

ANALITICOS EN ALIMENTARIA

MÉTODOS OFICIALES DE ANALISIS

**Carne
y productos
cárnicos**

PANREAC QUIMICA, S.A. publica una nueva edición de sus folletos de Métodos Analíticos en Alimentaria, en la que podrán apreciar a simple vista un cambio de formato respecto a las anteriores.

MÉTODOS ANALÍTICOS EN ALIMENTARIA

Esta nueva imagen, pretende ser una expresión de los cambios que con el tiempo hemos experimentado en nuestros campos de actividad, puesto que si continuamos manteniendo una importante implantación en el sector alimentario como fabricantes de reactivos para análisis PANREAC y de los aditivos alimentarios ADITIO, actualmente hemos aumentado nuestra aportación de productos para el análisis alimentario con nuestras líneas de Cromatografía en Capa Fina PANREAC-TLC y Medios de Cultivo Deshidratados para Microbiología CULTIMED. La colección Métodos Analíticos en Alimentaria se compone de 6 folletos monográficos, por campos de alimentos, que recogen una transcripción íntegra de los métodos oficiales de análisis en España, que a su vez son publicados en los correspondientes B.O.E. mencionados en el índice de cada monografía incorporando los reactivos y productos auxiliares PANREAC en la calidad considerada más idónea, así como los medios de cultivo CULTIMED.

Los títulos de las 6 monografías son:

Aceites y grasas

**Aguas potables
de consumo público
y aguas de bebida envasadas**

Carne y productos cárnicos

**Cereales, derivados de cereales
y cerveza**

Leche y productos lácteos

**Productos derivados de la uva,
aguardientes y sidras**

Obviamente esta edición ha sido actualizada con las disposiciones publicadas hasta el momento, que establecen nuevos procedimientos o que modifican notablemente características anteriormente establecidas.

Por último, comentarles que están a su disposición además de esta colección, nuestros:

Catálogo General de Reactivos PANREAC

Catálogo ADITIO de Aditivos Alimentarios

Catálogo CULTIMED de Medios de Cultivo Deshidratados

Catálogo PANREAC-TLC de Placas, Folios y Accesorios para Cromatografía en Capa Fina.

INDICE

Carne y productos Cárnicos

I METODOS DE ANALISIS QUIMICOS

(B.O.E. 29-8-1979, 14-10-1981 y 20-1-1982)

1. Preparación de la muestra para el análisis (B.O.E. 20-1-1982)	7
2. Almidón (Método cualitativo).....	7
3. Almidón (Método cuantitativo) (B.O.E. 20-1-1982).....	7
4. Conservadores (Por cromatografía en capa fina).....	8
5. Nitrógeno total.....	10
6. Cenizas	11
7. Fósforo	11
8. Cloruros	12
9. Grasa	13
10. Humedad	14
11. Azúcares totales, reductores y lactosa (Método de Luff-Schoorl)	15
12. Hidroxiprolina	17
13. Nitritos.....	19
14. Nitratos	20
15. pH.....	20
16. Tiouracilos (B.O.E. 14-10-1981)	21

II METODOS DE ANALISIS BIOLÓGICOS

(B.O.E. 29-8-1979)

1. Identificación de especie animal	23
Detección de Triquinas en las carnes frescas procedentes de animales domésticos de las especies porcina y equina. (B.O.E. 25-1-1996).....	
	24

Relación de reactivos y productos auxiliares que se utilizan en los métodos analíticos, Carne y productos Cárnicos.....	34
--	----

Aditivos y
coadyuvantes
tecnológicos para
uso alimentario
industrial..... 36

Carne y productos Cárnicos

I. METODOS DE ANALISIS QUIMICOS

(B.O.E. 29-8-1979, 14-10-1981

Y 20-1 -1982)

1. PREPARACION DE LA MUESTRA PARA EL ANALISIS

1.1. Principio

Las operaciones descritas a continuación tienen por finalidad conseguir una muestra para el análisis lo más homogénea posible. Por ello, toda simplificación o tratamiento insuficiente en esta operación puede conducir a unos resultados que no sean representativos.

1.2. Material y aparatos.

1.2.1. Cuchillo.

1.2.2. Trituradoras eléctricas de distinto grado de finura en el picado.

1.2.3. Frascos de vidrio de 250 ml de capacidad, de color topacio, boca ancha y tapón esmerilado.

1.2.4. Cápsulas de porcelana de 20 cm de diámetro.

1.3. Procedimiento.

1.3.1. Tomar una muestra representativa de 200 g.

1.3.2. Quitar la piel si la tuviere (embutidos, etc.)

1.3.3. Partirla con cuchillo en rodajas o trozos de 0,5-1 cm.

1.3.4. Cortar los trozos en pequeños cubos.

1.3.5. Pasarlos varias veces por el triturador hasta conseguir una mezcla homogénea.

1.3.6. La muestra, bien homogeneizada debe guardarse inmediatamente en los frascos, limpios y secos, de forma que queden llenos, para prevenir pérdidas de humedad.

1.3.7. Conservarlos en refrigeración de forma que evite su deterioro y cualquier cambio en su composición.

1.3.8. Tomar las muestras para las diferentes determinaciones a ser posible dentro de las 24 horas siguientes.

2. ALMIDON

(Método cualitativo)

2.1. Principio

El almidón reacciona con el yodo dando coloración azul.

2.2. Material y aparatos.

2.2.1. Erlenmeyer de 150 ml de capacidad.

2.2.2. Frasco cuentagotas.

2.2.3. Pipeta de 10 ml de capacidad.

2.3. Reactivos

131074 Agua PA-ACS

131542 Potasio Yoduro PA-ISO

141771 Yodo resublimado perlas

(USP,BP,F. Eur.) PRS-CODEX

2.3.1. Solución Yodo-Yodurada:

Mezclar 1 g de Yodo resublimado perlas (USP,BP,F. Eur.) PRS-CODEX y 2g de Potasio Yoduro PA-ISO en Agua PA-ACS hasta 200 ml.

Mantener la solución en el frasco cuentagotas.

2.4. Procedimiento.

2.4.1. Preparación de la muestra.

Como en el método 1.

2.4.2. Valoración:

Introducir 10 g de la muestra preparada como 2.4.1. en un Erlenmeyer de 150 ml. Añadir 40 ml de Agua PA-ACS. Hervir durante 5 minutos. Transcurrido este tiempo enfriar exteriormente el matraz en corriente de agua fría.

Con pipeta de 10 ml atravesar la capa grasa superior, tomando 10 ml del líquido inferior, transvasándoles a un tubo de ensayo. Añadir 5 gotas de la solución 2.3.1.

2.5. Interpretación de los resultados.

En presencia del almidón aparecerá una coloración azul-negra.

3. ALMIDON

(Método cuantitativo)

3.1. Principio.

Extracción de azúcares simples con etanol caliente 80%, permaneciendo el almidón. El residuo de almidón se solubiliza con ácido perclórico diluido, y medida a 630 nm de color desarrollado al calentarlo con el reactivo antrona-ácido sulfúrico.

3.2. Material y aparatos.

3.2.1. Balanza analítica.

3.2.2. Matraces aforados de 100 ml y 200 ml.

3.2.3. Tubos de centrifuga, cónicos, de 100 ml.

3.2.4. Pipetas graduadas de 10 ml, 25 ml, 5 ml y 2 ml.

3.2.5. Centrifugas de 2.500 r.p.m.

3.2.6. Baño de agua.

3.2.7. Baño de agua termostatable hasta 25°C.

3.2.8. Probeta graduada de 25 ml.

3.2.9. Papel de filtro Albet número 238 o equivalente.

3.2.10. Espectrofotómetro capaz de lecturas de 630 nm.

3.3. Reactivos.

131054 Acido Perclórico 60% PA-ACS-ISO

131058 Acido Sulfúrico 96% PA-ISO

131074 Agua PA-ACS

121085 Etanol 96% v/v PA

132441 Antrona PA-ACS

121862 Eter de Petróleo 50-70°C PA
121341 D(+)-Glucosa PA

3.3.1. Disolución de Acido Sulfúrico-Antrona.

Disolver 0,2 g de Antrona PA-ACS en 100 ml de Acido Sulfúrico 96% PA-ISO. El reactivo sirve para 3-4 días conservándolo a 0°C.

3.3.2. Glucosa patrón. Disolver 0,1 g de D(+)-Glucosa PA en 100 g de Agua PA-ACS

3.3.3. Acido Perclórico al 52%. Diluir Acido Perclórico 60% PA-ACS-ISO en Agua PA-ACS y ajustar a la concentración indicada.

3.3.4. Etanol al 80%. Diluir Etanol 96% v/v PA en Agua PA-ACS y ajustar a la concentración indicada.

3.4. Procedimiento.

3.4.1. Extracción de azúcar y de grasa. Pesar 2,0 g de carne triturada, preparada como en el método 1, en un tubo centrífugo cónico de 100 ml.

Añadir 25,0 ml de disolución Etanol-Eter de Petróleo 50-70°C PA (1-3), tapar con un tapón, agitar vigorosamente y centrifugar a 2.500 r.p.m. durante cinco minutos. Decantar y dejar a un lado la disolución Etanol-Eter de Petróleo 50-70°C PA.

Añadir 10 ml de etanol caliente al 80%, agitar y centrifugar a 2.500 r.p.m. durante cinco minutos. Dejar a un lado la disolución alcohólica y repetir la extracción alcohólica con Etanol caliente.

3.4.2. Extracción de Almidón. Añadir 5,0 ml de Agua PA-ACS al residuo y remover. Añadir 6,5 ml de disolución de Acido Perclórico diluido (52%); remover o agitar durante cinco minutos. Dejar reposar durante quince minutos. Añadir 20,0 ml de Agua PA-ACS y centrifugar durante cinco minutos. Verter la disolución de Almidón en un frasco volumétrico de 100 ml. Añadir 6,5 ml de disolución de Acido Perclórico (52%) y remover. Dejar reposar durante treinta minutos. Remover y lavar el contenido entero del tubo en el frasco volumétrico que contiene el primer extracto. Llevar a volumen y filtrar por papel filtro (3.2.9.).

3.4.3. Determinación de Almidón. Diluir 5 ml de disolución de almidón filtrada en 200 ml con Agua PA-ACS. Pipetar 5 ml de dicha disolución en un tubo, enfriar en baño de agua y añadir 10 ml de Antrona reactivo (3.3.1.). Mezclar completamente y calentar durante cinco minutos a 100°C. Quitar el tubo del baño, enfriar con rapidez a 25°C y determinar la absorbancia a 630 nm. El color permanece fijo durante treinta minutos.

3.5. Cálculo.

3.5.1. Curva patrón de glucosa. Diluir 1,2, 5 y 10 ml de glucosa patrón (3.3.2.) hasta 100 ml con agua destilada. A partir de las lecturas obtenidas dibujar la curva patrón.

3.5.2. Contenido en almidón de la muestra:

Glucosa (porcentaje) = 0,04 P

Almidón (porcentaje) = 1,06 M

Siendo:

P = μg de glucosa leídos en la curva patrón.

M = porcentaje total de glucosa obtenido.

3.6. Observaciones.

3.6.1. Teniendo en cuenta que el carragenato se determina como almidón, se deberá deducir del valor obtenido de almidón el correspondiente de carragenato.

3.6.2. En los productos que declaren contener carragenato y hasta que no exista técnica oficial para su determinación cuantitativa se permitirá una tolerancia del 1,4% en el valor obtenido de almidón.

3.6.3. Cuando la naturaleza de la muestra lo requiera se podrán repetir las extracciones hasta que el producto quede completamente libre de grasas y azúcares.

3.7. Bibliografía.

3.7.1. W. Glover, H. Kirschenbaum y A. Caldwell (Departamento de Consumo y Comercialización, Ministerio de Agricultura de los Estados Unidos, Laboratorio de Inspección de Carne, Nueva York, N.Y. 10011).

4. CONSERVADORES (Por cromatografía en capa fina)

4.1. Principio

Extracción de los conservadores por medio de una mezcla de éter dietílico y éter de petróleo y posterior identificación por cromatografía en capa fina.

4.2. Material y aparatos.

4.2.1. Homogeneizador.

4.2.2. Matraces.

4.2.3. Erlenmeyer de 25 y 250 ml.

4.2.4. Refrigerantes de reflujo.

4.2.5. Filtro Büchner y papel de filtro de filtración rápida.

4.2.6. Embudos y papel de filtro plegados.

4.2.7. Ampolla de decantación de 100 y 250 ml.

4.2.8. Cápsulas de porcelana de fondo plano.

4.2.9. Tubos pequeños de cristal con tapón.

4.2.10. Material para cromatografía en capa fina.

704050 Cubeta ranurada 20x20.

704047 Micropipetas capilares.

Secador.

704048 Cabina de visualización UV a 254 nm y 366 nm.

Placas de poliamida con soporte de aluminio (20x20) .

4.3. Reactivos

131008 Acido Acético glacial PA-ACS-ISO

121014 Acido Benzoico PA

Acido Clorobenzoico

Acido p-Hidroxibenzoico
 141045 Acido Salicílico (USP,BP,F. Eur.)
 PRS-CODEX
 141055 Acido Sórbico (USP-NF) PRS-CODEX
 131058 Acido Sulfúrico 96% PA-ISO
 131192 Benceno PA-ACS-ISO
 131270 Eter Dietílico estabilizado con ~6 ppm
 de BHT PA-ACS-ISO
 121862 Eter de Petróleo 50-70°C PA
 131318 Etilo Acetato PA-ACS-ISO
 Etilo p-Hidroxibenzoato
 132063 n-Hexano PA-ACS
 122006 n-Pentano PA
 131505 Potasio Hexacianoferrato II 3-hidrato
 PA-ACS-ISO
 131659 Sodio Cloruro PA-ACS-ISO
 131716 Sodio Sulfato anhidro PA-ACS-ISO
 131775 Zinc Acetato 2-hidrato PA-ACS

4.3.1. Solución acuosa de Acido Sulfúrico 10% (v/v).

4.3.2. Reactivo de Carrez (para defecación).

4.3.2.1. Solución acuosa de Potasio Hexaciano-ferrato 15% (p/v).

4.3.2.2. Solución acuosa de Zinc Acetato 30% (p/v).

4.3.3. Sodio Cloruro PA-ACS-ISO.

4.3.4. Mezclar Eter Dietílico estabilizado con ~6 ppm de BHT PA-ACS-ISO y Eter de Petróleo 50-70°C PA (1/1).

4.3.5. Solución acuosa saturada de Sodio Cloruro.

4.3.6. Sodio Sulfato anhidro PA-ACS-ISO.

4.3.7. Soluciones testigo conteniendo 3g/l en la mezcla a partes iguales de Eter Dietílico estabilizado con ~6 ppm de BHT PA-ACS-ISO y Eter de Petróleo 50-70°C PA de los siguientes conservadores:

4.3.7.1. Acido Salicílico (USP,BP,F. Eur.) PRS-CODEX.

4.3.7.2. Acido Benzoico PA.

4.3.7.3. Acido Clorobenzoico.

4.3.7.4. Acido p-Hidroxibenzoico.

4.3.7.5. Eter Etilico del Acido p-Hidroxibenzoico.

4.3.7.6. Acido Sórbico (USP-NF) PRS-CODEX.

4.3.8. Eluyentes:

4.3.8.1. Mezcla de n-Pentano PA, n-Hexano PA-ACS, Acido Acético glacial PA-ACS-ISO (10, 10, 3).

4.3.8.2. Mezcla de Benzeno PA-ACS-ISO, Etilo Acetato PA-ACS-ISO, Acido Acético glacial PA-ACS-ISO (85, 10, 5).

4.4. Procedimiento.

4.4.1. Extracción de los conservadores.

Tomar aproximadamente 50 g de la muestra preparada como en el método 1 y transvasarla a un matraz Erlenmeyer de 250 ml. Añadir 15 ml de solución de Acido Sulfúrico 10% diluidos en 60 ml de agua hirviendo. Añadir 10 ml de solución de Potasio

Hexacianoferrato y agitar; 10 ml de solución de Zinc Acetato y agitar.

Adaptar el refrigerante de reflujo. Someter la mezcla durante treinta minutos a ebullición bajo un ligero reflujo. Filtrar rápidamente en caliente sobre un disco de papel de filtro mojado colocado sobre un embudo. El filtrado queda generalmente turbio. Añadir 2 ml de solución de Potasio Hexacianoferrato y 2 ml de solución de Zinc Acetato y agitar. Añadir 20 g, aproximadamente, de Sodio Cloruro PA-ACS-ISO. Filtrar en caliente (aproximadamente a 80°C) sobre filtro pegado, mojado, de forma que se retengan las grasas. Enfriar el filtrado. Trasvasar el filtrado a un embudo de decantación de 250 ml. Extraer los conservadores de la fase acuosa por medio de tres lavados con 20 ml de mezcla de Eter Dietílico estabilizado con ~6 ppm de BHT PA-ACS-ISO y Eter de Petróleo 50-70°C PA agitando suavemente durante 10 minutos, aproximadamente, para evitar la formación de una emulsión. Reunir los tres extractos etéreos y eliminar la fase acuosa. Lavar dos veces la fase etérea con 20 ml de solución saturada de Sodio Cloruro para romper las emulsiones que eventualmente hayan podido formarse y dos veces con 20 ml de Agua PA-ACS. Transvasar la solución etérea a un matraz de 250 ml en el cual se haya puesto en el fondo un gramo de Sodio Sulfato anhidro PA-ACS-ISO. Tras dejarlo durante algunos minutos en contacto, transvasarlo a una pequeña cápsula de porcelana de fondo plano. Evaporar el disolvente a temperatura ambiente (no calentar para evitar la pérdida de Acido Benzoico). Redisolver el depósito de la cápsula dos o tres veces con el mismo disolvente para obtener un extracto de un volumen total, aproximadamente, de 0,5 ml.

4.4.2. Preparación del cromatograma.

Depositar las soluciones separadas sobre la placa de poliamida a 1 cm del borde por medio de una micropipeta (el diámetro de las manchas no debe ser mayor de 1 a 2 mm). Aplicar de la misma forma las soluciones testigo para comparar, una vez desarrollado el cromatograma, con las muestras problema, lo cual nos evita medir los Rf. Colocar la placa en la cubeta. Eluir hasta que el frente del eluyente haya recorrido los dos tercios de la placa. Sacar la placa y secar.

4.5. Interpretación de los resultados.

4.5.1. El ácido salicílico ha sido escogido como sustancia de referencia, por producir fluorescencia azul de las manchas que se obtienen en los cromatogramas cuando éstos se ponen bajo luz ultravioleta, por lo cual pueden ser identificados fácil y rápidamente, bien por medida de sus Rf o bien por comparación con las manchas producidas por las soluciones testigo.

4.5.2. Rf de los conservadores.

	Eluyente 1	Eluyente 2
Acido p-Hidroxibenzoico	0,05	0,10
Eter etílico del		
Acido p-Hidroxibenzoico	0,21	0,56
Acido Salicílico	0,46	0,25
Acido Clorobenzoico	0,75	0,54
Acido Benzoico	0,86	0,70
Acido Sórbico	0,94	0,82

5. NITROGENO TOTAL

5.1. Principio.

Ataque del producto por ácido sulfúrico 96%, catalizado con cobre II sulfato y selenio, en el cual se transforma el nitrógeno orgánico en iones amonio, que en medio fuertemente básico, permite la destilación del amoniaco, que es recogido sobre ácido bórico. La posterior valoración con ácido clorhídrico permite el cálculo de la cantidad inicialmente presente de nitrógeno en la muestra.

5.2. Material y aparatos.

- 5.2.1. Balanza analítica.
- 5.2.2. Batería calefactora.
- 5.2.3. Probetas de 50 ml.
- 5.2.4. Matraces Kjeldahl de 800 ml.
- 5.2.5. Embudos de 8 cm. de diámetro.
- 5.2.7. Aparato de destilación.
- 5.2.8. Erlenmeyer de 200 ml.
- 5.2.9. Bureta de divisiones de 0,1 ml.
- 5.2.10. Frascos de 250 ml de boca ancha con rosca.

5.3. Reactivos

- 172222 Acido Bórico solución 4% RE
- 181023 Acido Clorhídrico 0,1 mol/l (0,1N) SV
- 131058 Acido Sulfúrico 96% PA-ISO
- 131074 Agua PA-ACS
- 121085 Etanol 96% v/v PA
- 251170 Azul de Metileno (C.I. 52015) DC
- 131270 Cobre II Sulfato 5-hidrato PA-ACS-ISO
- 172430 Indicador Mixto (Rojo de Metilo-Azul de Metileno) RE
- 211835 Piedra Pómez gránulos QP
- 131532 Potasio Sulfato PA-ACS-ISO
- 171617 Rojo de Metilo (C.I. 13020) RE-ACS
- 141625 Selenio metal polvo PRS
- 131687 Sodio Hidróxido lentejas PA-ACS-ISO

5.3.1. Cobre II Sulfato 5-hidrato PA-ACS-ISO.

5.3.2. Potasio Sulfato PA-ACS-ISO.

5.3.3. Acido Sulfúrico 96% PA-ISO.

5.3.4. Selenio metal polvo PRS.

5.3.5. Sodio Hidróxido 40%. Usese Sodio Hidróxido lentejas PA-ACS-ISO y diluir convenientemente.

5.3.6. Acido Bórico solución 4% RE.

5.3.7. Acido Sulfúrico 96% PA-ISO.

5.3.8. Indicador Mixto (Rojo de Metilo-Azul de Metileno) RE. En su defecto puede prepararse disolviendo 2g de Rojo de Metilo (C.I. 13020) RE-ACS y 1 g de Azul de Metileno (C.I. 52015) DC en 1.000 ml de Etanol 96% v/v PA. Este indicador vira de violeta a verde a pH 5,4. Conservarlo en frasco topacio.

5.3.9. Piedra Pómez gránulos QR

5.4. Procedimiento.

Pesar, con precisión de 0,1 mg, 1-3 g de la muestra, según contenido, preparada según el método 1. Llevar la muestra pesada al matraz Kjeldahl, e introducir sucesivamente unos granos de Piedra Pómez gránulos QP, 15 g de Potasio Sulfato PA-ACS-ISO, 0,5 g de Cobre II Sulfato 5-hidrato PA-ACS-ISO, y una punta de espátula de Selenio metal polvo PRS. Agregar 25 ml de Acido Sulfúrico 96% PA-ISO, mezclar suavemente por rotación y colocar el matraz en una batería calefactora, poniendo un embudo adecuado (5.2.5.) en la boca.

Calentar suavemente al principio, y cuando el conjunto adquiere una cierta decoloración aumentar la intensidad de calefacción. Agitar de vez en cuando con suavidad por rotación. Una vez que el liquido queda transparente, con una coloración azul verdosa, prolongar la ebullición al menos hora y media. Dejar enfriar hasta temperatura ambiente y añadir con precaución 100 ml de Agua PA-ACS, disolviendo por rotación suave el Potasio Sulfato cristalizado.

En un Erlenmeyer de 200 ml poner 25 ml de Acido Bórico solución 4% RE y unas gotas de Indicador Mixto (Rojo de Metilo-Azul de Metileno) RE (5.3.8.). Introducir hasta el fondo en el Erlenmeyer la alargadera del aparato de destilación. Colocar el matraz en el aparato de destilación, ajustándolo bien, poniendo un poco de grasa en los esmerilados. Agregar, por el depósito superior, otros 100 ml de Agua PA-ACS y 100 ml de disolución de Sodio Hidróxido 40%. Calentar suavemente hasta ebullición .

Aumentar el calentamiento recogiendo, al menos, 150 ml de destilado, o prolongarlo, hasta el momento en que se produzca una ebullición a golpes.

Retirar el Erlenmeyer, lavar la alargadera y el interior del refrigerante, recogiendo sobre el destilado las aguas del lavado. Valorar hasta la coloración original, violeta, con Acido Clorhídrico 0,1 mol/l (0,1 N) SV. Efectuar una prueba en blanco, utilizando 5 ml de Agua PA-ACS en vez de la muestra, siguiendo todo el procedimiento.

5.5. Cálculo.

$$\text{Porcentaje N total} = \frac{0,14 f (v_1 - v_2)}{P}$$

Porcentaje proteína total = 6,25 . porcentaje N total.

Siendo:

f = factor del ácido clorhídrico.

v_1 = volumen en ml de ácido clorhídrico gastado en la valoración.

v_2 = volumen en ml de ácido clorhídrico gastado en el ensayo en blanco.

P = peso en gramos de la muestra.

5.6. Referencias.

5.6.1. Norma internacional ISO R-937.

6. CENIZAS

6.1. Principio.

Añadición de solución de magnesio acetato, desecación en baño de agua o baño de arena, incineración en un horno a 550°C. Y posteriormente determinación de la masa del residuo, teniendo en cuenta la cantidad de magnesio óxido proveniente de la adición de la solución del magnesio acetato utilizado en primer lugar.

6.2. Material y aparatos.

6.2.1. Cápsulas de porcelana de cuarzo o platino, con fondo plano, de aproximadamente 15 cm² de superficie y 25 mm de altura, de paredes ligeramente inclinadas.

6.2.2. Pipeta de 1 y 2 ml de doble aforo.

6.2.3. Baño de agua o baño de arena o placa calefactora.

6.2.4. Horno de mufla previsto de un agente deshidratante eficaz con indicador.

6.2.6. Balanza analítica.

6.2.7. Pinzas adecuadas para el manejo de las cápsulas.

6.3. Reactivos.

131074 Agua PA-ACS

131394 Magnesio Acetato 4-hidrato PA-ACS

6.3.1. Solución de Magnesio Acetato, que contenga 150 g/l. Pesar 25 g de Magnesio Acetato 4-hidrato PA-ACS (o 15g de reactivo anhidro) y llevarlos, una vez disueltos, a un matraz de 100 ml y enrasar.

6.4. Procedimiento.

Introducir la cápsula bien limpia en el horno regulado a 550°C, durante 20 minutos. Sacarla e

introducirla en el desecador, permaneciendo en él 30 minutos. Pesarla con una precisión de 0,1 mg.

Introducir en la cápsula un peso P de muestra, aproximadamente 5 g, preparada según el método 1 y pesada con una precisión de 0,1 mg. Añadir 1 ml de la disolución de Magnesio Acetato 4-hidrato PA-ACS (6.3.1.) uniforme. Colocar la cápsula en un baño de arena, o placa calefactora, hasta conseguir la carbonización de la muestra, prestando mucha atención a las posibles proyecciones. Transferir la cápsula al horno de mufla que debe quedar estabilizado a 550°C, por espacio de, al menos, 1 hora. Si no alcanzan el grado de blancura deseado, debe secarse la cápsula, dejarla enfriar y añadir unos mililitros (2-4) de Agua PA-ACS. Evaporar el agua en baño de arena. Introducir de nuevo la cápsula en el horno de mufla por espacio de 30 minutos y repetir las operaciones anteriores si es necesario, hasta conseguir unas cenizas blancas o ligeramente grises. Sacarlas del horno e introducirlas en el desecador durante 30 minutos.

Pesar con precisión de 0,1 mg.

Efectuar dos determinaciones sobre la misma muestra.

6.5. Cálculos.

$$\text{Porcentajes cenizas} = (M_2 - M_0 - M_3) \cdot \frac{100}{M_1 - M_0}$$

Siendo:

M_0 = masa, en gramos, de la cápsula.

M_1 = masa, en gramos, de la cápsula conteniendo la muestra.

M_2 = masa, en gramos, de la cápsula y el residuo después de incineración.

M_3 = masa, en gramos, del magnesio óxido proveniente de la disolución de magnesio acetato añadido.

6.6. Observaciones.

6.6.1. La diferencia entre dos determinaciones sobre la misma muestra, realizadas simultáneamente o rápidamente una después de otra por el mismo analista, no debe ser superior a 0,10 g por 100 g de muestra.

6.7. Referencias.

6.7.1. Norma internacional ISO R-936.

7. FOSFORO

7.1. Principio.

Transformación en ácido pirofosfórico, posterior hidrólisis del mismo y medida del color producido al añadirle el reactivo molibdato-vanadato.

7.2. Material y aparatos.

7.2.1. Matraces aforados de 1.000, 250 y 100 ml.

7.2.2. Pipetas de 10, 20 y 50 ml.

7.2.3. Matraces Kjeldahl de 500 u 800 ml.

7.2.4. Balanza analítica.

7.2.5. Espectrofotómetro capaz de efectuar lecturas a 436 nm.

7.3. Reactivos

131036 Acido Nítrico 60% PA-ISO

131058 Acido Sulfúrico 96% PA-ISO

131074 Agua PA-ACS

131134 Amonio Molibdato 4-hidrato
PA-ACS-ISO

132352 Amonio meta-Vanadato PA-ACS

141076 Hidrógeno Peróxido 30% p/v (100 vol.)
estabilizado PRS

131509 Potasio di-Hidrógeno Fosfato
PA-ACS-ISO

141625 Selenio metal polvo PRS

7.3.1. Solución de Amonio meta-Vanadato.- Disolver 2,5 g de Amonio meta-Vanadato PA-ACS en 500 ml de Agua PA-ACS hirviendo. Después de refrigeración, acidular 20 ml de Acido Nítrico 60% PA-ISO y diluir hasta 1.000 ml.

7.3.2. Solución de Amonio Molibdato.- Disolver 100 g de Amonio Molibdato 4-hidrato PA-ACS-ISO en 500 ml de Agua PA-ACS a 50°C. Después de refrigeración añadir con precaución 100 ml de Acido Sulfúrico 96% PA-ISO. Después de enfriar diluir hasta 1.000 ml.

7.3.3. Reactivo Molibdato-Vanadato.- Una parte del reactivo 7.3.1. y una parte del reactivo 7.3.2.

7.3.4. Acido Nítrico 60% PA-ISO.

7.3.5. Acido Sulfúrico 96% PA-ISO.

7.3.6. Acido Sulfúrico diluido 1:10. Usese Acido Sulfúrico 96% PA-ISO y diluir convenientemente.

7.3.7. Selenio metal polvo PRS.

7.3.8. Hidrógeno Peróxido de 20 volúmenes. Usese Hidrógeno Peróxido 30% p/v (100 vol.) estabilizado PRS y diluir convenientemente.

7.3.9. Potasio di-Hidrógeno Fosfato PA-ACS-ISO.

7.4. Procedimiento.

7.4.1. Análisis de la muestra.

Introducir en un matraz Kjeldahl 5 g de la sustancia a analizar preparada según el método 1. Añadir 50 ml de Acido Sulfúrico 96% PA-ISO y el catalizador de Selenio metal polvo PRS (utilizando una punta de espátula). Dejar 12 horas en reposo. Añadir unos 20 ml de Hidrógeno Peróxido. Calentar seguidamente la mezcla hasta ebullición y una vez clarificada prolongarla durante 2 horas de manera que se hidrolice todo el ácido pirofosfórico que hubiera podido formarse. Trasvasar la mezcla después de refrigeración, a un vaso volumétrico de 250 ml y completar hasta el trazo de aforo con Agua PA-

ACS. Si hubiera una precipitación de calcio sulfato o de ácido salicílico, pesar la solución por un filtro cuantitativo. Para la dosificación del ácido fosfórico, hacer pasar con la pipeta 10 ml de filtrado (el equivalente de 0,2 g) de la muestra en un matraz aforado de 100 ml y añadir 10 ml de Acido Sulfúrico diluido y 20 ml de reactivo de Molibdato-Vanadato. Completar la solución hasta el trazo de aforo con Agua PA-ACS y efectuar la medida espectrofotométrica al cabo de 10 minutos.

7.4.2. Preparación de la curva patrón.

Disolver 4,393 g de Potasio di-Hidrógeno Fosfato PA-ACS-ISO, previamente secado sobre Acido Sulfúrico 96% PA-ISO, en 1.000 ml de Agua PA-ACS. La solución contiene un mg de P por ml. Las soluciones patrón conteniendo de 1 a 45 µg de P por ml se preparan trasvasando con la pipeta la cantidad de 100 ml, añadiendo 20 ml de Acido Sulfúrico diluido y 20 ml de reactivo de Molibdato-Vanadato y completando hasta el trazo de calibrado con Agua PA-ACS. Al término de 10 minutos se mide la absorción de la solución (en una cubeta de 1 cm de paso) a 436 nm contra una solución testigo, sirviéndose de un espectrofotómetro. Trazar la curva patrón.

7.5. Cálculo.

Calcular el contenido en fósforo total, expresado en porcentaje de P₂O₅ a partir de la lectura en el espectrofotómetro y con ayuda de la curva patrón.

$$\text{Porcentaje P} = \frac{A}{400 \cdot M}$$

$$\text{Porcentaje P}_2\text{O}_5 = 2,29 \cdot \text{porcentaje P}$$

Siendo:

A = µg de fósforo leídos en la curva.

M = peso, en g de la muestra.

7.6. Bibliografía.

7.6.1. Pulls, G. (1961) Landwirtschaftliche Forschung, 14, 38-39.

8. CLORUROS

8.1. Principio.

Extracción de los cloruros del producto picado con agua caliente y alcohol y posterior determinación por el método Carpentier-Vohlard.

8.2. Material y aparatos.

8.2.1. Papel de filtro.

8.2.2. Embudos.

8.2.3. Matraces aforados de 250 y 200 ml.

8.2.4. Erlenmeyer de 150 y 250 ml.

8.2.5. Pipetas de 5 ml.

- 8.2.6. Bureta con divisiones de 0,1 ml.
- 8.2.7. Balanza analítica.
- 8.2.8. Placa calefactora.
- 8.2.9. Agitador magnético con calefacción.
- 8.2.10. Agitador de imán-teflón.
- 8.2.11. Vasos de precipitado de 500 ml.
- 8.2.12. Centrífuga provista de tubos de al menos 100 ml de capacidad.

8.3. Reactivos.

- 131036 Acido Nítrico 60% PA-ISO
- 131074 Agua PA-ACS
- 121085 Etanol 96% v/v PA
- 131365 Amonio Hierro III Sulfato 12-hidrato PA-ACS-ISO
- 131447 Nitrobenzeno PA-ACS
- 181464 Plata Nitrato 0,1 mol/l (0,1N) SV
- 131505 Potasio Hexacianoferrato II 3-hidrato PA-ACS-ISO
- 181535 Potasio Tiocianato 0,1 mol/l (0,1 N) SV
- 181144 Amonio Tiocianato 0,1 mol/l (0,1 N) SV
- 131775 Zinc Acetato 2-hidrato PA-ACS

8.3.1. Plata Nitrato 0,1 mol/l (0,1N) SV.

8.3.2. Acido Nítrico 60% PA-ISO.

8.3.3. Solución acuosa de Hierro II y Amonio Sulfato (alumbre férrico) 4%. Usese Amonio Hierro III Sulfato 12-hidrato PA-ACS-ISO, disolver y diluir convenientemente.

8.3.4. Nitrobenzeno PA-ACS.

8.3.5. Potasio Tiocianato 0,1 mol/l (0,1N) SV (o Amonio Tiocianato 0,1 mol/l (0,1 N) SV).

8.3.6. Solución de Etanol 40%. Usese Etanol 96% v/v PA y diluir convenientemente.

8.3.7. Reactivo de Carrez.

8.3.7.1. Solución acuosa de Potasio Hexacianoferrato 15%. Usese Potasio Hexacianoferrato II 3-hidrato PA-ACS-ISO, disolver y diluir convenientemente.

8.3.7.2. Solución acuosa de Zinc Acetato 30%. Usese Zinc Acetato 2-hidrato PA-ACS, disolver y diluir convenientemente.

8.4. Procedimiento.

8.4.1. Preparación del extracto.

Pesar, con precisión de 1 mg, un peso P (alrededor de 10 g) de la muestra preparada según el método 1, introduciéndola en un Erlenmeyer de 250 ml. Añadir 150 ml de Etanol 40%. Poner en el agitador y calentar suavemente. Prolongar la agitación durante una hora al menos. Transvasar a un matraz aforado de 250 ml con Etanol 40% a través de un embudo y una varilla. Añadir consecutivamente 5 ml de cada uno de los reactivos de Carrez y enrasar con Agua PA-ACS. Agitar y dejar 10 minutos en reposo. Centrifugar 5 minutos a 2.000 r.p.m. Separar la grasa que sobrenade con ayuda de una espátula. Filtrar en un matraz aforado de 200 ml hasta el enrase. Verter el contenido del matraz en un

vaso de 500 ml lavando con una pequeña porción de Agua PA-ACS. Este líquido de lavado se une al inicial en el vaso. Colocar en una placa y evaporar el líquido hasta 100 ml aproximadamente para eliminar el etanol. Dejar enfriar y llevar el líquido de nuevo al matraz de 200 ml y enrasar con Agua PA-ACS.

8.4.2. Introducir en un Erlenmeyer de 250 ml y agitando suavemente entre adición y adición: 10 ml exactamente medidos de Plata Nitrato 0,1 mol/l (0,1 N) SV, 1 ml de Acido Nítrico 60% PA-ISO, 1 ml de solución de Hierro III y Amonio Sulfato 4%, 10 ml del extracto problema, 50 ml de Agua PA-ACS.

Dejar reposar durante 10 minutos en la oscuridad. Añadir 1 ml de Nitrobenzeno PA-ACS para aglomerar el precipitado y obtener una solución limpia. Valorar el exceso de plata nitrato con Potasio Tiocianato 0,1 mol/l (0,1N) SV, hasta que se produzca el viraje.

8.5. Cálculos.

El tanto por ciento de cloruros presentes en la muestra, expresado en sodio cloruro, viene dado por la fórmula:

$$\text{Porcentaje ClNa} = \frac{14,625 (10 - n)}{p}$$

Siendo:

p = peso, en g, de la muestra de la que se ha obtenido el extracto.

n = volumen, en ml, de Potasio Tiocianato 0,1 mol/l (0,1 N) SV gastados en la valoración.

9. GRASA

9.1. Principio.

Extracción de la grasa de la muestra previamente hidrolizada y desecada, por medio de hexano o éter de petróleo. Eliminación del disolvente por evaporación, desecación del residuo y posterior pesada después de enfriar.

9.2. Material y aparatos.

9.2.1. Erlenmeyer de 500 ml.

9.2.2. Vidrios de reloj.

9.2.3. Placa calefactora.

9.2.4. Papel de filtro Albet 242Ø o similar.

9.2.5. Embudos.

9.2.6. Extractor Soxhlet.

9.2.7. Estufa eléctrica.

9.2.8. Balanza analítica.

9.2.9. Desecador provisto de un deshidratante eficaz (Gel de Sílice 3-6 mm con indicador QP).

9.3. Reactivos.

182109 Acido Clorhídrico 5 mol/l (5N) SV

131074 Agua PA-ACS
132770 Eter Dietílico estabilizado con ~6 ppm de BHT PA-ACS-ISO
131315 Eter de Petróleo 40-60°C PA-ISO
211335 Gel de Sílice 3-6 mm con indicador QP
132063 n-Hexano PA-ACS
211835 Piedra Pómez granulos QP

9.3.1. n-Hexano PA-ACS o Eter de Petróleo 40-60°C PA-ISO e índice de bromo inferior a 1, o Eter Dietílico estabilizado con ~6 ppm de BHT PA-ACS-ISO exento de peróxidos.

9.3.2. Piedra Pómez granulos QP.

9.3.3. Acido Clorhídrico 3N. NOTA: En un matraz aforado de 250 ml, introducir 150 ml de Acido Clorhídrico 5 mol/l (5N) SV, diluir y enrasar con Agua PA-ACS. Determinar el factor de la solución 3N resultante.

9.4. Procedimiento.

Pesar con aproximación de 1 mg, 2,5 g de muestra preparada como en el método 1 e introducirlos en un Erlenmeyer de 500 ml. Añadir 100 ml de Acido Clorhídrico 3N (9.3.4.) y unos trozos de Piedra Pómez granulos QP. Cubrir la boca del Erlenmeyer con un vidrio de reloj, y someter la mezcla a una ebullición suave en la placa calefactora durante 1 hora. Enfriar y filtrar sobre doble filtro evitando cualquier paso de materia grasa al filtrado. Lavar el residuo con agua fría hasta desaparición de la reacción ácida. Verificar que en el filtrado no existe materia grasa.

Colocar los papeles de filtro conteniendo el residuo sobre un vidrio de reloj y desecarlos durante una hora y media en la estufa a 95-98°C. Una vez seco el conjunto, introducirlo en el cartucho de extracción, extrayendo con el Soxhlet con Eter Dietílico estabilizado con ~6 ppm de BHT PA-ACS-ISO durante ó horas, regulando la ebullición de forma que se produzcan 15 sifonadas al menos en cada hora. Eliminar el disolvente en el rotavapor y eliminar el resto del disolvente en la estufa durante hora y media a 75°C. Enfriar el matraz con la grasa en desecador, matraz que previamente fue tarado, y pesar cuando se alcanza la temperatura ambiente.

Repetir el calentamiento y la pesada hasta que la diferencia entre dos consecutivas sea menor de 5 mg.

9.5. Cálculos.

Expresar el resultado, en porcentaje de peso:

$$\text{Porcentaje grasa} = \frac{P' - P}{P''} \times 100$$

Siendo:

P = peso, en g, del matraz.

P' = peso, en g, del matraz con la grasa.

P'' = peso, en g, de la muestra.

9.6. Referencias.

9.6.1. Norma ISO-1443.

10. HUMEDAD

10.1. Principio.

Formación de una pasta con ayuda de arena y etanol 95%, que es sometida primeramente a un presecado en baño de María y a continuación seca a $102 \pm 2^\circ\text{C}$ hasta obtener un peso constante.

10.2. Material y aparatos.

10.2.1. Balanza analítica.

10.2.2. Cápsulas de acero inoxidable con tapa de 60 mm de diámetro y 25 mm de altura.

10.2.3. Varilla fina de vidrio con punta aplastada, que entre por completo en la cápsula.

10.2.4. Desecador provisto de un deshidratante eficaz (Gel de Sílice 3-6 mm con indicador QP).

10.2.5. Baño de agua.

1 0.2.6. Estufa eléctrica regulada a $102 \pm 2^\circ\text{C}$.

10.3. Reactivos.

121085 Etanol 96% v/v PA

211160 Arena de Mar lavada, grano fino QP

211335 Gel de Sílice 3-6 mm con indicador QP

10.3.1. Arena de Mar lavada a los ácidos, cuya granulometría esté comprendida entre 0,25 y 1,4 mm.

10.3.2. Etanol 95% en volumen como mínimo.

10.4. Procedimiento.

Secar la cápsula conteniendo una cantidad de Arena de Mar lavada, grano fino QP igual a 3-4 veces el peso de la muestra y la varilla de vidrio, durante 30 minutos, en la estufa regulada a $102 \pm 2^\circ\text{C}$.

Sacarla de la estufa e introducirla en el desecador, hasta que alcance la temperatura ambiente, y pesar el conjunto con 0,1 mg de aproximación.

Introducir en dicha cápsula un peso de muestra preparada según el método 1 aproximadamente 5 g y pesar de nuevo con aproximación 0,1 mg.

Añadir a la cápsula 5 ml de Etanol 96% v/v PA (10.3.2.) y remover la mezcla con la varilla de vidrio.

Colocar la cápsula al baño de agua regulándolo a una temperatura, comprendida entre 60 y 80°C para evitar las posibles proyecciones, mantener el calentamiento hasta que el etanol se evapore. Secar la muestra durante cuatro horas en la estufa a $102 \pm 2^\circ\text{C}$. Retirar la cápsula de la estufa y colocar en el desecador, hasta que alcance la temperatura ambiente. Pesar con aproximación de 0,1 mg.

Repetir las operaciones de secado hasta peso

constante.

Efectuar por lo menos dos determinaciones sobre la misma muestra.

10.5. Cálculos.

$$\text{Porcentaje humedad} = (M_1 - M_2) \frac{100}{M_1 - M_0}$$

Siendo:

M_0 = masa, en g, de la cápsula, la varilla y la arena.

M_1 = masa, en g, de la cápsula, la varilla, la arena y la muestra antes del desecado.

M_2 = masa, en g, de la cápsula, la varilla, la arena y la muestra después del desecado.

10.6. Observaciones.

La diferencia entre los resultados de dos determinaciones simultáneas o realizadas inmediatamente una después de la otra, efectuadas por el mismo analista, no debe ser superior a 0,1 g de agua por 100 g de muestra (0,1 %).

10.7. Referencias.

10.7.1. Norma internacional ISO R-1442.

11. AZUCARES TOTALES, REDUCTORES Y LACTOSA (Método de Luff-Schoorl)

11.1. Principio.

Los azúcares se disuelven en etanol diluido o bien en agua y después de la eliminación del etanol se valoran por el método de Luff-Schoorl antes y después de la inversión.

11.2. Material y aparatos.

11.2.1. Pipetas de 1, 2, 5, 10, 25 ml.

11.2.2. Probetas de 50 ml.

11.2.3. Matraces Erlenmeyer de cuello esmerilado de 300 ml.

11.2.4. Bureta con divisiones de 0,1 ml.

11.2.5. Refrigerante de reflujo.

11.2.6. Baño de arena.

11.2.7. Baño de agua.

11.3. Reactivos.

131008 Acido Acético glacial PA-ACS-ISO

181023 Acido Clorhídrico 0,1 mol/l (0,1N) SV

182109 Acido Clorhídrico 5 mol/l (5N) SV

131058 Acido Sulfúrico 96% PA-ISO

131074 Agua PA-ACS

131079 3-Metil-1 -Butanol PA-ACS

121085 Etanol 96% v/v PA

171096 Almidón soluble RE

171432 Anaranjado de Metilo solución 0,1% RE

171327 Fenoltaleína solución 1 % RE

121428 Mercurio II Yoduro rojo PA

211835 Piedra Pómez gránulos QP

131505 Potasio Hexacianoferrato II 3-hidrato PA-ACS-ISO

131542 Potasio Yoduro PA-ISO

173355 Reactivo de Carrez I RE

173356 Reactivo de Carrez II RE

172174 Reactivo de Luff-Schoorl RE

(o preparar con 131018 Acido Cítrico

1-hidrato PA-ACS-ISO, 131270 Cobre II

Sulfato 5-hidrato PA-ACS-ISO y

131648 Sodio Carbonato anhidro PA-ACS-ISO).

182155 Sodio Hidróxido lentejas PA-ACS-ISO

181723 Sodio Tiosulfato 0,1 mol/l (0,1 N) SV

Solución Hidroglicerida de Invertasa

131775 Zinc Acetato 2-hidrato PA-ACS

11.3.1. Etanol 40% (v/v) d. 20°C \pm 0,948, llevarlo a un punto de viraje con Fenoltaleína solución 1% RE en una parte alícuota.

11.3.2. Anaranjado de Metilo solución 0,1% RE.

11.3.3. Acido Clorhídrico 4N. NOTA: En un matraz aforado de 250 ml, introducir 200 ml de Acido Clorhídrico 5 mol/l (5N) SV, diluir y enrasar con Agua PA-ACS. Determinar el factor de la solución 4N resultante.

11.3.4. Acido Clorhídrico 0,1 mol/l (0,1N) SV.

11.3.5. Sodio Hidróxido 0,125N. NOTA: En un matraz aforado de 250 ml, introducir 125 ml de Sodio Hidróxido 0,25 mol/l (0,25N) SV, diluir y enrasar con Agua PA-ACS. Determinar el factor de la solución 0,125N resultante.

11.3.6. Reactivo de Luff-Schoorl RE o prepararlo como sigue.

11.3.6.1. Solución A.- 50 g de Acido Cítrico 1-hidrato PA-ACS-ISO en 500 ml de Agua PA-ACS.

11.3.6.2. Solución B.- Disolver 143,8 g de Sodio Carbonato anhidro PA-ACS-ISO en 300 ml de Agua PA-ACS caliente, dejando enfriar.

11.3.6.3. Solución C.- Disolver 25 g de Cobre II Sulfato 5-hidrato PA-ACS-ISO, exento de hierro, en 100 ml de Agua PA-ACS.

Mezclar cuidadosamente la solución A con la B, añadiendo también con suave agitación la solución C, aforando el conjunto a 1.000 ml con Agua PA-ACS. Dejar reposar una noche y filtrar. El pH de la solución debe ser alrededor de 9,4.

Comprobar las concentraciones, que deben ser 0,1N para el Cobre II Sulfato y 2N para el Sodio Carbonato.

11.3.7. Sodio Tiosulfato 0,1 mol/l (0,1 N) SV con factor exactamente calculado.

11.3.8. Solución de Almidón.- Pesar 5 g de Almidón soluble RE, haciendo un engrudo con 30 ml de Agua PA-ACS hirviendo; este engrudo se vierte sobre 1 l de Agua PA-ACS hirviendo, manteniendo durante 3 minutos la ebullición, dejar enfriar,

y añadir 10 mg de Mercurio II Yoduro rojo PA como agente conservador.

11.3.9. Acido Sulfúrico 6N. Diluir convenientemente Acido Sulfúrico 96% PA-ACS, con Agua PA-ACS y determinar el factor de la solución resultante.

11.3.10. Piedra Pómez gránulos QP.

11.3.11. Solución Hidroglicerida de Invertasa, conteniendo 2.750 unidades/ml.

11.3.12. Suspensión de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) 25 g de dicha levadura fresca en 100 ml de Agua PA-ACS. Esta solución se conserva como máximo una semana en el refrigerador.

11.3.13. Reactivos de Carrez I y II o prepararlo como sigue.

11.3.13.1. Carrez I.- Disolver en 50 ml de Agua PA-ACS, 24 g de Zinc Acetato 2-hidrato PA-ACS y 3 g de Acido Acético glacial PA-ACS-ISO. Completar a 100 ml con Agua PA-ACS.

11.3.13.2. Carrez II.- Disolver en 50 ml de Agua PA-ACS, 10,6 g de Potasio Hexacianoferrato II 3-hidrato PA-ACS-ISO completando a 100 ml con Agua PA-ACS.

11.3.14. 3-Metil-1-Butanol PA-ACS como anti-espumante (opcional).

11.4. Procedimiento.

11.4.1. Preparación del extracto.

Como en 8.4.1.

11.4.2. Valoración de azúcares reductores.

Tomar con una pipeta una cantidad del extracto no superior a 25 ml y que contenga menos de 60 mg de azúcares reductores expresados en glucosa. Si fuera preciso tomar una cantidad menor de 25 ml (caso no frecuente en productos a base de carne) se completa hasta dichos 25 ml con Agua PA-ACS, determinándose el contenido de azúcares reductores según el método de Luff-Schoorl posteriormente descrito.

11.4.3. Valoración de azúcares totales, después de la inversión.

Se pueden seguir dos métodos:

11.4.3.1. Método químico.- Tomar por medio de una pipeta 50 ml del extracto en un matraz de 100 ml aforado, y añadir cuatro gotas de Anaranjado de Metilo solución 0,1% RE(11.3.2.) y después gota a gota Acido Clorhídrico 0,1N SV(11.3.4.) y llevar al baño de agua hirviendo durante 30 minutos. Enfriar rápidamente a 20°C y añadir 15 ml de Sodio Hidróxido 0,125N o la precisa para el viraje del indicador. Aforar a 100 ml con Agua PA-ACS.

Tomar una cantidad no superior a 25 ml que contenga menos de 60 mg de azúcares totales, expresados en glucosa como en el apartado 11.4.2., determinándose el porcentaje de azúcares reductores según el método de Luff-Schoorl, que se expresa en azúcar invertido o bien en sacarosa, multiplicando el valor obtenido por el factor 0,95.

11.4.3.2. Método enzimático.- Tomar 50 ml del

extracto correspondiente en un matraz de 100 ml aforado, añadir 2 ml de solución Hidroglicerida de Invertasa y dejar reposar una hora a 50°C en estufa. Enfriar a 20°C enrasando exactamente a 100 ml con Agua PA-ACS.

Tomar una cantidad no superior a 25 ml y proseguir como en los casos anteriores y con las mismas especificaciones.

11.4.4. Valoración de lactosa.

Tomar en un matraz aforado de 100 ml, 50 ml del extracto correspondiente. Añadir 5 ml de suspensión de levadura (11.3.12.), homogeneizar y dejar durante 2 horas en un baño de 39°C. Enfriar a 20°C. Añadir 2,5 ml de solución de Carrez I (11.3.13.1.) y agitar, añadir 2,5 ml de solución Carrez II (11.3.13.2.) y agitar de nuevo. Completar el volumen a 100 ml con Agua PA-ACS, mezclar y filtrar. Tomar 25 ml de filtrado como máximo, y con un contenido en lactosa entre 40 y 80 mg, introducirlos en un Erlenmeyer de 300 ml.

Proceder de la misma forma con un ensayo en blanco de 5 ml de levadura.

Determinar el contenido en lactosa según el método de Luff-Schoorl, los resultados se expresan en lactosa anhidra por ciento.

El método se basa en el hecho de que el *Saccharomyces cerevisiae* hidroliza todos los azúcares exceptuando la lactosa.

11.4.5. Valoración según el método de Luff-Schoorl.

Tomar con la pipeta 25 ml exactos de Reactivo de Luff-Schoorl RE y verterlos en un Erlenmeyer de 300 ml sobre las correspondientes alícuotas de azúcares, añadir unos gramos de Piedra Pómez gránulos QP y calentar en tela metálica con mechero fuerte de manera que hierva dos minutos aproximadamente, llevar el Erlenmeyer a un baño de arena previamente calentado de forma que se caliente únicamente el fondo del recipiente, adaptándose un refrigerante de reflujo y manteniendo la ebullición durante 10 minutos exactos.

Enfriar rápidamente, y valorar a los 5 minutos, añadiendo 3 g de Potasio Yoduro PA-ISO disuelto en 2 ml de Agua PA-ACS, y lentamente para evitar las proyecciones, 25 ml de Acido Sulfúrico 6N, valorando el yodo puesto en libertad con Sodio Tiosulfato 0,1 mol/l (0,1N) SV, hasta obtener un color amarillo débil, añadir el indicador de almidón (11.3.8.) y terminar la valoración hasta decoloración.

Efectuar una valoración análoga en blanco, mezclando 25 ml del Reactivo de Luff-Schoorl RE con 25 ml de Agua PA-ACS, sin previa ebullición, y con la adición de Potasio Yoduro PA-ISO y Acido Sulfúrico 6N.

11.5. Cálculos.

Con la ayuda de la tabla 1 determinar la cantidad de azúcar en mg correspondiente a la diferencia entre los volúmenes de sodio tiosulfato en ml

consumidos en la valoración en blanco y problema.

Sean a los mg de azúcares correspondientes:

$$\text{Porcentaje azúcares} = \frac{25 \cdot a}{P \cdot V}$$

Siendo:

P = peso, en g, de la muestra inicial de la que se obtuvo el extracto.

V = volumen, en ml, de alícuota tomada.

Esta expresión es válida cuando el extracto se haya enrasado a 250 ml.

11.6. Observaciones.

11.6.1. Los resultados obtenidos para azúcares totales realizando los dos tipos de inversión son semejantes. Pero si el análisis no se realiza con frecuencia, es preferible el método químico, por el posible deterioro de la invertasa y su alto precio.

11.6.2. La diferencia entre el porcentaje de azúcares totales y el de azúcares reductores, multipli-

cado por 0,95 da el contenido en sacarosa de la muestra.

11.6.3. El contenido en azúcares reductores, exceptuando la lactosa, se obtiene multiplicando el valor de ésta, obtenido según (11.4.4.), por 0,675 y restando este resultado del contenido en azúcares reductores totales.

12. HIDROXIPROLINA

12.1. Principio.

Prevía hidrólisis en medio ácido de las proteínas y oxidación de la hidroxiprolina. El derivado formado con el p-dimetilaminobenzaldehído se valora coloriméricamente.

12.2. Material y aparatos.

12.2.1. Balanza analítica.

12.2.2. Matraces de fondo plano de 250 ml de capacidad.

12.2.3. Refrigerantes de reflujo.

12.2.4. Baño de arena.

12.2.5. Agitador magnético.

TABLA 1
Para 25 ml de reactivo Luff-Schoorl

Na ₂ S ₂ O ₃ 0,1N	Glucosa, fructosa azúcares invertidos C ₆ H ₁₂ O ₆		Lactosa C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁		Maltosa C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	
	ml	mg	Diferencia	mg	Diferencia	mg
1	2,4	2,4	3,6	3,7	3,9	3,9
2	4,8	2,4	7,3	3,7	7,8	3,9
3	7,2	2,5	11,0	3,7	11,7	3,9
4	9,7	2,5	14,7	3,7	15,6	4,0
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

- 12.2.6. pH-metro.
- 12.2.7. Matraces aforados de 50, 100, 200 y 1.000 ml de capacidad.
- 12.2.8. Erlenmeyer de 250 ml de capacidad.
- 12.2.9. Tubos de ensayo de 16 x 160 mm, aforados a 12 ml.
- 12.2.10. Baño de María.
- 12.2.11. Espectrofotómetro o colorímetro capaces para lecturas a 560 nm.
- 12.2.12. Cubetas de 1 cm de paso de luz específicas para luz visible.

12.3. Reactivos.

- 131808 Acido Cítrico anhidro PA-ACS-ISO
- 131020 Acido Clorhídrico 37% PA-ACS-ISO
- 131054 Acido Perclórico 60% PA-ACS-ISO
- 131074 Agua PA-ACS
- 131090 2-Propanol PA-ACS-ISO
- 142323 Cloramina T 3-hidrato (B.P.F. Eur.) PRS-CODEX
- 251293 4-(Dimetilamino) benzaldehído DC L-Hidroxirolina
- 211835 Piedra Pómez gránulos QP
- 131633 Sodio Acetato anhidro PA-ACS
- 131655 tri-Sodio Citrato 2-hidrato PA-ACS
- 131687 Sodio Hidróxido lentejas PA-ACS-ISO
- 171688 Sodio Hidróxido solución 10% p/v RE

12.3.1. Piedra Pómez gránulos QP.

12.3.2. Solución de ácido clorhídrico 50% (v/v) (diluir a 1.000 ml, 500 ml de Acido Clorhídrico 37% PA-ACS-ISO con Agua PA-ACS).

12.3.3. Solución concentrada de Sodio Hidróxido lentejas PA-ACS-ISO de densidad 1,33 (400 g/l) (p/v) con Agua PA-ACS.

12.3.4. Sodio Hidróxido solución 10% p/v RE.

12.3.5. 2-Propanol PA-ACS-ISO.

12.3.6. Solución de Cloramina T 3-hidrato (B.P.F. Eur.) PRS-CODEX 10,5% (p/v) en Agua PA-ACS.

12.3.7. Solución tampón de pH = 6. Disolver 34 g de Sodio Acetato anhidro PA-ACS, 38,88 g de tri-Sodio Citrato 2-hidrato PA-ACS (o 36,5 g de Sodio Citrato tri-Básico 1-hidrato), 5,5 g de Acido Cítrico anhidro PA-ACS-ISO en 385 ml de 2-Propanol PA-ACS-ISO y enrasar a 1.000 ml con Agua PA-ACS.

12.3.8. Solución oxidante, que debe prepararse en el momento de su empleo, un volumen de la solución 12.3.6. y cuatro volúmenes de la solución 12.3.7.

12.3.9. Solución de Acido Perclórico 17,5%. Diluir convenientemente Acido Perclórico 60% PA-ACS-ISO con Agua PA-ACS.

12.3.10. Solución de 4-(Dimetilamino) benzaldehído DC (p-DMAB) 5% en 2-Propanol PA-ACS-ISO. Esta solución se conserva una semana a temperatura ambiente.

12.3.11. L-Hidroxirolina.

12.4. Procedimiento.

12.4.1. Preparación de la muestra.

Pesar con 1 mg de aproximación P gramos de la muestra convenientemente homogeneizada (aproximadamente 3 g) sobre papel de fumar sin engomar, e introducir la muestra en el matraz de fondo plano (12.2.2.). Añadir Piedra Pómez gránulos QP y 50 ml de la solución de Acido Clorhídrico 50% (12.3.2.). Montar los refrigerantes de reflujo y colocarlos en el baño de arena. Calentar de forma que se mantenga una ebullición suave al menos durante siete horas. Refrigerar rápidamente los matraces bajo corriente de agua. Ajustar el contenido de los matraces a un pH comprendido entre 6 y 7, añadiendo y agitando fuertemente 28 ml de la solución concentrada de Sodio Hidróxido, dejar enfriar al chorro de agua y llevar al pH anteriormente indicado con Sodio Hidróxido solución 10% p/v RE (12.3.4.). Transferir el contenido a un matraz aforado de 200 ml y enrasar dejando en reposo durante una hora. Filtrar a través del papel de filtro plegado. Tomar una alícuota del filtrado y diluirla 10 o 20 veces con Agua PA-ACS. Es conveniente realizar ambas diluciones, porque permiten obtener dos valores sobre la misma muestra.

12.4.2. Preparación de la curva patrón.

La coloración obtenida sigue la ley de Beer-Lambert cuando la concentración de L-Hidroxirolina se encuentra comprendida entre 0 y 20 µg/ml.

Teniendo en cuenta los numerosos factores que influyen en la formación del derivado coloreado, es indispensable construir para cada determinación una curva patrón, realizándose el desarrollo del color al mismo tiempo sobre las diluciones problema y los patrones.

Preparar una solución madre conteniendo 400 µg/ml de L-Hidroxirolina con Agua PA-ACS. A partir de esta solución, hacer diluciones que contengan 5, 10 y 20 µg/ml con Agua PA-ACS. Tomar una serie de tubos de ensayo aforados a 12 ml y poner en uno de ellos (tubo testigo) 1 ml de Agua PA-ACS. En los tres siguientes colocar 1 ml de las soluciones que contienen 5, 10 y 20 µg/ml de L-Hidroxirolina. En los dos siguientes 1 ml de cada una de las diluciones diluidas del filtrado. Añadir a cada tubo sucesivamente: 2 ml de 2-Propanol PA-ACS-ISO (12.3.5.) y 1 ml de la solución oxidante recientemente preparada (12.3.8.) y agitar. Dejar reposar durante 10 minutos, transcurrido dicho tiempo añadir de nuevo a cada tubo 3 ml de la solución de Acido Perclórico 17,5% (12.3.9.) y 2 ml de 4-(Dimetilamino) benzaldehído DC (12.3.10.), homogeneizar el contenido de los tubos y llevarlos al baño de María regulado a 60°C, permaneciendo en él 20 minutos, retirarlos del baño y enfriarlos bajo corriente de agua. Ajustar hasta 12 ml con 2-Propanol PA-ACS-ISO y agitar.

Leer la densidad óptica de cada tubo ajustando el cero con el tubo testigo a 560 nm.

Trazar la correspondiente curva patrón, colocan-

do en abscisas las absorbancias y ordenadas las concentraciones en µg/ml de L-Hidroxiprolina.

12.5. Cálculos.

$$\text{Porcentaje hidroxiprolina} = \frac{x \cdot d}{50 P}$$

Siendo:

x = cantidad de hidroxiprolina leída en la curva patrón.

d = dilución del filtrado realizado.

P = peso inicial de la muestra.

Porcentaje colágeno = 8 x % de hidroxiprolina.

12.6. Observaciones.

12.6.1. Cuando la muestra a analizar sea de alto contenido en colágeno, el tiempo de ebullición deberá prolongarse al menos durante nueve horas.

13. NITRITOS

13.1. Principio.

Del extracto obtenido, adicionándole ácido sulfanílico y α-naftilamina, se lee la intensidad de la coloración obtenida mediante colorimetría o espectrofotometría.

13.2. Material y aparatos.

13.2.1. Matraces aforados de 100 y 1.000 ml de capacidad.

13.2.2. Probetas de 100 o 200 ml de capacidad.

13.2.3. Baño de María.

13.2.4. Papel de filtro plegado de 15 cm de diámetro aproximadamente.

13.2.5. Tubos de ensayo de 150 x 25 mm.

13.2.6. Matraces Erlenmeyer de 300 ml de capacidad.

13.2.7. Espectrofotómetro capaz de leer a 520 nm.

13.2.8. Cubetas de 1 cm de paso específicas para luz visible.

13.3. Reactivos.

131008 Acido Acético glacial PA-ACS-ISO

131057 Acido Sulfanílico PA-ACS

131074 Agua PA-ACS

121237 Carbón Activo polvo PA

α-Naftilamina Cloruro

131659 Sodio Cloruro PA-ACS-ISO

131703 Sodio Nitrito PA-ACS

13.3.1. Solución patrón de Sodio Nitrito.- Pesar, con aproximación de 1 mg, 1 g de Sodio Nitrito PA-ACS, disolver en Agua PA-ACS y completar hasta 1.000 ml con Agua PA-ACS. Tomar con la pipeta 5

ml de esta solución e introducirla en otro matraz aforado de 1.000 ml. Enrasar con Agua PA-ACS.

13.3.2. Reactivo colorimétrico.

13.3.2.1. Solución I.- Disolver calentando al baño de María 6 g de Acido Sulfanílico PA-ACS en 200 ml de Acido Acético glacial PA-ACS-ISO y 400 ml de Agua PA-ACS. Añadir 200 ml de una solución de sodio cloruro que contiene 100 g/l de Sodio Cloruro PA-ACS-ISO. Diluir con Agua PA-ACS hasta 1.000 ml.

13.3.2.2. Solución II.- Disolver calentando al baño de María 0,3 g de α-Naftilamina Cloruro en 100 ml de Agua PA-ACS. Filtrar si es necesario y añadir 200 ml de Acido Acético glacial PA-ACS-ISO. Diluir hasta 1.000 ml con Agua PA-ACS.

Manipular con precaución esta disolución por su carácter cancerígeno.

Ambas soluciones (13.3.2.1.) y (13.3.2.2.) deben conservarse en frascos topacio bien cerrados. El reactivo colorimétrico se obtiene mezclando volúmenes iguales de ambas soluciones.

13.4. Procedimiento.

13.4.1. Preparación del extracto.- Como en 8.4.1.

13.4.2. Valoración de la muestra.- Del extracto obtenido en 13.4.1., tomar 25 ml y añadir 1 g, aproximadamente, de Carbón Activo polvo PA si es necesario decolorar. Filtrar hasta que el filtrado sea transparente. Del filtrado tomar una alícuota de 10 ml y ponerla en un tubo de ensayo 13.2.5. Si se toman menos de 10 ml, completar hasta 10 ml con Agua PA-ACS. Añadir 10 ml del reactivo colorimétrico, mezclar y dejar reposar la solución quince minutos a temperatura ambiente al abrigo de la luz.

A partir de los 20 minutos y antes de 4 horas, medir la densidad óptica de la solución en una cubeta de 1 cm de paso de luz a 520 nm de longitud de onda.

Si la solución coloreada problema presenta una coloración superior a la de la solución patrón más concentrada, tomar una alícuota menor de 10 ml.

Efectuar dos determinaciones sobre la misma muestra.

13.4.3. Preparación de la curva patrón.- Tomar de la solución patrón (13.3.1.) alícuotas de 5, 10 y 20 ml y llevar a 100 ml con Agua PA-ACS. El contenido de estas soluciones es, respectivamente, de 0,25, 0,50 y 1 ppm de sodio nitrito.

Transferir 10 ml de cada una de estas soluciones a un tubo de ensayo (13.2.5.), añadir 10 ml del reactivo colorimétrico y proceder a su valoración colorimétrica o espectrofotométrica a 520 nm, llevando absorbancias frente a concentraciones expresado en ppm de sodio nitrito.

13.5. Cálculos.

Calcular el contenido en nitritos de la muestra

expresada en ppm por medio de la fórmula:

$$\text{ppm NaNO}_2 = C \frac{2 \cdot 500}{m \cdot V}$$

m = peso de muestra de la que se ha obtenido el extracto.

V = volumen, en ml, tomado del extracto decolorado.

C = concentración en sodio nitrito expresada en µg/ml determinada sobre la curva patrón.

Tomar como resultado la media de los valores obtenidos en dos determinaciones paralelas si las condiciones de reproducibilidad se cumplen.

13.6. Observaciones.

La diferencia entre dos determinaciones paralelas sobre una misma muestra, realizadas simultáneamente por el mismo analista, no debe ser superior al 10% del contenido calculado en nitritos.

13.7. Referencias.

13.7.1. Norma ISO/DIS 2918.

14. NITRATOS

14.1. Principio.

Al reaccionar en medio sulfúrico los nitratos con la brucina se produce una coloración amarillamarrón, cuya intensidad es proporcional al contenido en nitratos presentes, lo que permite su valoración colorimétrica o espectrofotométrica.

14.2. Material y aparatos.

14.2.1. Matraz aforado de 50 ml de capacidad.

14.2.2. Espectrofotómetro o colorímetro capaces para lecturas a 410 nm.

14.2.3. Cubetas de 1 cm de paso específicas para luz visible.

14.3. Reactivos.

131020 Acido Clorhídrico 37% PA-ACS-ISO

131057 Acido Sulfanílico PA-ACS

131058 Acido Sulfúrico 96% PA-ISO

131074 Agua PA-ACS

Brucina

131524 Potasio Nitrato PA-ISO

14.3.1. Solución patrón de nitratos.- Disolver 0,1629 g de Potasio Nitrato PA-ISO en Agua PA-ACS y enrasar a 1 l. 1 ml de esta solución contiene 0,1 mg de nitrato.

14.3.2. Reactivo Brucina-Acido Sulfanílico. Disolver 1 g de Brucina y 0,1 g de Acido Sulfanílico PA-ACS en unos 70 ml de Agua PA-ACS caliente, añadir 3 ml de Acido Clorhídrico 37% PA-ACS-ISO, dejar enfriar y enrasar a 100 ml con Agua PA-ACS.

La solución debe guardarse en frasco color topacio.

14.3.3. Solución de Acido Sulfúrico.- Añadir con cuidado 500 ml de Acido Sulfúrico 96% PA-ISO a 75 ml de Agua PA-ACS. Debe conservarse herméticamente cerrado.

14.4. Procedimiento.

14.4.1. Preparación del extracto.- Como en 8.4.1.

14.4.2. Valoración de la muestra.- Introducir en un matraz aforado de 50 ml de capacidad 10 ml del extracto (14.4.1.), 1 ml del reactivo (14.3.2.) y 10 ml del reactivo (14.3.3.) muy lentamente, mezclar y dejar en reposo durante diez minutos al abrigo de la luz.

Pasado este tiempo, añadir Agua PA-ACS, agitando, hasta completar unos 40 ml y dejar reposar durante quince minutos en la oscuridad.

Enfriar el matraz en un baño de hielo hasta que alcance la temperatura ambiente, preferiblemente también en la oscuridad. A continuación, enrasar a 50 ml con Agua PA-ACS, homogeneizar el contenido del matraz y leer la absorbancia a 410 nm. El cero se ajusta con 20 ml de Agua PA-ACS sometida al proceso anteriormente descrito.

14.4.3. Preparación de la curva patrón.- Tomar distintas alícuotas de la solución 14.3.1. y tratar como en 14.4.2.

14.5. Cálculos.

Llevar la absorbancia obtenida a la curva patrón y expresar el correspondiente contenido de nitratos en mg por kg.

14.6. Observaciones.

14.6.1. Periódicamente resulta aconsejable confirmar o rectificar los valores de la curva patrón, lo que es absolutamente necesario cuando se cambia de reactivos.

14.6.2. En las condiciones citadas, se pueden medir concentraciones de nitrato comprendidas entre 50 y 500 µg/l.

14.6.3. El ácido sulfanílico se añade al reactivo 14.3.2. para evitar la posible interferencia del ión nitrito. Las interferencias de iones ferrosos, férricos y manganosos sólo son apreciables cuando su concentración es superior a 1 mg/l.

15. pH

15.1. Principio.

Medida del potencial eléctrico creado en la membrana de un electrodo de vidrio, función de la actividad de iones hidrógeno a ambos lados de la membrana. Utilizar como referencia un electrodo de calomelanos.

15.2. Material y aparatos.

15.2.1. pH-metro capaz de determinar la segunda cifra decimal.

15.2.2. Electrodo de vidrio de punta fina o convencional (según la dureza de la muestra).

15.2.3. Electrodo de calomelanos.

15.3. Reactivos.

131074 Agua PA-ACS

273616 Tampón, Solución pH 4,00±0,02 (20°C) (coloreada de rojo) ST

273617 Tampón, Solución pH 7,00±0,02 (20°C) (coloreada de amarillo) ST

15.4. Procedimiento.

Tomar una cantidad de muestra preparada según el método 1 o bien directamente, en el caso de muestras homogéneas, añadir igual cantidad de Agua PA-ACS, mezclar y dejar reposar durante diez minutos.

Ajustar el pH-metro a la temperatura de trabajo con las disoluciones tampón coloreadas de pH 4 y pH 7 e introducir los electrodos de vidrio y de referencia, separados al menos 2 cm.

Conectar el pH-metro y esperar a que se establezca.

15.5. Expresión de los resultados.

Anotar el valor de pH indicado por el aparato.

Repetir la operación dos veces al menos.

15.6. Observaciones.

15.6.1. Es necesaria una limpieza escrupulosa de los electrodos entre determinaciones sucesivas, lo que al tratarse de productos con un alto contenido en materia grasa es más laboriosa que en disoluciones desengrasadas, requiriendo a veces ser frotados o sumergidos en alcohol, éter dietílico, éter de petróleo, etcétera; secarlos convenientemente y lavarlos finalmente con agua; secarlos de nuevo, quedando así dispuestos para una nueva lectura.

16. TIOURACILOS

16.1. Principio.

Extracción del antitiroideo con metanol, evaporación del disolvente, dilución con agua y purificación con éter dietílico. Evaporación del extracto acuoso a sequedad, posterior recogida de triclorometano-metanol, cromatografía en columna de aluminio óxido y posterior desarrollo del color con dicloroquinona-clorimida en tampón adecuado.

Aplicable a muestras de tiroides.

16.2. Material y aparatos.

16.2.1. Rotavapor con vacío.

16.2.2. Centrífuga capaz de alcanzar 4.000 r.p.m.

16.2.3. Espectrofotómetro o colorímetro capaz

de efectuar lecturas a 435 nm.

16.2.4. Trituradora.

16.3. Reactivos.

131019 Acido Clorhídrico 35% PA-ISO

131074 Agua PA-ACS

131091 Metanol PA-ACS-ISO

131090 2-Propanol PA-ACS-ISO

Aluminio Oxido neutro, grado de actividad 1

131252 Triclorometano estabilizado con etanol PA-ACS-ISO

2,6-Dicloroquinona-Clorimida

132770 Eter Dietílico estabilizado con ~6 ppm de BHT PA-ACS-ISO

141154 di-Fósforo penta-Oxido PRS Tiouracilo

131940 Tris(Hidroximetil) Aminometano PA-ACS

16.3.1. Triclorometano estabilizado con etanol PA-ACS-ISO.

16.3.2. Metanol PA-ACS-ISO.

16.3.3. Mezcla de Triclorometano estabilizado con etanol PA-ACS-ISO-Metanol PA-ACS-ISO (1-1).

16.3.4. Mezcla de 75% de Metanol PA-ACS-ISO-Agua PA-ACS (3-1)

16.3.5. Solución tampón pH 7,6: Disolver 24,3 g de Tris(Hidroximetil) Aminometano PA-ACS en 800 ml de Agua PA-ACS y ajustar a pH 7,6 con Acido Clorhídrico 6N. (Para ello úsese Acido Clorhídrico 35% PA-ISO y diluir convenientemente con Agua PA-ACS).

16.3.6. Solución de Dicloroquinona-Clorimida. Disolver 20 mg de 2,6-Dicloroquinona-Clorimida en 50 ml de 2-Propanol PA-ACS-ISO.

16.3.7. Tiouracilo.

16.3.8. Solución patrón de Tiouracilo. Disolver 25 mg de Tiouracilo en 250 ml de Metanol PA-ACS-ISO. De esta solución se llevan 5 ml a un matraz aforado de 25 ml, enrasando con Metanol PA-ACS-ISO.

16.3.9. Aluminio Oxido neutro, grado de actividad 1 (secar durante 2 horas a 100°C al vacío, en presencia de di-Fósforo penta-Oxido PRS, dejar enfriar y guardar el frasco de tapón esmerilado en desecador).

16.3.10. Preparación de la columna cromatográfica. Introducir 6 g de Aluminio Oxido en un Erlenmeyer de 100 ml, de boca esmerilada. Agregar 0,6 ml de Agua PA-ACS y calentar en baño maría a 70°C durante 10 minutos agitando enérgicamente. Dejar enfriar manteniendo la agitación. Agregar aproximadamente, 10 ml de la mezcla Triclorometano estabilizado con etanol PA-ACS-ISO-Metanol PA-ACS-ISO al matraz y pasar a la columna cromatográfica (diámetro interior 16 mm y 30 cm de largo), cuya extremidad inferior está tapada con algodón. La actividad del Aluminio Oxido debe ser controlada por un ensayo de recuperación con la

solución patrón de Tiouracilo. Tomar 10 ml de esta solución, cromatográfica y desarrollar el color. Medir la densidad óptica (D.O.) según el método que a continuación se describe. A la vez desarrollar color con 10 ml de la solución patrón de Tiouracilo no cromatografiada. Las densidades ópticas en los dos casos deben ser idénticas.

16.4. Procedimiento.

16.4.1. Determinación.

Pesar en el vaso de la trituradora 20 g de la muestra, preparada según el método 1, o 5 g si se trata de tiroides. Agregar 100 ml de Metanol PA-ACS-ISO y homogeneizar durante unos minutos. A continuación pasar el contenido del vaso a unos tubos de centrifuga y centrifugar durante 5 minutos a 2.000 r.p.m. Pasar el sobrenadante a un matraz de boca esmerilada, llevándolo al rotavapor a 60°C para reducir su volumen a un cuarto del inicial, con ayuda de vacío.

Trasladar el sobrenadante a una ampolla de decantación de 250 ml de capacidad, levantando el matraz con 25 ml de Agua PA-ACS e incorporándola también a la ampolla de decantación, agregar seguidamente 60 ml de Eter Dietílico estabilizado con ~6 ppm de BHT PA-ACS-ISO, agitar durante unos minutos, dejar decantar y recoger la parte acuosa en un matraz de boca esmerilada. Seguidamente se lava de nuevo el Eter Dietílico estabilizado con ~6 ppm de BHT PA-ACS-ISO con 12 ml de Agua PA-ACS, recogiendo también en el matraz. Llevar el matraz que contiene la fracción acuosa al rotavapor y evaporar a sequedad con ayuda de vacío y a una temperatura de 60°C.

El residuo así obtenido se recoge con 30 ml de la mezcla de Triclorometano estabilizado con etanol PA-ACS-ISO-Metanol PA-ACS-ISO y se trasvasa a la columna cromatográfica, dejando descender el líquido hasta 0,5 cm por encima de la capa de Aluminio Oxido. Lavar la columna primero con 30 ml de la mezcla de Triclorometano estabilizado con etanol PA-ACS-ISO-Metanol PA-ACS-ISO y después con 30 ml de Metanol PA-ACS-ISO. Dejar bajar el líquido, vigilando que la columna quede siempre sumergida. Lavar el matraz de evaporación con 35 ml de Metanol 75% para disolver eventualmente las últimas trazas del residuo y trasvasar el líquido a la columna. Descartar los 8 primeros ml de la mezcla y recoger el resto en un matraz de boca esmerilada. Lavar por última vez el matraz con 20 ml de Metanol PA-ACS-ISO y pasarlos a la columna.

Evaporar a sequedad el contenido del matraz en rotavapor a 60°C, con ayuda de vacío, recoger el residuo de la evaporación en 20 ml de la solución tampón pH 7,6, añadir 2 ml de la solución de Dicloroquinona-Clorimida, agitar 20 segundos y dejar reposar 20 minutos.

Trasvasar la solución a una ampolla de decanta-

ción de 250 ml, lavar el matraz con 4 ml de Triclorometano estabilizado con etanol PA-ACS-ISO pasándolos a la ampolla de decantación y agitar. Dejar reposar y recoger el extracto clorofórmico en una probeta de 10 ml. Realizar un nuevo lavado con 5 ml de Triclorometano estabilizado con etanol PA-ACS-ISO como referencia.

16.4.2. Obtención de la curva de calibrado.

Poner volúmenes de 1, 2 y 4 ml de la solución patrón de Tiouracilo en un Erlenmeyer de 100 ml, evaporar a sequedad en rotavapor a 60°C y dejar enfriar. Recoger el residuo en 20 ml de la solución tampón pH 7,6; añadir 2 ml de la solución de Dicloroquinona-Clorimida y dejar reposar 20 minutos. Trasvasar el contenido a una ampolla de decantación y agitar. Dejar reposar y recoger el extracto clorofórmico en probeta de 10 ml, hacer un segundo lavado con 5 ml de Triclorometano estabilizado con etanol PA-ACS-ISO, agitar, recoger en la probeta y enrasar a 10 ml. Homogeneizar, pasar al tubo del colorímetro, centrifugar y leer en el colorímetro a 435 nm.

Con los datos obtenidos construir la curva de calibrado.

16.5. Cálculos.

Calcular el contenido en tiouracilo expresado en ppm mediante comparación con la curva de calibrado, teniendo en cuenta, si es necesario, la dilución de la muestra.

16.6. Referencias.

16.6.1. Dosage du Methylthiouracile (MTU) dans la viande. Van Waes H. Rev. Agric. 26: 435-439 (1973)

16.6.2. Thiouracile and pollution alimentaires. Recherche et dosage du MTU dans la viande, les organes animaux et les excréments, Famerce, L., Van Waes H., Medecine/Biologie/Environnement, January-June 15, 20 (1975).

II METODOS DE ANALISIS BIOLÓGICOS (B.O.E. 29-8-1979)

1. IDENTIFICACION DE ESPECIE ANIMAL

1.1. Principio.

Las proteínas musculares de las distintas especies animales, aunque muy similares entre sí, tienen en cada grupo zoológico una estructura específica que permite diferenciar carnes de especies distintas por métodos serológicos (técnica de Uhlenhuth).

Sólo es aplicable a productos crudos.

1.2. Material y aparatos.

1.2.1. Tubos de precipitación de 20 x 4 mm.

1.2.2. Gradillas metálicas para los tubos anteriores.

1.2.3. Precipitoscopio (cámara oscura con luz indirecta).

1.2.4. Pipetas capilares muy finas.

1.2.5. Pinzas.

1.2.6. Bisturí.

1.2.7. Tijeras.

1.2.8. Gasa.

1.2.9. Papel de filtro.

1.2.10. Tubos de ensayo.

1.2.11. Erlenmeyer de 250 ml de capacidad.

1.3. Reactivos.

1.3.1. Suero fisiológico estéril.

1.3.2. Antisueros específicos (su especialidad debe ser contrastada en el momento de su utilización).

1.4. Procedimiento.

Separar del producto cárnico entre 5 y 10 g de carne magra lo más exenta posible de grasa. Picar en trozos muy pequeños, poniéndose a macerar en suero fisiológico estéril en la proporción de 1/10. Mantener el macerado puesto en un Erlenmeyer de 250 ml en frigorífico durante 24 horas, al objeto de evitar la proliferación bacteriana.

Transcurridas las 24 horas, filtrar el macerado a través de gasa y papel de filtro cuantas veces sea necesario, hasta obtener un líquido transparente, sin importar que tenga coloración propia. Diluir el filtrado, que estaba a 1/10, hasta 1/25 y 1/50.

Poner en una gradilla metálica tres tubos de precipitación para las tres diluciones preparadas. Tomar con pipeta capilar una para cada dilución, partes de las disoluciones (antígeno problema) llevándolo hasta el fondo de los tubos. Colocar seguidamente el antisuero que se ensaya (anticuerpo específico conocido) en los tres tubos mediante pipeta capilar muy fina de la manera siguiente: Poner el tubo conteniendo el antígeno problema en posición horizontal, llevando en este momento la pipeta con el antisuero hasta el fondo del tubo,

momento en que se vuelve a poner el tubo en posición vertical, con lo que saldrá una pequeña cantidad de antisuero que desplazará hasta arriba el antígeno, pero sin mezclarse con él; volver a poner de nuevo en posición horizontal el tubo, sacando rápidamente la pipeta que contiene el antisuero. El tubo debe estar siempre en posición horizontal a la entrada o la salida de la pipeta con el antisuero, evitando de esta forma que los dos líquidos reaccionantes se mezclen. Utilizar una sola pipeta para cada antisuero. Es conveniente poner dos tubos testigos, uno para el suero y otro para el antígeno, testigos que necesariamente deben dar siempre reacción negativa.

1.5. Interpretación de resultados.

La reacción positiva se produce con la aparición de un anillo blanquecino, opalescente, en la zona de separación de ambos líquidos reaccionantes antes de 15 minutos. Reacciones positivas posteriores a este tiempo deben considerarse inespecíficas. La reacción tiene lugar, para un mismo antígeno, a distintos tiempos, según sea el título del antisuero empleado.

1.6. Observaciones.

1.6.1. La lectura de los resultados debe hacerse con luz intensa indirecta y sobre fondo oscuro, preferiblemente en un precipitoscopio.

1.7. Referencias.

1.7.1. Normalización de Técnicas en Bromatología Sanitaria, F. Pérez Flórez. 1970.

DETECCION DE TRIQUINA EN ESPECIES PORCINA Y EQUINA

Orden de 17 de enero de 1.996 sobre detección de triquina en las carnes de animales domésticos de la especie porcina y equina.

ANEXO 1

I. Examen triquinoscópico.

a) Instrumental.

Triquinoscopio de lámpara incandescente que permita un aumento de 50 y 80 a 100 veces.

Placa compresora: Formada por dos plaquetas de vidrio que puedan comprimirse una contra otra, una de las cuales estará dividida en zonas iguales; unas tijeras pequeñas curvas; una pinza pequeña; un cuchillo para cortar las muestras; pequeños recipientes numerados destinados a recoger las muestras; un cuentagotas; un vaso que contenga ácido acético y otro que contenga una solución de potasa cáustica para aclarar en caso de posible calcificación o para ablandar la carne seca.

b) Toma de muestras.

1. Cuando la canal sea entera, deberá tomarse, por lo menos, una muestra del grosor de una avellana, de cada uno de los pilares del diafragma en la zona de transición entre la parte muscular y la parte tendinosa.

2. Cuando únicamente se disponga de un pilar del diafragma, habrá que tomar de él una muestra que tenga un grosor doble que el de una avellana. A falta de ambos pilares del diafragma, habrá que tomar dos muestras, del grosor aproximado de una avellana, de la parte del diafragma situada cerca de las costillas o del esternón o de la musculatura de la lengua o de los músculos masticadores o, incluso, de los músculos abdominales.

3. Para los trozos de carne: de cada trozo, tres muestras de músculos esqueléticos, que contengan poca grasa, si es posible, del tamaño de una avellana, y tomadas en puntos diferentes, en la medida de lo posible, cerca de los huesos o de los tendones.

c) Modo de operar.

De cada una de las muestras tomadas de canales enteras, anteriormente descritas, deberán cortarse en caso de que se disponga de ambos pilares del diafragma, siete fragmentos del tamaño de un grano de avena, es decir, catorce fragmentos en total y, en caso de que se cuente únicamente con uno de los pilares del diafragma, catorce fragmentos, en diferentes lugares y, si es posible, en la zona intermedia entre músculo y tendón, y comprimirlos entre la placa compresora, de forma que pueda

leerse fácilmente, a través de las preparaciones, los caracteres de imprenta normales. Cuando la carne de los trozos que vaya a examinarse esté seca y envejecida, las preparaciones deberán empaparse, durante diez a veinte minutos, en una solución de potasa diluida en dos volúmenes de agua antes de comprimirlos.

Cuando, en el caso de las canales enteras, las muestras procedan de la parte del diafragma situada cerca de las costillas o del esternón, de la musculatura de la lengua o de los músculos masticadores o, incluso, de los músculos abdominales, deberán cortarse catorce fragmentos, del tamaño de un grano de avena, de cada muestra, es decir, veintiocho fragmentos en total.

De cada una de las muestras tomadas de los trozos de carne, el Veterinario deberá cortar cuatro fragmentos, del tamaño de un grano de avena, es decir, doce fragmentos en total.

El examen en el triquinoscopio deberá hacerse de modo que cada preparado sea examinado lenta y cuidadosamente. Cuando, durante el examen triquinoscópico, se detecten lugares sospechosos cuya naturaleza no pueda determinarse con certeza, ni siquiera con ayuda del mayor aumento de triquinoscopio, deberá procederse a un examen posterior con ayuda del microscopio.

Este examen microscópico deberá hacerse de modo que cada preparación sea examinada, lenta y cuidadosamente, con un aumento de 30 a 40 veces.

En caso de duda, deberá proseguirse el examen con otras muestras y preparados, si es necesario, con aumentos superiores, hasta que se obtengan las precisiones deseadas. El examen triquinoscópico deberá durar, por lo menos, tres minutos.

En caso de que se utilicen muestras de reserva procedentes de la parte del diafragma situada cerca de las costillas o del esternón, de la musculatura de la lengua o de los músculos masticadores o de los músculos abdominales, el examen triquinoscópico deberá durar, por lo menos, seis minutos.

El tiempo mínimo establecido para el examen no incluye el tiempo necesario para la toma de las muestras ni para la confección de las preparaciones.

En general, un Veterinario no debería examinar en el triquinoscopio más de 840 fragmentos por día, pudiendo no obstante elevarse, excepcionalmente, dicho número a 1.050.

II. Método de la digestión artificial.

a) Instrumental y material:

Cuchillo para la toma de muestra.

Pequeños recipientes numerados que puedan ser cerrados para la conservación de las muestras, en su caso, hasta la repetición de los exámenes.

Estufa.

Embudo de vidrio, de dos a tres litros, con soporte y tubo de conexión de caucho, pinzas para separar el tubo de conexión.

Tamiz de plástico (diámetro de 18 centímetros, aproximadamente; mallas de 1 milímetro, aproximadamente).

Cedazo.

Tubo puntiagudo de punta soldada.

Cubeta.

Picadora de carne.

Esteriomicroscopio (aumento de 15 a 40 veces) que disponga de una iluminación adecuada.

Líquido de digestión compuesto de la siguiente manera: 10 gramos de pepsina [80 U/g FIP (Federación Internacional de Farmacia), 5 ml de HCl (37% por lo menos), llevar a un litro con agua corriente].

b) Toma de muestras:

1. Cuando las canales sean enteras, tomar una muestra de 20 gramos, por lo menos, en uno de los pilares del diafragma, en la zona de transición entre la parte muscular y la parte tendinosa; cuando no se disponga del pilar del diafragma, tomar la misma cantidad que la parte del diafragma situada cerca de las costillas o del esternón o de la musculatura de la lengua o de los músculos masticadores, o incluso, de la musculatura abdominal.

2. Para los trozos de carne, tomar una muestra de 20 gramos, por lo menos, de los músculos esqueléticos, que contengan poca grasa y, en la medida de lo posible, cerca de los huesos o de los tendones.

c) Método:

Para el examen de una muestra colectiva procedente de 10 cerdos, se tomará una muestra que pese 10 gramos, de cada muestra individual (20 gramos). Los 10 gramos restantes se conservarán para un examen individual que pudiera ser necesario.

Se reunirán 10 muestras, de 10 gramos cada una, en una muestra colectiva; se triturarán por medio de una picadora de carne (diámetro de los agujeros: 2 mm) y se colocarán, sin aplastar, en el tamiz provisto de un cedazo. Se suspenderá entonces el tamiz en un embudo, unido por un trozo de tubo de caucho, a un tubo puntiagudo de punta soldada; se llenará el embudo con el líquido de digestión hasta que el material de análisis esté completamente recubierto. La relación material de análisis/líquido de digestión deberá ser de 1/20 a 1/30, aproximadamente .

Después de una incubación de 18 a 20 horas, a una temperatura de 37 a 39°C, se separará el tubo puntiagudo. Eliminar con precaución el líquido que sobrenade en dicho tubo y recoger en una cápsula el sedimento, que será cuidadosamente aclarado. Buscar la presencia de triquinas con ayuda del este-

reomicroscopio, con un aumento de 20 a 40 veces.

En caso de resultado positivo o dudoso del análisis de una muestra colectiva, analizar individualmente las muestras restantes, a las que se añadirán 20 g tomados de cada cerdo, o, en caso de que se trate de trozos de carne, 20 g tomados de cada trozo, con arreglo a la letra b).

III. Método de la digestión artificial de muestras colectivas.

a) Instrumental y reactivos:

Un cuchillo y pinzas para la toma de muestras.

Una máquina de picar carne, cuyos agujeros deberán tener un diámetro comprendido entre 2 y 3 milímetros.

Un matraz "Erlenmeyer" de 3 litros, provisto de un tapón de goma o de guata.

Un embudo cónico de separación, de una capacidad de 2.000 ml.

Un soporte normal, con el pie en forma de A, de 28 cm de longitud, provisto de una varilla de 80 cm.

Un anillo de 10 a 11 cm, que pueda fijarse al soporte.

Una pinza provista de una mordaza plana (23/40 mm), que pueda sujetarse al soporte mediante un manguito doble.

Un tamiz (finura de la malla: 177m), de un diámetro exterior de 11 cm, provisto de una rejilla de latón o de acero inoxidable.

Un embudo de un diámetro interior, mínimo de 12 cm.

Probetas graduadas de 100 ml.

Un estereomicroscopio (aumento de 15 a 40 veces), que disponga de una iluminación adecuada, o un triquinoscopio provisto de una tabla horizontal para el compresor, que disponga de una iluminación adecuada.

En caso de utilización del triquinoscopio: una cubeta para el cómputo de larvas, que se podrá describir de la siguiente manera:

Una cubeta formada por placas acrílicas de un espesor de 3 mm y que reúna las siguientes características:

i) fondo de la cubeta: 180x40 mm, dividido en cuadrados;

ii) placas laterales: 230x20 mm.

iii) placas frontales: 40x20 mm.

El fondo y las placas frontales deberán estar fijos entre las placas laterales, de manera que formen una cubeta provista de dos pequeñas asas en los dos extremos. La parte superior del fondo deberá estar entre 7 y 9 mm más elevada con relación a la base del cuadrado formado por las placas laterales y frontales. Las placas deberán fijarse mediante una cola adecuada al material.

En caso de utilización del estereomicroscopio, una serie de placas de Petri, de un diámetro de 9

cm, cuyo fondo esté dividido en cuadrados de examen de 10x10 mm, mediante un instrumento punteggiado.

Varios cubos de 10 l, que se utilizarán en el momento de la descontaminación de los instrumentos, mediante un tratamiento (como el formol) y para el líquido de digestión que quede, en caso de resultado positivo.

Acido Clorhídrico concentrado (al 37% por lo menos).

Concentración de pepsina: 1:10.000 NF (US National Formulary), correspondiente a 1: 12.500 BP (British Pharmacopea), correspondiente a 2.000 FIP (Federación Internacional de Farmacia).

Un número de bandejas que puedan contener 50 muestras de, aproximadamente, 2 g cada una.

Una balanza de precisión de 0,1 g.

b) Toma de muestras:

1. Cuando las canales sean enteras, tomar una muestra de, aproximadamente, 2 g en uno de los pilares del diafragma, en la zona de transición entre la parte muscular y la parte tendinosa; si no hubiere pilar del diafragma, tomar la misma cantidad en la parte del diafragma situada cerca de las costillas o del esternón o en la musculatura de la lengua, o en los músculos masticadores, o también en la musculatura abdominal.

2. Para los trozos de carne, tomar una muestra, de aproximadamente 2 g en los músculos esqueléticos que contengan poca grasa y, en la medida de lo posible, cerca de los huesos de los tendones.

c) Método:

1.A) Grupos completos de muestras (100 a la vez).

Se tomará una muestra, de aproximadamente 1 g de cada una de las 100 muestras individuales procedentes de los cerdos. La muestra colectiva se pasará una vez por la máquina de picar carne.

La carne picada se colocará en el matraz Erlenmeyer de 3 litros, al mismo tiempo que 7 g de pepsina y se cubrirá con 2 litros de agua de grifo calentada a una temperatura aproximada de 40 a 41°C, y con 25 ml de ácido clorhídrico concentrado. Agitar la mezcla para disolver la pepsina.

El pH de la solución será, entonces, de aproximadamente 1,5 a 2. Para la digestión, el matraz Erlenmeyer se colocará en una estufa a 40-41°C durante cuatro horas aproximadamente. Durante este tiempo se agitará regularmente, como mínimo dos veces por hora.

Digerida la solución, se filtrará, mediante un tamiz, a través del embudo cónico de separación de dos litros y se dejará en reposo sobre el soporte durante, por lo menos, una hora.

Se trasvasará a una probeta granulada un volu-

men total de aproximadamente 45 ml, y se distribuirá en tres placas de Petri, cuyos fondos estarán divididos en cuadrados de 15 ml por placa. Cada placa de Petri se examinará minuciosamente en el estereomicroscopio, con el fin de descubrir las larvas. En caso de utilización de cubetas para el cómputo de larvas, los 45 ml se distribuirán en dos cubetas y se examinarán en el triquinoscopio.

Las larvas aparecerán en el sedimento como unos organismos identificables y si el agua estuviera tibia, frecuentemente, se podrán observar los enrollados y desenrollados de la espiral.

Los líquidos de digestión se deberán examinar desde el momento en que estén dispuestos. En ningún caso se podrá postergar el examen para el día siguiente. Si los líquidos de digestión no fueran lo suficientemente transparentes, o si no se examinaran en el plazo de treinta minutos siguientes a su preparación, se deberán clarificar de la siguiente manera: verter la muestra final de 45 ml en una probeta graduada y dejar sedimentar durante diez minutos. Después de dicho tiempo quitar, por aspiración, 30 ml de líquido sobrenadante y agregar agua de grifo a los 15 ml restantes, hasta obtener un volumen total de 45 ml. Después de un nuevo período de reposo de diez minutos quitar, por aspiración, 30 ml del líquido sobrenadante, verter los 15 ml restantes en una placa de Petri, o en una cubeta, para el cómputo de las larvas, con vistas a su examen. Lavar la probeta graduada con 10 ml de agua de grifo; agregar el líquido obtenido a la muestra en la placa de Petri, o en la cubeta para cómputo de larvas y examinar.

1.B) Grupos de menos de 100 muestras.

Se podrá agregar un máximo de 15 muestras individuales a un grupo completo de 100 muestras para examinarlas al mismo tiempo que éstas últimas. Si el número de muestras que se deban examinar es superior a 15 e inferior a 100, el líquido de digestión se deberá reducir proporcionalmente.

Método 2. En caso de resultado positivo o dudoso del examen de una muestra colectiva, se deberá tomar una muestra de 20 g de cada cerdo, de acuerdo con las indicaciones contempladas en la anterior letra b). Las muestras de 20 g, procedentes de cinco cerdos, se deberán reunir y examinar de acuerdo con el método arriba descrito. De esta forma se examinarán las muestras de 20 grupos de cinco cerdos. Si se descubrieran las triquinas en un grupo de muestras de cinco cerdos, se deberán tomar las muestras de 20 g de cada animal que pertenezca a dicho grupo y se deberán examinar de acuerdo con el método arriba descrito.

IV. Método de la digestión de muestras colectivas con asistencia mecánico/técnica de la sedimentación.

a) Instrumental y reactivos:

Un cuchillo o tijeras para cortar las muestras.

Bandejas divididas en 50 cuadros que puedan contener, cada uno, las muestras de carne, de aproximadamente 2 g.

Stomacher Lab-blender 3.500; Thermo model.

Bolsas de plástico adaptadas al Stomacher Lab-blender.

Embudos de separación cónicos de una capacidad de 2 litros, preferentemente provistos de llaves de seguridad de Teflón.

Soportes con anillos y fijaciones.

Tamices, finura de malla 177 u. de un diámetro exterior de 11 cm, provistos de una rejilla de acero inoxidable.

Embudos de un diámetro interior mínimo de 12 cm, cuyo destino será recibir los tamices.

Probetas graduadas de 100 ml.

Un dosificador de 25 ml.

Vasos de precipitados de una capacidad de 3 litros.

Una cuchara o una varilla de vidrio para agitar el líquido de digestión en el vaso de precipitados.

Una jeringa de plástico y un tubo de aspiración.

Una cuchara graduada de 6 g.

Un termómetro de una precisión de $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$, con una graduación de 1 a 100°C .

Un vibrador (por ejemplo, una afeitadora eléctrica sin cabeza).

Un relé que se encienda y apague cada minuto.

Un triquinoscopio provisto de una tabla horizontal o un estereomicroscopio que disponga de una iluminación adecuada.

Una cubeta deberá estar formada por placas acrílicas de un espesor de 3 mm y deberá presentar las siguientes características:

i) Fondo de cubeta: 180x40 mm dividido en cuadros.

ii) Placas laterales: 230x20 mm.

iii) Placas frontales: 40x20 mm.

El fondo y las placas frontales deberán estar fijos entre las placas laterales, de manera que formen dos pequeñas asas en los dos extremos. La parte superior del fondo deberá estar entre 7 y 9 mm más elevada con relación a la base del cuadrado formado por las placas laterales y frontales. Fijar las placas mediante una cola adecuada al material empleado.

En caso de utilización del estereomicroscopio, varias placas de Petri de un diámetro de 9 cm, cuyo fondo esté dividido en cuadrados de 10x10 mm, mediante un instrumento puntiagudo.

Solución de ácido clorhídrico de 17,5 por 100.

Concentración de pepsina: 1:10.000 NF (US National Formulary), correspondiente a 1:12.500 BP (British Pharmacopeia), correspondiente a 2.000 FIP (Federación Internacional de Farmacia).

Varios recipientes de 10 litros, que se utilizarán

en el momento de descontaminación del instrumental, mediante un tratamiento (como el formol) y para el líquido de digestión que quede, en caso de resultado positivo.

Una balanza de una precisión de 0,1 g.

b) Toma de muestras:

1. Cuando las canales sean enteras, tomar una muestra, de aproximadamente 2 g en uno de los pilares del diafragma, en la zona de transición entre la parte muscular y la parte tendinosa si no hubiere pilar del diafragma, tomar la misma cantidad en la parte del diafragma situada cerca de las costillas o del esternón, o en la musculatura de la lengua, o en los músculos masticadores, o también en la musculatura abdominal.

2. Para los trozos de carne, tomar una muestra, de aproximadamente 2 g en los músculos esqueléticos que contengan poca grasa y, en la medida de lo posible, cerca de los huesos o de los tendones.

c) Método: 1. Procedimiento de digestión:

A) Grupos completos de muestras (100 a la vez):

Proveer al Stomacher Lab-blender 3.500 de una pequeña bolsa doble de plástico y regular la temperatura en $40-41^{\circ}\text{C}$.

Trasladar a la pequeña bolsa 25 ml de la solución de ácido clorhídrico de 17,5 por 100. Luego agregar 100 muestras, de aproximadamente 1 g cada una (a $25-30^{\circ}\text{C}$), tomadas de cada una de las muestras individuales, de acuerdo con el procedimiento contemplado en la letra b).

Por último, agregar 6 g de pepsina. Respetar escrupulosamente el orden de las operaciones para evitar la descomposición de la pepsina. Triturar en el Stomacher durante veinticinco minutos. Quitar la pequeña bolsa de plástico del Stomacher, filtrar el líquido de digestión a través de un tamiz y dejarlo pasar a un vaso de precipitados de 3 litros.

Lavar la pequeña bolsa de plástico con 100 ml de agua, aproximadamente, que luego se utilizará para enjuagar el tamiz y se agregará al filtrado que contenga el vaso de precipitados.

Se podrá agregar un máximo de 15 muestras individuales a un grupo completo de 100 muestras, para examinarlas al mismo tiempo que éstas últimas.

B) Grupos de menos de 100 muestras:

Proveer al Stomacher Lab-blender 3.500 de una pequeña bolsa doble de plástico y regular la temperatura en $40-41^{\circ}\text{C}$.

Preparar un líquido de digestión mezclando, aproximadamente, un litro y medio de agua y 25 ml de ácido clorhídrico de 17,5%. Agregar 6 g de pepsina y mezclar todo a una temperatura de $40-41^{\circ}\text{C}$.

Respetar escrupulosamente el orden de las operaciones para evitar la descomposición de la pepsina.

Determinar un volumen de líquido de digestión correspondiente a 15 ml por gramo de muestra (así, para 30 muestras, habrá que extraer 30x15 mililitros=450 mililitros) y traspasarlo a la pequeña bolsa de plástico interior, al mismo tiempo que las muestras de carne aproximadamente 1 g (a 25-30°C), tomadas cada una de las muestras individuales de acuerdo con el procedimiento contemplado en la letra b).

Verter el agua, aproximadamente, a 41°C, en la pequeña bolsa exterior, hasta obtener un volumen total de un litro y medio en las dos pequeñas bolsas. Triturar en el Stomacher durante veinticinco minutos. Quitar la pequeña bolsa de plástico del Stomacher, filtrar el líquido de digestión a través de un tamiz y dejarlo pasar a un vaso de precipitados de 3 litros.

Lavar la pequeña bolsa de plástico con 100 ml de agua, aproximadamente, que luego se utilizará para enjuagar el tamiz y que se añadirá al filtrado que contenga el vaso de precipitados.

2. Aislamiento de las larvas por sedimentación:

Agregar al líquido de digestión 300-400 g de hielo en laminillas, o de hielo triturado, para obtener un volumen de 2 litros, aproximadamente. Agitar hasta que el hielo se funde. En el caso de grupos más pequeños (ver apartado 1B), la cantidad de hielo deberá reducirse proporcionalmente. Traspasar el líquido de digestión enfriado a un embudo de separación de 2 litros, provisto de un vibrador que se habrá fijado mediante una pinza suplementaria.

Para la sedimentación, dejar el líquido en el embudo de separación durante treinta minutos, alternando un minuto de vibración y un minuto de pausa. Después de los treinta minutos, introducir rápidamente 60 ml de sedimento en una probeta graduada de 100 ml. Después de su utilización, enjuagar el embudo con una solución detergente. Dejar reposar la muestra de 60 ml, y quitar por aspiración el líquido sobrenadante, hasta dejar en la probeta un volumen de 15 ml que se examinará para investigar la presencia de larvas.

Para la aspiración, utilizar una jeringa de plástico desechable, provista de un tubo de plástico. La longitud del tubo deberá permitir que en la probeta graduada queden 15 ml del líquido cuando el cuello de la jeringa se encuentra al nivel del borde del cilindro.

Introducir los 15 ml restantes en una cubeta para el cómputo de larvas, o en dos placas de Petri y examinarlas en el triquinoscopio o en el estereomicroscopio.

Los líquidos de digestión se deberán examinar desde el momento en que estén dispuestos. En

ningún caso se podrá postergar el examen para el día siguiente. Si los líquidos de digestión no fueran lo suficientemente transparentes, o si no se examinaran en el plazo de treinta minutos siguientes a su preparación, se deberán clarificar de la siguiente manera: Verter la muestra final de 60 ml en una probeta graduada y dejar sedimentar durante diez minutos. Después de dicho tiempo, quitar, por aspiración, 45 ml del líquido sobrenadante y agregar agua de grifo a los 15 ml restantes, hasta obtener un volumen total de 45 ml. Después de un nuevo periodo de reposo de diez minutos quitar, por aspiración, 30 ml del líquido sobrenadante, verter los 15 ml restantes en una placa de Petri, o en una cubeta para el cómputo de las larvas, con vistas a su examen. Lavar la probeta graduada con 10 ml de agua de grifo; agregar el líquido obtenido a la muestra en la placa de Petri, o en la cubeta para cómputo de larvas y examinar.

3. En caso de resultado positivo o dudoso del examen de una muestra colectiva, se deberá tomar una muestra de 20 g de cada cerdo, de acuerdo con las indicaciones contempladas en el anterior apartado b). Las muestras de 20 g procedentes de cinco cerdos se deberán reunir y examinar de acuerdo con el método arriba descrito. De esta forma, se examinarán las muestras de 20 grupos de cinco cerdos. Si se descubrieran las triquinas en un grupo de muestras de cinco cerdos, se deberán tomar las muestras de 20 g de cada animal que pertenezca a dicho grupo y se deberán examinar de acuerdo con el método antes descrito.

V. Método de la digestión de muestras colectivas con asistencia mecánico/técnica del aislamiento por filtración.

a) Instrumental y reactivos: Los mismos que los del apartado a) del método IV, más:

Un embudo "Gelman" de un litro, con soporte para filtro (diámetro del soporte: 45 mm).

Discos filtrantes compuestos de:

Una rejilla redonda de acero inoxidable, finura de la malla de 35 u, diámetro del disco: 45 mm. Diámetro interior: 38 mm.

La rejilla se deberá colocar entre los anillos y se fijará con una cola de dos componentes que se adapte a los dos materiales (acero inoxidable y goma).

Un matraz "Erlenmeyer" de 3 litros, provisto de un tubo lateral para aspiración.

Una bomba de filtración.

Bolsas pequeñas de plástico de una capacidad mínima de 80 ml.

Un saco de sosa.

"Rennilase" 1:150.000 unidades Soxlet por g.

b) Toma de muestras: Igual que la letra b) del método IV.

c) Método: 1. Procedimiento de digestión:

A) Grupos completos de muestras (100 a la vez). Igual que en método IV, letra c) 1, apartado A).

B) Grupos de menos de 100 muestras. Igual que en el método IV, letra c) 1, apartado B).

2. Aislamiento de las larvas por filtración:

Agregar al líquido de digestión 300-440 g de hielo en laminillas o de hielo triturado, para obtener un volumen de, aproximadamente, 2 litros. En el caso de grupos más pequeños, la cantidad de hielo deberá reducirse proporcionalmente.

Agitar el líquido de digestión hasta que el hielo se funda. Dejar reposar el líquido de digestión enfriado durante tres minutos, por lo menos, para que las larvas puedan enrollarse.

Colocar el embudo "Gelman" provisto de un soporte para filtro, en el cual se encuentra un disco filtrante, sobre un matraz "Erlenmeyer" conectado a una bomba de filtración.

Introducir el líquido de digestión en el embudo "Gelman" y filtrar. Hacia el final, se podrá acelerar el paso del líquido a través del filtro, procediendo a una aspiración mediante la bomba de filtración. Terminar la aspiración exactamente antes de que el filtro se seque, es decir, cuando queden entre 2 y 5 ml de líquido en el embudo.

Después de la filtración de todo el líquido de digestión, quitar el disco filtrante y colocarlo en una pequeña bolsa de plástico de 80 ml, agregando de 15 a 20 ml de solución de "rennilase". Para obtener la solución de "rennilase" se introducirán 2 g de "rennilase" en 100 ml de agua de grifo.

Practicar una doble soldadura en la pequeña bolsa de plástico y colocarla en el "Stomacher" entre la pequeña bolsa interior y la pequeña bolsa exterior.

Triturar en el "Stomacher" durante tres minutos, por ejemplo: entre tanto, el aparato se utilizará para el análisis de un grupo completo o incompleto de muestras. Después de tres minutos quitar del "Stomacher" la pequeña bolsa de plástico que contiene el disco filtrante y la solución de "rennilase" y abrirla con la ayuda de tijeras. Introducir el líquido en una cubeta para el cómputo de las larvas, o en una placa de "Petri". Lavar la pequeña bolsa con cinco o diez ml de agua, que luego se introducirán en la cubeta para la triquinoscopia, o en una placa de "Petri" para examen en el estereomicroscopio.

Los líquidos de digestión deberán examinarse desde el momento en que estén dispuestos. En ningún caso se podrá postergar el examen para el día siguiente.

Es importante no utilizar nunca discos filtrantes que no estén perfectamente limpios y no secar nunca discos filtrantes si no están limpios. Para limpiar los discos, es preciso dejarlos en una solución de "rennilase" durante la noche. Antes de su utilización, se deberán lavar en el "Stomacher" en una solución de "rennilase".

3. En caso de resultado positivo o dudoso del examen de una muestra colectiva, se deberá tomar una muestra de 20 g de cada cerdo, de acuerdo con las indicaciones contempladas en el anterior apartado b). Se deberán reunir las muestras de 20 g procedentes de cinco cerdos y examinarlas de acuerdo con el método anterior. De esta forma, se examinarán las muestras de 20 grupos de cinco cerdos. Si se descubrieran las triquinas en un grupo de muestras de cinco cerdos, se deberán tomar las muestras de 20 g de cada animal que pertenezca a dicho grupo y se examinarán de acuerdo con el método antes descrito.

VI. Método de la digestión de muestras colectivas con utilización de un agitador magnético.

a) Instrumental y reactivos.

Cuchillo y pinzas para la toma de muestras.

Bandejas divididas en 50 cuadrados que puedan contener, cada uno, muestras de carne de 2 g, aproximadamente.

Un molinillo.

Un agitador magnético provisto de una placa térmica de temperatura controlada y una barra magnética (recubierta de Teflón), de 5 centímetros, aproximadamente.

Embudos de un diámetro interior mínimo de 12 centímetros, destinados a recibir el tamiz.

Un vaso de precipitados de 3 litros.

Probetas graduadas de una capacidad aproximada de 50 ml o tubos de centrifugación.

Un triquinoscopio de una tabla horizontal o un estereomicroscopio que disponga de una iluminación adecuada.

Una cubeta para el cómputo de larvas (en caso de utilización de un triquinoscopio).

La cubeta deberá estar formada por placas acrílicas de un espesor de 3 mm y deberá presentar las siguientes características:

i) Fondo de la cubeta: 180x40 mm dividido en cuadrados.

ii) Placas laterales: 230x20 mm.

iii) Placas frontales: 40x20 mm.

El fondo y las placas frontales deberán estar fijos entre las placas laterales de manera que formen dos pequeñas asas en los dos extremos. La parte superior del fondo deberá estar entre 7 y 9 mm más elevada con relación a la base del cuadrado formado por las placas laterales y frontales.

Fijar las placas con una cola adecuada al material.

Varias placas de "Petri", en caso de utilización de un estereomicroscopio, cuyo fondo se ha dividido en cuadrados de 10 x 10 mm mediante un instrumento puntiagudo.

Una hoja de aluminio.

Acido clorhídrico 25%.

Concentración pepsina: 1:10.000 NF (US National Formulary); correspondiente a 1:12.500 BP

(British Pharmacopea), correspondiente a 2.000 FIP (Federación Internacional de Farmacia).

Agua de grifo calentada a una temperatura de 46-48°C.

Varios recipientes de 10 litros, que se utilizarán para la descontaminación del instrumental, mediante un tratamiento (como el formol), y para el jugo digestivo que quede en caso de resultado positivo.

Una balanza de precisión de 0,1 g.

b) Toma de muestras: 1. Cuando las canales están enteras, tomar una muestra, de aproximadamente 2 g en uno de los pilares del diafragma, en la zona de transición entre la parte muscular y la parte tendinosa; si no hubiere pilar del diafragma, tomar la misma cantidad en la parte del diafragma situada cerca de las costillas o del esternón, o en la musculatura de la lengua, o en los músculos masticadores, o también en la musculatura abdominal.

2. Para los trozos de carne, tomar una muestra de aproximadamente 2 g en los músculos esqueléticos que contengan poca grasa y, en la medida que sea posible, cerca de los huesos o en los tendones.

c) Método 1. A) Grupos completos de muestras (100 a la vez):

Triturar en el molinillo 100 muestras, de aproximadamente 1 g, tomadas de cada muestra individual, de acuerdo con las indicaciones del apartado b). Hacer funcionar el aparato tres o cuatro veces durante un segundo.

Llevar la carne picada a un vaso de precipitados de 3 litros y espolvorearla con 10 g de pepsina. Introducir en el vaso de precipitados 2 litros de agua de grifo calentada a una temperatura de 46-48°C y agregar 16 ml de ácido clorhídrico.

Introducir varias veces el dispositivo de triturado del molinillo en el líquido de digestión que se encuentre en el vaso de precipitados, para quitar de él las sustancias que aún tenga adheridas.

Colocar la barra magnética en el vaso de precipitados y cubrirlo con una hoja de aluminio. Colocar el vaso de precipitados en la placa precalentada del agitador magnético y comenzar la agitación. Antes de empezar el proceso de agitación, se deberá regular el agitado magnético de tal forma que, durante el funcionamiento, pueda mantenerse una temperatura constante de 44-47°C. Durante el proceso de agitación, el líquido de digestión deberá girar a una velocidad lo suficientemente elevada que permite la formación de un profundo remolino central, sin provocar salpicaduras.

Agitar el líquido de digestión durante treinta minutos; parar el aparato; filtrar el líquido de digestión a través de un tamiz colocado en un embudo y recoger el filtrado en un embudo de separación.

Dejar el líquido de digestión en el embudo de separación durante treinta minutos.

Después de treinta minutos, traspasar rápida-

mente una muestra de 40 ml del líquido de digestión a la probeta graduada o al tubo de centrifugación.

Dejar reposar la muestra de 40 ml durante diez minutos y luego aspirar 30 ml de líquido sobrenadante, dejando así un volumen de 10 ml.

La muestra de 10 ml del sedimento restante se verterá en una cubeta para el cómputo de larvas o en una placa de "Petri". Enjuagar la probeta graduada o el tubo de centrifugación con, aproximadamente, 10 ml de agua de grifo, que se agregará a la muestra en la cubeta de cómputo de larvas o en la placa de "Petri". Luego, proceder a la observación en el triquinoscopio o el examen en el estereomicroscopio según el caso.

Los líquidos de digestión deberán observarse desde el momento en que estén dispuestos. En ningún caso, se podrá postergar el examen para el día siguiente. Si los líquidos de digestión no se examinan en el plazo de treinta minutos siguiente a su preparación, se deberán clarificar de la siguiente manera: verter la muestra final, de aproximadamente 40 ml, en una probeta graduada y dejar sedimentar durante diez minutos. Después de dicho tiempo, quitar 30 ml del líquido sobrenadante, con el fin de obtener un volumen de 10 ml. Dicho volumen se llevará a 40 ml con agua de grifo. Después de un nuevo periodo de reposo de diez minutos, quitar, por aspiración de 30 ml del líquido sobrenadante para obtener un volumen de 10 ml, que se examinará en una placa de "Petri" o en una cubeta para cómputo de larvas. Lavar la probeta graduada con 10 ml de agua de grifo y agregar el líquido obtenido a la muestra en la placa de "Petri" o en una cubeta para cómputo de larvas para su examen.

Si el examen revela que el sedimento no está claro, se deberá verter la muestra en una probeta graduada y, con agua de grifo, se deberá llevar su volumen a 40 ml. Luego se aplicará el método antes mencionado.

B) Grupo de menos de 100 muestras: Eventualmente se podrán agregar 15 muestras de 1 g cada una a un grupo de 100 muestras y se podrán examinar, al mismo tiempo, que éstas últimas, de acuerdo con el método descrito en la letra C). En caso de más de 15 muestras se deberán examinar en calidad de grupo completo. En el caso de grupos que lleguen hasta las 50 muestras, los líquidos de digestión se podrán reducir a 1 litro.

2. En caso de resultado positivo o dudoso del examen de una muestra colectiva, se deberá tomar una muestra de 20 g de cada cerdo, de acuerdo con las indicaciones contempladas en la anterior letra b). Las muestras de 20 g procedentes de cinco cerdos, se deberán reunir y examinar de acuerdo con el método arriba descrito. De esta forma, se examinarán las muestras de 20 grupos de cinco cerdos. Si se detectan las triquinas en un grupo de muestras de cinco cerdos, se deberán tomar las

muestras de 20 g de cada animal que pertenezcan a dicho grupo y se deberán examinar de acuerdo con el método arriba descrito.

VII. Métodos de digestión automática de muestras colectivas de hasta 35 g.

a) Instrumental y reactivos.

Cuchillo o tijeras para cortar las muestras.

Bandejas divididas en 50 cuadrados que puedan contener, cada uno de ellos, muestras de carne de 2 g, aproximadamente.

Mezclador "Trichomátic 35" con pieza de filtración.

Solución de ácido clorhídrico de $8,5 \pm 0,5\%$ en peso.

Filtros de membrana de policarbonato transparente de 50 mm de diámetro con poros de 14 micrometros.

Concentración de pepsina: 1:10.000 NF (US National Formulary), correspondiente a 1:12.500 BP (British Pharmacopeia), correspondiente a 2.000 FIP (Federación Internacional de Farmacia).

Balanza de precisión de 0,1 g.

Pinzas planas.

Varios portaobjetos de microscopio de 5 cm de lado como mínimo o varias placas de "Petri" de, al menos, 6 cm de diámetro cuyo fondo esté dividido en cuadros de 10x10 mm mediante un instrumento puntiagudo.

Esteriomicroscopio de transmisión de luz (15 a 60 aumentos) o triquinoscopio provisto de una tabla horizontal.

Cubo o recipiente para la recogida de líquidos residuales.

Varios recipientes de 10 litros que se utilizarán en el momento de la desinfección del instrumental, mediante un tratamiento (como el formol) y para el jugo digestivo sobrante, en caso de resultado positivo.

b) Toma de muestras:

1. Cuando las canales estén enteras, tomar una muestra, de aproximadamente 2 g en uno de los pilares del diafragma en la zona de transición entre la parte muscular y la parte tendinosa: si no hubiere pilar de diafragma, tomar la misma cantidad en el borde costal del esternón, en parte del diafragma, en los músculos masticadores, o bien en la musculatura abdominal.

2. Para los trozos de carne, tomar una muestra de aproximadamente 2 g en los músculos esqueléticos que contengan poca grasa y, en la medida que sea posible, cerca de los huesos o de los tendones.

c) Método:

1. Procedimiento de digestión: Colocar el mezclador con la pieza de filtración, conectar el tubo de desagüe y conducir el tubo al cubo de residuos.

Al encender el mezclador se inicia el calenta-

miento. Antes de comenzar se deberá abrir y cerrar la válvula del fondo, situada bajo la cámara de reacción. A continuación agregar un máximo de 35 muestras, de aproximadamente 1 g cada una ($25-30^{\circ}\text{C}$), tomadas de cada una de las distintas muestras, según lo dispuesto en el apartado b). Asegurarse de que se han eliminado los trozos de tendón de mayor tamaño, ya que pueden obstruir el filtro de la membrana.

Llenar de agua, hasta el borde, la cámara de líquidos conectada al mezclador (400 ml, aproximadamente). Verter 30 ml, aproximadamente, de ácido clorhídrico (8,5%), hasta el borde de la cámara de líquidos más pequeña, que también estará conectada. Colocar un filtro de membrana bajo el filtro grueso en el soporte para filtro de la pieza de filtración.

Por último agregar 7 g de pepsina. Respetar escrupulosamente el orden de las operaciones para evitar la descomposición de la pepsina. Cerrar la tapa de la cámara de reacción y de líquidos.

Seleccionar el tiempo de duración de la digestión: Un periodo de digestión corto (cinco minutos), en el caso de cerdos en edad normal de sacrificio, y un periodo prolongado (ocho minutos) para las muestras restantes.

La digestión automática comienza al oprimir el botón de puesta en marcha del mezclador (la digestión y la filtración subsiguiente tienen lugar de forma automática). El proceso finaliza entre diez y trece minutos después y se detiene automáticamente.

Abrir la tapa de la cámara de reacción y comprobar que ésta se halla vacía. Si en la cámara hay espuma o líquido de digestión, repetir el procedimiento descrito en el punto 5 de esta letra c).

2. Recuperación de larvas: Desmontar el soporte para filtro y trasladar el filtro de membrana a un portaobjetos o a una placa de "Petri".

Examinar el filtro de membrana con microscopio o triquinoscopio.

3. Limpieza del material: En caso de resultado positivo, llenar de agua hirviendo dos tercios de la cámara de líquidos conectora hasta cubrir el sensor de nivel inferior. A continuación tiene lugar el programa automático de limpieza. Desinfectar el soporte para filtro y el material restante, por ejemplo, utilizando formol.

Al finalizar la jornada laboral, llenar de agua la cámara de líquidos del mezclador y llevar a cabo un programa estándar.

4. Uso de filtros de membrana:

Cada filtro de membrana de polibicarbonato no podrá usarse más de cinco veces. Deberá darse la vuelta al filtro después de cada uso. Igualmente después de cada uso se comprobará que el filtro no haya sufrido daño alguno que lo haga inservible.

5. Método que deberá aplicarse cuando la digestión sea incompleta y, en consecuencia, no se pueda efectuar la filtración:

Cuando se efectúe el procedimiento automático del mezclador, de conformidad con el punto 1 de la letra c), si al abrir la tapa de la cámara de reacción y se comprueba que hay espuma o líquido en ella, se llevará a cabo el procedimiento siguiente:

Cerrar la válvula del fondo situada bajo la cámara de reacción.

Desmontar el soporte para filtro y trasladar el filtro de membrana a un portaobjetos o a una placa de "Petri".

Poner un nuevo filtro de membrana en el soporte para filtro y montar este soporte.

Llenar de agua la cámara de líquidos del mezclador hasta cubrir el sensor de nivel inferior.

Llevar a cabo el programa automático de limpieza.

Una vez finalizado el programa de limpieza, abrir la tapa de la cámara de reacción y comprobar si hay restos de líquidos.

Si la cámara está vacía, desmontar el soporte para filtro y trasladar el filtro de la membrana, con ayuda de unas pinzas, a un portaobjetos o una placa de "Petri".

Examinar los dos filtros de membrana de conformidad con lo dispuesto en el punto 2 de la letra c). Si no es posible examinar los filtros, repetir todo el procedimiento de digestión, aplicando un período de digestión prolongado, de conformidad con el punto 1 de la letra c).

6. Si los resultados del examen de una muestra colectiva fuesen positivos o dudosos, se tomarán nuevas muestras de 20 gramos de cada uno de los cerdos, de acuerdo con el procedimiento descrito en la letra b).

Estas muestras se examinarán por separado, de acuerdo con el método citado anteriormente.

Disposiciones relativas a los triquinoscopios

La concepción y el tipo de los triquinoscopios deberán responder a los criterios mínimos siguientes:

1. Facilidad de uso.
2. Iluminación potente:

Es preciso que los resultados del control sean seguros incluso si los locales no se encuentran completamente a oscuras.

La fuente luminosa será una lámpara de proyección de 100 W (12V).

3. Aumentos suficientes:

Para el trabajo normal serán necesarios 50 aumentos.

Para una identificación segura de las imágenes que no sean claramente identificables con los aumentos de trabajo normal, serán necesarios de 80 a 100 aumentos.

4. Poder separador:

Cada aumento deberá dar una imagen clara, precisa, de color neto.

5. Dispositivo de conmutación:

Todo cambio de aumento deberá ir acompañado de un ajuste automático de la luminosidad de la imagen.

6. Aumento de contraste:

El condensador deberá ir equipado de un diafragma de iris que permita reforzar los contrastes para el examen profundo de los casos delicados.

El diafragma de iris deberá ser de fácil regulación (por ejemplo, mediante una palanca de control fijada a la mesa de triquinoscopio).

7. Facilidad de enfoque:

Enfoque rápido, mediante anillo regulador.

Enfoque fijo, mediante palanca de mando.

8. Regulación de la tensión:

Que permita obtener la luminosidad deseada en la situación dada.

9. Desplazamiento del compresor en sentido único:

Un sistema de bloqueo automático deberá garantizar el desplazamiento del compresor en un solo sentido para impedir todo desplazamiento imprevisto.

10. Campo visual libre en dirección hacia la superficie de proyección.

11. Superficie de proyección:

Duradera

Diámetro de 54 centímetros como mínimo.

Alto poder de reflexión.

Desmontable.

Fácil de limpiar.

ANEXO V Inspección y congelación de carne de caballo

- I. Inspección.

La inspección de carne de caballo se realizará según uno de los métodos de digestión indicados en el anexo 1, pero con estas modificaciones:

Se tomarán muestras de 10 gramos, como mínimo, de los músculos linguales o de los músculos masticadores. Cuando no se disponga de éstos, se tomará una muestra del mismo tamaño de un pilar del diafragma, en la zona de transición hacia la parte tendinosa. Los músculos estarán exentos de tejido conjuntivo y de grasa.

Si se utiliza el método de la digestión artificial de muestras colectivas de los apartados III a VII del anexo I, se utilizará una muestra de 5 gramos que se digerirá para la inspección. Para cada digestión, el peso total de músculo a examen no deberá exceder de 100 gramos para los métodos III, IV, V y VI del anexo I o de 35 gramos para el método VII del anexo 1.

En caso de resultado positivo se tomará otra

muestra de 10 gramos para un posterior análisis independiente.

II. Congelación de carne de caballo.

Para eliminar las triquinas por congelación, se someterá la carne de caballo a un tratamiento frigorífico de acuerdo con uno de los métodos descritos en el anexo IV.

Nota: Se han omitido los anexos de contenido no directamente analíticos.

Relación de reactivos
y productos auxiliares
que se utilizan en los
métodos analíticos,
Carne y productos
Cárnicos

131008	Acido Acético glacial PA-ACS-ISO	131091	Metanol PA-ACS-ISO
121014	Acido Benzoico PA	131079	3-Metil-1-Butanol PA-ACS
172222	Acido Bórico solución 4% RE		α -Naftilamina Cloruro
131808	Acido Cítrico anhidro PA-ACS	131447	Nitrobenzeno PA-ACS
131018	Acido Cítrico 1-hidrato PA-ACS-ISO	122006	n-Pentano PA
131020	Acido Clorhídrico 37% PA-ACS-ISO	211835	Piedra Pómez gránulos QP
131019	Acido Clorhídrico 35% PA-ISO	181464	Plata Nitrato 0,1 mol/l (0,1N) SV
181023	Acido Clorhídrico 0,1 mol/l (0,1N) SV	131505	Potasio Hexacianoferrato II 3-hidrato PA-ACS-ISO
182109	Acido Clorhídrico 5 mol/l (5N) SV	131509	Potasio di-Hidrógeno Fosfato PA-ACS-ISO
	Acido Clorobenzoico		Potasio Nitrato PA-ISO
	Acido p-Hidroxibenzoico	131524	Potasio Sulfato PA-ACS-ISO
131036	Acido Nítrico 60% PA-ISO	131532	Potasio Tiocianato 0,1 mol/l (0,1 N) SV
131054	Acido Perclórico 60% PA-ACS-ISO	181535	Potasio Yoduro PA-ISO
141045	Acido Salicílico (USP,BP,F. Eur.) PRS-CODEX	131090	2-Propanol PA-ACS-ISO
141055	Acido Sórbico (USP-NF) PRS-CODEX	173355	Reactivo de Carrez I RE
131057	Acido Sulfanílico PA-ACS	173356	Reactivo de Carrez II RE
131058	Acido Sulfúrico 96% PA-ISO	172174	Reactivo de Luff-Schoorl RE
131074	Agua PA-ACS	171617	Rojo de Metilo (C.I. 13020) RE-ACS
171096	Almidón soluble RE	141625	Selenio metal polvo PRS
	Aluminio Oxido neutro, grado de actividad 1	131633	Sodio Acetato anhidro PA-ACS
131365	Amonio Hierro III Sulfato 12-hidrato PA-ACS-ISO	131648	Sodio Carbonato anhidro PA-ACS-ISO
131134	Amonio Molibdato 4-hidrato PA-ACS-ISO	131655	tri-Sodio Citrato 2-hidrato PA-ACS
181144	Amonio Tiocianato 0,1 mol/l (0,1 N) SV	131659	Sodio Cloruro PA-ACS-ISO
132352	Amonio meta-Vanadato PA-ACS	131687	Sodio Hidróxido lentejas PA-ACS-ISO
171432	Anaranjado de Metilo solución 0,1% RE	182155	Sodio Hidróxido 0,25 mol/l (0,25N) SV
	Antisueños Específicos	171688	Sodio Hidróxido solución 10% p/v RE
132441	Antrona PA-ACS	131703	Sodio Nitrito PA-ACS
211160	Arena de Mar lavada, grano fino QP	131716	Sodio Sulfato anhidro PA-ACS-ISO
251170	Azul de Metileno (C.I. 52015) DC	181723	Sodio Tiosulfato 0,1 mol/l (0,1N) SV
131192	Benceno PA-ACS-ISO		Solución Hidroglicérida de Invertasa Suero Fisiológico estéril
	Brucina	273616	Tampón, solución pH 4,00 \pm 0,02 (20°C) (coloreada de rojo) ST
121237	Carbón Activo polvo PA	273617	Tampón, solución pH 7,00 \pm 0,02 (20°C) (coloreada de amarillo) ST
142323	Cloramina T 3-hidrato (BP,F.Eur.) PRS-CODEX		Tiouracilo
131270	Cobre II Sulfato 5-hidrato PA-ACS-ISO	131252	Triclorometano estabilizado con etanol PA-ACS-ISO
	2,6-Dicloroquinona-Clorimida	131940	Tris (Hidroximetil) Aminometano PA-ACS
251293	4-(Dimetilamino) benzaldehído DC	141771	Yodo resublimado perlas (USP,BP,F. Eur.) PRS-CODEX
121085	Etanol 96% v/v PA	131775	Zinc Acetato 2-hidrato PA-ACS
132770	Eter Dietílico estabilizado con ~6 ppm de BHT PA-ACS-ISO		
131315	Eter de Petróleo 40-60°C PA-ISO		
121862	Eter de Petróleo 50-70°C PA		
131318	Etilo Acetato PA-ACS-ISO		
	Etilo p-Hidroxibenzoato		
171327	Fenoltaleína solución 1% RE		
141154	di-Fósforo penta-Oxido PRS		
211335	Gel de Sílice 3-6 mm con indicador QP		
121341	D(+)-Glucosa PA		
132063	n-Hexano PA-ACS		
141076	Hidrógeno Peróxido 30% p/v (100 vol.) estabilizado PRS		
	L-Hidroxiprolina		
172430	Indicador Mixto (Rojo de Metilo-Azul de Metileno) RE		
131394	Magnesio Acetato 4-hidrato PA-ACS		
121428	Mercurio II Yoduro rojo PA		

aditio

Aditivos y coadyuvantes tecnológicos para uso alimentario industrial

PANREAC QUIMICA, S.A., fabrica además de los reactivos para análisis PANREAC, una línea de aditivos y coadyuvantes tecnológicos para uso alimentario industrial, que cumplen las especificaciones de pureza prescritas por The Food Chemicals Codex 3ª ed., complementadas con las exigencias específicas fijadas por la legislación española y comunitaria de la CEE.

En la relación que sigue se indica denominación del producto, fórmula y número de identificación. Para mayor información, solicite nuestro catálogo ADITIO 1995.

Código	Producto	Sinónimos	Fórmula	Nº de identificación
201003	ACEITE DE VASELINA			
204333	ACETOFENONA		C_8H_8O	
201007	ACETONA		CH_3COCH_3	
201008	ACIDO ACETICO GLACIAL		CH_3COOH	E-260
202342	ACIDO ADIPICO		$(CH_2CH_2COOH)_2$	E-355
201013	ACIDO L(+)-ASCORBICO		$C_6H_8O_6$	E-300
202422	ACIDO DL-ASPARTICO		$C_4H_7NO_4$	
202034	ACIDO L-ASPARTICO		$C_4H_7NO_4$	
201014	ACIDO BENZOICO		C_6H_5COOH	E-210
201808	ACIDO CITRICO anhidro		$C_6H_8O_7$	E-330
201018	ACIDO CITRICO 1-hidrato		$C_6H_8O_7 \cdot H_2O$	E-330
201020	ACIDO CLORHIDRICO 37%		HCl	507
202019	ACIDO CLORHIDRICO 35%		HCl	507
202785	ACIDO DECANOICO		$C_{10}H_{20}O_2$	
202512	ACIDO ESTEARICO		$C_{18}H_{36}O_2$	570
	Mezcla de ácidos grasos			
201669	ACIDO ETILENDIAMINOTETRA- ACETICO SAL di-SODICA 2-hidrato		$Na_2H_2C_{10}H_{12}N_2O_8 \cdot 2H_2O$	
201030	ACIDO FORMICO 98%		HCOOH	E-236
201029	ACIDO FORMICO 85%		HCOOH	E-236
201032	ACIDO orto-FOSFORICO 85%		H_3PO_4	E-338
202344	ACIDO FUMARICO		HOOCCHCHCOOH	297
202042	ACIDO L-GLUTAMICO		C_5HgNO_4	
201034	ACIDO LACTICO 85%		$CH_3CHOHCOOH$	E-270
202368	ACIDO LAURICO		$C_{12}H_{24}O_2$	
202051	ACIDO DL-MALICO		$C_4H_6O_5$	296
202591	ACIDO MIRISTICO		$CH_3(CH_2)_{12}COOH$	
203389	ACIDO NICOTINICO			
202786	ACIDO OCTANOICO		$C_8H_{16}O_2$	
202345	ACIDO PALMITICO			
201810	ACIDO PROPIONICO		CH_3CH_2COOH	E-280
201055	ACIDO SORBICO		$C_6H_8O_2$	E-200
201883	ACIDO SUCCINICO		HOOCCH ₂ CH ₂ COOH	363
201058	ACIDO SULFURICO 96%		H_2SO_4	513
201065	ACIDO TANICO			
201066	ACIDO L(+)-TARTARICO		$(CHOH)_2(COOH)_2$	E-334
201792	AGAR			E-406
202035	DL-ALANINA			
202043	L-ALANINA		$C_3H_7NO_2$	
201081	ALCOHOL BENCILICO		$C_6H_5CH_2OH$	
201103	ALUMINIO POTASIO SULFATO 12-hidrato		$AlK(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$	H-10068
201130	AMONIACO 30% (en NH ₃)		NH ₄ OH	527
201129	AMONIACO 25% (en NH ₃)		NH ₄ OH	527
201119	AMONIO CARBONATO		$\sim(NH_4)_3(CO_3)_2H+NH_2COONH_4$	503i
201121	AMONIO CLORURO		NH ₄ Cl	510
201116	AMONIO HIDROGENOCARBONATO (Amonio Bicarbonato)		NH ₄ HCO ₃	503ii
201127	di-AMONIO HIDROGENO FOSFATO		$(NH_4)_2HPO_4$	
201126	AMONIO di-HIDROGENO FOSFATO		$NH_4H_2PO_4$	
201140	AMONIO SULFATO		$(NH_4)_2SO_4$	
203464	L-ARGININA		$C_6H_{14}N_4O_2$	
204109	L-ASPARAGINA anhidra		$C_4H_8N_2O_3$	
202357	BENZOILO PEROXIDO humectado con aprox. 25% de agua		$C_{14}H_{10}O_4$	
203977	D (+)-BIOTINA			
201089	iso-BUTANOL		$C_4H_{10}O$	

201082	1-BUTANOL			
201429	BUTANONA		C_4H_8O	
204233	2-ter-BUTIL-4-METOXIFENOL	(BHA, Butildroxianisol)	$C_{11}H_{16}O_2$	E-320
201211	CALCIO ACETATO x-hidrato		$Ca(CH_3COO)_2 \cdot xH_2O$	E-263
201212	CALCIO CARBONATO precipitado		$CaCO_3$	E-170
201213	tri-CALCIO di-CITRATO 4-hidrato		$Ca_3(C_6H_5O_7)_2 \cdot 4H_2O$	E-333
201219	CALCIO CLORURO anhidro			
	escoriforme		$CaCl_2$	509
201221	CALCIO CLORURO anhidro 95% polvo		$CaCl_2$	509
201215	CALCIO CLORURO 2-hidrato			
	escoriforme		$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	509
201232	CALCIO CLORURO 2-hidrato polvo		$CaCl_2 \cdot H_2O$	509
201214	CALCIO CLORURO 6-hidrato		$CaCl_2 \cdot 6H_2O$	509
202824	CALCIO CLORURO solución 45% (en 2-hidrato)			500
201818	CALCIO ESTEARATO		$\sim Ca(C_{18}H_{35}O_2)_2$	E-470
201224	CALCIO FORMIATO		$C_5H_2CaO_4$	E-238
201228	tri-CALCIO FOSFATO		$\sim Ca_3(PO_4)_2$	E-341
201227	CALCIO HIDROGENO FOSFATO anhidro		$CaHPO_4$	E-341
201226	CALCIO HIDROGENO FOSFATO 2-hidrato		$CaHPO_4 \cdot 2H_2O$	E-341
201225	CALCIO bis (di-HIDROGENO FOSFATO) 1-hidrato	(Calcio Difosfato)	$CaH_4(PO_4)_2 \cdot H_2O$	E-341
202400	CALCIO HIDROXIDO polvo		$Ca(OH)_2$	526
201230	CALCIO LACTATO 5-hidrato		$Ca(CH_3CHOHCOO)_2 \cdot 5H_2O$	E-327
203238	CALCIO PROPIONATO			
201235	CALCIO SULFATO 2-hidrato		$CaSO_4 \cdot 2H_2O$	516
201237	CARBON ACTIVO polvo			
202416	CARBOXIMETILCELULOSA SAL SODICA (baja viscosidad)			E-466
204441	CARBOXIMETILCELULOSA SAL SODICA (viscosidad media)			E-466
203922	CARBOXIMETILCELULOSA SAL SODICA (viscosidad alta)			E-466
203645	L-CISTINA		$C_6H_{12}N_2O_4S_2$	921
202825	2,6-Di-ter-BUTIL-4-METILFENOL	(BHT, Butilhidroxitoluol)	$C_{15}H_{24}O$	E-321
201286	1,2 DICLOROETANO		$ClCH_2ClCH_2$	
201254	DICLOROMETANO			
	estabilizado con amileno		Cl_2CH_2	
201877	1-DODECANOL		$C_{12}H_{26}O$	
201303	ESTAÑO II CLORURO 2-hidrato		$SnCl_2 \cdot 2H_2O$	H-8066
201086	ETANOL absoluto		CH_3CH_2OH	
201085	ETANOL 96% v/v		CH_3CH_2OH	
202695	ETANOL 70% v/v		CH_3CH_2OH	
201318	ETILO ACETATO		$CH_3COOC_2H_5$	
201319	ETILO S(-)-LACTATO		$C_5H_{10}O_3$	
202047	L-FENILALANINA		$C_9H_{11}NO_2$	
202728	D(-)-FRUCTOSA		$C_6H_{12}O_6$	
202060	GELATINA 80-100 Blooms			
201339	GLICERINA	(Glicerol)	$C_3H_8O_3$	E-422
202329	GLICERINA 87%	(Glicerol)	$C_3H_8O_3$	E-422
201922	GLICERINA tri-ACETATO		$C_9H_{14}O_6$	
201340	GLICINA		H_2NCH_2COOH	
201341	D(+)-GLUCOSA anhidra		$C_6H_{12}O_6$	
203140	D(+)-GLUCOSA 1-hidrato		$C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$	
202061	GOMA ARABIGA polvo			E-414
201076	HIDROGENO PEROXIDO 30% p/v (110 vol.)		H_2O_2	
201362	HIERRO II SULFATO 7-hidrato		$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	
202045	L-HISTIDINA		$N_6N_9N_3O_2$	

202198	L-HISTIDINA mono-CLORHIDRATO 1-hidrato		$C_6H_{10}ClN_3O_2 \cdot H_2O$	
201375	LACTOSA 1 Hidrato		$C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$	
202046	L-LEUCINA		$C_6H_{13}NO_2$	
203385	D-(+)-LIMONENO		$C_{10}H_{16}$	
201396	MAGNESIO CLORURO 6-hidrato		$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	511
202029	MAGNESIO ESTEARATO		$\sim Mg(C_{18}H_{35}O_2)_2$	572
201399	tri-MAGNESIO di-FOSFATO 5-hidrato	(Magnesio orto-fosfato)	$Mg_3(PO_4)_2 \cdot 5H_2O$	343
201927	MAGNESIO HIDROGENO FOSFATO 3-hidrato		$MgHPO_4 \cdot 3H_2O$	343
201395	MAGNESIO HIDROXI CARBONATO 5-hidrato	(Magnesio Carbonato)		504
201404	MAGNESIO SULFATO 7-hidrato		$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	518
201410	MANGANESO (II) CLORURO 4-hidrato			$MnCl_2 \cdot 4H_2O$
201413	MANGANESO (II) SULFATO 1-hidrato		$MnSO_4 \cdot H_2O$	
202067	D(-)-MANITA	(Manitol)	$C_6H_{14}O_6$	E-421
201091	METANOL		CH_3OH	
203332	METILO 4-HIDROXIBENZOATO		$C_8H_8O_3$	
203209	PARAFINA 51- 53 °C lentejas			
201479	POTASIO ACETATO		CH_3COOK	E-261
201487	POTASIO BROMATO		$KBrO_3$	924
201490	POTASIO CARBONATO		K_2CO_3	501i
201492	tri-POTASIO CITRATO 1-hidrato		$K_3C_6H_5O_7 \cdot H_2O$	E-332
201494	POTASIO CLORURO		KCl	508
201522	POTASIO DISULFITO		$K_2S_2O_5$	E-224
201513	tri-POTASIO FOSFATO 1-hidrato		$K_3PO_4 \cdot H_2O$	E-340
201505	POTASIO HEXACIANO FERRATO II 3-hidrato	(Potasio Ferrocianuro)	$K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$	536
201480	POTASIO HIDROGENO CARBONATO	(Potasio Bicarbonato)	$KHCO_3$	501ii
201512	di-POTASIO HIDROGENO FOSFATO anhidro	(di-Potasio orto- Fosfato)	K_2HPO_4	E-340
202333	di-POTASIO HIDROGENO FOSFATO 3-hidrato		$K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$	E-340
201509	POTASIO di-HIDROGENO FOSFATO	(mono-Potasio orto-Fosfato)	KH_2PO_4	E-340
201486	POTASIO HIDROGENO TARTRATO		$(COO)_2KH(CHOH)_2$	E-336
201515	POTASIO HIDROXIDO 85% lentejas		KOH	525
201524	POTASIO NITRATO		KNO_3	E-252
201855	POTASIO NITRITO		KNO_2	E-249
201729	POTASIO SODIO TARTRATO 4-hidrato		$NaK(COO)_2(CHOH)_2 \cdot 4H_2O$	E-337
201531	POTASIO SORBATO		$CH_3(CHCH)_2COOK$	E-202
201532	POTASIO SULFATO		K_2O_4S	
201533	POTASIO SULFITO			
201537	POTASIO TARTRATO 1/2-hidrato		$K_2(COO)_2(CHOH)_2 \cdot 1/2H_2O$	E-336
201540	POTASIO YODATO		IKO_3	
201542	POTASIO YODURO		KI	
203646	L-PROLINA		$C_5H_9NO_2$	
201545	1,2-PROPANODIOL		$CH_2OHCHOHCH_3$	
201090	2-PROPANOL		$CH_3CH_2CH_2OH$	
201633	SODIO ACETATO anhidro		CH_3COONa	262
201632	SODIO ACETATO 3-hidrato		$CH_3COONa \cdot 3H_2O$	262
203865	SODIO L(+)-ASCORBATO		$C_6H_7NaO_6$	E-301
201637	SODIO BENZOATO		C_6H_5COONa	E-211
201648	SODIO CARBONATO anhidro		Na_2CO_3	500i
202032	SODIO CARBONATO 1-hidrato		$Na_2CO_3 \cdot H_2O$	500i
201647	SODIO CARBONATO 10-hidrato		$Na_2CO_3 \cdot 10H_2O$	500i
201655	tri-SODIO CITRATO 2-hidrato		$Na_3C_6H_5O_7 \cdot 2H_2O$	E-331

201656	tri-SODIO CITRATO 51/2-hidrato		$\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 5 \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$	E-331
201659	SODIO CLORURO		NaCl	
201698	SODIO DISULFITO		$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$	E-223
202363	SODIO DODECILO SULFATO	(Lauril Sulfato Sódico)	$\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{NaO}_4\text{S}$	
201681	tri-SODIO FOSFATO 1-hidrato		$\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	E-339
201680	tri-SODIO FOSFATO 12-hidrato		$\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	E-339
201665	SODIO HIDROGENO di-ACETATO	(Sodio Diacetato)	$\text{CH}_3\text{COONaCH}_3\text{COOH}$	E-262
201638	SODIO HIDROGENO CARBONATO	(Sodio Bicarbonato)	NaHCO_3	500ii
201654	di-SODIOHIDROGENOCITRATO 1 1/2	Hidrato	$\text{C}_6\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_7 \cdot 1 \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$	E-331
201679	di-SODIO HIDROGENO FOSFATO anhidro	(di-Sodio orto-Fosfato)	Na_2HPO_4	E-339
201678	di-SODIO HIDROGENO FOSFATO 12-hidrato		$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	E-339
201965	SODIO di-HIDROGENO FOSFATO 1-hidrato	(mono-Sodio orto-Fosfato)	$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	E-339
201677	SODIO di-HIDROGENO FOSFATO 2-hidrato		$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	E-339
201709	di-SODIO di-HIDROGENO PIROFOSFATO		$\text{H}_2\text{Na}_2\text{O}_7\text{P}_2$	E-450a
201687	SODIO HIDROXIDO 97% lentejas		NaOH	524
201686	SODIO HIDROXIDO escamas		NaOH	524
203307	SODIO LACTATO sol. 50% p/p		$\text{C}_3\text{H}_5\text{NaO}_3$	E-325
201702	SODIO NITRATO		NaNO_3	E-251
201703	SODIO NITRITO		NaNO_2	E-250
201711	tetra-SODIO PIROFOSFATO anhidro	(tetra-Sodio Difosfato)	$\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$	E-450aiii
201710	tetra-SODIO PIROFOSFATO 10-hidrato	(tetra-Sodio Difosfato)	$\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$	E-450aiii
201684	SODIO POLIFOSFATO		$(\text{NaPO}_3)_6$	E-450c
201716	SODIO SULFATO anhidro		Na_2SO_4	514
201715	SODIO SULFATO 10-hidrato		$\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$	514
201717	SODIO SULFATO anhidro		Na_2SO_3	E-221
201720	SODIO TARTRATO anhidro		$\text{Na}_2(\text{COO})_2(\text{CHOH})_2$	E-335
201719	SODIO TARTRATO 2-hidrato		$\text{Na}(\text{COO})_2(\text{CHOH})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	E-335
201721	SODIO TIOSULFATO 5-hidrato		$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	
203064	D(-)-SORBITA	(Sorbitol)	$\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_6$	E-420
901733	TALCO lavado			535b
202475	TIERRA SILICEA purificada y calcinada			
202101	TITANIO IV OXIDO		TiO_2	
202049	L-TRIPTOFANO		$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$	
202048	VAINILLINA		$\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$	
201786	ZINC OXIDO		ZnO	
201788	ZINC SULFATO 1-hidrato		$\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	
201787	ZINC SULFATO 7-hidrato		$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	

Editado por:
PANREAC QUIMICA, S.A.
[042] - 16 - 500 - 05/99

Diseño:
Pere Durán

Inpresión:
Centre Telemàtic Editorial, SRL

Dep. Legal:
B-21.701-99