371L0250

PRIMERA DIRECTIVA DE LA COMISIÓN

de 15 de junio de 1971

por la que se determinan métodos de análisis comunitarios para el control oficial de los alimentos para animales

(71/250/CEE)

LA COMISIÓN DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS,

Visto el Tratado constitutivo de la Comunidad Económica Europea,

Vista la Directiva del Consejo de 20 de julio de 1970 relativa a la introducción de métodos de toma de muestras y de análisis comunitarios para el control oficial de los alimentos para animales (1) y, en particular, su artículo 2,

Considerando que la Directiva antes mencionada prevé que los controles oficiales de los alimentos para animales dirigidos a comprobar si se respetan las condicionas establecidas en virtud de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas relativas a la calidad y la composición de los alimentos mencionados se efectuarán según métodos de toma de muestras y de análisis comunitarios;

Considerando que es conveniente establecer lo antes posible todos los métodos de análisis necesarios, y que una primera etapa está constituida por el establecimento de los métodos de determinación del ácido cianhídirico, del calcio, de los carbonatos, de las cenizas brutas, de las cenizas insolubles en HCl, del cloro de los cloruros, de la esencia de mostaza, de la lactosa, del potasio, del sodio, de los azúcares, de la teobromina, y de la urea, así como de los métodos de determinación de los alcaloides de los altramuces y de la actividad ureásica de los productos de la soja;

Considerando que las medidas previstas en la presente Directiva se ajustan al dictamen del Comité permanente de la alimentación animal,

HA ADOPTADO LA PRESENTE DIRECTIVA:

Artículo 1

Los Estados miembros dispondrán que los análisis para los controles oficiales de los alimentos para animales, en lo que se refiere a sus contenidos en ácido cianhídrico, calcio, carbonato, cenizas brutas, cenizas insolubles en HCl, cloro de cloruros, esencia de mostaza, lactosa, potasio, sodio, azúcares, teobromina y urea, así como a la determinación de los alcaloides de los altramuces y de la actividad ureásica de los productos de soja, se efectúen según los métodos descritos en el Anexo de la presente Directiva.

Artículo 2

Los Estados miembros aplicarán, a más tardar, el 1 de julio de 1972, las disposiciones legales, reglamentarias o administrativas necesarias para cumplir las disposiciones de la presente Directiva. Informarán de ello inmediatamente a la Comisión.

Artículo 3

Los destinatarios de la presente Directiva serán los Estados miembros.

Hecho en Bruselas, el 15 de junio de 1971.

Por la Comisión

El Presidente

Franco M. MALFATTI

(1) DO nº L 170 de 3. 8. 1970, p. 2.

ANEXO

MÉTODOS DE ANÁLISIS DE LOS COMPONENTES DE LOS ALIMENTOS PARA ANIMALES

1. INTRODUCCIÓN

Los métodos de análisis de los componentes de los alimentos para animales son aplicables, en general, a todos los piensos simples y compuestos. No obstante, determinados alimentos requieren, debido a particularidades inherentes a su composición, modalidades analíticas propias. Estos casos se prevén en «observaciones» en la descripción de los métodos.

Cuando estén indicados dos o más alimentos para la determinación de un mismo componente de un alimento, la elección del método aplicable, salvo indicación en contrario, corresponderá al laboratorio de control; no obstante, se indicará en el boletín de análisis el método empleado.

Preparación de la muestra para análisis

El análisis químico debe hacerse necesariamente sobre una muestra homogénea. Por el contrario, ciertas determinaciones macroscópicas o microscópicas, así como la determinación de la humedad, deben hacerse sobre la muestra en el estado en que se encuentre al llegar al laboratorio. Para tener en cuenta esta doble exigencia, se dividirá la muestra en dos partes. Una de ellas será cortada en el estado en que se encuentra; la otra se preparará para el análisis químico del modo que se indica seguidamente.

Dividir la muestra con ayuda de un aparato mecánico o manualmente, después de haber mezclado cuidadosamente la totalidad en una superficie limpia y seca. En el último caso, es conveniente aplicar el método de los cuartos, que consiste en tomar sucesivamente muestras en dos sectores opuestos. Por último, tomar para el análisis una porción de 100 g aproximadamente y triturar, si es preciso, para que la totalidad pase por un tamiz de malla redonda de 1 mm de diámetro. Introducir inmediátamente esta muestra en un recipiente seco provisto de cierre hermético al aire, y tapar.

Si la muestra está muy húmeda, hay que proceder a una predesecación, para que el grado da humedad se sitúe en un valor comprendido entre el 8 y el 12 %. Con este fin, desecar la muestra a una temperatura adecuada en el tiempo preciso.

Reactivos y aparatos

En la descripción de los métodos de análisis únicamente se indican los instrumentos o aparatos especiales o que exigen normas especiales. Se considera superfluo mencionar todos los aparatos o utensilios que forman parte de la instrumentación corriente de los laboratorios de control.

Por lo demás, cuando se haga referencia a agua para las diluciones o lavados, se entenderá siempre que se trata de agua destilada. Análogamente, cuando se haga referencia a una solución, sin más indicaciones, se entenderá que se trata de una solución en agua destilada.

Expresión de los resultados

El resultado que se mencionará en el boletín de análisis será el valor medio obtenido a partir de dos determinaciones por lo menos. Salvo disposición en contrario, se expresará en porcentaje de la muestra original, tal como haya llegado al laboratorio. El resultado no debe incluir más cifras significativas que lo que permita la precisión del método de análisis.

2. DETERMINACIÓN DEL ÁCIDO CIANHÍDRICO

1. **Objetivo y ámbito de aplicación**

El método permite determinar el contenido en ácido cianhídrico libre y combinado en forma de glucósidos de la alimentación animal y, en particular, de los productos de semillas de lino, de harina de mandioca y de determinadas especies de judías.

2. **Principio**

La muestra se suspende en el agua. El ácido cianhídrico se libera bajo la acción de fermentos, se arrastra por destilación al vapor de agua y se recoge en un volumen determinado de solución de nitrato de plata acidificada. El cianuro de plata se separa por filtrado y el exceso de nitrato de plata se valora mediante una solución de tioacinato al amonio.

3. **Reactivos**

3.1. Suspensión de almendras dulces: triturar 20 almendras dulces limpiadas en 100 ml de agua a una temperatura de 37 a 40 °C. Comprobar la ausencia de ácido cianhídrico sobre 10 ml de la suspensión, con ayuda de un papel picro-sódico o efectuando una prueba en blanco como se indica en 5 en el último apartado.

3.2. Solución al 10 % (p/v) de acetato de sodio, neutro a la fenolftaleína.

3.3. Emulsión de antiespuma (silicona, por ejemplo).

3.4. Acido nítrico, d: 1,40.

3.5. Solución de nitrato de plata: 0,02 N.

3.6. Solución de tiocianato de amonio: 0,02 N.

3.7. Solución saturada de sulfato de amonio férrico.

3.8. Amoniaco, d: 0,958.

4. **Equipo**

4.1. Estufa provista de un termostato regulado a 38 °C.

4.2. Aparato de destilación por producción al vapor de agua provisto de un refrigerante con alargadera curvada.

4.3. Matraces de fondo plano de 100 ml de tapón esmerilado.

4.4. Baño de aceite.

4.5. Bureta graduada a 1/20 ml.

5. **Método operatorio**

Pesar, con precisión de 5 mg, 20 g de la muestra, introducirlos en un matraz de 1 l de fondo plano y añadir 50 ml de agua y 10 ml de suspensión de almendras dulces (3.1). Tapar el matraz y mantenerlo durante dieciséis horas en la estufa a 38 °C. Refrigerar a continuación a la temperatur ambiente y añadir 80 ml de agua, 10 ml de solución de acetato de sodio (3.2) y una gota de emulsión antiespuma (3.3).

Conectar el matraz al aparato de destilación al vapor y situarlo en un baño de aceite praviamente llevado a una temperatura ligeramente superior a 100 °C. Destilar de 200 a 300 ml de líquido haciendo pasar en el matraz una poderosa corriente de vapor y calentando suavemente el baño de aceite. Recoger el destilado en un erlenmeyer situado al resguardo de la luz y que contenga 50 ml exactamente de solución de nitrato de plata 0,02 N (3.5) y 1 ml de ácido nítrico (3.4) Prestar atención para que la alargadera del refrigerante se sumerja en la solución de nitrato de plata.

Trasvasar el contenido del erlenmeyer a un matraz aforado de 500 ml, completar el volumen con agua, agitar y filtrar. Tomar 250 ml del filtrado, añadir 1 ml aproximadamente de solución de sulfato de amonio férrico (3.7) y valorar en retroceso el exceso de nitrato de plata por la solución de tiocianato de amonio 0,02 N (3.6) suministrada por la bureta graduada a 1/20 ml.

Efectuar en el caso en que fuera necesario un ensayo en blanco aplicando el mismo método operatorio a 10 ml de suspensión de almendras blandas (3.1), a falta de muestra para analizar.

6. **Cálculo de los resultados**

Si la prueba en blanco indica un consumo de la solución de nitrato de plata 0,02 N, sustraer este valor del volumen consumido por el destilado de la muestra.

1 ml de $AgNO_3$ 0,02 N corresponde a 0,54 mg de HCN. Expresar el resultado en porcentaje de la muestra.

7. **Observaciones**

Si la muestra contiene una cantidad importante de sulfuros (judías, po ej.), se forma un precipitado negro de sulfuro de plata que se filtra con el sedimento de cianuro de plata. La formación de este precipitado entraña una pérdida de solución de nitrato de plata 0,02 N cuyo volumen debe sustraerse del volumen tomado en consideración para el cálculo del contenido en HCN. Con tal fin, proceder como se indica a continuación.

Tratar el sedimento sobre el filtro por 50 ml de amoniaco (3.8) para disolver el cianuro de plata. Lavar el residuo mediante amoniaco diluido y proceder a la determinación de su contenido en plata. Convertir el valor obtenido en ml de solución de nitrato de plata 0,02 N.

El contenido en HCN de la muestra puede determinarse igualmente mediante titulación del filtrado amoniacal acidificado por el ácido nítrico.

---

3. DETERMINACIÓN DEL CALCIO

1. **Objetivo y ámbito de aplicación**

El método permite determinar el contenido en calcio total de los alimentos para animales.

2. **Principio**

La muestra se incinera, las cenizas se tratan con ácido clorhídrico y el calcio se precipita en forma da oxalato de calcio. Después de disolver el precipitado en el ácido sulfúrico, el ácido oxálico formado se titula mediante una solución de permanganato de potasio.

3. **Reactivos**

3.1. Ácido clorhídrico p.a., d: 1,14.

3.2. Ácido nítrico p.a., d: 1,40.

3.3. Ácido sulfúrico p.a., d: 1,13.

3.4. Amoniaco p.a., d: 0,98.

3.5. Solución saturada en frío de oxalato de amonio p.a.

3.6. Solución al 30 % (p/v) de ácido cítrico p.a.

3.7. Solución al 5 % (p/v) de cloruro de amonio p.a.

3.8. Solución al 0,04 % (p/v) de verde de bromocresol.

3.9. Solución de permanganato de potasio 0,1 N.

4. **Equipo**

4.1. Horno eléctrico, de circulación de aire y termostato.

4.2. Crisoles de incineración de platino, cuarzo o porcelana.

4.3. Crisoles filtrantes de cristal, porosidad G_4.

5. **Método operatorio**

Pasar, con precisión de 1 mg, aproximadamente 5 g de la muestra (o más si fuera necesario), calcinarlos a 550 °C y trasvasar las cenizas a un vaso de 250 ml. Añadir 40 ml de ácido clorhídrico (3.1), 6 ml de agua y algunas gotas de ácido nítrico (3.2). Llevar a ebullición y mantenerla durante treinta minutos. Refrigerar, trasvasar la solución a un matraz aforado de 280 ml. Lavar, completar el volumen hasta enrasar con el indicador de nivel con agua, homogeneizar y filtrar.

Tomar con una pipeta, según el contenido supuesto en calcio, una cantidad alícuota que contenga de 10 a 40 mg de calcio e introducir en un vaso de 250 ml. Añadir 1 ml de solución de ácido cítrico (3.6) y 5 ml de solución de cloruro de amonio (3.7). Completar el volumen a 100 ml aproximadamente mediante agua. Llevar a ebullición, añadir de 8 a 10 gotas de solución de verda de bromocresol (3.8) y 30 ml de solución caliente de oxalato de amonio (3.5). Si aparece un precipitado, disolverlo mediante adición de algunas gotas de ácido clorhídrico (3.1)

Neutralizar a continuación muy lentamente mediante amoniaco (3.4), agitando constantemente, hasta la obtención de un pH del orden de 4,4 a 4,6 (virado del indicador). Colocar el vaso en un baño de agua hirviendo, mantenerlo durante treinta minutos para dejar reposar el precipitado que se haya formado. Retirar el vaso del baño de agua. Dejar reposar durante una hora y filtrar en un crisol filtrante G_4.

Lavar el vaso y el crisol con agua hasta eliminar el exceso de oxalato de amonio (la ausencia de cloruro en las aguas de lavado indica que el lavado ha sido suficiente).

Disolver el precipitado sobre el filtro mediante 50 ml de ácido sulfúrico (3.3) caliente. Lavar el crisol con agua caliente y llevar el filtrado a 100 ml aproximadamente. Llevar la temperatura a 70-80 °C y titular gota a gota mediante la solución de permanganato de potasio (3.9) hasta la obtención de una coloración rosa persistente durante un minuto.

6. **Cálculo de los resultados**

1 ml de permanganato de potasio 0,1 N corresponde a 2,004 mg de calcio. Expresar el resultado obtenido en porcentaje de la muestra.

7. **Observaciones**

7.1. Para los contenidos muy bajos en calcio, proceder como se indica a continuación. Filtrar el precipitado de oxalato de calcio sobre un papel filtro sin cenizas. Después de lavarlo, secar el filtro y calcinarlo a 550 °C en un crisol de platino. Recoger el residuo mediante algunas gotas de ácido sulfúrico (3.3), evaporar en seco, calcinar de nuevo a 550 °C y pesar. Si p representa el peso de sulfato de calcio obtenido, el contenido en calcio de la cantidad alícuota tomada = p × 0,2944.

7.2. Si la muestra está constituida únicamente por materias minerales, proceder a la disolución mediante ácido clorhídrico sin previa incineración. Para los productos tales como los fosfatos aluminocálcicos, difíciles de disolver en los ácidos, proceder como se indica a una fusión alcalina antes de la disolución. Mezclar íntimamente en un crisol de platino la toma de muestra, con una mezcla de aproximadamente 5 veces su peso, a partes iguales, de carbonato de potasio y carbonato de sodio. Calentar con precaución hasta la fusión completa de la mezcla. Después de enfriar, disolver mediante ácido clorhídrico.

7.3. Si el contenido en magnesio de la muestra es elevado, proceder a una segunda precipitación del oxalato de calcio.

4. DETERMINACIÓN DE LOS CARBONATOS

1. **Objetivo y ámbito de aplicación**

El método permite determinar los carbonatos, convencionalmente expresados en carbonato cálcico, en los alimentos para animales. En determinados casos, sin embargo (carbonato de hierro, por ejemplo), es necesario emplear un método particular.

2. **Principio**

Los carbonatos se descomponen por el ácido clorhídrico; el gas carbónico liberado se recoge en un tubo graduado y su volumen se compara al liberado, en las mismas condiciones, por una cantidad conocida de carbonato cálcico p.a.

3. **Reactivos**

3.1. Acido clorhídrico, d: 1,10.

3.2. Carbonato cálcico p.a.

3.3. Acido sulfúrico 0,1 N aproximadamente, coloreado por rojo de metilo.

4. **Equipo**

Aparato según Scheibler-Dietrich (v. esquema) o aparato similar.

5. **Método operativo**

Según el contenido en carbonatos de la muestra, pesar una toma de muestra tal como se indica a continuación:

0,5 g para los productos que contengan del 50 a 100 % de carbonatos, expresados en carbonato cálcico;

1 g para los productos que contengan del 10 a 50 % de carbonatos, expresados en carbonato cálcico;

2 g a 3 g para el resto de los productos.

Introducir la toma de muestra en el frasco especial (4) del aparato, provisto de un pequeño tubo de material irrompible con 10 ml de ácido clorhídrico (3.1), y conectar el frasco al aparato. Girar el grifo de tres vías (5) de forma que el tubo (1) comunique con el exterior. Con ayuda de un tubo móvil (2), con ácido sulfúrico coloreado en su interior (3.3) y conectado al tubo graduado (1), llevar el nivel del líquido a la graduación cero. Girar el grifo (5), de forma que se pongan en comunicación los tubos (1) y (2), y comprobar el nivel cero.

Dejar correr lentamente el ácido clorhídrico (3.1) sobre la toma de muestra inclinando el frasco (4). Igualar la presión bajando el tubo (2). Agitar el frasco (4) hasta que cese el desprendimiento de gas carbónico.

Restablecer la presión llevando el líquido al mismo nivel en los tubos (1) y (2). Hacer la lectura después de algunos minutos, cuando el volumen gaseoso se haya hecho constante.

Efectuar en las mismas condiciones una prueba de comparación sobre 0,5 g de carbonato cálcico (3.2).

6. **Cálculo de los resultados**

El contenido en g de carbonatos, expresados en carbonato cálcico, por cada cien de muestra vendrá dado por la relación:

$$\frac{V \times 100}{T \times 2P}$$

en el que:

V = ml de CO_2 desprendidos por la toma de muestra.

T = ml de CO_2 desprendidos por 0,5 g de $CaCO_3$ p.a.

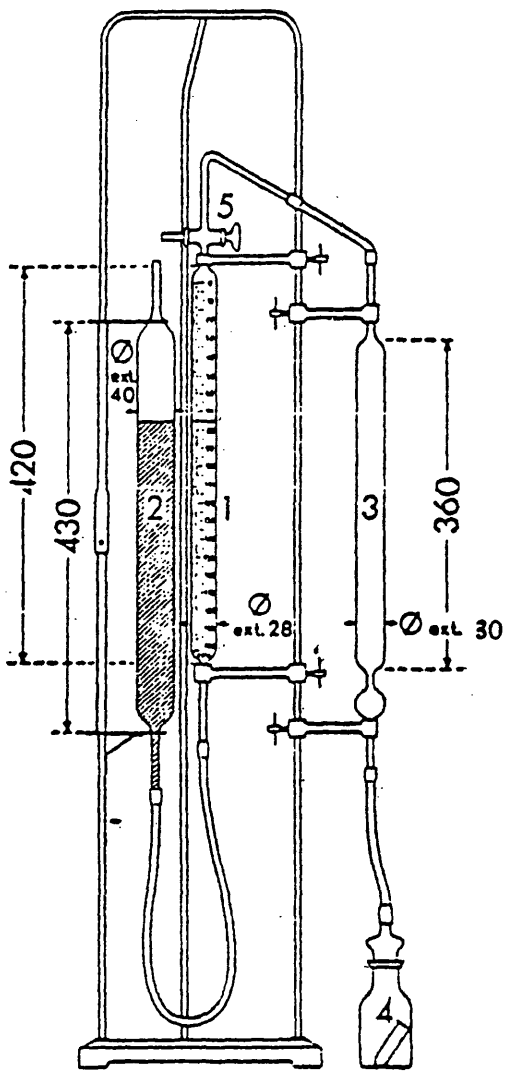
P = peso de la toma de muestra en g.

7. **Observaciones**

7.1. Cuando la muestra sea superior a 2 kg, introducir previamente 15 ml de agua destilada en el frasco (4) y mezclar antes de comenzar la prueba. Emplear el mismo volumen de agua para la mezcla de comparación.

7.2. Si se emplea un aparato de un volumen diferente del de Scheibler-Dietrich, será necesario adaptar a dicho aparato la muestra y la sustancia de comparación así como el cálculo de los resultados.

APARATO SEGUN SCHEIBLER-DIETRICH PARA DETERMINAR EL CO_2



Escala: 1/8

(Medidas en mm)

5. DETERMINACIÓN DE LAS CENIZAS BRUTAS

1. **Objetivo y ámbito de aplicación**

El método permite determinar el contenido en cenizas brutas de los alimentos para animales.

2. **Principio**

La muestra se incinera a 550 °C; el residuo se pesa.

3. **Reactivos**

Solución al 20 % (p/v) de nitrato de amonio.

4. **Equipo**

4.1. Placa calorífera.

4.2. Horno eléctrico, con termostato.

4.3. Crisoles de incineración de platino o de aleación de platino y oro (10 % Pt, 90 % An), rectangulares (60 × 40 × 25 mm) o redondos (diámetro: 60 a 75 mm, altura: 20 a 25 mm).

5. **Método operatorio**

Pesar, con precisión de 1 mg, 5 g aproximadamente de la muestra (2,5 g para los productos que tengan tendencia a hincharse) en un crisol de incineración previamente calcinado y tarado. Situar el crisol sobre la placa carolífera y calentar progresivamente hasta la carbonización de la materia. Introducir el crisol en el horno regulado a 550 °C ± 5 °C. Mantener a dicha temperatura hasta obtener cenizas blancas, gris claro o rojizas, aparentemente desprovistas de partículas carbonosas. Situar el crisol en un desecador, dejar refrigerar y pesar inmediatamente.

6. **Cálculo de los resultados**

Calcular el peso del resíduo deduciendo la tara.

Expresar el resultado en porcentaje de la muestra.

7. **Observaciones**

7.1. Las cenizas de las materias difíciles de quemar deben someterse a una primera incineración de tres horas al menos, refrigerarse y añadirlas algunas gotas de una solución al 20 % de nitrato de amonio (prudentemente, para evitar la dispersió o pegadura de las cenizas). Continuar la calcinación despues de desecar la estufa.

Repetir si fuera necesario la operación hasta la completa incineración.

7.2. Para las materias que resistan el tratamiento indicado en 7.1, operar como se indica a continuación. Después de una incineración de tres horas, recoger las cenizas mediante agua caliente y filtrar sobre un pequeño filtro sin cenizas. Incinerar el filtro y su contenido en el crisol inicial. Llevar el filtrado al crisol refrigerado, evaporar en seco, incinerar y pesar.

7.3. En el caso de aceites y grasas, pesar con exactitud una toma de muestra del orden de 25 g en un crisol de capacidad apropiada. Carbonizar inflamando la materia por medio de una mezcla de papel filtro sin cenizas. Después de la combustión, humedecer mediante el mínimo necesario de agua. Secar e incinerar como se indica en 5.

6. DETERMINACIÓN DE LAS CENIZAS INSOLUBLES EN EL ÁCIDO CLORHÍDRICO

1. **Objetivo y ámbito de aplicación**

El método permite determinar el contenido en materias minerales insolubles en el ácido clorhídrico de los alimentos para animales. Se preven dos procedimientos en función de la naturaleza de la muestra.

1.1. *Procedimiento A:* aplicable a los alimentos orgánicos simples y a la mayor parte de los piensos compuestos completos;

1.2. *Procedimiento B:* aplicable a los compuestos y mezclas mineralas, así como a los piensos compuestos completos cuyo contenido en insoluble clorhídrico, determinado según el procedimiento A, sea superior al 1 %.

2. **Principio**

2.1. *Procedimiento A:* se incinera la muestra, se tratan las cenizas por ebullición mediante el ácido clorhídrico y el residuo insoluble se filtra y se pesa.

2.2. *Procedimiento B:* la mezcla se trata mediante ácido clorhídrico. La solución se filtra, el residuo se incinera y las cenizas obtenidas se tratan como el procedimiento A.

3. **Reactivos**

3.1. Acido clorhídrico 3 N.

3.2. Solución al 20 % (p/v) de ácido tricloracético.

3.3. Solución al 1 % (p/v) de ácido tricloracético.

4. **Equipo**

4.1. Placa calorífera.

4.2. Horno eléctrico, con termostato.

4.3. Crisoles de incineración de platino o de aleación de platino y oro (10 % Pt, 90 % Au), rectangulares (60 × 40 × 25 mm) o redondos (diámetro: 60 a 75 mm, altura: 20 a 25 mm).

5. **Método operatorio**

5.1. *Procedimiento A*

Incinerar la toma de muestra según el método operatorio descrito para la determinación de las cenizas brutas. Se podrán emplear igualmente las cenizas obtenidas al efectuar dicha determinación.

Introducir las cenizas en un vaso de 250 a 400 ml de ácido clorhídrico 3 N (3.1). Llevar el líquido con prudencia a ebullición suave y mantener ésta durante quince minutos. Filtrar la solución caliente sobre un papel de filtro sin cenizas y lavar el residuo con agua caliente hasta la desaparición de reacción ácida. Secar el filtro que contiene al residuo e incinerar en un crisol tarado a una temperatura de 550 °C como mínimo y de 700 °C como máximo. Refrigerar en desecador y pesar.

5.2. *Procedimiento B*

Pesar, con precisión de 1 mg, 5 g de la muestra e introducirlos en un vaso de 250 a 400 ml. Añadir sucesivamente 25 ml de agua y 25 ml de ácido clorhídrico 3 N (3.1), mezclar y esperar el final de la efervescencia. Añadir 50 ml de ácido clorhídrico 3 N (3.1). Esperar al final de un posible desprendimiento de gases, colocar a continuación el vaso en un baño de agua hirviendo y mantenerlo allí curante treinta minutos o más, si fuera necesario, con el fin de hidrolizar completamente el almidón que pueda estar presente.

Filtrar en caliente sobre filtro sin cenizas y lavar el filtro mediante 50 ml de agua caliente (v. observación 7). Colocar el filtro que contiene el residuo en un crisol de incineración, secar e incinerar a una temperatura de 550 °C como mínimo y 700 °C como máximo. Introducir a continuación las cenizas en un vaso de 250 a 400 ml mediante 75 ml de ácido clorhídrico 3 N (3.1); continuar tal como se indica an 5.1, párrafo segundo.

6. **Cálculo de los resultados**

Calcular el peso del residuo deduciendo la tara. Expresar el resultado en porcentaje de la muestra.

7. **Observaciones**

Si la filtración se mostrara difícil, volver a comenzar la determinación sustituyendo los 50 ml de ácido clorhídrico 3 N por 50 ml de ácido trcloracético al 20 % (3.2) y lavando el filtro con ayuda de una solución caliente de ácido tricloracético al 1 % (3.3).

---

7. DETERMINACIÓN DEL CLORO DE LOS CLORUROS

1. **Objetivo y ámbito de aplicación**

El método permite determinar el cloro de los cloruros solubles en el agua, expresado convencionalmente en cloruro de sodio. Es aplicable a los alimentos para animales en conjunto.

2. **Principio**

Los cloruros se disuelven en agua. Si el producto contiene materias orgánicas, se procede a una defecación. La solución se acidifica ligeramente mediante el ácido nítrico y los cloruros se precipitan en forma de cloruro de plata con ayuda de una solución de nitrato de plata. El exceso de nitrato de plata se titula mediante una solución de tiocianato de amonio, según el método de Volhard.

3. **Reactivos**

3.1. Solución de tiocianato de amonio 0,1 N.

3.2. Solución de nitrato de plata 0,1 N.

3.3. Solución saturada de sulfato de amonio férrico.

3.4. Acido nítrico, d: 1,38.

3.5. Eter dietílico p.a.

3.6. Acetona p.a.

3.7. Solución de Carrez I: disolver en agua 24 g de acetato de zinc, $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2\ H_2O$ y 3 g de ácido acético glacial. Completar a 100 ml con agua.

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

3.9. Carbón activo p.a. exento de cloruros y no absorbente.

4. **Equipo**

Mezclador (balancín): de aproximadamente 35 a 40 revoluciones por minuto.

5. **Método operatorio**

5.1. *Preparación de la solución*

Según la naturaleza de la muestra, preparar una solución como se indica en 5.1.1., 5.1.2. o 5.1.3.

Efectuar en paralelo una prueba en blanco exenta de muestra para analizar.

5.1.1. *Muestras exentas de materia orgánica*

Pesar, con precisión de 1 mg, una toma de muestra (no más de 10 g), que no contenga más de 3 g de cloro en forma de cloruros e introducirla en un frasco aforado de 500 ml con 400 ml de agua a 20 °C aproximadamente. Mezclar durante treinta minutos en el balancín, completar al volumen, homogeneizar y filtrar.

5.1.2. *Muestras que contengan materias orgánicas, excepto los productos mencionados en 5.1.3*

Pesar, con precisión de 1 mg, 5 g aproximadamente de la muestra e introducirlos con 1 g de carbón activo en un frasco aforado de 500 ml. Añadir 400 ml de agua a 20 °C aproximadamente y 5 ml de solución de Carrez I (3.7), agitar y añadir a continuación 5 ml de solución de Carrez II (3.8). Mezclar durante treinta minutos en el balancín, completar al volumen, homogeneizar y filtrar.

5.1.3. *Alimentos cocidos, torta y harina de lino, productos ricos en harina de lino y el resto de los productos ricos en mucílagos o en substancias coloidales (por ejemplo, almidón dextrinado)*

Prepara la solución como se indica en 5.1.2. pero no filtrar. Decantar (si fuera necesario, centrifugar), tomar 100 ml del líquido sobrenadante e introducirlos en un matraz aforado de 200 ml. Mezclar con acetona, (3.6) y completar el volumen con dicho disolvente, homogeneizar y filtrar.

5.2. *Titulación*

Introducir mediante la pipeta en un erlenmeyer de 25 a 100 ml del filtrado (según el contenido supuesto en cloro) obtenido en 5.1.1., 5.1.2. o 5.1.3. La porción alícuota no debe contener más de 150 mg de cloro (Cl). Diluir, si fuera necesario, a 50 ml como mínimo con el agua, añadir 5 ml de ácido nítrico (3,4), 20 ml de solución saturada de sulfato de amonio férrico (3.3) y dos gotas de solución de triocianato de amonio (3.1) suministradas mediante una bureta llena hasta la marca de aforo cero. Suministrar a continuación mediante una bureta la solución de nitrato de plata (3.2) de forma que se pueda obtener un exceso de 5 ml. Añadir 5 ml de éter dietílico (3.5) y agitar fuertemente para concentrar el precipitado.

Titular el exceso de nitrato de plata mediante la solución de tiocianato de amonio (3.1) hasta que el virado al ocre persista durante un minuto.

6. Cálculo de los resultados

La cantidad de cloro (p), expresada en cloruro de sodio, presente en el volumen de filtrado tomado para la titulación viene dada por la fórmula siguiente:

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

donde: V_1 = ml de solución de nitrato de plata 0,1 añadidos

V_2 = ml de solución de tiocianato de amonio 0,1 N empleados al efectuar la titulación.

Si la prueba en blanco indica un consumo de solución de nitrato de plata 0,1 N, restar dicho valor del volumen $(V_1 - V_2)$.

Expresar el resultado en porcentaje de la muestra.

7. Observaciones

7.1. La titulación podrá igualmente efectuarse mediante potenciometria;

7.2. Para los productos muy ricos en materias grasas, proceder a un desengrasado previo mediante el éter dietílico o el éter de petroleo;

7.3. Para las harinas de pescado, la titulación puede efectuarse mediante el método de Mohr.

8. DETERMINACIÓN DE LA ESENCIA DE MOSTAZA

1. **Objetivo y ámbito de aplicación**

El método permite determinar el contenido en esencia de mostaza arrastable por el vapor de agua, expresado en isotiocianato de alilo, de la torta de las especies Brassica y Sinapis y de los piensos completos compuestos que la contienen.

2. **Principio**

La muestra se pone en suspensión en agua. Las esencias de mostaza se liberan bajo la acción de fermentos, se arrastran por destilación en presencia de etanol y se recogen en el amoniaco diluido. La solución se trata en caliente con un volumen determinado de solución de nitrato de plata, refrigerado y filtrado. El exceso de nitrato de plata se titula mediante una solución de tiocianato de amonio.

3. **Reactivos**

3.1. Mostaza blanca (Sinapis alba).

3.2. Etanol, del 95 al 96 % (v/v).

3.3. Emulsión de antiespuma (silicona, por ejemplo).

3.4. Amoniaco, d: 0,958.

3.5. Solución de nitrato de plata 0,1 N.

3.6. Solución de tiocianato de amonio 0,1 N.

3.7. Acido nítrico, d: 1,40.

3.8. Solución saturada de sulfato de amonio férrico.

4. **Equipo**

4.1. Matraces de 500 ml, de fondo plano y tapón esmerilado.

4.2. Aparato de destilar provisto de un refrigerante y de un dispositivo de permita evitar el arrastre de gotitas.

5. **Método operatorio**

Pesar, con precisión en 1 mg, 10 g de la muestra, introducirlos en un matraz de 500 ml de fondo plano y añadir 2 g de mostaza blanca triturada finamente (fuente de fermento) (3.1) y 200 ml de agua a 20 °C. Tapar el matraz y mantenerlo durante dos horas aproximadamente a 20 °C agitándolo frecuentemente. Añadir a continuación 40 ml de etanol (3.2) y una gota de emulsión antiespuma (3.3). Destilar 150 ml aproximadamente y recoger el destilado en un matraz aforado de 250 ml que contenga 20 ml de amoniaco (3.4) prestando atención para que la extremidad del refrigerante se sumerja en el líquido. Añadir a la solución amoniacal 50 ml de solución de nitrato de plata 0,1 N (3.5) (o más si fuera necesario), coronar el matraz aforado con un pequeño embudo y calentar la mezcla durante una hora en un baño de agua hirviendo. Dejar enfriar, completar al volumen con agua, agitar y filtrar. Tomar 100 ml del filtrado límpido, añadir 5 ml de ácido nítrico (3.7) y 5 ml aproximadamente de solución de sulfato de amonio férrico (3.8). Titular en retroceso el exceso de nitrato de plata por la solución de tiocianato de amonio 0,1 N (3.6).

Efectuar una prueba en blanco aplicanto el mismo método operatorio a 2 g de mostaza blanca triturada finamente, a falt de la mezcla por analizar.

6. **Cálculo de los resultados**

Sustraer el volumen de solución de nitrato de plata 0,1 N consumido en la prueba en blanco del consumido por la solución de la muestra. El valor obtenido da el número de ml de solución de nitrato de plata 0,1 N consumidos por la esencia de mostaza de la toma de muestra. 1 ml de $AgNO_3$ 0,1 N corresponde a 4,956 mg de isotiocianato de alilo. Expresar el resultado en porcentaje de la muestra.

9. DETERMINACIÓN DE LA LACTOSA

1. Objetivo y ámbito de aplicación

El método permite determinar el contenido en lactosa de los alimentos constituidos en más del 0,5 % por este elemento.

2. Principio

Los azúcares se disuelven en el agua. La solución se somete a la fermentación por la levadura *Saccharomycers cerevisiae,* que deja intacta la lactosa. Previa defecación de la filtración, el contenido en lactosa del filtrado se determina por el método Luff-Schoorl.

3. Reactivos

3.1. Suspensión de *Saccharomycers cerevisiae:* Poner en suspensión 25 g de levadura fresca en 100 ml de agua. La suspensión se conserva una semana como máximo en el refrigerador.

3.2. Solución Carrez I:

Disolver en agua 24 g de acetato de cinc $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2\,H_2O$ y 3 g de ácido acético glacial. Completar a 100 ml con agua.

3.3 Solución de Carrez II: Disolver en agua 10,6 g de ferrocianuro de potasio $K_4\,(Fe\,(CN_6))\cdot 3\,H_2O$. Completar a 100 ml con agua.

3.4. Reactivo según Luff-Schoorl:

Verter, agitando siempre con prudencia, la solución de ácido cítrico (3.4.2) en la solución de carbonato de sodio (3.4.3). Añadir a continuación la solución de sulfato de cobre (3.4.1) y completar a 1 l con agua. Dejar reposar una noche y filtrar. Controlar la normalidad del reactivo así obtenido (Cu 0,1 N; $Na_2\,CO_3$ 2 N). El pH de la solución deberá ser 9,4 aproximadamente.

3.4.1. Solución de sulfato de cobre: Disolver 25 g de sulfato de cobre p.a. $Cu\,SO_4 \cdot 5\,H_2O$, exento de hierro, en 100 ml de agua.

3.4.2. Solución de ácido cítrico:

Disolver 50 g de ácido cítrico p.a. $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ en 50 ml de agua.

3.4.3. Solución de carbonato de sodio: Disolver 143,8 g de carbonato de sodio anhidro p.a. en 300 ml aproximadamente de agua caliente. Dejar enfriar.

3.5. Granulados de piedra pómez hervidos en el ácido clorhídrico, lavados en el agua y secados.

3.6. Solución al 30 % (p/v) de yoduro de potasio.

3.7. Acido sulfúrico 6 N.

3.8. Solución de tiosulfato de sodio 0,1 N.

3.9. Solución de almidón: Añadir una mezcla de 5 g de almidón soluble en 30 ml de agua a 1 l de agua hirviendo. Hacer hervir durante tres minutos, dejar enfriar, añadir si fuera necesario 10 mg de yoduro mercúrico como agente conservador.

4. Equipo

Baño de agua provisto de un termostato, regulado de 38 a 40 °C.

5. Método operatorio

Pesar, con precisión de 1 g, 1 g de la muestra e introducir esta toma de muestra en un matraz aforado. Añadir de 25 a 30 ml de agua. Colocar el matraz durante treinta minutos en un baño de agua hirviendo y refrigerar a continuación a 35 °C aproximadamente. Añadir 5 ml de suspensión de levadura (3.1) y homogeneizar. Dejar reposar el matraz durante dos horas en un baño de agua, a la temperatura de 38 a 40 °C. Refrigerar a continuación hasta 20 °C aproximadamente.

Añadir 2,5 ml de solución de Carrez I (3.2) y agitar durante treinta segundos; añadir a continuación 2,5 ml de solución de Carrez II (3.3) y agitar de nuevo durante treinta segundos. Completar a 100 ml con agua mezclar y filtrar. Tomar con la pipeta una cantidad de filtrado que no exceda de 25 ml y que contenga con preferencia de 40 a 80 mg de lactosa e introducir ésta en un erlenmeyer de 300 ml. Si fuera necesario, completar a 25 ml con agua.

Proceder de la misma manera a un ensayo en blanco en 5 ml de suspensión de levadura (3.1).

Determinar tal como se indica el contenido en lactosa según Luff-Schoorl. Añadir 25 ml exáctamente del reactivo sgún Luff-Schoorl (3.4) y dos granulados de piedra pómez (3.5). Calentar, agitando manualmente, sobre una llama libre de media altura y llevar el líquido a ebullición durante dos minutos aproximadamente. Colocar inmediatamente el erlenmeyer sobre una tela metálica provista de una pantalla de amianto con un agujero de 6 cm de diámetro aproximadamente, bajo la que se ha encendido previamente una llama. Esta se regula de forma que sólo se caliente el fondo del erlenmeyer. Adaptar a continuación un refrigerante a reflujo sobre el erlenmeyer. A partir de este momento, hacer hervir durante diez minutos exáctamente. Refrigerar inmediatamente en agua fría y, después de aproximadamente cinco minutos, titular tal como se indica:

Añadir 10 ml de solución de yoduro de potasio (3.6) er inmediatamente después, y con prudencia (debido al riesgo de formación de espuma abundante), 25 ml de ácido sulfúrico 6 N (3.7). Titular a continuación con la solución de tiosulfato de sodio 0,1 N (3.8) hasta las aparición de una coloración amarilla clara, añadir el indicador al almidón (3.9) y concluir la titulación.

Efectuar la misma titulación sobre una mezcla medida con exactitud de 25 ml de reactivo según Luff-Schoorl (3.4) y 25 ml de agua, después de haber añadido 10 ml de solución de yoduro de potasio (3.6) y 25 ml de ácido sulfúrico 6 N (3.7), sin llevar a ebullición.

6. **Cálculo de los resultados**

Establecer mediante la tabla aneja la cantidad de lactosa en mg que corresponda a la diferencia entre los resultados de las dos titulaciones, expresados en ml de tiosulfato de sodio 0,1 N.

Expresar los resultados en partes de lactosa anhidro por cada cien de la muestra.

7. **Observaciones**

Para los productos que contengan más del 40 por ciento de los azúcares fermentados, emplear más de 5 ml de suspensión de levadura (3.1)

Tabla de valores para 25 ml de reactivo según Luff-Schoorl

ml de $Na_2S_2O_3$ 0,1 N, dos minutos de calentamiento, diez de ebullición

$Na_2S_2O_3$ 0,1 N	Glucosa, fructosa, azucares invertidos $C_6H_{12}O_6$		Lactosa $C_{12}H_{22}O_{11}$		Maltosa $C_{12}H_{22}O_{11}$		$Na_2S_2O_3$ 0,1 N
ml	mg	diferencia	mg	diferencia	mg	diferencia	ml
1	2,4	2,4	3,6	3,7	3,9	3,9	1
2	4,8	2,4	7,3	3,7	7,8	3,9	2
3	7,2	2,5	11,0	3,7	11,7	3,9	3
4	9,7	2,5	14,7	3,7	15,6	4,0	4
5	12,2	2,5	18,4	3,7	19,6	3,9	5
6	14,7	2,5	22,1	3,7	23,5	4,0	6
7	17,2	2,6	25,8	3,7	27,5	4,0	7
8	19,8	2,6	29,5	3,7	31,5	4,0	8
9	22,4	2,6	33,2	3,8	35,5	4,0	9
10	25,0	2,6	37,0	3,8	39,5	4,0	10
11	27,6	2,7	40,8	3,8	43,5	4,0	11
12	30,3	2,7	44,6	3,8	47,5	4,1	12
13	33,0	2,7	48,4	3,8	51,6	4,1	13
14	35,7	2,8	52,2	3,8	55,7	4,1	14
15	38,5	2,8	56,0	3,9	59,8	4,1	15
16	41,3	2,9	59,9	3,9	63,9	4,1	16
17	44,2	2,9	63,8	3,9	68,0	4,2	17
18	47,1	2,9	67,7	4,0	72,2	4,3	18
19	50,0	3,0	71,7	4,0	76,5	4,4	19
20	53,0	3,0	75,7	4,1	80,9	4,5	20
21	56,0	3,1	79,8	4,1	85,4	4,6	21
22	59,1	3,1	83,9	4,1	90,0	4,6	22
23	62,2	3,1	88,0		94,6		23

10. DETERMINACIÓN DEL POTASIO

1. **Objetivo y ámbito de aplicación**

El método permite determinar el contenido en potasio de los alimentos para animales

2. **Principio**

La muestra se incinera y las cenizas se ponen en solución en ácido clorhídrico. El contenido en potasio de la solución se determina por fotometría de llama en presencia de cloruro de cesio y de nitrato de aluminio. La adición de dichas substancias elimina, en una amplia medida, la interferancia de elementos perturbadores.

3. **Reactivos**

3.1. Ácido clorhídrico p.a., d: 1,12.

3.2. Cloruro de cesio p.a.

3.3. Nitrato de aluminio Al $(NO_3)_3 \cdot 9\ H_2O$, químicamente puro.

3.4. Cloruro de potasio p.a., anhidro.

3.5. Solución tampón: disolver en el agua 50 g de cloruro de cesio (3.2) y 250 g de nitrato de aluminio (3.3), completar a 1 l con agua y homogeneizar. Conservar en frascos de material plástico.

3.6. Solución patrón de potasio: disolver en el agua 1,907 g de cloruro de potasio (3.4), añadiendo 5 ml de ácido clorhídrico (3.1), completar a 1 l con agua y homogeneizar. Conservar en frascos de material plástico. 1 ml de dicha solución continen 1,00 mg de potasio.

4. **Equipo**

4.1. Crisoles de incineración de platino, cuarzo o porcelana, en su caso provistos de tapaderas.

4.2. Horno eléctrico, con termostato.

4.3. Fotómatro de llama.

5. **Método operatorio**

5.1. *Análisis de la muestra*

Pesar, como norma general, con precisión de 10 mg, 10 g de la muestra, en un crisol de incineración e incinerar la substancia a 450 °C durante tres horas. Después de refrigerar, transvasar cuantitativamente el residuo de incineración con la ayuda de 250 a 300 ml de agua, y después de 50 ml de ácido clorhídrico (3.1), a un matraz aforado de 500 ml. Después de cesar el posible desprendimiento de gas carbónico, calentar la solución y mantenerla durante dos horas a una temperatura cercana a los 90 °C, agitando de vez en cuando. Dejar refrigerar a la temperatura ambiente, anrasar, agitar y filtrar. Introducir en un matraz aforado de 100 ml una parte alícuota de filtrado que contenga como máximo 1,0 mg de potasio, añadir 10,0 ml de solución tampón (3.5), enrasar con agua y homogeneizar. En presencia de más altos contenidos en potasio, diluir la solución por analizar en proporciones adecuadas, antes de la adición de la solución tampón. El cuadro siguiente se da a título indicativo para una toma de muestras de 10 g aproximadamente.

Contenido supuesto de la muestra en potasio (% K)	Factor de dilución	Parte alícuota en ml de la solución
hasta 0,1	—	50
0,1 a 0,5	—	10
0,5 a 1,0	—	5
1,0 a 5,0	1 : 10	10
5,0 a 10,0	1 : 10	5
10,0 a 20,0	1 : 20	5

Efectuar la medición por fotometría de llama a la longitud de onda de 768 nm. Calcular el resultado con ayuda de la curva de calibrado.

5.2. *Curva de calibrado*

Introducir 10 ml exactamente de la solución de calibrado (3.6) en un matraz aforado de 250 ml, enrasar con agua y homogeneizar. Introducir en matraces aforados de 100 ml exáctamente 5, 10, 15, 20 y 25 ml de dicha solución, que corresponden respectivamente a cantidades de potasio de 0,2, 04, 0,6, 0,8 y 1,0 mg. Completar la serie por un matraz testigo exento de solución de calibrado. Añadir en cada matraz 10,0 ml de solución tampón (3.5), enrasar con agua y homogeneizar. Efectuar las madidas como se indica en 5.1. El trazado de la curva de calibrado es en general lineal hasta una concentración en potasio de 1 mg en 100 ml de solución.

6. **Cálculo de los resultados**

Expresar el resultado en porcentaje de la muestra.

7. **Observaciones**

La adición de solución tampón (3.5) para eliminar la interferencia de elementos perturbadores no es siempre necesaria.

---

11. DETERMINACIÓN DEL SODIO

1. **Objetivo y ámbito de aplicación**

El método permite determinar el contenido en sodio de los alimentos para animales.

2. **Principio**

La muestra se incinera y las cenizas se ponen en solución en el ácido clorhídrico. El contenido en sodio de la solución se determina por fotometría de llama en presencia de cloruro de cesio y de nitrato de aluminio. La adición de estas substancias elimina, en una amplia medida, la interferencia de elementos perturbadores.

3. **Reactivos**

3.1. Acido clorhídrico p.a., d: 1,12.

3.2. Cloruro de cesio, p.a.

3.3. Nitrato de aluminio $Al(NO_3)_3 \cdot 9\ H_2O$, químicamente puro.

3.4. Cloruro de sodio p.a., anhidro.

3.5. Solución tampón: disolver en el agua 50 g de cloruro de cesio (3.2) y 250 g de nitrato de aluminio (3.3), completar a 1 l con agua y homogeneizar. Conservar en frascos de matrial plástico.

3.6. Solución de calibrado de sodio. disolver en el agua 2,542 g de cloruro de sodio (3.4) añadiendo 5 ml de ácido clorhídrico (3.1), completar a 1 l con agua y homogeneizar. Conservar en frascos de material plástico. 1 ml de dicha solución contiene 1,00 mg de sodio.

4. **Equipo**

4.1. Crisoles de incieneración de platino, cuarzo o porcelana, en su caso provistos de tapaderas.

4.2. Horno eléctrico, con termostato.

4.3. Fotómetro de llama.

5. **Método operatorio**

5.1. *Análisis de la muestra*

Pesar, como norma general, 10 g de la muestra con precisión de 10 mg en un crisol de incineración de incinerar la substancia a 450 °C durante tres horas. Evitar el recalentamiento (inflamación). Previo enfriamiento, transvasar cuantitativamante el residuo de incineración con ayuda de 250 a 300 ml de agua, y después con 50 ml de ácido clorhídrico (3.1), a un matraz aforado de 500 ml.

Después de haber cesado el posible desprendimiento de gas carbónico, calentar la solución y mantenerla durente dos horas a una temperatura cercana a 90 °C, agitando de vez en cuando. Dejar refrigerar a la temperatra ambiente, enrasar con agua agitar y filtrar. Introducir en un matraz aforado de 100 ml na parte alícuota del filtrado qe contenga como máximo 1,0 mg de solución tampón (3.5), enrasar con agua y homogeneizar. En presencia de contenidos más altos en sodio, diluir la solución qe deba analizarse en proporciones adecuadas, antes de la adición de la solución tampón. La tabla siguiente se da a título informativo para una toma de muestras de 10 g aproximadamente

Contenido supuesto de la muestra en solución (% Na)	Factor de dilución	Parte alícuota en ml de la solución
hasta 0,1	—	50
0,1 a 0,5	—	10
0,5 a 1,0	—	5
1,0 a 5,0	1 : 10	10
5,0 a 10,0	1 : 10	5
10,0 a 20,0	1 : 20	5

Efectuar la medición mediante fotometría de llama a una longitud de onda de 589 mm.

Calcular el resultado de calibrado.

5.2. *Curva de calibrado*

Introducir 10 ml exáctamente de la solución patrón (3.6) en un matraz aforado de 250 ml, enrasar con agua y homogeneizar. Introducir en matraces aforados de 100 ml exáctamente 5, 10, 15, 20 y 25 ml de dicha solución que corresponda respectivamente a unas cantidades de sodio de 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 y 1,0 mg. Completar la serie mediante un matraz testigo exento de solución patrón. Añadir en cada matraz 10,0 ml de solución tampón (3.5), enrasar con agua y homogeneizar. Efectuar las mediciones como se indica en 5.1. El trazado de la curva de muestro es en general lineal hasta una concentración en sodio de 1 mg en 100 ml de solución.

6. **Cálculo de resultados**

Expresar el resultado en porcentaje de la muestra.

7. **Observaciones**

7.1. Para los productos cuyo centenido en sodio sea superior al 4 %, es preferible incinerar la substancia durante dos horas en un crisol provisto de una tapadera. Después de proceder a un enfriamiento, añadir agua, poner el residuo en suspensión con la ayuda de un hilo de platino, secar e incinerar de nuevo durante dos horas en el crisol provisto de su tapadera.

7.2. Sie la muestra está constituida únicamente por materiales minerales, proceder a la disolución, sin previa incineración.

---

12. DETERMINACIÓN DE LOS AZUCARES

1. **Objetivos y ámbito de aplicación**

El método permite determinar los azúcares reductores y los azúcares totales previa inversión, expresados en glucosa o, en su caso en sacarosa, por conversión con ayuda del factor 0,95. Este método es aplicable a los piensos completos compuestos. Se prevén modalidades especiales para otros alimentos. En su caso, procede determinar por separado la lactosa y tenerlo en cuenta al calcular los resultados.

2. **Principio**

Los azúcares se disuelven en etanol diluido; la solución se defeca mediante los reactivos de Carrez I y II. Tras la eliminación del etanol, se efectúan las determinaciones antes y después de la inversión, según el método de Luff-Schoorl.

3. **Reactivos**

3.1. Etanol al 40 % (v/v), d: 0,948 a 20 °C, llevado al punto de virado de la fenolftaleína.

3.2. Solución de Carrez I:

Disolver en agua 24 g de acetato de cinc Zn $(CH_3COO)_2 \cdot 2\ H_2O$ y 3 g de ácido acético glacial. Competar a 100 ml con agua.

2 H_2O y 3 g de ácido acético glacial. Completar a 100 ml con agua.

3.3. Solución de Carrez II: Disolver en agua 10,6 g de ferrocianuro de potasio K_4 [$Fe(CN_6)$] 3 H_2O. Competar a 100 ml con agua.

3.4. Solución al 0,1 % (p/v) de naranja de metilo.

3.5. Acido clorhídrico 4 N.

3.6. Acido clorhídrico 0,1 N.

3.7. Solución de hidróxido de sodio 0,1 N.

3.8. Reactivo según Luff-Schoorl:

Verter, agitando siempre con prudencia, la solución de ácido cítrico (3.8.2) en la solución de carbonato de sodio (3.8.3). Añadir a continuación la solución de sulfato de cobre (3.8.1) y completar a 1 l con agua. Dejar reposar una noche y filtrar. Controlar la normalidad del reactivo obtenido de esta forma Cu 0,1 N: Na_2CO_32N). El pH de la solución debe ser de 9,4 aproximadamente.

3.8.1. Solución de sulfato de cobre: disolver 25 g de sulfato de cobre p.a., Cu $SO_4 \cdot 5\ H_2O$, exento de hierro, en 100 ml de agua.

3.8.2. Solución de ácido cítrico: disolver 50 g de ácido cítrico p.a. $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$, en 50 ml de agua.

3.8.3. Solución de carbonato de sodio: disolver 143,8 g de carbonato de sodio anhidro p.a. en 300 ml aproximadamente de agua caliente. Dejar enfriar.

3.9. Solución de tiosulfato de sodio 0,1 N.

3.10. Solución de almidón: Añadir una mezcla de 5 g de almidón soluble en 30 ml de agua a 1 l de agua hirviendo. Hacer hervir durante tres minutos, dejar enfriar, añadir en su caso 10 mg de yoduro mercúrico como agente conservador.

3.11. Acido sulfúrico 6 N.

3.12. Solución al 30 % (p/v) de yoduro de potasio.

3.13. Granulados de piedra pómez hervidos en el ácido clorhídrico, lavados con agua y secados.

3.14. Isopentanol.

4. **Equipo**

Mezclador (balancín): aproximadamente de 35 a 40 revoluciones por minuto.

5. **Método operatorio**

5.1. *Puesta en solución*

Pesar, con precisión de 1 mg, 2,5 g de la muestra, e introducirlos en un matraz aforado de 250 ml. Añadir 200 ml de etanol (3.1) y mezclar durante una hora en el belancín. Añadir 5 ml de solución de Carrez (3.3) y agitar de nuevo durante un minuto. Llevar al volumen con etanol (3.1), homogeneizar y filtrar. Tomar 200 ml del filtrado y evaporar alrededor de la mitad del volumen, con el fin de eliminar la mayor parte del etanol. Transvasar cuantitativamente el residuo de evaporación, con la ayuda de agua caliente, a un matraz aforado de 200 ml, refrigerar, llevar el volumen con agua, homogensizar y filtrar si fuera necesario. Dicha solución se empleará para la determinación de los azúcares reductores y, previa inversión, para la determinación de los azúcares totales.

5.2. *Determinación de los azúcares reductores*

Tomar por medio de la pipeta una cantidad de solución que no exceda de 25 ml y que contenga menos de 60 mg de azúcares reductores, expresados en glucosa. Si fuere necesario, completar a 25 ml con agua destilada y determinar el contenido en azúcares reductores según Luff-Schoorl. El resultado se expresará en glucosa por ciento.

5.3. *Determinación de los azúcares totales tras inversión*

Tomar por medio de la pioeta 50 ml de solución y llevarlos en un matraz aforado de 100 ml. Añadir algunas gotas de solución de naranja de metilo (3.4) después, agitando siempre con prudencia, de ácido clorhídrico 4 N (3.5) hasta virado claro al rojo. Añadir 15 ml de ácido clorhídrico 0,1 N (3.6), sumergir el matraz en un baño de agua en fuerte ebullición y mantenerlo allí durante treinta minutos. Refrigerar rápidemente a 20 °C aproximadamente y añadir 15 ml de solución de hidróxido de sodio 0,1 N (3.7). Completar a 100 ml con agua y homogeneizar. Tomar una cantidad que no exceda de 25 ml y que contenga menos de 60 mg de azúcares reductores, expresandos en glucosa. Si fuera necesario, completar a 25 ml con agua destilada y determinar el contenido en azúcares reductores según Luff-Schoorl. El resultado se expresa en glucosa por ciento o, en su caso, en sacarosa, multiplicando por el factor 0,95.

5.4. *Titulación según Luff-Schoorl*

Tomar por medio de la pipeta 25 ml del reactivo según Luff-Schoorl (3.8) y llevarlos a un Erlenmeyer de 300 ml; añadir 25 ml, medidos con exactitud, de la solución defecada de azúcares. Añadir dos granulados de piedra pómez (3.13), calentar, agitando manualmente, sobre una llama libre de altura media y llevar el líquido a ebullición en dos minutos aproximadamente. Colocar inmediatamente el erlenmeyer sobre una tela metálica provista de una pantalla de amianto con un agujero de 6 cm aproximadamente de diámetro, bajo cuya tela se ha encendido previamente una llama. Esta se regula de forma que sólo se caliente el fondo del erlenmeyer. Adaptar a continuación un refrigerante de reflujo sobre el erlenmeyer. A aprtir de este momento, hacer hervir durante diez minutos exáctamente. Refrigerar inmediatamente en agua fría y, después de aproximadamente cinco minutos, titular tal como se indica a continuación:

Añadir 10 ml de solución de yoduro de potasio (3.12) e, inmediatamente después y con prudencia (debido al riesgo de formación de espuma abundante), 25 ml de ácido sulfúrico 6 N (3.11). Titular a continuación por la solución de tiosulfato de sodio 0,1 N (3.9) hasta la aparición de una coloración amarilla clara, añadir el indicador al almidón (3.10) y concluir la titulación.

Efectuar la misma titulación sobre una mezcla exáctamente medida de 25 ml de reactivo según Luff-Schoorl (3.8) y 25 ml de agua, después de haber añadido 10 ml de solución de yoduro de potasio (3.12) y 25 ml de ácido sulfúrico 6 N (3.11) sin llevar a ebullición.

6. Cálculo de los resultados

Establecer con la ayuda de la tabla la cantidad de glucosa en mg correspondiente a la diferencia entre los valores de las dos titulaciones, expresados en ml de tiosulfato de sodio 0,1 N.

Expresar el resultado en porcentaje de la muestra.

7. Métodos operatorios particulares

7.1. Para los alimentos muy ricos en melaza y otros alimentos poco homogéneos, pesar 20 g e introducirlos en un matraz aforado de 1 l con 500 ml de agua. Mezclar durante una hora en el balancín. Defecar por medio de los reactivos de Carrez I (3.2) y II (3.3) tal como se describe en 5.1. empleando, sin embargo, una cantidad 4 veces más elevada de cada reactivo. Llevar al volumen con el etanol al 80 % (v/v).

Homogeneizar y filtrar. Eliminar el etanol tal como se describe en 5.1. En ausencia de almidón dextrinado, llevar al volumen con agua destilada.

7.2. Para las melazas y los alimentos simples, ricos en azúcares y prácticamente exentos de almidón (algarrobos, peladuras desecadas de remolachas, etc.) pesar 5 g introducirlos en un matraz aforado de 250 ml, añadir 200 ml de agua destilada y mezclar durente una hora o más, si fuera necesario, en el balancín. Defecar a continuación por medio de los reactivos de Carrez I (3.2) y II (3.3), tal como se describe en 5.1 llevar al volumen con agua, homogeneizar y filtrar. Para determinar los azúcares totales, actuar tal como se describe en 5.3.

8. **Observaciones**

8.1. Se recomienda añadir aproximadamente 1 ml de isopentanol (3.14) (sin tomar el volumen en consideración) antes de la ebullición con el reactivo de Luff-Schoorl, con el fin de evitar la formación de espuma.

8.2. La diferencia entre el contenido en azúcares totales después de la inversión, expresados en glucosa, y el contenido en azúcares reductores, expresados en glucosa, multiplicada por 0,95, da el contenido en sacorosa por ciento.

8.3. Para determinar el contenido en azúcares reductores, excluida, la lactosa podrán adoptarse dos vías:

9.3.1. Para un cálculo aproximativo, se multiplica por 0,675 el contenido en lactosa establecido para una determinación separada y se resta el resultado obtenido del contenido en azúcares reductores.

8.3.2. Para un cálculo preciso de los aceites reductores, excluida la lactosa, es necesario partir de la misma toma de muestras para las dos determinaciones finales. Uno de los análisis se efectúa sobre una parte en la solución obtenida en 5.1. en otro sobre una parte de la solución obtenida al realizarse la determinación de la lactosa según el método previsto con tal fin (previa fermentación de las otras especies de azúcares y defecación).

En ambos casos, la cantidad de azucar presente se determina según el método de Luff-Schoorl y se calcula en mg de glucosa. Los dos valores se restan el uno del otro y la diferencia se expresa en porcentaje de la muestra.

Ejemplo

Los dos valores tomados corresponden, para cada determinación, a una toma de muestras de 250 mg.

En el primer caso, se consumen 17 ml de solución de tiosulfato de sodio 0,1 N, lo que corresponde a 44,2 mg de glucos, en el segundo caso 11 ml, lo que corresponde a 27,6 mg de glucosa.

La diferencia se eleva a 16,6 mg de glucosa.

El contenido en azúcares reductores (exceptuando la lactosa), calculado en glucosa es pues de:

$$\frac{4 \times 16{,}6}{10} = 6{,}64\ \%$$

Tabla de los valores para 25 ml de reactivo según Luff-Schoorl

ml de $Na_2S_2O_3$ 0,1 N, dos minutos de calentamiento, diez de ebullición.

$Na_2S_2O_3$ 0,1 N	Glucosa, fructosa, azucares in vertidos $C_6H_{12}O_6$		Lactosa $C_{12}H_{22}O_{11}$		Maltosa $C_{12}H_{22}O_{11}$		$Na_2S_2O_3$ 0,1 N
ml	mg	diferencia	mg	diferencia	mg	diferencia	ml
1	2,4	2,4	3,6	3,7	3,9	3,9	1
2	4,8	2,4	7,3	3,7	7,8	3,9	2
3	7,2	2,5	11,0	3,7	11,7	3,9	3
4	9,7	2,5	14,7	3,7	15,6	4,0	4
5	12,2	2,5	18,4	3,7	19,6	3,9	5
6	14,7	2,5	22,1	3,7	23,5	4,0	6
7	17,2	2,6	25,8	3,7	27,5	4,0	7
8	19,8	2,6	29,5	3,7	31,5	4,0	8
9	22,4	2,6	33,2	3,8	35,5	4,0	9
10	25,0	2,6	37,0	3,8	39,5	4,0	10
11	27,6	2,7	40,8	3,8	43,5	4,0	11
12	30,3	2,7	44,6	3,8	47,5	4,1	12
13	33,0	2,7	48,4	3,8	51,6	4,1	13
14	35,7	2,8	52,2	3,8	55,7	4,1	14
15	38,5	2,8	56,0	3,9	59,8	4,1	15
16	41,3	2,9	59,9	3,9	63,9	4,1	16
17	44,2	2,9	63,8	3,9	68,0	4,2	17
18	47,1	2,9	67,7	4,0	72,2	4,3	18
19	50,0	3,0	71,7	4,0	76,5	4,4	19
20	53,0	3,0	75,7	4,1	80,9	4,5	20
21	56,0	3,1	79,8	4,1	85,4	4,6	21
22	59,1	3,1	83,9	4,1	90,0	4,6	22
23	62,2		88,0		94,6		23

13. DETERMINACIÓN DE LA TEOBROMINA

1. **Objetivo y ámbito de aplicación**

El método permite determinar el contenido en teobromina de los subproductos de transformación de granos de cacao.

2. **Principio**

La teobromina se extrae mediante el cloroformo. El extracto se evapora en seco, se pone en solución agua y se trata por un volumen determinado de solución de nitrato de plata.

El ácido nítrico liberado se titula por una solución de hidróxido de sodio.

3. **Reactivos**

3.1. Cloroformo p.a.

3.2 Amoniaco, d: 0,958.

3.3 Sulfato de sodio p.a., anhídrido.

3.4. Solución de hidrócido de sodio 0,1 N.

3.5. Solución de nitrato de plata 0,1 N.

3.6. Solución etanólica al 1 % (p/v) de rojo de fenol.

3.7. Eter dietílico.

4. **Equipo**

Matraces de 500 ml de fondo plano y tapón esmerilado.

5. **Método operatorio**

Pesar, con precisión de 1 mg, una toma de muestras de 10 g como máximo, que no contenga más de 80 mg de teobromina. Introducir la toma en un matraz de 500 ml de fondo plano y tapón esmerilado, añadir 270 ml de cloroformo (3.1) y 10 ml de amoniaco (3.2) Tapar el matraz y agitar enérgicamente durante cinco minutos. Añadir a continuación 12 g de sulfeto de sodio anhidro (3.3), agitar de nuevo y dejar reposar hasta el día siguiente. Filtrar en un erlenmeyer de 500 ml y lavar el residuo con 100 ml de cloroformo (3.1). Destilar el disolvente y eliminar de él los últimos restos en un baño de agua hirviendo. Volver a tomar el extracto por 50 ml de agua y llevar a ebullición.

Refrigerar, neutralizar exactamente por la solución de hidróxido de sodio (3.4) en presencia de 0,5 ml de solución de rojo de fenol (3.6) Añadir a continuación 20 ml de solución de nitrato de plata (3.5). Titular el ácido nítrico liberado por la solución de hicróxido de sodio (3.4) hasta el virado del indicador (pH 7,4).

6. **Cálculo de los resultados**

1 ml de NaOH 0,1 N corresponde a 18 mg de teobromina.

Expresar el resultado en porcentaje de la muestra.

7. **Observaciones**

Los productos cuyo contenido en materias grasas brutas exceda del 8 % deben ser previamente desgrasados por extracción durante seis horas con éter de petróleo (Eb. 40 °C).

14. DETERMINACIÓN DE LA UREA

1. Objetivo y campo de aplicación

El método permite determinar el contenido en urea de los alimentos para animales

2. Principio

La muestra se pone en suspensión en agua en presencia de un defecante. La suspensión se filtra. El contenido en urea del filtrado se determina, tras la adición de 4-dimetilaminobenzaldehido (4-DMAB), por medio de la densidad óptica a la longitud de onda de 420 mm.

3. Reactivos

3.1. Solución de 4-dimetilaminobenzaldehido: disolver 1,6 g de 4-DMAB p.a. en 100 ml de etanol al 96 % y añadir 10 ml de ácido clorhídrico p.a. (D: 1,19). Dicho reactivo se conserva como máximo durante dos semanas.

3.2. Solución de Carrez I:
disolver en agua 24 g de acetato de cinc, $Zn\ (CH_3COO)_2 \cdot 2\ H_2O$ y 3 g de ácido acético glacial. Completar a 100 ml con agua.

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

3.4. Carbón activo p.a., que no absorba la urea (que habrá de controlarse)

3.5. Solución al 0,1 % (p/v) de urea p.a.

4. Equipo

4.1. Mezclador (balancín): de alrededor de 35 a 40 revoluciones por minuto.

4.2. Tubos de ensayo: 160 × 16 mm, de tapones esmerilados.

4.3. Espectrofotómetro.

5. Método operatorio

5.1. *Análisis de la muestra*

Pesar, con precisión de 1 mg, 2 g de la muestra e introducirlos con 1 g de carbón activo (3.4) en un frasco aforado de 500 ml. Añadir 400 ml de agua y 5 ml de las soluciones de Carrez I (3.2) y II (3.3). Mezclar durante treinta minutos en el balancín. Completar al volumen con agua, agitar y filtrar.

Tomar 5 ml de los filtrados límpidos e incoloros, introducirlos en los tubos de ensayo de tapón esmerilado, añadir 5 ml de solución de 4-DMAB (3.1) y mezclar. Colocar los tubos en un baño de agua a 20 °C. Tras quince minutos, medir la densidad óptica de la solución de la muestra al espedtómetro a 420 mm por comparación con la solución del ensayo en blanco de los reactivos.

5.2. *Curva de calibrado*

Tomar volúmenes de 1, 2, 4, 5 y 10 ml de la solución de urea (3.5), introducirlos en los matraces esmerilados de 100 ml y completar al volumen con agua. Tomar 5 ml de cada solución, añadir respectivamente 5 ml de solución de 4-DMAB (3.1) homogeneizar y medir la densidad óptoca como se indica más arriba por comparación con una solución testigo que contenga 6 ml de 4-DMAB y 5 ml de agua, exenta de urea. Trazar la curva de calibrado.

6. Cálculo de los resultados

Determinar la cantidad de urea de la toma de muestra en lo que se refiere a la curva de calibrado.

Expresar el resultado en porcentaje de la muestra.

7. **Observaciones**

7.1. Para los contenidos de urea superiores al 3 %, reducir la muestra de ensayo a 1 g o diluir la solución inicial para que no haya más de 50 mg de urea en 500 ml.

7.2. Para los pequeños contenidos de urea, aumentar la muestra de ensayo, si bien el filtrado debe ser límpido e incoloro.

7.3. Si la muestra contiene compuestos nitrogenados simples, tales como aminoácidos, es conveniente realizar la medida de la densidad óptica a 435 nm.

---

15. DETERMINACIÓN DE LOS ALCALOIDES DE LOS ALTRAMUCES

1. **Objeto y ámbito de aplicación**

El método permite determinar el contenido de alcaloides de las semillas de altramuces.

2. **Principio**

Los alcaloides se disuelven en una mezcla de éter dietílico y cloroformo, y se extraen con ácido clorhídrico. Los alcaloides se precipitan con ácido silico-túngstico, el precipitado se incinera, y se pesa el residuo.

3. **Reactivos**

3.1. Eter dietílico.

3.2. Cloroformo.

3.3. Solución de hidróxido de sodio 4 N.

3.4. Acido clorhídrico 0,3 N.

3.5. Cloruro de sodio p.a.

3.6. Solución al 10 % (p/v) de ácido silico-túngstico $Si\,O_2 \cdot 12\,WO_3 \cdot 26\,H_2O$.

4. **Equipo**

4.1. Agitador mecánico.

4.2. Crisoles de incineración, de platino, cuarzo o porcelana.

4.3. Horno eléctrico.

5. **Método operativo**

Pesar, con precisión de 5 mg, 15 g de la muestra e introducirlos en un recipiente de 200 ml aproximadamente, provisto de tapón esmerilado (p. ej., ampolla de decantar). Añadir 100 ml de éter dietílico (3.1) y 50 ml de cloroformo (3.2) medidos exactamente y enseguida, con ayuda de una bureta graduada, 10 ml de solución de hidróxido sódico (3.3.). Agitar vigorosamente para evitar la formación de aglomerados. Sacudir enseguida varias veces y dejar reposar hasta el día siguiente. Si el líquido sobrenadante no está absolutamente límpido, añadir algunas gotas de agua. Filtrar la capa de éter-cloroformo. Recoger 50 ml de filtrado en un matraz aforado de 50 ml de y transvasarlos cuantitativamente con ayuda de 50 ml de éter dietílico (3.1) en una ampolla de decantar de 150 ml. Extraer 3 veces sucesivamente mediante 20 ml de ácido clorhídrico (3.4); dejar decantar y recoger 1 extracto ácido después de cada extracción. Reunir los extractos ácidos en un vaso de 250 ml y eliminar los últimos residuos de éter y de cloroformo calentado ligeramente. Añadir 1 g aproximadamente de cloruro sódico (3.5), dejar enfriar y precipitar los alcaloides con la solución de ácido silico-túngstico (3.6). Agitar mecánicamente durante treinta minutos.

Dejar reposar durante una noche, filtrar sobre filtro sin cenizas y lavar el precipitado sucesivamente con 2 veces 10 ml y 2 veces 5 ml de ácido clorhídrico (3.4)

Colocar el filtro que contiene el precipitado con un crisol de incineración e incinerar a 900 °C. Dejar refrigerar y pesar.

6. **Cálculo de los resultados**

El contenido en alcaloides de la toma de muestras se obtiene multiplicando el peso de las cenizas por el factor 0,2.

Expresar el resultado en porcentaje de la muestra.

---

16. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD UREASICA DE PRODUCTOS DERIVADOS DE LA SOJA

1. **Objetivo y campo de aplicación**

La prueba permite determinar la actividad de ureasa de los productos derivados de la soja y poner de manifiesto la cocción insuficiente de dichos productos.

2. **Principio**

La actividad ureásica se determina por la contidad de nitrógeno amoniacal liberado por 1 g de producto en un minuto, a 30 °C, a partir de una solución de urea.

3. **Reactivos**

3.1 Acido clorhídrico 0,1 N.

3.2 Solución de hidróxido de sodio 0,1 N.

3.3 Solución tampón de fosfatos 0,05 M conteniendo en 100 ml 4,45 g de fosfato disódico ($Na_2HPO_4 \cdot 2\ H_2O$) y 3,40 g de fosfato monopotásico (KH_2PO_4).

3.4 Solución tamponada de urea, preparada recientemente, conteniendo 30,0 g de urea por 1 000 ml de solución tampón (3.3); pH 6,9-7,0.

4. **Equipo**

4.1 Aparato de titulación potenciométrica o pH-metro muy sensible (0,02 pH), con agitador magnético.

4.2 Baño de agua provisto de un termostato regulado a 30 °C exactamente.

4.3 Tubos de ensayo: 150 × 18 mm, con tapones esmerilados.

5. **Método operatorio**

Triturar (en un molino de café, por ejemplo) 10 g aproximadamente de la muestra, de forma que pase a través de un tamiz de mallas de 0,2 mm. En un tubo de ensayo de tapón esmerilado, pesar, con precisión de 1 mg, 0,2 g de la muestra triturada y añadir 10 ml de la solución tamponada de urea (3.4). Tapar inmediatamente y agitar vigorosamente. Llevar el tubo al baño de agua regulado a 30 °C exactamente y dejarlo allí treinta minutos exáctamente. Inmediatamente después, añadir 10 ml de ácido clorhídrico 0,1 N (3.1), refrigerar rápidamente a 20 °C y transvasar cuantitativamente el contenido del tubo a

un recipiente de titulación, limpiando dos veces con 5 ml de agua. Titular inmediatamente y con rapidez por medio de la solucion de hidróxido de sodio 0,1 N (3.2) por electrometría con la ayuda de un electrodo de cristal, hasta pH 4,7.

Efectuar una prueba en blanco, operando tal como se indica.

Introducir rapida y sucesivamente en un tubo de ensayo de tapón esmerilado una toma de muestras de 0,2 g, pesada con precisión de 1 mg, 10 ml de ácido clorhídrico 0,1 N (3.1) y 10 ml de solución tamponada de urea (3.4). Refrigerar inmediatamente el tubo en agua helada y dejarlo allí treinta minutos. Transvasar a continuación, en las condiciones indicadas anteriormente, el contenido del tubo al recipiente de titulación por medio de la solución de hidróxido de sodio 0,1 N (3.2) hasta pH 4,7.

6. **Cálculo de los resultados**

La actividad ureásica viene dada por la fórmula:

$$\frac{\text{mg N}}{\text{g min.}} \text{ a } 30\,^{\circ}\text{C} = \frac{1{,}4\ (b - a)}{30 \cdot E}$$

donde a = ml de solución de hidróxido de sodio 0,1 N consumidos por la toma de muestras.

b = ml de solución de hidróxido de sodio 0,1 N consumidos por la toma de muestras en blanco.

E = toma de muestras en g.

7. **Observaciones**

7.1. El método es conveniente para una actividad ureásica que pueda alcanzar 1 mg de N/g min a 30 °C. Para productos más activos, la toma de muestras puede reducirse hasta 50 mg.

7.2. Los productos cuyo contenido en materias grasas brutas sobrepase el 10 % deben haber sido desgrasados en frío previamente.