprueban los métodos oficiales de análisis para el control de determinados azúcares destinados al consumo humano.

En cumplimiento de lo previsto en el artículo 5.º del Decreto 2519/1974, de 9 de agosto («Boletín Oficial del Estado» de 13 de septiembre), sobre desarrollo del Código Alimentario Español, se promulgó el Real Decreto 1261/1987, de 11 de septiembre («Boletín Oficial del Estado» de 14 de octubre), por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria para la elaboración, almacenamiento, transporte y comercialización de los azúcares destinados al consumo humano.

El artículo 23 de la Reglamentación Técnico-Sanitaria, aprobada por el citado Real Decreto, referente a métodos de análisis, autoriza a los Ministros proponentes para que, a propuesta de los Organismos competentes, mediante Orden y, previo informe preceptivo de la Comisión Interministerial para la Ordenación Alimentaria, pueden dictar los métodos oficiales de análisis correspondientes.

Como consecuencia de nuestra entrada en la Comunidad Económica Europea es necesario armonizar nuestra legislación con la correspondiente comunitaria, teniendo en cuenta lo dispuesto en la Directiva del Consejo 73/437/CEE, de 11 de diciembre de 1973 («Diario Oficial de las Comunidades Europeas» del 27), y en la Directiva de la Comisión 79/796/CEE, de 26 de julio de 1979 («Diario Oficial de las Comunidades Europeas» número L 239, de 22 de septiembre).

En este sentido, la determinación, con carácter general, de los requisitos sanitarios de las reglamentaciones técnico-sanitarias de los alimentos, servicios o productos, directa o indirectamente relacionados con el uso y consumo humanos corresponde a la Administración del Estado, en virtud de lo dispuesto en el artículo 40.2, en relación con la disposición adicional segunda de la Ley 14/1986, de 25 de abril, General de Sanidad («Boletín Oficial del Estado» del 29), y artículo 149.1.1 y 16 de la Constitución Española.

En su virtud, a propuesta de los Ministros de Economía y Hacienda, de Industria y Energía, de Agricultura, Pesca y Alimentación y de Sanidad y Consumo, previo informe preceptivo de la Comisión Interministerial para la Ordenación Alimentaria y oídos los representantes de los sectores afectados,

Este Ministerio de Relaciones con las Cortes y de la Secretaría del Gobierno dispone:

Primero.—Se aprueban los métodos oficiales de análisis para el control de determinados azúcares destinados al consumo humano que figuran en el anejo de la presente Orden.

Segundo.—Cuando no existan métodos oficiales para determinados análisis podrán ser utilizados los aprobados por los Organismos nacionales o internacionales de reconocida solvencia.

**DISPOSICION ADICIONAL**

Lo dispuesto en la presente Orden y en los métodos de análisis para determinados azúcares destinados al consumo humano que se aprueban,

se dicta en virtud de lo establecido en el artículo 149.1.1 y 16 de la Constitución Española.

**DISPOSICION DEROGATORIA**

Quedan derogadas cuantas disposiciones de igual o inferior rango se opongan a lo establecido en la presente Orden.

Madrid, 18 de julio de 1989.

**ZAPATERO GOMEZ**

Excmos. Sres. Ministros de Economía y Hacienda, de Industria y Energía, de Agricultura, Pesca y Alimentación y de Sanidad y Consumo.

**ANEJO**

**MÉTODOS OFICIALES DE ANÁLISIS PARA EL CONTROL DE DETERMINADOS AZÚCARES DESTINADOS AL CONSUMO HUMANO**

**INDICE**

- 1. INTRODUCCIÓN.
- 1(a). CÉLULAS DE CONDUCTIVIDAD O CONDUCTIMÉTRICAS (Método por distribución de puntos).
- 1(b). CÉLULAS DE CONDUCTIVIDAD O CONDUCTIMÉTRICAS.
- 2. COLOCACIÓN DEL SUELO.
- 2(a). DIOXIDO DE AZÚCAR (Método colorimétrico de Carruthers, Henney y Macleod).
- 2(b). DIOXIDO DE AZÚCAR (Método volumétrico de Menier-Williams).
- 3. DENSIDAD DE MASA POR DESHIDRATACIÓN.
- 4. MATERIA SECA TOTAL (Por refractometría).
- 5. EQUIVALENTE EN DEXTROSA (Método de valoración constante Luns-Eymond).
- 6. MATERIA SECA (Por desecación en vacío).
- 7. DIFUSIÓN SULFATADA O SULFATADA.
- 8. PODER ROTATORIO (Polarización).
- 9. TIPO DE AZÚCAR (Método del Instituto de Brunswick).
- 10. AZÚCARES REDUCTORES, EXPRESADOS EN AZÚCARES INVERTIDOS (Método del Instituto de Brunswick).
- 11. AZÚCARES REDUCTORES, EXPRESADOS EN AZÚCARES INVERTIDOS (Método de Luff-Jeroen).
- 12. AZÚCARES REDUCTORES, EXPRESADOS EN AZÚCARES INVERTIDOS (Método de Luff-Jeroen).

**INTRODUCCION****1. PREPARACION.-** Preparación de la muestra para el análisis

Mézclase perfectamente la muestra recibida en el laboratorio. Extraigase una porción de 200 g como mínimo e introduzcase inmediatamente en un recipiente seco provisto de cierre hermético.

**2. REACTIVOS Y EQUIPO.-**

En la descripción del equipo solo se indican los instrumentos y aparatos especiales o que requieren normas particulares.

Por otra parte, cuando se menciona el agua, se trata siempre de agua destilada o de agua desmineralizada de pureza al menos equivalente.

Todos los reactivos deben ser de calidad analítica, salvo especificación en contrario.

Siempre que se mencione una solución de un reactivo sin ninguna indicación, se trata de una solución acuosa.

**3. EXPRESION DE LOS RESULTADOS.-**

El resultado que se indique en el boletín de análisis, será el valor medio obtenido a partir de un mínimo de dos determinaciones cuya reproductibilidad sea satisfactoria.

Salvo disposiciones particulares, los resultados se expresarán en porcentaje (w/w) de la muestra en el estado en que llegó al laboratorio.

El resultado no debe llevar más cifras significativas que las que permita la precisión del método.

**1(a). CENIZAS DE CONDUCTIVIDAD O CONDUCTIMÉTRICAS  
MÉTODO POR ATRIBUCIÓN DE PUNTOS****1(a).1. PRINCIPIO.-**

Se entiende por cenizas de conductividad o conductimétricas a la concentración de sales ionizadas solubles presentes en la muestra y determinadas por el método de atribución de puntos.

Este método es aplicable a azúcar terciado, azúcar moreno de caña, azúcar semiblanco, azúcar blanco o blanquilla y azúcar refinado, en cualquiera de sus formas de presentación (en polvo o glacé, candi o cande, pilé en forma de panes, granulado, cuadradillo y de fantasía).

**1(a).2. MATERIAL Y APARATOS.-**

1(a).2.1. Instrumento para medir la conductividad que permita medidas de hasta  $0,5 \mu S \cdot cm^{-1}$  con una precisión de  $\pm 2\%$ . Se aconseja utilizar cubetas de medida que puedan mantener la temperatura a  $20 \pm 2$  °C por medio de un termostato (1(a).5.1.1).

1(a).2.2. Matraces aforados de 100  $\pm$  0,05 ml, 500  $\pm$  0,25 ml y 1000  $\pm$  0,40 ml (1(a).6.2.).

1(a).2.3. Pipetas aforadas de 10  $\pm$  0,2 ml.

**1(a).3. REACTIVOS.-**

1(a).3.1. Agua bidestilada o desionizada, de conductividad específica inferior a  $2 \mu S \cdot cm^{-1}$ .

1(a).3.2. Solución de cloruro de potasio N/5000.

En un matraz de 1000 ml, disolver en agua (1(a).3.1.), 745,6 mg de cloruro de potasio para análisis, previamente calentado a 500 °C (para desahumarlo) y completar con esta hasta el aforo. Transferir 10 ml de esta solución a un matraz de 500 ml y completar con agua (1(a).3.1.).

Esta solución tendrá una conductividad específica a 20 °C de  $25 \pm 0,2 \mu S \cdot cm^{-1}$  una vez deducida la conductividad específica del agua utilizada.

Las soluciones de cloruro de potasio deberán estar recientemente preparadas antes de cada calibrado.

**1(a).4. PROCEDIMIENTO.-****1(a).4.1. Calibrado**

El calibrado de los instrumentos de medida de conductividad se efectuará mediante la solución de cloruro de potasio (1(a).3.2.).

**1(a).4.2. Preparación de la muestra**

Se prepara una solución de azúcar al 25X (w/w) en agua (1(a).3.1.), disolviendo a  $20 \pm 0,2$  °C,  $31,3 \pm 0,1$  g de azúcar en un matraz de 100 ml o disolviendo 25 g de azúcar en agua (1(a).3.1.), y llevándolo a 100 g.

**1(a).4.3. Determinación de la conductividad específica del agua utilizada**

La misma cantidad de agua que la utilizada en la preparación de la muestra (1(a).4.2.) se agita en un matraz aforado de 100 ml (1(a).2.2.), completar y medir la conductividad específica a unos 20 °C (1(a).5.3.).

**1(a).4.4. Determinación de la conductividad específica de la solución de azúcar**

Agitar la solución de azúcar (1(a).4.2.) e introducirla en la cubeta de medida. Medir la medida cuando la temperatura de la solución sea exactamente de  $20 \pm 0,2$  °C.

**1(a).5. CALCULOS.-**

La conductividad específica se obtendrá según la siguiente fórmula:

$$C_{25} = C_{leída} - C_{\text{agua}}$$

Donde

$C_{25}$  = Conductividad específica, en microsiemens por centímetro a 25 °C de la solución de azúcar al 25X.

$C_{leída}$  = Conductividad específica, en microsiemens por centímetro, medida en (1(a).4.4.).

$C_{\text{agua}}$  = Conductividad específica del agua, en microsiemens por centímetro, medida en (1(a).4.3.).

El resultado se expresa en porcentaje de cenizas de conductividad y se obtendrá por la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Cenizas} = 0,320 \times 18 \times 10^{-4} \times C_{25} = 5,76 \times 10^{-4} \times C_{25}$$

$$\% \text{ de puntos} = 0,320 \times C_{25}$$

Es decir, que  $0,13 \mu S \cdot cm^{-1}$  valen 1 punto o que 1 punto =  $0,0077\%$  de cenizas.

**1(a).6. OBSERVACIONES.-**

1(a).6.1. Según el funcionamiento del instrumento de medida de conductividad utilizado, éste se regulará de tal manera que indique el valor de la conductividad específica de la solución de cloruro potásico N/5000 (1(a).3.2.) incrementado con el de la conductividad específica del agua utilizada, o bien éste último valor ya aumentado se empleará para el cálculo de la constante de la cubeta.

1(a).6.2. Todos los recipientes y pipetas utilizadas deben lavarse cuidadosamente antes de su empleo con agua bidestilada (1(a).3.1.).

1(a).6.3. Después de esta medida, no es necesario ajustar el termostato con precisión, dado que las eventuales correcciones de temperatura son netamente inferiores a los límites de error.

**1(a).7. REFERENCIAS.-**

- ICHPSA. Cenizas conductimétricas (Fuente: Boletín 14º Ses. ICHPSA 1968, pág. 38).

**1(b). CENIZAS DE CONDUCTIVIDAD O CONDUCTIMÉTRICAS****1(b).1. PRINCIPIO.-**

Se entiende por cenizas de conductividad a la concentración de sales ionizadas solubles presentes en la muestra y determinadas por el método descrito a continuación.

La conductividad específica indica la concentración de sales ionizadas solubles presentes. Las cenizas de conductividad se obtienen multiplicando el resultado conductimétrico por un factor de proporcionalidad adecuado. La ceniza gravimétrica representa la suma de las cenizas solubles e insolubles en agua.

Este método tiene el mismo campo de aplicación que el método 1(a), ampliado a azúcar líquido, azúcar líquido invertido y jarabe de azúcar invertido.

**1(b).2. MATERIAL Y APARATOS.-**

1(b).2.1. Cubeta de conductividad de vidrio con electrodos de platino platinado firmemente fijados y convenientemente protegidos contra desplazamientos. Estos electrodos pueden estar sellados dentro de la vasija en la que puede ponerse la solución que se examina y retirarse posteriormente (tipo Zernban) o estar unidos al soporte de modo que puedan bajarse hasta una probeta (o vaso de precipitado de 100 ml) que contenga la solución (tipo inmersión). La cubeta estará provista de un termómetro graduado en décimas de grado y que marque  $15 - 25$  °C estando colocado el bulbo junto a los electrodos. La constante de la cubeta debe ser aproximadamente 0,15.

1(b).2.2. Galvanómetro o zumbador de micrófono o carrete de inducción y un receptor sensible de teléfono.

1(b).2.3. Fuente adecuada de corriente. Para los acumuladores o secas si se usa carrete de inyección o zumbador.

- 1(b).2.4. Resistencia de 10 y 100 ohmios. Deben ser fijas y exactas.
- 1(b).2.5. Resistencia a cursor o puente de Wheatstone. En lugar de lo anterior, conviene emplear un aparato moderno de puente de conductividad alimentado con red.
- 1(b).2.6. Dispositivo para control de la temperatura de la cubeta, con sensibilidad de  $\pm 0,1$  °C.

### 1(b).3. REACTIVOS.-

- 1(b).3.1. Solución patrón de cloruro de potasio 0,01 M.

Disolver 0,3728 g de cloruro de potasio deshidratado, en agua destilada hasta 500 ml a 20 °C.

- 1(b).3.2. Solución patrón de cloruro de potasio 0,02 M.

Disolver 0,7456 g de cloruro de potasio deshidratado en agua destilada hasta 500 ml a 20 °C.

### 1(b).4. PROCEDIMIENTO.-

- 1(b).4.1. Determinación de la constante de la cubeta

Llenar la cubeta con la solución de cloruro de potasio 0,01 M, ajustar a  $20 \pm 0,1$  °C, medir la resistencia y multiplicar el número de ohmios por 141,2 (conductividad específica de KCl 0,01 M). Enjuagar con la solución de cloruro de potasio 0,02 M, llenar la cubeta con esta solución, medir la resistencia a  $20 \pm 0,1$  °C y multiplicar por 276,1 (conductividad específica de KCl 0,02 M). Hallar el promedio de los dos resultados. La constante de la cubeta debe ser aproximadamente 0,15.

- 1(b).4.2. Determinación de cenizas de conductividad

Disolver 10 g de muestra, si la cifra de cenizas es menor de 1% (ó 10 g de mezcla de muestra y sacarosa pura para que resulte aproximadamente 0,5% de cenizas, si la muestra tiene más de 1% de cenizas) y completar a volumen a 200 ml a 20 °C. Medir la conductividad de la solución a 20 °C. A esta temperatura debe aplicarse un coeficiente de corrección del agua de  $K = 0,9$ .

### 1(b).5. CALCULOS.-

El porcentaje (M/M) de cenizas de conductividad se obtendrá según la siguiente fórmula:

$$\% \text{ cenizas de conductividad} = 0,9 \times 18 \times 10^{-4} \times L$$

$$0,9 = \text{Coeficiente de corrección del agua a } 20 \text{ °C}$$

$$L = \text{conductancia específica (microhms)}$$

### 1(b).6. OBSERVACIONES.-

- 1(b).6.1. La temperatura patrón oficial debe ser 20 °C. Sin embargo, hay que aplicar las correcciones siguientes cuando la temperatura es diferente a 20 °C (máximo  $\pm 5$  °C):

Temperaturas mayores de 20 °C: restar 2 por ciento por cada °C.

Temperaturas menores de 20 °C: añadir 2 por ciento por cada °C.

- 1(b).6.2. La conductividad específica máxima del agua utilizada deberá ser 2 microsiemens por  $\text{cm}^{-1}$ .

- 1(b).6.3. Igualmente puede emplearse una concentración de 20 g/100 ml; en este caso, después de aplicar la corrección para la conductividad específica del agua empleando un coeficiente de corrección de 0,5, se convierte la conductividad específica corregida de la solución en la conductividad específica calculada, a una concentración de 5 g/100 ml, multiplicando por un factor de conversión de 0,32.

$$C_{20} = C_{\text{leída}} - 0,5 C_{\text{agua}}$$

$$C_5 = 0,32 \times C_{20}$$

Siendo:

$C_{20}$  = Conductividad específica en  $\mu\text{S.cm}^{-1}$  de la solución de azúcar al 20% (m/v).

$C_5$  = Conductividad específica en  $\mu\text{S.cm}^{-1}$  de la solución de azúcar al 5% (m/v).

$C_{\text{leída}}$  = Conductividad específica en  $\mu\text{S.cm}^{-1}$  determinada en la cubeta.

$C_{\text{agua}}$  = Conductividad específica en  $\mu\text{S.cm}^{-1}$  del agua.

Para calcular el porcentaje de cenizas de conductividad:

$$\% \text{ cenizas} = 0,32 \times C_{20} \times 18 \times 10^{-4}$$

Siendo:

$$18 \times 10^{-4} = \text{factor de proporcionalidad.}$$

### 1(b).7. REFERENCIAS.-

- ICUMSA. Methods of Sugar Analysis, 1964, p. 38-40
- Report of the Proceedings of the 12th Session of ICUMSA, 1958, p. 8-10
- Report of the Proceedings of the 13th Session of ICUMSA, 1962, p. 8-12
- Report of the Proceedings of the 14th Session of ICUMSA, 1966, p. 88-89

### 2. COLORACION EN SOLUCION

#### 2.1. PRINCIPIO.-

Medida del color en solución de los azúcares.

Este método es aplicable a: azúcar terciado, azúcar moreno de caña, azúcar blanco, azúcar blanco o blanquilla, azúcar refinado o blanco refinado (en cualquiera de sus formas de presentación, polvo o glasé, canchí o canche, en forma de panes, pilé, granulado y cuadradillo), azúcar líquido, azúcar líquido invertido, jarabe de azúcar invertido.

#### 2.2. MATERIAL Y APARATOS.-

- 2.2.1. Espectrofotómetro o equivalente, con una cubeta de absorción de 10 cm (la longitud de cubeta se elige de modo que la lectura del instrumento esté entre 10 y 90% de transmitancia).

- 2.2.2. Filtro de membrana, de tamaño de poro 0,45  $\mu\text{m}$ , de acuerdo con el método de extrusión de mercurio, 2,6A según el método Hagen-Poiseuille.

#### 2.3. REACTIVOS.-

- 2.3.1. Agua destilada.
- 2.3.2. Ácido clorhídrico diluido.
- 2.3.3. Hidróxido de sodio diluido.
- 2.3.4. Tierra de diatomeas de calidad analítica (1\* sobre sólidos).

#### 2.4. PROCEDIMIENTO.-

Preparar, con agua destilada, una solución del azúcar que se quiere analizar a las concentraciones siguientes:

- azúcar blanco: 500 (m/m)
  - azúcar moreno: la mayor posible, compatible con velocidades de filtración y profundidades de cubeta razonables.
- azúcares líquidos y jarabes: densidad original, a menos que sea preciso diluir para conseguir velocidades de filtración y profundidades de cubeta razonables.

Filtrar la solución en vacío. Las soluciones de azúcar blanco y los jarabes ligeramente coloreados deben filtrarse a través de filtro de membrana (2.2.2.) sin adición de coadyuvantes de filtración. Las soluciones más oscuras deben filtrarse con tierra de diatomeas (2.3.4.) sobre papel de filtro. La primera porción del filtrado, si está turbia, se tira.

Ajustar el pH de las soluciones más oscuras a 7,0  $\pm$  0,2 con ácido clorhídrico o hidróxido de sodio diluidos. No ajustar el pH de las soluciones de azúcar blanco. Eliminar el aire arrastrado en vacío.

Situar la solución en una cubeta de absorción (2.2.1.). Determinar la atenuancia ( $A_c$  ó  $-\log T_c$ ) de la solución a 420 nm en un espectrofotómetro o equivalente, utilizando agua destilada como patrón de referencia de color cero.

#### 2.5. CALCULOS.-

El índice de atenuación se obtendrá según la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de atenuación } (A_c)_{420} = \frac{A_c}{bc} = \frac{-\log T_c}{bc}$$

Siendo:

$A_c$  = Atenuancia.

$T_c$  = Transmitancia.

$b$  = Longitud de cubeta en centímetros.

$c$  = Concentración de sólidos totales en gramos por mililitro.

Los resultados se expresan en unidades de color ICUMSA. Color en unidades ICUMSA = 100X índice de atenuación  $(A_c)_{420}$

#### 2.6. REFERENCIAS.-

- ICUMSA Methods of Sugar Analysis, 1964, pp. 57-80
- Report of the Proceeding of the 12th Session of ICUMSA, 1958, p. 52

### 3(a). DIOXIDO DE AZUFRE

(Método colorimétrico de Carruthers, Heaney y Oldfield)

#### 3(a).1. PRINCIPIO.-

Determinación colorimétrica del dióxido de azufre, cuyo contenido no exceda de 1 mg/kg, empleando reactivos cromogénicos, resorilina blanqueada con ácido y formaldehído.

El método es aplicable a azúcar semiblanco, azúcar blanco o blanquillo, azúcar refinado o blanco refinado, en cualquiera de sus formas de presentación (en polvo o glacé, candi o cande, pile, en forma de panes, granulado, couacsillo y de fantasia), azúcar líquido, azúcar líquido invertido, jarabe de azúcar invertido, glucosa líquida o jarabe de glucosa, jarabe de glucosa deshidratado o glucosa atomizada, dextrosa anhidra, dextrosa monohidratada, dextrosa en polvo, fructosa y maltosa.

### 3(a).2. MATERIAL Y APARATOS.-

3(a).2.1. Espectrofotómetro o absorbómetro, provisto de cuneta de 1 cm de igualación y un filtro adecuado con un máximo de transmisión entre 545 y 560 nm.

### 3(a).3. REACTIVOS.-

3(a).3.1. Solución acuosa saturada de hidrocloreuro de rosanilina.

Suspender un exceso (aproximadamente 1 g por ml) de hidrocloreuro de rosanilina en agua destilada, calentar a unos 50 °C y dejar enfriar mientras se agita, y después dejar en reposo durante 48 horas, agitando de vez en cuando y filtrar.

3(a).3.2. Solución de rosanilina blanqueada.

Sobre 4 ml de solución acuosa saturada de hidrocloreuro de rosanilina, añadir 5 ml de ácido clorhídrico concentrado, mezclar y diluir hasta 100 ml. La decoloración no es instantánea y el reactivo no debe utilizarse hasta que haya pasado una hora por lo menos de su preparación.

3(a).3.3. Solución de formaldehído 0,2%.

Diluir 5 ml de formaldehído de 40% con agua hasta 1 litro.

3(a).3.4. Solución de hidróxido de sodio 0,1 N.

3(a).3.5. Solución de hidróxido de sodio 0,004 N.

3(a).3.6. Solución patrón de sulfito de sodio ( $\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ).

3(a).3.7. Solución patrón de yodo.

3(a).3.8. Sacarosa, exenta de dióxido de azufre.

3(a).3.9. Agua destilada.

### 3(a).4. PROCEDIMIENTO.-

3(a).4.1. Disolver en agua destilada el azúcar que se analiza mezclando suavemente, y añadir hidróxido de sodio diluido para obtener una solución que contenga de 0,5 a 30,4 g de dióxido de azufre por 10 ml que sea aproximadamente 0,004 N con respecto al hidróxido sódico. Para la mayoría de los azúcares, esta concentración puede alcanzarse en soluciones que contengan 4 ml de hidróxido sódico 0,1 N y 10 g ó 20 g de sacarosa por 100 ml. Si la concentración general de dióxido de azufre es menor de 2 mg/kg, puede aumentarse la concentración de sacarosa a 40 g por 100 ml. Trasladar 10 ml de la solución de azúcar a un tubo de ensayo seco y limpio lo bien pueden pesarse de 1 a 4 g de azúcar seco y disolverlos directamente en un tubo de ensayo graduado en 10 ml y completar a volumen después de añadir 0,4 ml de hidróxido de sodio 0,1 N (3(a).3.4.); añadir 2 ml de solución de rosanilina blanqueada (3(a).3.2.) seguido de 2 ml de solución de formaldehído al 0,2% (3(a).3.3.).

Mezclar y dejar en reposo a temperatura ambiente durante 20 - 5 minutos. Medir la absorbancia de la solución en una cuneta de 1 cm a 560 nm, aproximadamente, y determinar el contenido de dióxido de azufre con referencia a una curva patrón (3(a).4.2.) obtenida en las mismas condiciones.

3(a).4.2. Curva patrón.

Se prepara empujando una solución patrón de cantidades conocidas de sulfito de sodio añadidas a sacarosa exenta de dióxido de azufre (3(a).2.8.) disueltas en hidróxido de sodio 0,004 N (3(a).3.5.). La sacarosa se agrega a todas las soluciones patrón con el objeto primordial de minimizar la oxidación del sulfito durante la preparación y la manipulación de los patrones. A condición de que las soluciones sean aproximadamente 0,004 N con respecto al hidróxido de sodio antes de añadir la solución de rosanilina blanqueada ácida (3(a).3.2.) la presencia de sacarosa exenta de dióxido de azufre en concentraciones de hasta 40 g por 100 ml no influye sensiblemente en el rendimiento de color, y es innecesario igualar la concentración de sacarosa en los patrones con la de las soluciones de ensayo.

Preparar una solución que contenga aproximadamente 0,5% de sulfito de sodio (3(a).3.5.) en sacarosa (3(a).3.8.) al 10% y determinar con exactitud la concentración de sulfito valorando frente a solución de yodo patrón.

Eluir 5 ml de la solución de sulfito hasta 100 ml con sacarosa al 10% para obtener un patrón primario cuya concentración conocida es aproximadamente 50 g de  $\text{SO}_2$  por ml. Para preparar los patrones de calibración tomar 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 y 6,0 ml del patrón primario. Añadir 4 ml de hidróxido de sodio 0,1 N (3(a).3.4.) y diluir a 100 ml con solución de sacarosa al 10%. Preparar también un patrón de referencia empujando la solución de patrón primario.

Añadir, sobre partes alícuotas de 10 ml de los patrones de calibración, la solución de rosanilina blanqueada (3(a).3.2.) y la solución de formaldehído (3(a).3.3.) y medir las absorbancias como en (3(a).4.1.).

### 3(a).5. EXPRESION DE LOS RESULTADOS.-

Los resultados se expresarán en miligramos de dióxido de azufre por kilogramo de muestra.

### 3(a).6. OBSERVACIONES.-

3(a).6.1. La solución de azúcar se trata con ácido diluido antes de añadir los reactivos cromogénicos para liberar el dióxido de azufre débilmente unido que, de otro modo, no se determinarían por este procedimiento. Así, pues, la solución se ajusta a pH 11, aproximadamente.

### 3(a).7. REFERENCIAS.-

- Carruthers S., Heaney F.C. and Cluffield J.F.T. (1965). International Sugar Journal, pp. 384-386, Determination of Sulphur dioxide in white sugar.

### 3(b). DIOXIDO DE AZUFRE (Método volumétrico de Moirer-Williams)

#### 3(b).1. PRINCIPIO.-

Destilación de una solución ácida de la muestra en una corriente de dióxido de carbono a través de un refrigerante de reflujo, recogiendo el destilado en una solución diluida pura de peróxido de hidrógeno y posterior volumetría del ácido sulfúrico formado.

También puede determinarse el ácido sulfúrico por gravimetría cuando las cantidades de  $\text{SO}_2$  presentes son muy pequeñas.

El método es aplicable a los mismos azúcares que el método 3(a).

El método es aplicable en presencia de otros compuestos sulfurados y ácidos orgánicos volátiles.

#### 3(b).2. MATERIAL Y APARATOS.-

3(b).2.1. Aparato representado en la figura 3(b).1.

#### 3(b).3. REACTIVOS.-

3(b).3.1. Ácido clorhídrico concentrado, puro, exento de cloro.

3(b).3.2. Dióxido de carbono puro, exento de cloro.

Puede obtenerse de una botella de  $\text{CO}_2$  líquido provista de una válvula de ajuste fina que permita un flujo constante de gas a cualquier velocidad que se desee, y purificarse después convenientemente (3(b).5.1.).

3(b).3.3. Peróxido de hidrógeno de diez volúmenes puro (3%) exento de ácido sulfúrico. Se prepara diluyendo 10 ml de  $\text{H}_2\text{O}_2$  de 30% neutro, con agua destilada hasta 100 ml.

3(b).3.4. Solución de hidróxido de sodio 0,1 N.

3(b).3.5. Solución de indicador azul de bromofenol.

3(b).3.6. Cloruro de bario.

3(b).3.7. Agua destilada.

#### 3(b).4. PROCEDIMIENTO.-

El erlenmeyer (G) y el primer tubo Pelligot (E) se cargan cada uno con 10 ml de la solución de  $\text{H}_2\text{O}$ . El segundo tubo de Pelligot (F) se carga con 5 ml de una mezcla de soluciones de  $\text{H}_2\text{O}_2$  y cloruro de bario acidificada con unas gotas de HCl. Actúa como tubo de seguridad para controlar la absorción completa de  $\text{SO}_2$  en los dos primeros recipientes, aunque en general no será necesario (3(b).5.2.).

Después de conectar el aparato, se introducen 500 ml de agua destilada en el matraz (A), junto con 20 ml de ácido clorhídrico y se hierve la solución, al mismo tiempo que se hace pasar una corriente de  $\text{CO}_2$ , hasta que se ha expulsado todo el aire del aparato. Luego se enfría el matraz por inmersión gradual en un baño de agua, continuándose la corriente de  $\text{CO}_2$  durante el enfriamiento, y después se introduce rápidamente la muestra quitando acénticamente el tapón (B).

Si la muestra es líquida, puede introducirse a través de un embudo de decantación, no representado en la figura, adaptado para que pase a través del tapón (B).

La mezcla se hierve entonces durante una hora en una corriente lenta de  $\text{CO}_2$ , y se corta el flujo de agua en el refrigerante. De este modo el refrigerante y el tubo de desprendimiento se van calentando lentamente, y todo el  $\text{SO}_2$  retenido por la humedad condensada en el tubo es arrastrado hasta el colector (C), que puede mantenerse frío durante esta operación por medio de una pequeña vasija con agua fría. Tan pronto como el tubo de desprendimiento está caliente en el punto (H), según se arrastra al tacto, se desconectan los colectores en (E). Se lava en sentido descendente el tubo, recogiendo los lavados en el colector (D), con una pequeña cantidad de agua destilada, y se pasa también a (D) el contenido de (E) cuantitativamente. El líquido, que juntamente con los lavados medirá unos 40-50 ml, se valora a la temperatura ambiente con  $\text{NaOH}$  0,1 N, empujando como indicador azul de bromofenol (3(b).3.5.).

Quando la cifra de valoración sea menor de 0,5 ml se recomienda el método gravimétrico, teniendo en cuenta que 1 ml de Na(OH) 0,1 N corresponde a 32 ppm de  $\text{SO}_2$  sobre 100 g de muestra.

En este caso y, también cuando se necesite una gravimetría como verificación de la cifra de valoración, la precipitación y filtración del sulfato de bario formado en el destilado acidificado, al añadir cloruro bórico, deben hacerse en un vaso de precipitados en frío (3(b).6.3.).

### 3(b).5. CÁLCULOS.-

Los resultados se expresan en mg de dióxido de azufre por Kg de muestra y se calculan mediante las siguientes fórmulas:

a) Por valoración

$$\text{mg de SO}_2/\text{Kg} = \frac{V \times 3,200}{M}$$

b) Por gravimetría

$$\text{mg de SO}_2/\text{Kg} = \frac{M_1 \times 274,45}{M}$$

Siendo:

V = Volumen, en ml, de hidróxido de sodio gastados en la valoración.

M = Masa, en g. de la muestra.

$M_1$  = Masa, en miligramos, de sulfato de bario.

### 3(b).6. OBSERVACIONES.-

3(b).6.1. El  $\text{CO}_2$  puede purificarse haciéndolo pasar por un lavador que contenga una solución diluida de carbonato sódico, de calidad reactivo, para eliminar el cloro antes de atravesar el matraz de destilación.

3(b).6.2. Indicios pequeñísimos (trazas) de  $\text{SO}_2$  que escapen bastarán para producir un enturbiamiento de sulfato bórico en el segundo tubo (F). En los experimentos de acuerdo con el método Monier-Williams no se ha observado nunca este fenómeno.

3(b).6.3. Para la valoración conviene utilizar una microbureta.

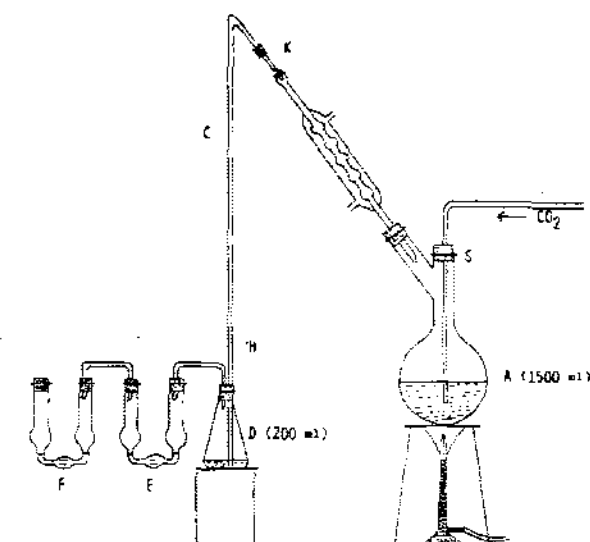
3(b).6.4. El peróxido de hidrógeno cuando está frío, no oxida cantidades apreciables de sulfato de hidrógeno ni de azufre orgánico volátil para dar ácido sulfúrico y, en la determinación de  $\text{SO}_2$  en alimentos que contengan compuestos sulfurados volátiles, el  $\text{H}_2\text{O}_2$  dará los resultados de máxima confianza, a condición de que la precipitación y la filtración de sulfato bórico se hagan en frío. Sin embargo, para evitar que el precipitado de sulfato bórico se impurifique con indicios de cloruro bórico, hay que dejarlo sedimentar, vertiendo el líquido que sobrenada a través de un filtro y el  $\text{BaSO}_4$  que queda en el vaso de precipitados debe lavarse tres veces por decantación con agua hirviendo antes de echarlo en el filtro.

### 3(b).7. REFERENCIAS.-

- The Analyst (1927) 52, 343 and 415

Monier-Williams, G.V., The determination of Sulphur Dioxide in foods. Report on Public Health and Medical Subjects, Nº 43, 56 pages, Ministry of Public Health, 1927, H. Stationery Office, London.

FIGURA 3 (b) 1.- APARATO DE DESTILACION SEGUN MONIER-WILLIAMS



C.- Tubo vertical de unos 4-4,5 mm de diametro interno

E y F.- Tubos Peligot

## 4. PÉRDIDA DE MASA POR DESECCACION

### 4.1. PRINCIPIO.-

Se entiende por "pérdida de masa por desecación" a la pérdida de masa obtenida en estufa a la temperatura de  $103 \pm 2$  °C durante 3 horas.

El método es aplicable a azúcar terciado, azúcar moreno de caña, azúcar semiblanco, azúcar blanco o blanquilla y azúcar refinado o blanco refinado. En cualquiera de sus formas de presentación (en polvo o glacé, candí o cande, pilé, en forma de panes, granulado, cuadradillo y de fantasía).

### 4.2. MATERIAL Y APARATOS.-

4.2.1. Cápsula de metal de fondo plano (inatocable por las muestras y las condiciones del análisis) de un diametro mínimo de 100 mm y de una altura mínima de 30 mm.

4.2.2. Estufa eléctrica, regulable a  $103 \pm 2$  °C, con corriente de aire seco.

4.2.3. Desecador provisto de gel de sílice recién activado o de un deshidratante equivalente y dotado de un indicador de humedad.

4.2.4. Balanza de precisión de 0,1 mg de sensibilidad.

### 4.3. PROCEDIMIENTO.-

4.3.1. Secar el recipiente (4.2.1.) en la estufa (4.2.2.) a  $103 \pm 2$  °C hasta masa constante.

4.3.2. Dejar enfriar el recipiente (4.2.1.) en el desecador (4.2.3.) durante un mínimo de 30 a 35 minutos y pesar con una precisión de 0,1 mg.

4.3.3. Pesar con una precisión de 0,1 mg en el recipiente (4.2.1.), entre 20 y 30 g de la muestra.

4.3.4. Poner el recipiente (4.2.1.) en la estufa (4.2.2.) y a continuación mantenerlo durante tres horas a una temperatura de  $103 \pm 2$  °C.

4.3.5. Dejar enfriar el recipiente en el desecador (4.2.3.) y pesar con una precisión de 0,1 mg.

4.3.6. Colocar de nuevo el recipiente (4.2.1.) en la estufa (4.2.2.) a  $103 \pm 2$  °C. Dejar enfriar en el desecador (4.2.3.) y pesar con una precisión de 0,1 mg. Repetir esta operación si la diferencia entre dos pesadas sucesivamente es superior a 1 mg. En la hipótesis de un aumento de masa, se retomará para el cálculo la más baja de las cifras registradas.

4.3.7. El tiempo total de secado no deberá ser superior a 4 horas.

4.3.8. Observaciones.

Las operaciones descritas en los apartados 4.3.3. a 4.3.7. deberán efectuarse inmediatamente después de abrir los recipientes que contengan las muestras.

### 4.4. CÁLCULOS.-

La pérdida en masa expresada en tanto por ciento en masa se obtendrá según la siguiente fórmula:

$$\% \text{ pérdida de masa} = (m_1 - m_2) \times \frac{100}{m_0}$$

Siendo:

$m_0$  = Masa, en gramos, de la toma para ensayo.

$m_1$  = Masa, en gramos, de la cápsula con la toma para ensayo y la tapadera antes de la desecación.

$m_2$  = Masa, en gramos, de la cápsula con la toma para ensayo y la tapadera después de la desecación.

### 4.5. REPETIBILIDAD.-

La diferencia entre los resultados de dos determinaciones paralelas, efectuadas simultáneamente en las mismas condiciones por el mismo analista sobre la misma muestra, no deberá sobrepasar los 0,02 g por cada 100 g de muestra.

### 4.6. REFERENCIAS.

- Directiva de la Comisión (CE/76/002) de 26 de julio de 1976, Anexo II, Método I.



Table with 10 columns: n (20 °C), Inmuestra (%), n (20 °C), Inmuestra (%), n (20 °C), Inmuestra (%), n (20 °C), Inmuestra (%), n (20 °C), Inmuestra (%). Rows contain numerical data for various samples.

Table with 10 columns: n (20 °C), Inmuestra (%), n (20 °C), Inmuestra (%), n (20 °C), Inmuestra (%), n (20 °C), Inmuestra (%), n (20 °C), Inmuestra (%). Rows contain numerical data for various samples.

Table with 10 columns: n (20 °C), Inmuestra (%), n (20 °C), Inmuestra (%), n (20 °C), Inmuestra (%), n (20 °C), Inmuestra (%), n (20 °C), Inmuestra (%). Rows contain numerical data for various samples.

Table with 10 columns: n (20 °C), Inmuestra (%), n (20 °C), Inmuestra (%), n (20 °C), Inmuestra (%), n (20 °C), Inmuestra (%), n (20 °C), Inmuestra (%). Rows contain numerical data for various samples.

5. EQUIVALENT EN DEXTROSA (Método de valoración constante Lane-Eynon)

6.1. PRINCIPIO.-

6.1.1. "Poder reductor": El contenido en azúcares reductores expresado en términos de dextrosa anhidra (D-glucosa), calculado en % (m/m) de la muestra, y obtenido por valoración en el punto de ebullición de la solución de azúcares con relación a un volumen determinado de licor de Fehling en condiciones definidas, utilizando el azul de metileno como indicador.

6.1.7. "Equivalente en dextrosa": El poder reductor, calculado en % (m/m) sobre la materia seca de la muestra.

El método es aplicable a: glucosa líquida o jarabe de glucosa; glucosa atomizada o jarabe de glucosa deshidratado; dextrosa anhidra y dextrosa monohidratada.

## 6.2. MATERIAL Y APARATOS.-

- 6.2.1. Matraz de cuello estrecho, de 250 ml de capacidad.  
 6.2.2. Bureta acodada, con llave, de 50 ml de capacidad, graduada en 0,05 ml.  
 6.2.3. Pipetas aforadas, de 25 ml y 50 ml de capacidad.  
 6.2.4. Matrazes aforados de 100 ml y 500 ml de capacidad.  
 6.2.5. Dispositivo de calefacción, que permita mantener la ebullición en las condiciones descritas del punto (6.4.1.1.) y observar el viraje de color en el punto final sin retirar el matraz (6.2.1.) de la fuente de calor (6.7.3.).  
 6.2.6. Cronómetro, que indique el tiempo transcurrido con 1 segundo de precisión como mínimo.

## 6.3. REACTIVOS.-

### 6.3.1. Licor de Fehling.

#### 6.3.1.1. Solución A:

Disolver en agua, 49,3 g de sulfato de cobre (III) pentahidratado ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) y completar hasta 1000 ml con agua.

#### 6.3.1.2. Solución B:

Disolver en agua, 346 g de tartrato doble de sodio y potasio tetrahidratado ( $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) y 100 g de hidróxido de sodio y completar con agua hasta 1000 ml. Decantar la solución límpida de todo sedimento que se pueda formar.

Conservar estas dos soluciones en botellas oscuras o amarillas.

Preparación del licor de Fehling.

Verter, mediante pipeta (6.2.3.) en el orden siguiente: 50 ml de la solución B (6.3.1.2.) y 50 ml de la solución A (6.3.1.1.) en un vaso de precipitados limpio y seco. Mezclar bien.

No conservar el licor de Fehling. Hacer una preparación y contrastarla, según (6.4.1.) cada día de utilización.

### 6.3.2. Dextrosa anhidra de referencia ( $\text{D-glucosa}$ ) ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_5$ ).

Secar el producto en una estufa a vacío durante 4 h a  $100 \pm 1^\circ\text{C}$  como mínimo y una presión de unos 10 K Pa (103 mbar).

### 6.3.3. Solución patrón de dextrosa de 0,600 g/100 ml.

Pesar, con 0,1 mg de precisión 0,6 g de dextrosa anhidra (6.3.2.), disolverle en agua; transferir la solución a un matraz aforado de 100 ml (6.2.4.). Añadir agua hasta el aforo y mezclar.

Renovar esta solución cada día de utilización.

### 6.3.4. Solución de azul de metileno de 0,1 g/100 ml.

Disolver 0,1 g de azul de metileno en 100 ml de agua.

## 6.4. PROCEDIMIENTO.-

### 6.4.1. Contraste del licor de Fehling

6.4.1.1. Tomar con pipeta 25 ml de licor de Fehling (6.3.1.) en un matraz de cuello estrecho, seco y limpio (6.2.1.).

6.4.1.2. Llenar la bureta (6.2.2.) con la solución patrón de dextrosa (6.3.3.).

6.4.1.3. Verter en el matraz (6.2.1.) 18 ml de la solución patrón de dextrosa (6.3.3.). Agitar el matraz para mezclar bien el contenido.

6.4.1.4. Colocar el matraz en el dispositivo de calefacción (6.2.5.) previamente regulado de tal manera que la ebullición comience al cabo de  $120 \pm 15$  segundos.

6.4.1.5. Cuando comienza la ebullición, poner en funcionamiento el cronómetro a partir de cero.

6.4.1.6. Hacer hervir el contenido del matraz durante 120 segundos cronometrados.

Añadir 1 ml de solución de metileno (6.3.4.) hacia el final de este período.

6.4.1.7. Después de una ebullición de 120 segundos (controlada por cronómetro) comenzar a añadir la solución patrón de dextrosa de la bureta graduada (6.4.1.2.) en el matraz

(6.2.1.) en cantidades de 0,5 ml hasta que el color del azul de metileno desaparezca (6.7.2.) y (6.7.3.).

Anotar el volumen total de solución patrón de dextrosa añadida comprendida la penúltima adición de 0,5 ml (X ml).

6.4.1.8. Repetir (6.4.1.1.) y (6.4.1.2.).

6.4.1.9. Verter de la bureta graduada al matraz (6.2.1.) una cantidad de solución patrón de dextrosa igual a  $(X-0,3)$  ml.

6.4.1.10. Repetir (6.4.1.4.), (6.4.1.6.) y (6.4.1.6.).

6.4.1.11. Después de haber hecho hervir durante 120 segundos (controlado por cronómetro), comenzar a añadir la solución patrón de dextrosa de la bureta graduada en el matraz (6.2.1.) en cantidades, al principio, de 3,2 ml y finalmente gota a gota hasta que desaparezca el color de azul de metileno.

Hacia el final de esta operación, el intervalo de tiempo entre las adiciones sucesivas de solución patrón de dextrosa debe ser de 10 a 15 segundos. Estas adiciones deben terminarse en 60 segundos, es decir que el tiempo total de ebullición no debe sobrepasar 180 segundos.

6.4.1.12. Puede ser necesario proceder a una tercera valoración con una adición inicial de solución patrón de dextrosa (6.4.1.9.) que sea ligeramente superior y convenientemente ajustada para obtener el resultado previsto.

6.4.1.13. Anotar el volumen en ml (Vo) de solución patrón de dextrosa utilizando hasta el punto final de la valoración (6.7.4.).

6.4.1.14. Vo debe situarse entre 13 y 21 ml de solución patrón de dextrosa. Si Vo sobrepasa estos límites, ajustar convenientemente la concentración de la solución A (6.3.1.1.) y repetir la operación de valoración.

6.4.1.15. Para la valoración cotidiana del licor de Fehling, dado que Vo se conoce con precisión, se necesita una sola valoración con una adición inicial de (Vo - 0,5) ml de solución patrón de dextrosa.

### 6.4.2. Examen preliminar de la muestra

6.4.2.1. Cuando no se conozca aproximadamente el poder reductor de la muestra, efectuar un examen preliminar para obtener su valor aproximado de manera que pueda calcularse la masa de la muestra a analizar (6.4.3.).

Este examen se efectúa:

6.4.2.2. Preparar una solución de IX (m/v) de la muestra, "Z" tendrá un valor de estimación.

6.4.2.3. Ver (6.4.1.2.) utilizando la solución (6.4.2.2.) en lugar de la solución titulada de dextrosa.

6.4.2.4. Ver (6.4.1.1.).

6.4.2.5. Ver (6.4.1.3.), utilizando 10 ml de la solución (6.4.2.2.) en lugar de 18 ml de solución patrón de dextrosa.

6.4.2.6. Ver (6.4.1.4.).

6.4.2.7. Llevar a ebullición el contenido del matraz. Añadir 1 ml de solución azul de metileno (6.3.4.).

6.4.2.8. Una vez comience la ebullición, poner en marcha el cronómetro a partir de cero y esperar a añadir, cada 10 segundos, 1 ml de la solución (6.4.2.2.) de la bureta en el matraz hasta que desaparezca el color del azul de metileno.

Anotar el volumen total (Y ml) de solución (6.4.2.2.) añadida, comprendida la penúltima adición.

6.4.2.9. "Y" no debe ser superior a 50 ml. En caso contrario aumentar la concentración de la solución (6.4.2.2.) y repetir la valoración.

6.4.2.10. El poder reductor aproximado de la muestra preparada en porcentaje de masa viene dado por la fórmula siguiente:

$$\frac{60 \times \text{Vo}}{\text{Y} \times \text{Z}}$$

### 6.4.3. Muestra a analizar

Pesar, con 0,1 mg de precisión, una cantidad de muestra (M g) que contenga de 2,85 g a 3,15 g de azúcares reductores expresados en dextrosa anhidra (D-glucosa), utilizando para el cálculo la cifra aproximada conocida referente al poder reductor o la cifra aproximada obtenida en (6.4.2.10.).

### 6.4.4. Solución a analizar

Disolver en agua, la cantidad M de muestra a analizar y completar hasta 500 ml con agua.



**6.4.5. Determinación**

- 6.4.5.1. Ver (6.4.1.1.).
- 6.4.5.2. Llenar la bureta (6.2.2.) con la solución a analizar (6.4.4.).
- 6.4.5.3. Verter de la bureta en el matraz 18,5 ml de la solución a analizar. Agitar el matraz para mezclar el contenido.
- 6.4.5.4. Ver (6.4.1.4.).
- 6.4.5.5. Ver (6.4.1.5.).
- 6.4.5.6. Ver (6.4.1.6.).
- 6.4.5.7. Ver (6.4.1.7.); utilizar la solución a analizar (6.4.4.) en lugar de la solución patrón de dextrosa.
- 6.4.5.8. Ver (6.4.1.8.).
- 6.4.5.9. Ver (6.4.1.9.); utilizar la solución a analizar (6.4.4.) en lugar de la solución patrón de dextrosa.
- 6.4.5.10. Ver (6.4.1.10.).
- 6.4.5.11. Ver (6.4.1.11.); utilizar la solución a analizar (6.4.4.) en lugar de la solución patrón de dextrosa.
- 6.4.5.12. Anotar el volumen ( $V_1$ ) de la solución a analizar (6.4.4.) utilizado hasta el final de la valoración.
- 6.4.5.13.  $V_1$  debe estar comprendido entre 19 y 21 ml de solución a analizar. Si sobrepasa estos límites, ajustar convenientemente la concentración de la solución a analizar y repetir (6.4.5.1.) a (6.4.5.12.).
- 6.4.5.14. Efectuar dos determinaciones con la misma solución a analizar.

**6.4.6. Contenido en materia seca**

Determinar el contenido en materia seca de la muestra utilizando el método oficial número 7.

**6.5. CALCULOS.-****6.5.1. Poder reductor:**

El poder reductor, calculado en porcentaje con relación a la masa de la muestra, viene dado por la fórmula:

$$\frac{300 \times V_0}{V_1 \times M}$$

Siendo:

$V_0$  = Volumen, en mililitros, de la solución patrón de dextrosa (6.3.3.) utilizado en la valoración de calibrado (6.4.1.).

$V_1$  = Volumen, en mililitros, de la solución a analizar (6.4.4.) utilizado en la valoración de la determinación (6.4.5.).

$M$  = Masa, en gramos, de la muestra a analizar (6.4.5.) utilizada para obtener 500 ml de solución a analizar.

**6.5.2. Equivalente en dextrosa.**

El equivalente en dextrosa, calculado en porcentaje con relación a la masa de la materia seca de la muestra, viene dado por la fórmula:

$$\frac{PR \times 100}{D}$$

Siendo:

PR = Poder reductor, calculado en porcentaje con relación a la masa de la muestra (6.5.1.).

D = Contenido en materia seca de la muestra preparada en porcentaje de masa.

**6.5.3. Tomar como resultado la media aritmética de dos determinaciones que satisfagan las exigencias relativas a reproducibilidad.****6.6. REPETIBILIDAD.-**

La diferencia entre los resultados de dos determinaciones paralelas, efectuadas simultáneamente o inmediatamente una después de la otra, en las mismas condiciones, por el mismo analista y sobre una misma muestra, no debe sobrepasar el 1% de su media aritmética.

**6.7. OBSERVACIONES.-**

- 6.7.1. Es necesario que, una vez comenzada la ebullición, el desprendimiento de vapor sea vivo y continuo durante todo el proceso de valoración, para evitar en lo posible la entrada de aire en el matraz de valoración y la reoxidación de su contenido.
- 6.7.2. La desaparición del color del azul de metileno se observa mejor en las capas superiores y en el menisco del contenido del matraz de valoración que están relativamente exentos de precipitado de

óxido de cobre (II) rojo. La desaparición del color es más visible con luz indirecta. Es útil colocar una pantalla blanca detrás del matraz de valoración.

- 6.7.3. La bureta graduada deberá estar lo más aislada posible de la fuente de calor en el curso de la determinación.
- 6.7.4. Dado que siempre hay que tener en cuenta el factor individual, cada analista deberá efectuar su propia valoración de normalización y utilizar su propio valor  $V_0$  para los cálculos.

**6.8. REFERENCIAS.-**

- Directiva de la Comisión (79/796/CEE), de 26 de julio de 1979. Anexo II. Método B.

**7. MATERIA SECA  
(Por desecación en vacío)****7.1. PRINCIPIO.-**

El contenido en materia seca es la cantidad de sólidos totales determinada mediante una estufa de desecación en vacío, a una presión no superior a 3,3 KPa (34 mbar) y a una temperatura de  $70 \pm 1^\circ\text{C}$ , en el que se introducirá una determinada cantidad de muestra diluida y mezclada con tierra de diatomeas en el caso del jarabe de glucosa y del jarabe de glucosa deshidratada.

El método es aplicable a glucosa líquida o jarabe de glucosa, glucosa atomizada o jarabe de glucosa deshidratado, dextrosa anhidra, dextrosa monohidratada, dextrosa en polvo, fructosa, maltosa y lactosa.

**7.2. MATERIAL Y APARATOS.-**

- 7.2.1. Estufa de desecación a vacío, provista de un regulador automático de la temperatura, de un termómetro y un manómetro para vacío (vacuómetro). La estufa estará diseñada de manera que asegure una difusión rápida del calor a las cápsulas colocadas en las bandejas porta-muestras.
- 7.2.2. Batería de secado del aire de circulación compuesta por una columna llena de gel de sílice recientemente activado o de un agente deshidratante equivalente y provista de un indicador de humedad.
- Esta columna estará montada en serie con un lavador de gases que contenga ácido sulfúrico concentrado, que estará conectado a la entrada de aire de la estufa.
- 7.2.3. Bomba de vacío capaz de mantener, en la estufa, una presión inferior a 3,3 KPa (34 mbar).
- 7.2.4. Cápsula metálica de fondo plano inatacable por las muestras y las condiciones de análisis de un diámetro mínimo de 100 mm y de una altura mínima de 30 mm.
- 7.2.5. Varilla de vidrio que tenga una longitud tal que no caiga dentro del recipiente.
- 7.2.6. Desecador, provisto de gel de sílice recientemente activado o de un deshidratante equivalente y con un indicador de humedad.
- 7.2.7. Balanza de precisión, de 0,1 mg de sensibilidad.

**7.3. REACTIVOS.-**

- 7.3.1. Tierra de diatomeas, de calidad analítica purificada en embudo Büchner mediante repetidos lavados con ácido clorhídrico diluido, (1 ml de ácido concentrado, densidad a  $20^\circ\text{C}$  = 1,19 g/ml, por litro de agua). Se habrá completado el tratamiento cuando las aguas de lavado permanezcan definitivamente ácidas. Continuar el lavado con agua hasta que el pH de las aguas de filtración sea superior a 4. Secar en una estufa regulada a  $103 \pm 2^\circ\text{C}$  y conservar el polvo blanco obtenido en un recipiente herméticamente cerrado.

**7.4. PROCEDIMIENTO.-**

- 7.4.1. Verter, en la cápsula (7.2.4) provista de la varilla (7.2.5), unos 30 mg de tierra de diatomeas (7.3.1). Colocar el conjunto en la estufa (7.2.1) a  $70 \pm 1^\circ\text{C}$  y reducir la presión a 3,3 KPa (34 mbar) o a un valor inferior. Secar durante cinco horas como mínimo, dejando penetrar una lenta corriente de aire a través de la batería de secado (7.2.2). Comprobar, de vez en cuando, la presión y corregirla si es necesario.
- Restablecer la presión atmosférica en la estufa aumentando cuidadosamente el flujo de corriente de aire.
- Colocar inmediatamente la cápsula con la varilla de vidrio en el desecador (7.2.6). Dejar enfriar y pesar.
- Pesar, con precisión de 1 mg, unos 10 g de producto a analizar en un vaso de precipitados de 100 ml.
- Colocar la muestra con 10 ml de agua caliente y trasvasar la solución cuantitativamente a la cápsula tarada, utilizando la varilla (7.2.5) y lavando tres veces con 5 ml de agua caliente. Homogeneizar muy cuidadosamente.
- 7.4.2. Colocar la cápsula, que contiene la toma para ensayo, y la varilla de vidrio en la estufa y reducir la presión a 3,3 KPa (34

bar), o a un valor inferior. Durante la desecación a  $70 \pm 1^\circ\text{C}$  dejar circular una lenta corriente de aire seco.

Dejar funcionar durante 20 horas para llevar la operación de tal manera que la desecación esté muy avanzada hacia el final del primer día. Se dejará funcionar la bomba de vacío a la presión prevista, dejando penetrar una lenta corriente de aire seco con el fin de mantener, durante la noche, una presión aproximada de 3,3  $\mu\text{Pa}$  (24  $\mu\text{bar}$ ) o menos.

7.4.3. Reestablecer la presión atmosférica en la estufa aumentando cuidadosamente el flujo de corriente de aire seco. Colocar inmediatamente la cápsula en el desecador. Dejar enfriar y pesar.

7.4.4. Proseguir la operación (7.4.2) durante 4 horas más.

A continuación restablecer la presión en la estufa, colocar inmediatamente la cápsula en el desecador. Dejar enfriar y pesar.

Comprobar que la masa obtenida es constante. Se considerará que lo es si la diferencia entre dos pasadas de la misma cápsula no excede de 2 mg. En caso contrario, volver a efectuar la operación (7.4.4).

7.4.5. Para determinar el contenido en materia seca de la dextrosa monohidratada y de la dextrosa anhidra, seguir el procedimiento descrito sin utilizar la tierra de diatomeas ni el agua.

#### 7.5. CALCULOS.-

La materia seca, expresada en porcentaje de la masa de la muestra a analizar se obtendrá según la siguiente fórmula:

$$\text{Materia seca (\%)} = \frac{(m_1 - m_2)}{m_n} \times 100$$

Siendo:

$m_0$  = Masa inicial, en gramos, de la toma para ensayo.

$m_1$  = Masa, en gramos, de la cápsula con la tierra de diatomeas la varilla de vidrio y el residuo de la desecación de la muestra.

$m_2$  = Masa, en gramos, de la cápsula con la tierra de diatomeas y la varilla de vidrio.

#### 7.6. REPETIBILIDAD.-

La diferencia entre los resultados de dos determinaciones paralelas en las mismas condiciones por el mismo analista sobre la misma muestra, no deberá sobrepasar los 0,12 g por cada 10 g de muestra.

#### 7.7. REFERENCIAS.-

- Directiva de la Comisión (79/796/CEE), de 26 de julio de 1979. Anexo II. Método 2.

### 8. CENIZAS SULFATADAS O SULFÚRICAS

#### 8.1. PRINCIPIO.-

Determinación en un medio oxidante de la masa residual de la muestra después de la incineración a  $525^\circ\text{C}$  en presencia de ácido sulfúrico y expresado en porcentaje de la masa de la muestra.

El método es aplicable a:

Azúcar terciado (amarillo) en cualquiera de sus formas de presentación (candi, en panes y granulado), azúcar moreno de caña; glucosa líquida o jarabe de glucosa; glucosa atomizada o jarabe de glucosa deshidratada; dextrosa anhidra; dextrosa monohidratada; dextrosa en polvo; maltosa y lactosa.

#### 8.2. MATERIAL Y APARATOS.-

8.2.1. Horno eléctrico mufla, provisto de un pirómetro y susceptible de funcionar a la temperatura de  $525 \pm 25^\circ\text{C}$ .

8.2.2. Balanza de precisión de 0,1 mg de sensibilidad.

8.2.3. Crisoles para incineración, de platino o cuarzo, de volumen apropiado.

8.2.4. Desecador, provisto de gel de sílice recientemente activada o de un agente deshidratante equivalente y provisto de un indicador de humedad.

#### 8.3. REACTIVOS.-

8.3.1. Ácido sulfúrico diluido. Añadir lentamente 100 ml de ácido concentrado (densidad absoluta a  $20^\circ\text{C}$  1,84 g/ml; 96% (m/m)) a 200 ml de agua.

#### 8.4. PROCEDIMIENTO.-

Calentar un crisol de incineración (8.2.3) a la temperatura de incineración, enfriar en el desecador y pesar. A continuación pesar en el crisol con 0,1 mg de precisión, 5 g de jarabe de glucosa o de jarabe de glucosa deshidratado o aproximadamente 10 g de dextrosa monohidratada o anhidra. A continuación añadir 5 ml de ácido sulfúrico (8.3.1) (8.7.1).

Calentar cuidadosamente el crisol que contiene la muestra sobre una llama o sobre una placa calefactora hasta la carbonización completa. En el curso de la carbonización, inflamar los vapores de la muestra (8.7.2). Colocar el crisol para la incineración (8.2.3) en el horno mufla (8.2.1) a  $525 \pm 25^\circ\text{C}$  hasta la obtención de cenizas blancas; generalmente se consiguen en unas 2 horas (8.7.3).

Dejar enfriar la muestra unos 30 minutos en el desecador (8.2.4) y pesar.

#### 8.5. CALCULOS.-

El contenido en cenizas sulfatadas o sulfúricas expresadas en porcentaje de masa de la muestra a analizar se obtendrá según la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de masa S} = \frac{m_1}{m_2} \times 100$$

Siendo:

$m_0$  = Masa inicial, en gramos, de la toma para ensayo.

$m_1$  = Masa en gramos, de cenizas sulfatadas.

#### 8.6. REPETIBILIDAD.-

La diferencia entre los resultados de dos determinaciones paralelas, efectuadas simultáneamente en las mismas condiciones, por el mismo analista sobre la misma muestra, no deberá sobrepasar el 2% de su media aritmética.

#### 8.7. OBSERVACIONES.-

8.7.1. Añadir el ácido sulfúrico en pequeñas cantidades para evitar una fuerte formación de espuma.

8.7.2. Tomar todas las precauciones posibles, en el curso de la primera carbonización, para evitar las pérdidas de muestras y de cenizas a consecuencia de una excesiva dilatación de la masa.

8.7.3. Si la muestra es difícil de carbonizar, el crisol podrá retirarse del horno mufla y después de enfriarlo, humedecer el residuo con algunas gotas de agua antes de volverlo a situar en la mufla.

#### 8.8. REFERENCIAS.-

- Directiva de la Comisión (79/796/CEE), de 26 de julio. Anexo II. Método 9.

### 9. PODER ROTATORIO (POLARIZACIÓN)

#### 9.1. PRINCIPIO.-

La polarización es la rotación del plano de la luz polarizada por efecto de una solución de azúcar de 26 g de azúcar por 100 ml contenida en un tubo de 200 mm de longitud.

El poder rotatorio se determina mediante un sacarámetro o polarímetro siguiendo las condiciones del método descrito a continuación.

El método es aplicable a:

Azúcar semiblanco; azúcar blanco o azúcar blanquilla, azúcar refinado o azúcar blanco refinado y a cualquiera de sus formas de presentación (azúcar en polvo o azúcar glacé, azúcar candi o candi, azúcar en forma de panes, azúcar pilá, azúcar granulado, azúcar cuadrado y azúcar de fantasía).

#### 9.2. MATERIAL Y APARATOS.-

9.2.1. Sacarámetro, graduado para un peso normal de 26 g de sacarosa o polarímetro.

Este aparato debe instalarse en un local cuya temperatura se mantenga a  $20^\circ\text{C}$  aproximadamente y debe calibrarse mediante placas de cuarzo patrón.

9.2.2. Fuente luminosa, constituida por una lámpara de vapor de sodio.

9.2.3. Tubos de precisión para polarímetro de 200 mm de longitud, cuyo error máximo sea de  $\pm 0,02$  mm.

9.2.4. Balanza de precisión, de 0,1 mg de sensibilidad.

9.2.5. Matraces aforados de 100 ml de capacidad, calibrados individualmente. Los matraces cuya capacidad real se sitúe entre los  $100 \pm 0,01$  ml podrán utilizarse sin corrección. Los matraces cuya capacidad se sitúe fuera de estos límites deberán utilizarse con la corrección que sea apropiada para ajustar dicha capacidad a 100 ml.

9.2.6. Baño de agua provisto de un termómetro regulado a  $20 \pm 0,1^\circ\text{C}$ .

#### 9.3. REACTIVOS.-

9.3.1. Solución de acetato de plomo básico. Añadir 560 g de acetato de plomo básico deshidratado a 1000 ml aproximadamente de agua recientemente hervida.

Hervir durante 30 minutos y dejarla reposar una noche aproximadamente.

Decantar la capa superior y diluir con agua recientemente hervida para obtener una solución de una densidad absoluta aproximada de 1,25 (densidad absoluta  $20 = 1,25$  g/ml).

Conservar esta solución al abrigo del aire.

### 9.3.2. Eter dietílico.

## 9.4. PROCEDIMIENTO.-

### 9.4.1. Preparación de la muestra.

Pesar 26 ± 0,002 g de muestra a analizar lo más rápidamente posible e introducirlos cuantitativamente en un matraz aforado de 100 ml (9.2.5) mediante unos 60 ml de agua.

Disolver agitando y sin calentar.

Cuando sea necesario clarificar, añadir 0,5 ml del reactivo de acetato de plomo (9.3.1).

Mezclar la solución por rotación del matraz, lavar las paredes del mismo con agua hasta que el volumen alcance una altura de unos 10 mm por debajo del aforo.

Colocar el matraz en el baño de agua regulado a  $20 \pm 0,1$  °C (9.2.6) hasta que se estabilice la temperatura de la solución azúcar.

Eliminar, si es necesario, las burbujas formadas en la superficie del líquido, añadiendo una gota de éter dietílico (9.3.2).

Completar con agua hasta el aforo.

Mezclar cuidadosamente invirtiendo el matraz con la mano al menos tres veces.

Dejar reposar el matraz y su contenido durante 5 minutos.

### 9.4.2. Polarización.

Para las siguientes operaciones mantener la temperatura a  $20 \pm 0,1$  °C.

Asegurarse de que el aparato está en el punto cero.

Filtrar la solución sobre papel de filtro. Eliminar los primeros 10 ml del filtrado. A continuación recoger 50 ml del filtrado.

Lavar el tubo polarimétrico enjuagándolo dos veces con el filtrado recogido.

Llenar cuidadosamente el tubo con la solución de sacarosa para examinar a  $20 \pm 0,1$  °C.

Eliminar todas las burbujas de aire en el momento en que se deslice el obturador.

Colocar el tubo lleno en el aparato.

Leer la rotación con una aproximación de 0,05 °S ó 0,02 grados polarimétricos y efectuar cinco determinaciones. Tomar la media de las cinco lecturas.

## 9.5. EXPRESION DE LOS RESULTADOS.-

Los resultados se expresan en grado S con 0,1 °S de precisión. La transformación de grados polarimétricos en grados sacarimétricos, se efectúa mediante la fórmula:

$$\text{grado S} = \text{grado del arco} \times 2,589$$

## 9.6. REPETIBILIDAD.-

La diferencia entre los resultados de dos determinaciones paralelas efectuadas simultáneamente en las mismas condiciones por el mismo analista sobre la misma muestra y que representan cada una la media de cinco lecturas, no deberá ser superior a 0,1 °S.

## 9.7. REFERENCIAS.-

- Directiva de la Comisión (78/796/CEE), de 26 de julio de 1979. Anexo II. Método 10.

## 10. TIPO DE COLOR (Método del Instituto de Brunswick)

### 10.1. PRINCIPIO.-

Determinación del tipo de color por comparación con unos patrones luminosos montados en unas pequeñas cajas.

El método es aplicable a: azúcar blanco o azúcar blanquilla, azúcar refinado o azúcar blanco refinado, azúcar en polvo o azúcar glasé, azúcar candi o candé, azúcar en forma de panes, azúcar palé, azúcar granulado y cuadrillo.

### 10.2. MATERIAL Y APARATOS.-

10.2.1. Escala de tipo de color de Brunswick 6-6. Se monta una lámpara fluorescente a la luz del día en una cajita, abierta por delante, de 20 cm de profundidad, 120 cm de ancho y 50 cm de altura, de tal manera que la distancia perpendicular entre la lámpara y las muestras de azúcar sea de 20 cm aproximadamente.

Los ojos del analista estarán protegidos contra la luz directa de la lámpara por una pantalla de unos 15 cm de altura.

En las lámparas a utilizar debe tenerse en cuenta la importancia del reparto espectral de la intensidad luminosa.

Con el fin de que los tonos amarillentos o parduzcos de las muestras de azúcar resalten convenientemente, las paredes trasera y laterales de la caja estarán pintadas interiormente de color pardo mate (por ejemplo nogalina oscura). En el fondo, se coloca papel secante blanco, sobre el que la coloración del azúcar contrasta netamente.

Se coloca la caja de modo que la lámpara esté aproximadamente a la altura de los ojos. Al efectuar la comparación, las muestras no deben recibir luz natural directa, ni estar iluminadas por lámparas del local, ya que esto dificulta el examen.

### 10.3. PROCEDIMIENTO.-

El azúcar, se introduce en las cajitas cuadradas, forradas interiormente de azul claro o blanco (de 60 mm de lado y 25 mm de altura) y se iguala con la tapadera.

Es necesario procurar que las cajas que contienen la muestra y las muestras-tipo estén llenas hasta el borde.

El color de los forros de todas las cajas debe ser absolutamente el mismo, en caso contrario pueden obtenerse resultados erróneos.

Las cajas deben colocarse una contra otra, sin espacio intermedio. En consecuencia, las cajas redondas no son apropiadas.

Para comenzar, la muestra se compara aproximadamente intercalándola en distintos lugares de la escala de tipos; después se la compara cuidadosamente con los tipos más próximos, colocándola alternativamente a izquierda y derecha del tipo de comparación.

Hallar la media aritmética de los resultados de tres observadores independientes, expresándola en décimas de tipo de color.

Para azúcares cuya dimensión de cristales es diferente a la de la muestra-tipo, procede observar la coloración y no los reflejos de los cristales.

### 10.4. CALCULO.-

Número de puntos = Tipo de color x 2, es decir, 0,5 tipo de color = 1 punto.

### 10.5. REFERENCIAS.-

- Schneider F., A. Emerich y J. Duboucq, Zucker (1965) y Succ. Franz., 106, 219 (1965).

## 11. AZÚCARES REDUCTORES, EXPRESADOS EN AZÚCARES INVERTIDOS (Método del Instituto de Berlín)

### 11.1. PRINCIPIO.-

Los azúcares reductores, expresados en azúcares invertidos se determinan por la reducción de una solución de cobre (II) por medio de una solución de azúcares reductores. El óxido de cobre (I) formado se oxida por una solución de yodo en la que se determina el exceso por una valoración por retroceso con una solución titulada de tiosulfato de sodio.

El método es aplicable a:

Azúcar semiblanco en cualquiera de sus formas de presentación como: azúcar candi o candé, azúcar en forma de panes y azúcar granulado.

Y a los azúcares del método 12 que sobrepasen los 17 mg/kg de azúcares reductores.

### 11.2. MATERIAL Y APARATOS.-

11.2.1. Matraz Erlenmeyer de 300 ml

11.2.2. Pipetas de precisión

11.2.3. Buretas de precisión

11.2.4. Baño María con agua hirviendo.

### 11.3. REACTIVOS.-

11.3.1. Solución de cobre (II) (solución de Müller):

11.3.1.1. Disolver 20 g de sulfato de cobre (II) pentahidratado ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) en 400 ml de agua hirviendo. Enfríar.

11.3.1.2. Disolver 175 g de tartrato doble de sodio y de potasio tetrahidratado (sal de Rochelle o sal de Seignette:  $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) y 68 g de carbonato de sodio anhidro en 500 ml de agua hirviendo. Enfríar.

11.3.1.3. Mezclar las dos soluciones (11.3.1.1) y (11.3.1.2) en un matraz aforado de 1 litro y completar hasta 1000 ml con agua. Añadir 2 g de carbón activo, agitar, dejar reposar durante varias horas y filtrar sobre papel enougado o sobre membrana filtrante.

Si, en el curso de la conservación, aparecen pequeñas cantidades de óxido de cobre (I), se debe volver a filtrar.

- 11.3.2. Solución de ácido acético 5 N.  
 11.3.3. Solución de yodo 0,01665 N.  
 11.3.4. Solución de tiosulfato de sodio 0,0333 N.  
 11.3.5. Solución de almidón:

Añadase a 1 l de agua hirviendo una mezcla de 5 g de almidón soluble disuelto en 30 ml de agua. Hervir durante tres minutos, dejar enfriar y añadir 10 mg de ioduro de mercurio (II) como conservante, si ello fuere necesario.

#### 11.4. PROCEDIMIENTO.-

- 11.4.1. En un matraz erlenmeyer de 300 ml, tomar una cantidad de muestra (10 g o menos) que no contenga más de 20 mg de azúcar invertido y disolverla en 100 ml aproximadamente de agua.

Añadir 10 ml de la solución de cobre (II) (11.3.1) mediante una pipeta. Agitar y colocar el matraz al baño María hirviendo y mantenerlo exactamente 10 minutos. El nivel de la solución en el matraz debe estar, al menos, 20 mm por debajo del nivel de agua del baño. Enfriar rápidamente en corriente de agua fría. Durante esta operación, no agitar la solución con el fin de evitar que el oxígeno del aire convierta en la disolución de una parte del precipitado de óxido de cobre (I).

Añadir a la solución enfriada, 5 ml de ácido acético (11.3.2), sin agitar e inmediatamente después, mediante una bureta, un exceso (de 20 a 40 ml) de la solución de yodo (11.3.3).

Agitar para disolver el precipitado de cobre. Valorar el exceso de yodo con la solución de tiosulfato de sodio (11.3.4) en presencia de la solución de almidón (11.3.5) añadida para la valoración.

- 11.4.2. Proceder, previamente, a un ensayo en blanco con agua.

Determinar la corrección para cada preparación de solución de cobre (II) (11.3.1). La titulación no deberá ser superior a 0,1 ml.

- 11.4.3. Proceder a un ensayo en frío con la solución azucarada dejándola reposar a la temperatura ambiente durante 10 minutos para tener en cuenta los reductores eventualmente presentes tales como el dióxido de azufre.

#### 11.5. CALCULOS.-

El volumen de la solución de yodo utilizada será igual al número de ml de la solución de yodo 0,01665 N añadidos en exceso, menos el número de ml de la solución de tiosulfato de sodio 0,0333 N utilizado para la valoración.

Restar del volumen de la solución de yodo 0,01665 N utilizada:

- el número de ml utilizados en la prueba en blanco (11.4.2).
- el número de ml utilizados en el ensayo en frío con la solución azucarada (11.4.3).
- 2 ml por cada 10 g de sacarosa que contenga la muestra o una cantidad proporcional si la muestra contuviese menos de 10 g de sacarosa (corrección para la sacarosa).

Una vez efectuadas estas correcciones, 1 ml de la solución de yodo consumida corresponde a 1 mg de azúcar invertido.

El contenido en azúcar invertido en porcentaje de muestra viene dado por la fórmula:

$$\frac{V_1}{10 \times m_0}$$

Siendo:

$V_1$  = Número de mililitros de la solución de yodo 0,01665 N después de la corrección

$m_0$  = Masa, en gramos, de la muestra.

#### 11.6. REPETIBILIDAD.-

La diferencia entre los resultados de dos determinaciones paralelas efectuadas simultáneamente en las mismas condiciones por el mismo analista, sobre una misma muestra, no deberá sobrepasar los 0,02 g por cada 100 g de muestra.

#### 11.7. REFERENCIAS.-

- Directiva de la Comisión (79/796/CEE), de 26 de julio de 1979, Anexo II, Método 4.

### 12. AZÚCARES REDUCTORES, EXPRESADOS EN AZÚCARES INVERTIDOS (Método de Knight y Allen)

#### 12.1. PRINCIPIO.-

Los azúcares reductores, expresados en azúcar invertido se determinan por la adición en exceso de un reactivo de cobre (II) seguido de reducción. La cantidad no reducida se valora por retroceso mediante una solución EDTA.

Este método es aplicable a azúcar blanco o azúcar blanquilla; azúcar refinado o azúcar blanco refinado en cualquiera de sus formas de presentación (azúcar en polvo o azúcar glasé; azúcar candi o candi; azúcar en forma de panes; azúcar pilé; azúcar granulado, azúcar cuadrado y azúcar de fantasía).

#### 12.2. MATERIAL Y APARATOS.-

- 12.2.1. Tubos de ensayo de 150 x 20 mm.  
 12.2.2. Cápsula de porcelana blanca.  
 12.2.3. Balanza de precisión de 0,1 mg de sensibilidad.

#### 12.3. REACTIVOS.-

- 12.3.1. Solución de sal disódica del ácido etilen-diamino-tetraacético (EDTA) de 0,0025 M. Disolver 0,810 g de EDTA en agua y completar hasta 1000 ml con agua.

- 12.3.2. Solución de indicador de mercuríida. Añadir 0,25 g de mercuríida a 50 ml de agua y mezclar con 20 ml de una solución acuosa de azul de metileno de 0,2 g/100 ml.

- 12.3.3. Reactivo alcalino de cobre.

Disolver 25 g de carbonato de sodio anhidro y 25 g de tartrato sódico-potásico tetrahidratado en aproximadamente 600 ml de agua que contenga 40 ml de hidróxido de sodio 1 N. Disolver 4 g de sulfato de cobre (II) pentahidratado en unos 100 ml de agua y añadirlo a la solución de tartrato. Completar con agua hasta 1000 ml. Esta solución tiene un tiempo de conservación de 1 semana.

- 12.3.4. Solución patrón de azúcares invertidos.

En un matraz aforado de 250 ml, disolver 22,75 g de sacarosa pura (12.3.5) en unos 120 ml de agua; añadir 4 ml de ácido clorhídrico (densidad = 1,16) y dejar reposar a la temperatura ambiente durante ocho días. Completar con agua hasta 250 ml y verificar la hidrólisis por una lectura del sacarímetro en un tubo de 200 mm. Deberá obtenerse  $-11,80 \pm 0,05$  °S (12.7.1). Mediante una pipeta, transferir 200 ml de esta solución a un matraz aforado de 2000 ml. Diluir con agua y, mientras se agita (para evitar una alcalinidad local excesiva), añadir 71,4 ml de hidróxido de sodio 1 ml/l que contenga 4 g de ácido benzoico (12.7.1).

Completar con agua hasta 2000 ml para obtener una solución de 1 g/100 ml de azúcar invertido. La solución deberá tener un pH de aproximadamente 3. Esta solución concentrada estable deberá diluirse inmediatamente antes de su empleo.

- 12.3.5. Sacarosa pura.

Muestra de sacarosa pura con un contenido en azúcares invertidos inferior a 0,001 g/100 g.

#### 12.4. PROCEDIMIENTO.-

- 12.4.1. Análisis de la muestra.

En un tubo de ensayo (12.2.1) disolver en 5 ml de agua 5 g de azúcar tomados de la muestra a cuyo análisis se procede. Añadir 2 ml del reactivo de cobre (12.3.3) y mezclar. Sumergir el tubo en un baño de agua hirviendo durante 5 minutos y después enfriarlo en agua fría.

Transferir cuantitativamente la solución contenida en el tubo de ensayo a una cápsula de evaporación (12.2.2), lavando el tubo de ensayo con algunos ml de agua. Añadir 3 gotas del indicador (12.3.2) y valorar mediante la solución de EDTA (12.3.1).  $V_1$  es el número de mililitros de EDTA utilizados para la valoración.

La solución virá del verde al gris antes del punto final y al púrpura en el punto final. El color púrpura desaparecerá lentamente debido a la oxidación del óxido de cobre (I) en óxido de cobre (II) con una velocidad que dependerá de la concentración del cobre reducido presente. El punto final de la valoración debe alcanzarse rápidamente.

- 12.4.2. Curva patrón.

Construir una curva patrón por la adición de cantidades conocidas de azúcares invertidos (solución (12.3.4) convenientemente diluida) a 5 g de sacarosa (12.3.5) y añadir suficiente agua fría para elevar los 5 ml de agua añadidos.

Llevar los valores de titulación (en ml) en función del porcentaje de los azúcares invertidos añadidos a los 5 g de sacarosa; la curva resultante presentará una línea recta entre las zonas correspondientes a 0,001 y 0,019 g de azúcares invertidos, por 100 g de muestra.

#### 12.5. CALCULOS.-

Marcar sobre la curva patrón el porcentaje de azúcares invertidos correspondiente al valor de  $V_0$  ml de EDTA determinados en el análisis de la muestra (12.4.1).

Cuando en la muestra analizada existan concentraciones en azúcares invertidos superiores a 0,017 g/100 g de muestra a analizar, debe reducirse de forma adecuada el tamaño de la muestra tomada aplicando el procedimiento

operatorio (12.4.1); completar siempre la muestra a analizar hasta 5 g con sacarosa pura (12.3.1).

#### 12.6. REPETIBILIDAD.-

La diferencia entre los resultados de dos determinaciones paralelas efectuadas simultáneamente en las mismas condiciones por el mismo analista sobre la misma muestra, no deberá sobrepasar los 0,005 g por cada 100 g de muestra.

#### 12.7. OBSERVACIONES.-

12.7.1. Para convertir °S en grados de arco, dividir por 2,889 (tubo de precisión de 200 mm; fuente luminosa constituida por una lámpara de vapor de sodio; temperatura del local donde se encuentre el aparato mantenida lo más cerca posible de 20 °C)

#### 12.8. REFERENCIAS.-

- Directiva de la Comisión (79/796/CEE), de 26 de julio de 1979. Anexo II. Método 5.

### 13. AZÚCARES REDUCTORES, EXPRESADOS EN AZÚCARES INVERTIDOS O EN D-GLUCOSA

#### 13.1. PRINCIPIO.-

Los azúcares reductores expresados en azúcares invertidos, D-glucosa o equivalente de dextrosa, se obtienen mediante una ebullición de la solución de azúcares (eventualmente defecada) en presencia de una solución de cobre (II), parcialmente reducida a cobre (I). El exceso de cobre (II) que no ha sido reducido se determina por yodometría.

Este método es aplicable a:

El contenido en azúcares reductores (expresados en azúcar invertido) en: Azúcar líquido; azúcar líquido invertido y jarabe de azúcar invertido.

D-glucosa que, referida a la materia seca, represente el equivalente en dextrosa en: glucosa líquida o jarabe de glucosa y glucosa atomizada o jarabe de glucosa deshidratada.

En dextrosa (D-glucosa) en: dextrosa anhidra y dextrosa monohidratada.

#### 13.2. MATERIAL Y APARATOS.-

13.2.1. Matraz erlenmeyer, de 300 ml de capacidad, provisto de un refrigerante de reflujo.

13.2.2. Cronómetro.

#### 13.3. REACTIVOS.-

13.3.1. Solución de Carrez I.

Disolver en agua 21,25 g de acetato de zinc dihidratado  $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ , 20 g de acetato de zinc trihidratado  $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$ , y 3 ml de ácido acético glacial. Completar hasta 100 ml con agua.

13.3.2. Solución Carrez II.

Disolver en agua 10,0 g de oxianferrato (II) de potasio trihidratado  $K_2Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ . Completar con agua hasta 100 ml.

13.3.3. Reactivo de Luff-Schoorl.

Preparar las soluciones siguientes:

13.3.3.1. Solución de sulfato de cobre (II): Disolver 25 g de sulfato de cobre (II) pentahidratado,  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ , exento de hierro, en 100 ml de agua.

13.3.3.2. Solución de ácido cítrico: Disolver 50 g de ácido cítrico monohidratado  $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$  en 50 ml de agua.

13.3.3.3. Solución de carbonato de sodio: en un matraz aforado de 1 litro, disolver 143,8 g de carbonato de sodio anhidro en unos 300 ml de agua caliente. Dejar enfriar.

13.3.3.4. Verter, agitando cuidadosamente, la solución de ácido cítrico (13.3.3.2) en la solución de carbonato de sodio (13.3.3.3). Agitar hasta la desaparición del desprendimiento gaseoso. A continuación, añadir la solución de sulfato de cobre (II) (13.3.3.1) y completar hasta 1000 ml con agua. Dejar reposar una noche y filtrar si es necesario. Controlar la molaridad del reactivo así obtenido según (13.4.1) (Cu 0,1 M;  $Na_2CO_3$  1M).

13.3.5. Solución de tiosulfato de sodio 0,1 M.

13.3.6. Solución de almidón.

Añadir una mezcla de 5 g de almidón soluble disuelto en 50 ml de agua a 1 litro de agua hirviendo. Hacer hervir durante 3 minutos, dejar enfriar, añadir eventualmente 10 mg de yoduro de mercurio (II) como agente conservador.

13.3.7. Ácido sulfúrico 3 M.

13.3.8. Solución de yoduro de potasio al 3% (m/v).

13.3.9. Trozos de piedra pómez, hervidos en ácido clorhídrico. Lavados con agua hasta la desaparición de la acidez y secos.

13.3.10. Isopentanol.

13.3.11. Hidróxido de sodio 0,1 M.

13.3.12. Ácido clorhídrico 0,1 M.

13.3.13. Solución de fenoltaleína en alcohol etílico al 1% (m/v).

#### 13.4. PROCEDIMIENTO.-

13.4.1. Control del reactivo de Luff-Schoorl. (13.3.3)

13.4.1.1. Añadir a 25 ml del reactivo de Luff-Schoorl (13.3.3), 3 g de yoduro de potasio y 25 ml de ácido sulfúrico 3 M. (13.3.7).

Valorar con tiosulfato de sodio 0,1 M (13.3.5) en presencia de la solución de almidón (13.3.6) que se añadirá hacia el final de la valoración. La cantidad utilizada de tiosulfato de sodio 0,1 M debe ser de 25 ml.

13.4.1.2. En un matraz aforado de 100 ml, verter 10 ml de reactivo mediante una pipeta y ajustar hasta el ensrase con agua.

En un erlenmeyer mezclar 10 ml de reactivo diluido y 25 ml de ácido clorhídrico 0,1 M (13.3.12) y calentar una hora en un baño de agua hirviendo. Enfriar, llevar de nuevo al volumen inicial con agua recientemente hervida y valorar con hidróxido áddico 0,1 M (13.3.11) en presencia de fenoltaleína (13.3.13). La cantidad utilizada de hidróxido de sodio 0,1 M (13.3.11), debe estar comprendida entre 5,5 y 6,5 ml.

13.4.1.3. Valorar con ácido clorhídrico 0,1 M (13.3.12), en presencia de fenoltaleína (13.3.13), 10 ml del reactivo diluido (13.4.1.2). El viraje está marcado por la desaparición del color violeta.

La cantidad utilizada de ácido clorhídrico 0,1 M debe estar comprendida entre 6 y 7,5 ml.

El reactivo de Luff-Schoorl debe tener un pH comprendido entre 9,3 y 9,4 a 20 °C.

13.4.2. Preparación de la muestra.

Pesar, con 1 mg de precisión, 5 g de muestra e introducirlos en un matraz aforado de 250 ml. Añadir 200 ml de agua. Si es necesario defecar añadiendo sucesivamente 5 ml de la solución de Carrez I (13.3.1) y 5 ml de la solución de Carrez II (13.3.2).

Agitar después de cada adición. Completar con agua hasta 250 ml. Mezclar. Filtrar, si es necesario.

Diluir esta solución de manera que 25 ml contengan al menos 25 mg y como máximo 60 mg de azúcares reductores expresados en glucosa.

13.4.3. Valoración por el método Luff-Schoorl.

Tomar con una pipeta 25 ml de reactivo Luff-Schoorl y colocarlos en un erlenmeyer de 300 ml (13.2.1), añadir mediante pipeta 25 ml de la solución eventualmente defecada de azúcar (13.4.2). Añadir dos trozos de piedra pómez (13.3.9). Serrar inmediatamente el erlenmeyer (13.2.1) provisto de un refrigerante de reflujo en una tela metálica (rejilla) con una placa de amianto y una abertura que corresponda al diámetro del fondo del erlenmeyer.

Llevar el líquido a ebullición en unos 2 minutos. A partir de este momento, hervir lentamente durante 10 minutos exactamente. Enfriar inmediatamente en agua fría y transcurridos unos 5 minutos valorar como se indica:

Añadir 10 ml de solución de yoduro de potasio (13.3.8) e inmediatamente después y con precaución (debido al riesgo de formación excesiva de espuma) 25 ml de ácido sulfúrico 3 M. Valorar a continuación con la solución de tiosulfato áddico 0,1 M hasta la aparición de una coloración amarilla pálida, añadir algunos ml de solución de almidón (13.3.6) y proseguir la valoración hasta la desaparición de la coloración azul. Efectuar un ensayo en blanco sustituyendo los 25 ml de solución azucarada (13.1.2) por 25 ml de agua.

#### 13.5. CÁLCULOS

Establecer, con la ayuda de la tabla adjunta, la cantidad en mg de glucosa o de azúcares invertidos que corresponda a la diferencia entre los valores de dos valoraciones, expresados en ml de tiosulfato sódico 0,1 M (si es necesario, efectuar la interpolación).

Expresar el resultado en % (m/m) de azúcares invertidos o de D-glucosa, referido a sustancia seca.

La diferencia entre los resultados de dos determinaciones paralelas, efectuadas simultáneamente, en las mismas condiciones por el mismo analista sobre la misma muestra, no deberá sobrepasar los 0,2 ml.

TABLA DE VALORES SEGUN LUFF-SCHOORL

Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> 0,1 mol/l	Glucosa, fructosa, azúcares invertidos C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>		
	ml	mg	Diferencia
1	2,4	—	—
2	4,8	2,4	2,4
3	7,2	2,4	2,4
4	9,7	2,5	2,5
5	12,2	2,5	2,5
6	14,7	2,5	2,5
7	17,2	2,5	2,5
8	19,9	2,6	2,6
9	22,4	2,6	2,6
10	25,0	2,6	2,6
11	27,5	2,5	2,5
12	30,3	2,7	2,7
13	33,0	2,7	2,7
14	35,7	2,7	2,7
15	38,5	2,8	2,8
16	41,3	2,8	2,8
17	44,2	2,9	2,9
18	47,1	2,9	2,9
19	50,0	2,9	2,9
20	53,0	3,0	3,0
21	56,0	3,0	3,0
22	59,1	3,1	3,1
23	62,2	3,1	3,1

**13.6. OBSERVACIONES**

13.6.1. Antes de la acidificación con ácido sulfúrico, pudiera ser recomendable añadir alrededor de 1 ml de isopentanol para evitar la formación de espuma.

**13.7. REFERENCIAS**

- Directiva de la Comisión (79/796/CEE), de 26 de julio de 1979. Anexo II. Método 6.

### 17512 ORDEN de 18 de julio de 1989 por la que se aprueba el método oficial de toma de muestras de fertilizantes.

Como consecuencia de la integración de España en la Comunidad Económica Europea se hace necesario armonizar nuestra legislación nacional de los métodos para toma de muestras y control oficial de los fertilizantes, a la normativa comunitaria, representada principalmente por las Directivas de la Comisión 77/535/CEE de 22 de junio («Diario Oficial de las Comunidades Europeas» número L 213, de 22 de agosto de 1977) y 87/566/CEE de 24 de noviembre («Diario Oficial de las Comunidades Europeas» número L 342 de 4 de diciembre de 1987), y por la Directiva del Consejo 80/876/CEE de 15 de julio («Diario Oficial de las Comunidades Europeas» número 250, de 23 de septiembre de 1980).

Teniendo en cuenta que una toma de muestras correcta es una operación difícil que requiere el máximo cuidado, es necesario insistir en la necesidad de obtener, con vistas al control oficial de los abonos, muestras que sean lo suficientemente representativas, requiriendo una aplicación estricta por parte de especialistas que tengan experiencia en la toma de muestras tradicional.

En este sentido, la determinación, con carácter general, de los requisitos sanitarios de las reglamentaciones técnico-sanitarias de los alimentos, servicios o productos, directa o indirectamente relacionados con el uso y consumo humanos corresponde a la Administración del Estado, en virtud de lo dispuesto en el artículo 40.2, en relación con la disposición adicional segunda de la Ley 14/1986, de 25 de abril, General de Sanidad («Boletín Oficial del Estado» de 29 de abril), y artículo 149.1.1 y 16 de la Constitución Española.

En su virtud, a propuesta de los Ministros de Economía y Hacienda, de Industria y Energía, de Agricultura, Pesca y Alimentación y de Sanidad y Consumo, previo informe preceptivo de la Comisión Interministerial para la Ordenación Alimentaria y oídos los representantes de las organizaciones afectadas,

Este Ministerio de Relaciones con las Cortes y de la Secretaría del Gobierno dispone:

Único.-Se aprueba como oficial el método para la toma de muestras de los fertilizantes que figura en el anexo de la presente Orden.

**DISPOSICION ADICIONAL**

Lo dispuesto en la presente Orden se dicta al amparo de lo dispuesto en el artículo 149.1.1 y 16 de la Constitución Española.

**DISPOSICION DEROGATORIA**

Quedan derogadas cuantas disposiciones de igual o inferior rango se opongan a lo establecido en la presente Orden, que entrará en vigor al día siguiente de su publicación en el «Boletín Oficial del Estado».

Madrid, 18 de julio de 1989.

ZAPATERO GOMEZ

Excmos. Sres. Ministros de Economía y Hacienda, de Industria y Energía, de Agricultura, Pesca y Alimentación y de Sanidad y Consumo.

**ANEXO****METODO DE TOMA DE MUESTRAS****1. OBJETO**

Obtener de un lote determinado una muestra representativa, con carácter oficial, para poder comprobar a partir de ella sus características de calidad y composición.

**2. AMBITO DE APLICACION**

Este método de toma de muestras se aplicará a los fertilizantes y afines.

**3. DEFINICIONES LOTE**

- Lote: Cantidad de producto que constituye una unidad de características presuntamente uniformes.
- Extracción básica: Cantidad tomada en un punto del lote.
- Muestra global: Conjunto de extracciones básicas que se efectúan en el mismo lote.
- Muestra reducida: Parte representativa de la muestra global obtenida por reducción de ésta.
- Muestra final: Parte de la muestra reducida.

**4. MATERIAL Y APARATOS****4.1. Condiciones generales:**

Los aparatos y utensilios destinados a la toma de muestras de fertilizantes y afines deberán encontrarse perfectamente limpios y secos y fabricados de un material que no produzca alteración alguna en las características del producto muestreado.

**4.2. Aparatos y utensilios recomendados para la toma de muestras de fertilizantes sólidos, de forma manual o mecánica:****4.2.1. Paleta**

Será de fondo plano con bordes verticales.

**4.2.2. Sonda**

Su forma es la de un cilindro hueco cortado por uno de sus extremos en bisel, con el fin de facilitar su penetración. El diámetro mínimo interior del cilindro será aquél que permita un fácil deslizamiento del producto.

Las dimensiones aproximadas de la sonda que cumple las condiciones anteriores son:

Longitud del cilindro: 250 a 300 mm.  
Diámetro exterior del cilindro: 25 a 45 mm.  
Espesor del cilindro: 1 a 5 mm (ver figura número 1).

**4.2.3. Bolsas**

Han de ser de utilización única, preferentemente de material plástico flexible y de dimensión aproximada de 30 x 40 cm (Fig 2).

**4.2.4. Recipientes de muestreo para cintas transportadoras**

Su forma y dimensiones se ajustarán aproximadamente a las que se indican en la figura número 3.

Los instrumentos y recipientes que se vayan a utilizar han de encontrarse perfectamente limpios y secos, y fabricados de un material que no experimente reacción alguna que altere las características del producto.

**4.2.5. Divisor**

Los aparatos destinados a dividir la muestra en partes aproximadamente iguales podrán utilizarse tanto para las extracciones básicas como para la preparación de muestras reducidas y de muestras finales.