la Ley 16/1987, de 30 de julio, únicamente podrán realizar el arrastre de semirremolques, ya sean éstos de transporte público o privado. Correlativamente los semirremolques provistos de las autorizaciones de transporte vigentes en la misma fecha citada, canjeadas conforme a lo previsto en los anteriores apartados 1.3 y 1.4 deberán ser arrastrados por cabezas tractoras provistas de autorización de la clase TD, si bien naturalmente también podrán, como cualquier otro semirremolque, aunque no estuviera provisto de autorización alguna, ser arrastrados por cabezas tractoras provistas de las nuevas autorizaciones de transporte que habiliten para el arrastre de cualquier semirremolque, ya sean éstas las de nuevo otorgamiento previstas en el apartado 2.1 o provenientes de la modificación de anteriores autorizaciones referidas a vehículos rígidos prevista en el apartado 2.2.

2.5 No se otorgarán nuevas autorizaciones de arrastre para cabezas tractoras de la clase TD o TP, ni para remolques o semirremolques de transporte público o privado. Sin embargo, las autorizaciones de dichas clases, a que se refiere el apartado anterior, cuando sean de transporte público, podrán transmitirse a otros titulares de acuerdo con las reglas generales sobre novación subjetiva de autorizaciones, debiendo tenerse en cuenta que, en todo caso, los adquirentes deberán cumplir el requisito de capacitación profesional.

2.6 Los titulares simultáneamente de autorizaciones de arrastre de la clase TD y de otras referidas a semirremolques, vigentes en la fecha de entrada en vigor de la Ley 16/1987, de 30 de julio, podrán realizar la sustitución de una autorización de cada una de las clases citadas, por una autorización de transporte sometida al régimen general establecido en la nueva Ley y referida optativamente a un vehículo rígido o a una cabeza tractora, los cuales podrán realizar el arrastre de cualquier remolque o semirremolque, sin necesidad de que estos últimos dispongan de autorización alguna.

No obstante lo anterior, cuando las autorizaciones referidas a semirremolques estuvieran otorgadas para transportes especiales y hubieran sido obtenidas fuera de contingente, únicamente habilitarán para realizar el correspondiente transporte especial con vehículos rígidos o semirremolques especialmente adaptados para el mismo, y cuya carga corresponda a la naturaleza de éste.

La conversión de autorizaciones a que se refiere este punto y el siguiente deberá realizarse de conformidad con lo previsto en la Orden del Ministerio de Transportes, Turismo y Comunicaciones de 30 de diciembre de 1987, sobre tramitación de convalidaciones, conversiones o canjes de autorizaciones de transporte por carretera y sobre distintivos que deben llevar los vehículos.

2.7 Cuando las empresas de transporte realicen la conversión de autorizaciones prevista en el artículo anterior en relación con todas las autorizaciones respecto a las cuales la misma resulte posible, según el régimen establecido en la Orden del Ministerio de Transportes, Turismo y Comunicaciones de 30 de diciembre de 1987 anteriormente citada, el resto de autorizaciones de transporte referidas a semirremolques que en su caso queden después de realizada la citada conversión, serán sustituidas, siempre que así lo solicite la empresa, por autorizaciones correspondientes a semirremolques, pero sin especificar en concreto cuáles son éstos, pudiendo, por tanto, cualquier semirremolque de que disponga la empresa, siempre que lleve a bordo el original de una de las citadas autorizaciones, ser arrastrado por una cabeza tractora provista de autorización de la clase TD.

2.8 Las autorizaciones de la clase TP de cabezas tractoras y de semirremolques de transporte privado vigentes en la fecha de entrada en vigor de la Ley 16/1987, de 30 de julio, se sustituirán por autorizaciones de transporte referidas a las correspondientes cabezas tractoras y válidas para realizar el arrastre de cualquier semirremolque, a razón de una de cada una de las dos primeras clases de autorizaciones citadas por una de las nuevas autorizaciones. El resto de las autorizaciones referidas a semirremolques que en su caso resten a la empresa después de realizar la anterior conversión con todas las autorizaciones posibles, mantendrán su validez, pudiendo los semirremolques a que estén referidas ser arrastrados por cabezas tractoras con autorizaciones de la clase TD, además de, naturalmente, por las cabezas tractoras provistas de las nuevas autorizaciones válidas para realizar el arrastre de cualquier semirremolque.

La conversión se realizará de conformidad con lo previsto en la Orden del Ministerio de Transportes, Turismo y Comunicaciones de 30 de diciembre de 1987, sobre tramitación de convalidaciones, conversiones o canjes de autorizaciones de transporte por carretera y sobre distintivos que deben llevar los vehículos.

Madrid, 8 de enero de 1988.–El Director general, Manuel Panadero López.

MINISTERIO DE RELACIONES CON LAS CORTES Y DE LA SECRETARIA DEL GOBIERNO

1152 *ORDEN de 14 de enero de 1988 por la que se aprueban los métodos oficiales de análisis para los cereales en copos o expandidos.*

El Decreto de Presidencia del Gobierno 2484/1967, de 21 de septiembre («Boletín Oficial del Estado» de 17 de octubre), por el que se aprueba el texto del Código Alimentario Español, prevé que puedan ser objeto de Reglamentaciones especiales las materias en él reguladas.

Publicado el Real Decreto 1094/1987, de 26 de junio («Boletín Oficial del Estado» de 8 de septiembre), por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria para la elaboración, circulación y comercio de los cereales en copos o expandidos, procede dictar los correspondientes métodos analíticos y, en este sentido, es imprescindible la fijación de límite de componentes en la normalización de los diferentes productos, límites que dependen en la mayoría de los casos de las técnicas analíticas a emplear.

En la redacción de los métodos oficiales de análisis se ha procurado, en lo posible, su adaptación a los métodos aprobados por los Organismos internacionales especializados en la materia, con el fin de aprovechar la experiencia obtenida de su aplicación, dado que, por otra parte, la Comunidad Económica Europea no tiene legislación específica aplicable en este sentido.

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

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

Primero.–Se aprueban como oficiales los métodos de análisis para cereales en copos o expandidos que se citan en el anejo.

Segundo.–Cuando no existan métodos oficiales para determinados análisis, y hasta tanto los mismos no sean propuestos por el órgano competente y previamente informados por la Comisión Interministerial para la Ordenación Alimentaria, podrán ser utilizados los aprobados por los Organismos nacionales o internacionales de reconocida solvencia.

DISPOSICION DEROGATORIA

Quedan derogadas a la entrada en vigor de la presente Orden cuantas disposiciones de igual o inferior rango se opongan a lo dispuesto en la misma.

DISPOSICION FINAL

La presente Orden entrará en vigor a los treinta días de su publicación en el «Boletín Oficial del Estado».

Madrid, 14 de enero de 1988.

ZAPATERO GOMEZ

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

ANEJO

1. Preparación de la muestra.
2. Humedad.
3. Cenizas.
4. Grasas.
5. Proteínas.
6. Fibra alimentaria insoluble.
7. Fibra bruta.
8. Azúcares.

9. Cloruros.
10. Extracción de la grasa para su identificación.
11. Plomo.
12. Mercurio.
13. Cobre.
14. Arsénico.

1. *Preparación de la muestra*

1.1 Principio.

Homogeneización y reducción de la muestra al tamaño adecuado para la correcta realización del análisis.

1.2 Material y aparatos.

1.2.1 Aparato triturador que no provoque calentamiento, fácil de limpiar y que proporcione un tamaño de partículas comprendido entre 800 y 1.200 μ.

1.2.2 Envases de capacidad suficiente, con cierre hermético, para conservar la muestra.

1.3 Procedimiento.

1.3.1 Muestra contenida en un solo envase.

Homogeneizar la muestra. Tomar un mínimo de 200 g y triturarlo en el aparato descrito en 1.2.1 y volver a homogeneizar.

1.3.2 Muestra contenida en varios envases.

Homogeneizar la porción de muestra contenida en cada envase, tomar de cada uno cantidades iguales para obtener finalmente un mínimo de 200 g de muestra. Triturar en el aparato descrito en 1.2.1 y volver a homogeneizar.

1.4 Observaciones.

Preparada la muestra, ésta servirá de base a todas las determinaciones, salvo mención expresa en contra, procurando realizar la preparación de los análisis en el menor tiempo posible.

2. *Humedad*

2.1 Principio.

Se determina la pérdida de peso de la muestra al someterse a calentamiento en estufa en condiciones determinadas.

2.2 Material y aparatos.

2.2.1 Balanza analítica con precisión de 0,1 mg.

2.2.2 Pesasustancias metálico o de vidrio con tapadera y con una superficie útil que permita un reparto de la muestra de 0,3 g/cm^2, como máximo.

2.2.3 Estufa isoterma de calefacción eléctrica, a ser posible de aire forzado, regulada de tal manera que la temperatura del aire en su interior sea de 130 °C y que tenga aireación suficiente. La estufa tendrá una capacidad calorífica tal que, regulada previamente a la temperatura de 130 °C, pueda alcanzar de nuevo esa temperatura en menos de media hora, después de colocar simultáneamente en su interior el número máximo de muestras a desecar.

La eficacia de la ventilación se determinará con la ayuda de sémola como material de ensayo que tenga un milímetro como máximo de partícula. La ventilación será tal que, secando simultáneamente a 130 °C todas las muestras que la estufa pueda contener, primero durante dos horas y después durante tres horas, los resultados presenten entre ellos una diferencia inferior a 0,15 por 100 en valor absoluto.

2.2.4 Desecador provisto de un deshidratante eficaz.

2.3 Procedimiento.

Pesar con precisión de 1 mg, aproximadamente, 5 g de muestra en pesasustancias, previamente preparada según método número 1.

Introducir el pesasustancias en la estufa (2.2.3) a 130 ± 1 °C y destapar. Mantener en la estufa durante 1,5 horas. Tapar el pesasustancias antes de sacar de la estufa y dejar enfriar a temperatura ambiente en desecador y pesar a continuación.

2.4 Cálculos.

La humedad de la muestra, expresada en tanto por ciento, vendrá dada por la siguiente fórmula:

$$H\,\% = \frac{(P_1 - P_2)\,100}{P}$$

Siendo:

P_1 = peso, en g, del pesasustancias con la muestra.

P_2 = peso, en g, del pesasustancias con la muestra desecada.

P = peso, en g, de la muestra.

La diferencia resultante entre determinaciones duplicadas de la misma muestra no deberá ser mayor de 0,1 por 100 en valor absoluto.

1. Métodos de la Asociación Internacional de Química Cerealista (ICC).
2. AOAC M. 14.0003 1980.

3. *Cenizas*

3.1 Principio.

Residuo obtenido por incineración a una temperatura de 550 ± 10 °C hasta combustión completa de la materia orgánica y obtención de un peso constante.

3.2 Material y aparatos.

3.2.1 Crisoles no atacables en las condiciones del ensayo con unas dimensiones mínimas de 40 mm de altura y 45 mm de diámetro superior.

3.2.2 Placa calefactora.

3.2.3 Horno eléctrico (mufla) con dispositivo de control de temperatura.

3.2.4 Desecador capaz de contener un deshidratante eficaz.

3.2.5 Varillas de vidrio con una extremidad aplanada.

3.2.6 Balanza analítica con precisión de 0,1 mg.

3.3 Procedimiento

Pesar con la precisión de un mg, de 2 a 6 g de muestra preparada según el método oficial número 1, en un crisol previamente incinerado y tarado.

Colocar el crisol y su contenido sobre una placa calefactora, teniendo cuidado de que la combustión no sea demasiado rápida, de manera que no haya pérdidas de materia sólida por proyección. Llevar a continuación el crisol a la mufla (550 ± 10 °C) hasta combustión completa de la sustancia (cenizas blancas o grises).

Enfriar a temperatura ambiente en un desecador.

Pesar seguidamente.

3.4 Cálculos.

3.4.1 El contenido en cenizas sobre sustancia natural vendrá dado por la siguiente fórmula:

$$\%\ \text{cenizas} = \frac{P_1 - P_2}{P} \cdot 100$$

Siendo:

P_1 = Peso, en gramos, del crisol con las cenizas.
P_2 = Peso, en gramos, del crisol vacío.
P = Peso, en gramos, de la muestra.

3.4.2 El contenido en cenizas sobre sustancia seca vendrá dado por la siguiente fórmula:

$$\%\ \text{cenizas} = \frac{C \times 100}{100 - H}$$

Siendo:

C = Porcentaje de cenizas obtenidas en (3.4.1).
H = Humedad.

En ambos casos, los resultados se darán considerando solamente la primera cifra decimal.

3.5 Observaciones.

3.5.1 En caso contrario, para obtener una incineración uniforme, puede humedecerse la muestra antes de la preincineración con etanol del 95 por 100 o aceite vegetal exento de cenizas.

3.5.2 Si la muestra a analizar contiene cloruros añadidos, deducir el valor de cenizas obtenido por el procedimiento anterior, el porcentaje correspondiente de los mismos.

3.5.3 Límite de errores. Cuando el contenido de ceniza no rebase el 1 por 100 de la mestra, la diferencia de los resultados de un ensayo efectuado por duplicado no deberá ser superior al 0,02 por 100. Si el contenido de cenizas rebasa el 1 por 100, la diferencia no deberá ser superior al 2 por 100 de dicho contenido. Si es superior, se repetirá la determinación.

3.6 Referencias

1 - AOAC, Ed. 1980, 14.006.

4. *Grasa*

4.1 Principio.

El producto es hidrolizado con ácido clorhídrico diluido. De la masa seca resultante las materias grasas que contiene son extraídas con éter, el solvente evaporado y el residuo pesado.

4.2 Reactivos.

4.2.1 Acido clorhídrico 3 N.
4.2.2 Eter etílico, exento de peróxidos.
4.2.3 Solución de nitrato de plata.

4.3 Material y aparatos.

4.3.1 Extractor tipo Soxhlet.
4.3.2 Estufa de desecación capaz de mantener constante la temperatura a 100 °C ± 1 °C.
4.3.3 Desecador provisto de un deshidratante eficaz.

4.4 Procedimiento.

Pesar con la precisión de un mg, aproximadamente 10 g de muestra preparada según el método oficial número 1 en un matraz de 250 a 300 ml.

Agitando continuamente, añadir 100 ml de ácido clorhídrico (4.2.1), añadir unas perlas de vidrio o piedra pómez lavada y seca y cerrar con tapón de vidrio que no ajuste herméticamente o vidrio de reloj. Hervir unos sesenta minutos, agitando de vez en cuando, enfriar y filtrar sobre filtro previamente húmedo. Lavar el precipitado con agua destilada hasta que el filtrado no dé precipitado con nitrato de plata o no dé reacción ácida de papel de tornasol.

Poner el filtro en una cápsula y secar en estufa a 100 °C ± 1 °C.

El filtro ya seco se introduce en un cartucho para extractor tipo Soxhlet y se tapa con algodón desengrasado. El cartucho se coloca en el extractor y se vierte el éter etílico, dejándolo sifonar unas ocho horas.

El matraz receptor debe estar secado y tarado.

Evaporar el solvente, secar en estufa y pesar.

4.5 Cálculos.

4.5.1 El contenido de grasa en sustancia natural vendrá dado por la siguiente fórmula:

$$\% \text{ grasa} = \frac{P_1 - P_2}{P} \cdot 100$$

Siendo:

P_1 = Peso, en gramos, del matraz con la grasa.
P_2 = Peso, en gramos, del matraz vacío.
P = Peso, en gramos, de la muestra.

4.5.2 El contenido de grasas en sustancia seca vendrá dado por la siguiente fórmula:

$$\% \text{ grasa} = \frac{G \times 100}{100 - H}$$

Siendo:

G = Porcentaje de grasa obtenida en 4.5.1.
H = Humedad.

4.6 Observaciones.

4.6.1 Para efectuar el procedimiento anterior podrán utilizarse sistemas automáticos o semiautomáticos, adaptándose a las especificaciones del equipo.

4.7 Referencias.

1 - AOAC, ed. 1980, 14.059.

5. *Proteínas*

5.1 Principio.

Determinación del nitrógeno convirtiendo el nitrógeno orgánico presente en sulfato amónico con ácido sulfúrico. Después de alcalinizar con hidróxido sódico, destilar, recogiendo el destilado sobre ácido bórico, titulando el amoníaco recogido con ácido N/10.

5.2 Reactivos.

5.2.1 Acido sulfúrico 93-99 por 100 libre de nitrógeno.
5.2.2 Hidróxido sódico al 40 por 100.
5.2.3 Catalizador. (Mezclar 5 g de sulfato sódico o potásico con 5 mg de selenio.) También puede utilizarse otro catalizador adecuado.
5.2.4 Indicador de fenolftaleina al 1 por 100 en alcohol etílico.
5.2.5 Indicador Taschiro. Mezclar 20 mg de rojo de metilo y 10 mg de azul de metileno en 100 ml de alcohol etílico. También puede utilizarse rojo de metilo preparado en la proporción de 0,5 por 100 en alcohol etílico.
5.2.6 Solución de ácido bórico al 4 por 100.
5.2.7 Solución de ácido sulfúrico o clorhídrico N/10.

5.3 Material y aparatos.

5.3.1 Para digestión.

5.3.1.1 Matraces tipo Kjeldahl o similar.
5.3.1.2 Batería de mantas eléctricas o similar.

5.3.2 Para destilación.

5.3.2.1 Matraz generador de vapor.
5.3.2.2 Refrigerante.
5.3.2.3 Matraz receptor.

5.3.3 Titulación.

5.3.3.1 Bureta de vidrio o bureta automática.

5.4 Procedimiento.

Pesar con la precisión de 1 mg, aproximadamente 0,5-2,5 g de muestra, preparada según el método oficial número 1, introducirla en el matraz Kjeldahl (5.3.1.1). Añadir unos 5 g del catalizador (5.2.3), 20 ml de ácido sulfúrico (5.2.1) (la cantidad varía según contenido en proteínas y grasa de la muestra). Poner a digerir en (5.3.2.1) teniendo cuidado al principio de no elevar demasiado la temperatura hasta que cese el desprendimiento de la espuma (añadir, si fuere preciso, una pequeña cantidad de parafina). Digerir hasta que la solución esté clara. Enfriar, diluir, añadir unas gotas de fenolftaleina (5.2.4) y conectar el aparato destilador añadiendo hidróxido sódico (5.2.2) hasta viraje.

En el matraz receptor poner 100 ml de ácido bórico (5.2.6) con unas gotas de indicador (5.2.5) cuidando que el extremo del refrigerante quede bien cubierto del líquido.

Mantener la destilación aproximadamente 15 minutos (o más si es preciso, hasta que no dé reacción básica), lavar el extremo del refrigerante y titular el destilado con ácido sulfúrico o clorhídrico N/10 (5.2.7).

Hacer un blanco.

5.5 Cálculos.

5.5.1 El contenido de proteínas en materia natural vendrá dado por la siguiente fórmula:

$$\% \text{ proteínas} = \frac{0{,}14 \times 6{,}25\ (V_1 - V_0)}{P}$$

Siendo:

V_1 = Volumen, en ml, de ácido clorhídrico o sulfúrico utilizado en la determinación.
V_0 = Volumen, en ml, de ácido clorhídrico o sulfúrico utilizado en blanco.
P = Peso, en g, de la muestra.

5.5.2 El contenido de proteínas en materia seca vendrá dado por la siguiente fórmula:

% proteína obtenida en 5.5.1.
H = Humedad.

5.6 Observaciones.

5.6.1 La diferencia entre dos determinaciones sucesivas expresada en porcentaje de proteínas no debe ser superior al 0,25 por 100.

5.6.2 Para efectuar el procedimiento Kjeldahl, podrán utilizarse sistemas automáticos o semiautomáticos, adaptandose a las especificaciones del equipo.

5.7 Referencias.

1. AOAC (1980) 2.057.
2. Pearson, 5.ª edición (1962).

6. *Fibra alimentaria soluble*

6.1 Principio.

La muestra se extrae con una solución de detergente neutro en caliente. El residuo se incuba con una solución amilásica y se filtra. La determinación de las cenizas en el residuo filtrado permite conocer, por diferencia de peso, la cantidad de celulosa, hemicelulosa y lignina de la muestra.

6.2 Material.

6.2.1 Baño termostatizado y refrigerante de reflujo.
6.2.2 Filtros de vidrio fritado del número 2.
6.2.3 Sistema de filtración por succión a vacío.
6.2.4 Desecador.
6.2.5 Estufa para 37° y 110 °C.
6.2.6 Horno eléctrico (mufla) con dispositivo de control de temperatura.
6.2.7 Balanza de precisión.

6.3 Reactivos.

6.3.1 Lauril sulfato sódico.
6.3.2 EDTA disódico dihidratado.
6.3.3 Tetraborato de sodio decahidrato ($B_4O_7Na_2 \cdot 10\,H_2O$).
6.3.4 2-Etoxietanol.
6.3.5 Decahidronaftaleno.

6.3.6 Sulfito de sodio.
6.3.7 Fosfato disódico anhidro (PO_4HNa_2).
6.3.8 Fosfato monosódico anhidro (PO_4H_2Na).
6.3.9 Acetona.
6.3.10 α-Amilasa tipo VI-A (Sigma A-6880 o equivalente).
6.3.11 Acido fosfórico.
6.3.12 Solución de detergente neutro: Mezclar 18,61 g de EDTA disódico y 6,81 g de tetraborato de sodio decahidratado con 150 ml de agua y calentar hasta su disolución. Disolver 30 g de lauril sulfato sódico y 10 ml de 2-etoxietanol en 700 ml de agua caliente y mezclar con la solución anterior. Disolver 4,56 g de fosfato disódico anhidro en 150 ml de agua y mezclar con las soluciones anteriores. Ajustar a pH 6,9-7 con ácido fosfórico si fuera necesario.
6.3.13 Solución tampón fosfato 0,1 N: Mezclar 39,2 ml de fosfato monosódico anhidro 0,1 M (preparado disolviendo 13,6 g en un litro de agua) con 60,8 ml de fosfato disódico 0,1 M (preparado disolviendo 14,2 g en un litro de agua).

6.4 Procedimiento.

Pesar con precisión de 1 mg, aproximadamente, 1 g de muestra preparada según método 1. Agregar ordenadamente 100 ml de solución de detergente neutro, 2 ml de decahidro naftaleno y 0,5 g de sulfito de sodio (6.3.6). Calentar hasta ebullición y mantener a reflujo durante una hora. Filtrar a través de filtro de vidrio fritado del número 2 (previamente calcinado a 550 °C).
Lavar sucesivamente con unos 300 ml de agua hirviendo. Añadir hasta sobrepasar el nivel del residuo, una solución al 2,5 por 100 de α-amilasa en tampón fosfato 0,1 N.
Incubar a 37 °C durante 18 horas aproximadamente.
Filtrar la solución enzimática por succión a través de un sistema de vacío y lavar el residuo con unos 80 ml de acetona. Secar el filtro con el residuo a 110 °C durante 8 horas como mínimo. Enfriar en desecador y pesar.
Mantener el filtro con el residuo en mufla a 550 °C durante 3 horas. Enfriar y pesar.

6.5 Cálculos.

El contenido en fibra alimentaria insoluble expresado en porcentaje vendrá dado por la siguiente fórmula:

$$\% \text{ fibra alimentaria insoluble} = \frac{P_1 - P_2}{P_0} \cdot 100$$

Siendo:

P_0 = Peso, en mg, de la muestra.
P_1 = Peso, en mg, del crisol más residuo desecado a 100 °C.
P_2 = Peso, en mg, del crisol más residuo calcinado.

6.6 Observaciones.

6.6.1 Las muestras conteniendo más de un 10 por 100 de materia grasa deberán desengrasarse previamente.
6.6.2 Para utilizar el procedimiento anterior podrán utilizarse sistemas automáticos o semiautomáticos adaptándose a las especificaciones del equipo.

6.7 Referencias.

1. Método AACC, 32-20 (1979).

7. *Fibra bruta*

7.1 Principio.

Tratar la muestra, desengrasada si es necesario, con soluciones de ácido sulfúrico e hidróxido potásico de concentraciones conocidas. Separar el residuo por filtración, lavar, desecar y pesar el residuo insoluble, determinando posteriormente su pérdida de masa por calcinación a 550 °C.

7.2. Material.

7.2.1 Material de vidrio de uso corriente en el laboratorio.
7.2.2 Crisol filtrante número 2.
7.2.3 Horno de mufla con termostato.
7.2.4 Desecador provisto de un deshidratante eficaz.
7.2.5 Estufa capaz de mantener constante la temperatura de 130 °C ± 1 °C.
7.2.6 Equipo filtrante.

7.3. Reactivos.

7.3.1 Solución de sulfúrico 0,26 N. Disolver 1,25 g de ácido sulfúrico de d = 1,84 y riqueza 96 por 100 en 10 ml de agua.
7.3.2 Antiespumante.
7.3.3 Solución de hidróxido potásico 0,23 N: Disolver 1,25 g de hidróxido de potasio en 100 ml de agua.
7.3.4 Acetona pura.
7.3.5 Eter dietílico puro.

7.4 Procedimiento.

Pesar, con precisión de un mg, de 1 a 3 g de muestra y añadir 200 ml de ácido sulfúrico 0,26 N y unas gotas de antiespumante. Llevar a ebullición y mantenerla durante treinta minutos en un sistema de refrigeración a reflujo.
Transcurridos los treinta minutos, filtrar sobre el crisol (7.2.2), previamente incinerado y lavar el residuo con agua caliente hasta que no dé reacción ácida.
Transferir cuantitativamente el residuo a un matraz adaptable al sistema de reflujo, añadir 200 ml de solución de hidróxido potásico 0,23 N y unas gotas de antiespumante. Llevar a ebullición y dejar hervir durante treinta minutos. Filtrar sobre crisol filtrante y lavar con agua caliente hasta que no dé reacción alcalina. Deshidratar lavando tres veces con acetona, usando un volumen total de unos 100 ml.
Llevar el crisol a la estufa y secarlo a 130 °C durante dos horas.
Dejar enfriar en desecador y pesar rápido. Introducir a continuación el crisol en el horno (7.2.3) y dejar calcinar durante tres horas como mínimo a 550 °C. Dejar enfriar en desecador y pesar rápidamente.

7.5 Cálculos.

$$\text{Fibra bruta (\%)} = 100 \frac{P_1 - P_2}{P_0}$$

Siendo:

P_0 = Peso inicial de la muestra.
P_1 = Peso del crisol conteniendo la muestra desecada.
P_2 = Peso del crisol conteniendo la muestra calcinada.

7.6 Observaciones.

7.6.1 Las muestras conteniendo más de un 10 por 100 de materia grasa deben desengrasarse con éter etílico antes del análisis.
7.6.2 Para efectuar el procedimiento anterior podrán utilizarse sistemas automáticos o semiautomáticos, adaptándose a las especificaciones del equipo.

7.7 Referencias.

1. «Journal Officiel des Communautés Europèennes». Núm. L 83/24 - 1973.

8. *Azúcares*

8.1 Principio.

Eliminación de todas las materias reductoras distintas de los azúcares, mediante defecación a partir de las soluciones de Carrez I, II, previa disolución de los azúcares en etanol diluido. Eliminación del etanol y valoración antes y después de la inversión según el método de Luff-Schoorl.

8.2 Material y aparatos.

8.2.1 Agitador mecánico.
8.2.2 Matraces aforados de 1.000, 300, 200, 100 y 50 ml.

8.3 Reactivos.

8.3.1 Etanol al 40 por 100 (v/v) d = 0,948 a 20 °C.
8.3.2 Solución de Carrez I. Disolver en agua 24 g de acetato cinc trihidrato y 3 ml de ácido acético glacial y añadir agua destilada hasta 100 ml.
8.3.3 Solución Carrez II. Disolver en agua 10,6 de ferrocianuro potásico $K_4(Fe\,CN_6) \cdot 3H_2O$ y añadir agua destilada hasta 100 ml.
8.3.4 Solución de rojo de metilo al 0,1 por 100 (v/v).
8.3.5 Acido clorhídrico 4 N.
8.3.6 Acido clorhídrico 0,1 N.
8.3.7 Solución de hidróxido sódico 0,1 N.
8.3.8 Solución de sulfato de cobre. Disolver 25 g de sulfato de cobre (II) pentahidrato $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, exento de hierro, en agua y enrasar a 100 ml.
8.3.9 Solución de ácido cítrico. Disolver 50 g de ácido cítrico monohidrato $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ en 50 ml de agua.
8.3.10 Solución de carbonato de sodio. Disolver 143, 8 g de carbonato de sodio anhidro, en unos 300 ml de agua caliente, dejar enfriar y completar a 300 ml.
8.3.11 Solución de tiosulfato de sodio 0,1 N.
8.3.12 Solución de almidón. Añadir una mezcla de 5 g de almidón soluble en 30 ml de agua a un litro de agua hirviendo.

Dejar hervir durante tres minutos. Dejar enfriar. Añadir 10 mg de ioduro de mercurio (II) como agente conservador.

8.3.13 Acido sulfúrico 6 N.

8.3.14 Solución de ioduro potásico al 30 por 100 (p/v).

8.3.15 Piedra pómez lavada con ácido clorhídrico y aclarada con agua.

8.3.16 Isopentanol.

8.3.17 Reactivo de Luff-Schoorl: Verter agitando cuidadosamente la solución de ácido cítrico (8.3.9) en la solución de carbonato de sodio (8.3.10). Agitar hasta la desaparición del desprendimiento gaseoso. A continuación añadir la solución de sulfato de cobre (II) (8.3.8) y completar hasta un litro con agua. Dejar reposar doce horas y filtrar. Verificar la normalidad del reactivo obtenido (Cu I,1 N; Na_2Co_3 2N). El pH de la solución debe ser aproximadamente 9,4.

8.4 Procedimiento.

8.4.1 Preparación de la muestra. Pesar con aproximación de 1 mg, 2,5 g de la muestra e introducirlo en un matraz aforado de 250 ml. Añadir 200 ml de etanol al 40 por 100 (v/v) y mezclar durante una hora en el agitador. Añadir 5 ml de la solución Carrez I y agitar durante un minuto, adicionar y agitar durante el mismo tiempo con 5 ml de la solución Carrez II.

Enrasar a 250 ml con la solución de etanol (8.3.1), homogeneizar y filtrar. Tomar 200 ml del filtrado y evaporar aproximadamente hasta la mitad del volumen, a fin de eliminar la mayor parte del etanol. Trasvasar en su totalidad el residuo de evaporación con ayuda de agua caliente a un matraz aforado de 200 ml y enfriar, a continuación enrasar con agua y filtrar si es necesario. Esta solución será utilizada para la determinación de azúcares y después de la inversión para la determinación de azúcares totales.

8.4.2 Determinación de azúcares reductores. Tomar como máximo 25 ml de la solución preparada según (8.4.1) y que contenga menos de 60 mg de azúcares reductores, expresado en glucosa. Si es necesario, completar el volumen hasta 25 ml con agua destilada y determinar la cantidad de azúcares reductores según Luff-Schoorl. El resultado será expresado en tantos por ciento de glucosa.

8.4.3 Determinación de azúcares totales previa inversión. Tomar 50 ml de la solución (8.4.1) y llevar a un matraz aforado de 100 ml. Añadir unas gotas de la solución rojo de metilo y adicionar lentamente agitando 15 ml de la solución de ácido clorhídrico 4 N hasta viraje a rojo. Añadir 15 ml de ácido clorhídrico 0,1 N y sumergirlo en un baño de agua caliente a ebullición durante treinta minutos. Refrigerar hasta 20 °C y añadir a continuación 15 ml de la solución de hidróxido sódico 0,1 N (8.3.7). Enrasar a 100 ml con agua y homogeneizar.

Tomar una cantidad que no exceda de 25 ml y contenga menos de 60 mg de azúcares reductores expresado en glucosa. Si es necesario, completar el volumen hasta 25 ml con agua destilada y determinar la cantidad de azúcares reductores según Luff-Schoorl. El resultado será expresado en tantos por ciento de glucosa. De expresarlo en sacarosa, se debe multiplicar por el factor 0,95.

8.4.4 Valoración de Luff-Schoorl. Tomar 25 ml del reactivo Luff-Schoorl (8.3.17) y llevarlo a un erlenmeyer de 300 ml, añadir 25 ml exactamente medidos de la solución defecada de azúcares, adicionar un poco de piedra pómez y calentar agitando. Adaptar en seguida un refrigerante de reflujo sobre el erlenmeyer. A partir de este momento, hacer hervir la solución y mantener en ebullición durante diez minutos exactamente. Refrigerar inmediatamente al chorro de agua fría durante cinco minutos y proceder a su valoración.

Añadir 10 ml de la solución de ioduro (8.3.14) inmediatamente después y, con cuidado, 25 ml de ácido sulfúrico 6 N (8.3.13). Valorar a continuación mediante la solución de tiosulfato de sodio (8.3.9) hasta la aparición de color amarillo. Añadir en ese momento la solución de almidón y terminar de valorar.

Efectuar la misma valoración sobre una mezcla que contenga 25 ml exactamente medidos del reactivo de Luff-Schoorl, 25 ml de agua, 10 ml de la solución de ioduro de potasio (8.3.14) y 25 ml de la solución de ácido sulfúrico 6 N (8.3.13) sin llegar a ebullición.

8.5 Cálculos.

Establecer por medio de la tabla I la cantidad de glucosa en mg correspondiente a la diferencia entre las dos valoraciones, según los ml de tiosulfato de sodio 0,1 N gastados en cada una de las valoraciones.

Expresar los resultados en tanto por ciento de azúcares en la muestra.

8.6 Observaciones.

8.6.1 Es recomendable añadir aproximadamente 1 ml de isopentanol (sin tener en cuenta el volumen) antes de la ebullición, con el reactivo Luff-Schoorl para evitar la formación de espuma.

8.6.2 La diferencia entre la cantidad de azúcares totales después de la inversión, expresada en glucosa y la cantidad de azúcares reductores expresada igualmente en glucosa, multiplicada por 0,95 da la cantidad en tanto por ciento de sacarosa.

8.6.3 Para calcular la cantidad de azúcares reductores, excluyendo la lactosa, se puede determinar de las siguientes formas:

8.6.3.1 Para un cálculo aproximado, multiplicar por 0,675 la cantidad de lactosa obtenida, por determinación separada y restar el resultado obtenido de la cantidad en azúcares reductores.

8.6.3.2 Para el cálculo preciso de azúcares reductores, excluyendo la lactosa, es necesario partir de la misma muestra (8.4.1) para las dos determinaciones finales. Uno de los análisis es efectuado a partir de la solución obtenida en (8.4.1), y el otro, sobre una parte de la solución obtenido para la valoración de la lactosa según el método para la determinación de lactosa.

En los casos (8.6.3.1 y 8.6.3.2) la cantidad de azúcares presentes se determina según el método de Luff-Schoorl, expresado en mg de glucosa.

La diferencia entre los dos valores se expresa en tanto por ciento de la muestra.

8.7 Referencias.

1. «Journal Officiel des Communautés Europèennes». Núm. L 155/32 - 1971.

Tabla 1

Para 25 ml de reactivo Luff-Schoorl

$Na_2S_2O_3$ 0,1 N	Glucosa, fructosa azúcares invertidos $C_6H_{12}O_6$		Lactosa $C_{12}H_{22}O_{11}$		Maltosa $C_{12}H_{22}O_{11}$	
ml	mg	Diferencia	mg	Diferencia	mg	Diferencia
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
23	62,2		88,0		94,6	

9. *Cloruros*

9.1 Principio.

Los cloruros se solubilizan en agua, defecándose la solución si contienen materias orgánicas, posterior acidificación de la misma con ácido nítrico y precipitación de los cloruros con nitrato de plata. El exceso de nitrato se valora con una solución de sulfocianuro de amonio.

9.2 Material y aparatos.

9.2.1 Agitador de 35 a 40 r.p.m.

9.3 Reactivos.

9.3.1 Solución de sulfocianuro de amonio 0,1 N.

9.3.2 Solución de nitrato de plata 0,1 N.

9.3.3 Solución saturada de sulfato amónico-férrico.

9.3.4 Acido nítrico, d = 1,38.

9.3.5 Eter etílico.

9.3.6 Acetona.

9.3.7 Solución de Carrez I: Disolver en agua 24 g de acetato de cinc Zn $(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2)$ y 3 g de ácido acético glacial. Completar hasta 1.000 ml con agua.

9.3.8 Solución de Carrez II: Disolver en agua 10,6 g. de ferrocianuro de potasio K_4 $[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$. Completar a 100 ml. con agua.

9.3.9 Carbón activo, exento de cloruros.

9.4 Procedimiento.

Pesar con precisión de 1 mg, aproximadamente, 5 g de muestra e introducirla con 1 g de carbón activo en un matraz aforado de 500 ml. Añadir 400 ml de agua a 20°C aproximadamente y 5 ml de solución de Carrez I, agitar y añadir seguidamente 5 ml de la solución de Carrez II. Agitar durante treinta minutos, enrasar, homogeneizar y filtrar.

Tomar de 25 a 100 ml de filtrado (con contenido en cloruro inferior a 150 mg) e introducirlo en un erlenmeyer, diluir si es necesario, hasta 50 ml con agua. Añadir 5 ml de ácido nítrico, 20 ml de solución saturada de sulfato amónico-férrico y dos gotas de la solución de sulfocianuro amónico, añadidas mediante una bureta llena hasta el trazo de cero. Añadir seguidamente mediante una bureta la solución de nitrato de plata hasta un exceso de 5 ml. Añadir 5 ml de éter etílico y agitar fuertemente para recoger el precipitado. Valorar el exceso de nitrato de plata mediante la solución de sulfocianuro amónico hasta que el viraje a rojo oscuro persista durante un minuto.

9.5 Cálculos.

La cantidad de cloro (p) expresada en cloruro de sodio presente en el volumen del filtrado separado para la valoración, viene dada por la fórmula:

$$p = 5{,}845\ (V_1 - V_2)\ \text{mg.}$$

Siendo:

V_1 = Volumen, en ml, de solución de nitrato de plata añadida.
V_2 = Volumen, en ml, de solución de sulfocianuro amónico 0,1 utilizados en la valoración.

Efectuar un ensayo en blanco sin la muestra a analizar, y si consume solución de nitrato de plata 0,1 N restar este valor al volumen $(V_1 - V_2)$.

Expresar el resultado en porcentaje de la muestra.

9.6 Observaciones.

9.6.1 Para los productos ricos en materias grasas, desengrasar previamente mediante éter etílico.

9.7 Referencias.

1. «Journal Officiel des Communautés Europèennes» núm. L 155/23, 1971.

10. *Cinc*

10.1 Principio.

Determinación del cinc por A.A. previa mineralización de la muestra.

10.2 Material y aparatos.

10.2.1 Espectrofotómetro de A.A.
10.2.2 Lámpara de cinc.
10.2.3 Los utilizados para el plomo en (11.2.3), (11.2.4), (11.2.5) y (11.2.6).

10.3 Reactivos.

10.3.1 Los utilizados para el plomo en (11.3.1), (11.3.2) y (11.3.3).
10.3.2 Solución patrón de 1.000 mg de Zn/L. Disolver 1,000 g de Zn puro en el mínimo volumen necesario de ácido nítrico (1:1) y diluir a 1 litro con ácido nítrico del 1 por 100 (v/v).

10.4 Procedimiento.

10.4.1 Preparación de la muestra.
Como en (11.4.1).
10.4.2 Construcción de la curva patrón.
Diluir partes alícuotas de la solución patrón (10.3.2), con el ácido nítrico al 1 por 100, para obtener soluciones de 0,5; 1,5 y 2 mg/L.
10.4.3 Determinación.
Igual que para el plomo. La lectura se efectuará a 213,5 nm.

10.5 Cálculos.

Partiendo de los valores de absorbancias obtenidos, hallar las concentraciones de Zn para la muestra, teniendo en cuenta el factor concentración o dilución.

10.6 Referencias.

1. H. E. Parker: «Atomic Absorption Newsletter» (1963), 13.

11. *Plomo*

11.1 Principio.

Determinación del plomo por A.A. previa mineralización de la muestra.

11.2 Material y aparatos.

11.2.1 Espectrofotómetro de A.A.
11.2.2 Lámpara de plomo.
11.2.3 Cápsulas de platino, cuarzo o similar.
11.2.4 Baño de arena o placa calefactora.
11.2.5 Horno eléctrico (mufla) con dispositivo de control de temperatura.

11.3 Reactivos.

11.3.1 Acido nítrico del 70 por 100 (d = 1,413).
11.3.2 Acido nítrico al 1 por 100 en agua destilada (v/v).
11.3.3 Solución patrón de 1.000 mg de Pb/l. Disolver 1,598 g de $(NO_3)_2Pb$ enrasando a 1.000 mL con ácido nítrico al 1 por 100.

11.4 Procedimiento.

11.4.1 Preparación de la muestra:

Poner 10 g de la muestra en la cápsula (11.2.3), llevar sobre la placa calefactora teniendo cuidado de que la combustión no sea demasiado rápida, de manera que no haya pérdidas de materia sólida por proyección. Añadir a continuación 2 ml de ácido nítrico y carbonizar el residuo en el baño de arena o placa calefactora.

Seguidamente introducir la cápsula en la mufla y mantenerla a 450 °C hasta mineralización total (11.6.1). Dejar enfriar. Disolver a continuación las cenizas con ácido nítrico concentrado y agua destilada. Llevar la solución a un matraz de 10 ml, lavar la cápsula con agua destilada y añadir las aguas de lavado hasta el enrase, filtrando posteriormente.

11.4.2 Construcción de la curva patrón:

Diluir alícuotas apropiadas de la solución patrón (11.3.3) con el ácido nítrico necesario para que su concentración sea similar a la dilución final de la muestra para obtener una curva de concentraciones 1,2 y 3 mg/l.

11.4.3 Determinación:

Operar según las especificaciones del aparato; usando llama de aire-acetileno. Medir las observancias de la muestra y patrones a 283 nm. Si la solución está muy concentrada, diluirla con ácido nítrico al 1 por 100.

11.5 Cálculos.

Calcular el contenido en plomo, expresado en mg/L, mediante comparación con la correspondiente curva patrón y teniendo en cuenta el factor de dilución.

11.6 Observaciones.

En caso de que la muestra no esté totalmente mineralizada añadir unas gotas de ácido nítrico concentrado y repetir el proceso.

11.7 Referencias.

1. Métodos Oficiales de Análisis de Vinos. Ministerio de Agricultura, pág. 134 (I), 1976. Orden de 31 de julio de 1979 sobre productos derivados de la uva («Boletín Oficial del Estado» de 30 de agosto).

12. *Mercurio*

12.1 Principio.

Determinación de mercurio por absorción atómica con técnica de vapor frío, previa digestión de la muestra.

12.2 Material y aparatos.

12.2.1 Balanza de precisión.
12.2.2 Espectrofotómetro de absorción atómica.
12.2.3 Lámpara de mercurio.
12.2.4 Cámara de absorción con ventanas de cuarzo aplicable al espectrofotómetro.
12.2.5 Equipo de reducción del ión mercurio a mercurio metálico y de arrastre hasta la cámara de absorción, incluyendo sistema de desecación.
12.2.6 Registrador gráfico de voltaje y velocidad de carta variable.
12.2.7 Material de vidrio corriente de laboratorio lavado con ácido nítrico (1:1) y enjuagado con agua destilada.
12.2.8 Bloque de digestión con temperatura programable.
12.2.9 Tubos de digestión para el bloque anterior.
12.2.10 Tubo de condensación adaptables a los tubos de digestión.

12.3 Reactivos.

12.3.1 Acido sulfúrico 95-97 por 100 (d = 1,84).
12.3.2 Agua oxigenada 18 por 100 p/V.
12.3.3 Acido nítrico 70 por 100 (d = 1,41).
12.3.4 Cloruro estannoso (exento de mercurio) 10 por 100.
12.3.5 Agua destilada.
12.3.6 Solución patrón de mercurio concentrada de 1.000 mg/l. Disolver 0,1354 de cloruro mercúrico en 75 ml de agua desionizada, añadir 10 ml de ácido nítrico y ajustar el volumen a 100 ml.
12.3.7 Solución patrón de mercurio de 0,1 mg/l se obtiene de la anterior por sucesivas disoluciones con agua desionizada. Debe prepararse, al igual que las soluciones intermedias, diariamente.

12.4 Procedimiento.

12.4.1 Preparación de la muestra:

Colocar de 3 a 5 g de muestra en un tubo digestor (12.2.95 acoplado a éste un tubo de condensación (12.2.10). Añadir 10 ml de ácido sulfúrico a incrementos de 1 ml (la muestra se carboniza; pero, si el ácido se añade lentamente, de modo que la temperatura de la solución permanezca baja y se toma la precaución de que no se formen masas de carbón, el mercurio queda en solución). Añadir 10 ml de agua oxigenada (12.3.2) a incrementos de 1 ml. Dejar reaccionar antes de añadir el siguiente incremento. Añadir 10 ml de ácido nítrico a incrementos de 1 ml. Lavar los condensadores con agua destilada y retirarlos.

12.4.2 Digestión de la muestra:

Colocar los tubos de digestión en el bloque calefactor y calentar a 100°C. Mantener esta temperatura durante seis minutos. Aumentarlo entonces hasta 200°C, a razón de 4°C/minuto. Retirar los tubos del bloque y dejar enfriar. Transferir las soluciones a matraces de 100 ml y enrasar con agua destilada.

12.4.3 Determinación:

Se analiza la muestra por la técnica de vapor frío A.A., según las instrucciones propias de cada aparato, utilizando cloruro estannoso como agente reductor (12.3.4), siendo la longitud de onda de medida 254 nm.

12.4.4 Construcción de la curva patrón:

Se obtiene representando en abcisas los contenidos en mercurio de los patrones preparados con alícuotas de 0; 0,5; 1,0; 2,0; 5,0 y 10 ml de solución patrón de 0,1 mg/l de forma que contengan de 0 a 1 mg de mercurio y, en ordenadas, la altura de los correspondientes máximos de absorción. Dichos patrones se habrán sometido al mismo procedimiento que las muestras.

12.5 Cálculos.

Calcular el contenido en mercurio refiriéndolos a la curva patrón obtenida previamente y operando en idénticas condiciones.

$$\text{mg de Hg/Kg} = \frac{L}{P}$$

Siendo:

L = La lectura obtenida a partir de la gráfica expresada en microgramos.

P = Peso, en gramos, de la muestra.

12.6 Referencias.

1. Munns y Holland: JAOAC, 60, 833-837, 1977.
2. Marts y Blahc: JAOAC, vol. 66, núm. 6, 1983.
3. AOAC, Métodos oficiales de análisis, 1980.

13. *Cobre*

12.1 Principio.

Determinación del cobre por A.A. previa mineralización de la muestra.

13.2 Material y aparatos.

13.2.1 Espectrofotómetro de A.A.

13.2.2 Lámpara de cobre.

13.2.3 Los utilizados para el plomo en (11.2.3), (11.2.4) y (11.2.5).

13.3 Reactivos.

13.3.1 Los utilizados para el plomo en (11.3.1) y (11.3.2).

13.3.2 Solución patrón de 1.000 mg de Cu/L. Disolver 1,000 g de Cu puro en el mínimo volumen necesario de NO_3H (1:1) y diluir a 1 litro con ácido nítrico del 1 por 100 (v/v).

13.3.3 Determinación. Igual que para el plomo. Medir a 324,7 nm.

13.4 Cálculos.

Partiendo de los valores de absorbancia obtenidos para la muestra, hallar mediante la curva patrón las concentraciones de cobre de la muestra.

13.5 Referencias.

1. H. E. Parker: «Atomic Absorption Newsletter» (1963), 13.
2. F. Rousselet: «Spectrophotometrie pour l'absorption atomique Boudin». Ed. París (1968), pág. 59-144.

14. *Arsénico*

14.1 Principio.

La muestra se somete a una digestión ácida con una mezcla de ácido nítrico y sulfúrico.

La determinación del arsénico se realiza por espectrofotometría de absorción atómica, con generador de hidruros.

14.2 Material y aparato.

14.2.1 Balanza analítica con precisión de 0,1 mg.

14.2.2 Matraces Kjeldahl de 250 ml.

14.2.3 Espectrofotómetro de absorción atómica equipado con sistema generador de hidruros.

14.2.4 Lámpara de descarga sin electrodos.

14.2.5 Fuente de alimentación para lámpara de descarga sin electrodos.

14.2.6 Registro gráfico.

14.3 Reactivos.

Se utilizan solamente reactivos de grado de pureza para análisis y agua destilada.

14.3.1 Acido clorhídrido (d = 1,19 g/ml).

14.3.2 Disolución de ácido clorhídrico 32 por 100 V/V:

Disolver 32 ml de ácido clorhídrico (d = 1,19 g/ml) con agua destilada hasta un volumen de 100 ml.

14.3.3 Disolución de ácido clorhídrico 1,5 por 100 V/V:

Disolver 15 ml de ácido clorhídrico (d = 1,19 g/ml) con agua destilada hasta un volumen de 1.000 ml.

14.3.4 Acido nítrico (d = 1,40).

14.3.5 Acido sulfúrico (d = 1,84).

14.3.6 Disolución de hidróxido de sodio al 1 por 100:

Pesar 1 g de hidróxido de sodio y disolverlo con agua destilada hasta un volumen de 100 ml.

14.3.7 Disolución de borohidruro de sodio al 3 por 100:

Pesar tres gramos de borohidruro de sodio y disolverlo hasta 100 ml con hidróxido de sodio al 1 por 100.

14.3.8 Disolución de tritiplex III al 1 por 100:

Pesar un gramo de tritiplex III y disolverlo hasta 100 ml con agua destilada.

14.3.9 Disolución de hidróxido de potasio al 20 por 100:

Pesar 20 g de hidróxido de potasio y disolverlo con agua destilada hasta un volumen de 100 ml.

14.3.10 Disolución de ácido sulfúrico al 20 por 100 (V/V):

Diluir 20 ml de ácido sulfúrico (14.3.5) con agua destilada hasta un volumen de 100 ml.

14.3.11 Disolución de ácido sulfúrico al 1 por 100 (V/V):

Diluir 1 ml de ácido sulfúrico (14.3.5) con agua destilada hasta un volumen de 100 ml.

14.3.12 Solución patrón de arsénico de concentración 1 g/l:

Disolver 0,132 g de trióxido de arsénico en 2,5 ml de hidróxido de potasio al 20 por 100 (14.3.9), neutralizar con ácido sulfúrico al 20 por 100 (14.3.10), diluir hasta 100 ml con ácido sulfúrico 1 por 100 (14.3.11).

14.3.13 Solución patrón de arsénico de concentración 10 mg/l:

Pipetear 1 ml de la solución patrón de arsénico (14.3.12), en un matraz aforado de 100 ml. Diluir hasta el enrase con agua destilada.

14.3.14 Solución patrón de arsénico de concentración 0,1 mg/l:

Pipetear 1 ml de la solución de arsénico (14.3.13), en un matraz aforado de 100 ml. Diluir hasta el enrase con agua destilada.

14.4 Procedimiento.

14.4.1 Preparación de la muestra:

En un matraz Kjeldahl de 250 ml introducir 2 g de muestra con 20 ml de ácido nítrico (14.3.4) y 5 ml de ácido sulfúrico (14.3.5). Llevar a ebullición hasta un volumen aproximado de 5 ml.

Dejar enfriar y disolver con agua destilada en un matraz de 50 ml de la solución resultante.

14.4.2 Preparación del blanco y patrones de trabajo:

En un matraz Kjeldahl introducir 5 ml de la solución de arsénico (14.3.14) y someterlo al mismo tratamiento que la muestra.

Un ml de la solución contiene 10 nanogramos de arsénico.

Preparar un blanco con todos los reactivos utilizados siguiendo el tratamiento dado a la muestra.

14.4.3 Condiciones del espectrofotómetro:

Encender la fuente de alimentación de las lámparas de descarga sin electrodos con el tiempo suficiente para que se estabilice la energía de la lámpara.

Encender el espectrofotómetro, ajustar la longitud de onda a 193,7 nm, colocando la rejilla de acuerdo con las condiciones del aparato.

Encender el generador de hidruros, colocando la temperatura de la celda a 900 °C, esperando hasta que se alcance dicha temperatura.

Se ajustan las condiciones del generador de hidruros según las especificaciones del aparato.

Ajustar el flujo de Argón de acuerdo con las características del aparato.

Encender el registrador.

14.4.4 Determinación:

Las determinaciones de la concentración de arsénico se realizan por el método de adición de patrones, por medio de medidas duplicadas en el espectrofotómetro en las condiciones especificadas en (14.4.3), añadiendo al matraz de reacción 3 ml de la solución (14.3.8), usando como reductor la solución (14.3.7). Como patrones internos se usan 10, 20 y 50 ng de As.

Lavar los matraces antes y después de cada uso con ácido clorhídrico al 1,5 por 100 (14.3.3).

Al construir la gráfica de adición hay que descontar el valor de la absorbancia del blanco obtenido en las mismas condiciones anteriores, pero añadiendo 3 ml de la solución blanco.

En estas condiciones el límite de detección de la técnica es de 5 ng.

1153 *ORDEN de 14 de enero de 1988 por la que se aprueba la norma general de identidad y pureza para el cuajo y otras enzimas coagulantes de leche destinados al mercado interior.*

Desde la publicación y puesta en vigor del Código Alimentario Español, hasta los momentos actuales, se ha puesto de manifiesto la necesidad de completar el desarrollo normativo de los diferentes capítulos que lo integran y, en este caso concreto, del capítulo XV;

Considerando además que, en las prácticas tecnológicas para la coagulación de la leche no sólo existe el cuajo, sino que también existen, cada vez más en auge, otras enzimas coagulantes de leche, es aconsejable dictar una disposición que regule estos productos,

En su virtud, previo informe de la Comisión Interministerial para la Ordenación Alimentaria, y a propuesta de los Ministros de Economía y Hacienda, de Agricultura, Pesca y Alimentación y de Sanidad y Consumo,

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

Primero.–Se aprueba la norma general de identidad y pureza para el cuajo y otras enzimas coagulantes de leche destinados al mercado interior, que figura en el anexo de esta disposición.

Segundo.–La toma de muestras y las determinaciones analíticas se realizarán de acuerdo con los métodos oficiales vigentes.

Tercero.–Los Departamentos competentes velarán por el cumplimiento de lo dispuesto en la presente Orden a través de sus órganos administrativos encargados, que coordinarán sus actuaciones, en todo caso, sin perjuicio de las competencias que corresponda a las Comunidades Autónomas y a las Corporaciones Locales.

Cuarto.–La presente Orden entrará en vigor a los seis meses de su publicación en el «Boletín Oficial del Estado».

Madrid, 14 de enero de 1988.

ZAPATERO GOMEZ

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

ANEXO

Norma general de identidad y pureza para el cuajo y otras enzimas coagulantes de leche destinados al mercado interior

1. *Nombre de la norma*

Norma general de identidad y pureza para el cuajo y otras enzimas coagulantes de leche.

2. *Objeto de la norma*

Esta norma tiene por objeto definir las condiciones y características que deben reunir el cuajo y otras enzimas coagulantes de leche para su comercialización en el mercado interior.

3. *Ambito de aplicación*

La presente norma se aplica al cuajo y a otras enzimas coagulantes de leche destinados a su comercialización en el mercado interior.

4. *Definiciones*

4.1 Enzimas coagulantes de leche son los de origen animal, vegetal o microbiano y sus mezclas capaces de provocar el desdoblamiento de la molécula de caseína, bajo las condiciones tecnológicas habituales en el proceso al que van destinados.

Se clasifican en:

4.1.1 Cuajo: Es el producto líquido, pastoso o sólido, cuyo componente activo está constituido por la mezcla de las enzimas obtenidas por extracción de los cuajares de rumiantes exclusivamente.

4.1.2 Coagulante de leche: Es el producto líquido, pastoso o sólido, cuyo componente activo está constituido por otra(s) enzima(s) diferente(s) de los incluidos en 4.1.1.

4.2 Título: Es la indicación de la actividad coagulante (AC) de las enzimas presentes, expresada en unidades de coagulación (UC) de acuerdo con el método y técnica FIL 110.

5. *Denominaciones*

5.1 Se denominará «extracto de cuajo» a aquellas preparaciones que, ajustándose a lo definido en 4.1.1, presentan una actividad coagulante (AC) debido a quimosina, igual o mayor la 75 por 100 de la AC total,

5.2 Se denominará «cuajo» a aquellas preparaciones que, ajustándose a lo definido en 4.1.1, presenten una actividad coagulante (AC) debido a quimosina, entre el 75 y 25 por 100 de la AC total.

5.3 Se denominará «cuajo bovino» a aquellas preparaciones que, ajustándose a lo definido en 4.1.1, presenten una actividad coagulante (AC) debido a quimosina, igual o menor al 25 por 100 de la AC total.

5.4 Se denominará «coagulante de leche» a cualquier otra preparación que, cumpliendo la presente norma, se ajuste a lo dispuesto en 4.1.2. La palabra «coagulante de leche» deberá ir seguida por las expresiones «animal», «vegetal» o «microbiano», de conformidad con el o los orígenes de las enzimas que contenga la preparación.

Debajo se indicará:

- La especie, en el caso de origen animal.
- El género y la especie, en el caso de origen vegetal.
- El género y la especie, en el caso de origen microbiano.

5.5 En todos los casos la denominación deberá incluir el título expresado de acuerdo con la definición que figura en 4.2 admitiéndose una tolerancia intrínseca al método empleado, de más, menos 15 por 100.

6. *Factores esenciales de composición y calidad*

6.1 Ingredientes esenciales:

- Quimosina, pepsina bovina y otras enzimas coagulantes de leche.
- Cloruro sódico en dosis máxima de 20 por 100 p/v en los líquidos; en los pastosos y sólidos, BPF

6.2 Características físico-químicas:

Humedad máxima del 6 por 100 m/m en el caso de productos sólidos.

7. *Aditivos autorizados*

Las siguientes estipulaciones relativas a los aditivos y sus especificaciones han sido sancionadas por la Subsecretaría del Ministerio de Sanidad y Consumo. Este Ministerio, previo informe de la Comisión Interministerial para la Ordenación Alimentaria, podrá modificar en cualquier momento, mediante la correspondiente Orden, la presente relación de aditivos, en caso de que posteriores conocimientos científicos o técnicos lo aconsejen y para mantener su adecuación a la normativa CEE, siendo permanentemente revisable por razones de salud pública.

7.1 Conservadores:

		Dosis máxima en producto terminado
E-200	Acido sórbico	0,5 por 100 m/m sólos o en conjunto, expresado en ácido sórbico.
E-201	Sorbato sódico	
E-202	Sorbato potásico	
E-203	Sorbato cálcico	
E-210	Acido benzoico	1 por 100 m/m solos o en conjunto, expresado en ácido benzoico.
E-211	Benzoato sódico	
E-212	Benzoato potásico	
E-213	Benzoato cálcico	
E-214	Parahidroxi benzoato de etilo	
E-215	Derivado sódico del éster etílico del ácido parahidroxibenzoico	
E-216	Parahidroxibenzoato de propilos	
E-217	Derivado sódico del éster propílico del ácido parahidroxibenzoico	
E-218	Parahidroxibenzoto de metilo	
E-219	Derivado sódico del éster metílico del ácido parahidroxibenzoico	