

NOTA IMPORTANTE:

La entidad sólo puede hacer uso de esta norma para si misma, por lo que este documento NO puede ser reproducido, ni almacenado, ni transmitido, en forma electrónica, fotocopia, grabación o cualquier otra tecnología, fuera de su propio marco.

ININ/ Oficina Nacional de Normalización

NORMA CUBANA

NC

383: 2005

**DETERMINACIÓN DE AZUCARES REDUCTORES EN
AZUCARES BLANCOS—MÉTODO VOLUMÉTRICO DE
OFNER MODIFICADO**

The determination of reducing sugars in white sugars—
Ofner's modified volumetric method

ICS: 67.180.10

1. Edición Abril 2005
REPRODUCCIÓN PROHIBIDA

Oficina Nacional de Normalización Calle E No. 261 Vedado, Ciudad de La Habana.
Cuba. Teléfono: 830-0835 Fax: (537) 836-8048 Correo electrónico: nc@ncnorma.cu



Cuban National Bureau of Standards

NC 383: 2005

Prefacio

La Oficina Nacional de Normalización (NC), es el Organismo Nacional de Normalización de la República de Cuba que representa al país ante las Organizaciones Internacionales y Regionales de Normalización.

La elaboración de las Normas Cubanas y otros documentos se realiza generalmente a través de los Comités Técnicos de Normalización. Su aprobación es competencia de la Oficina Nacional de Normalización y se basa en las evidencias del consenso.

Esta Norma Cubana:

- Ha sido preparada por **NC/CTN 49 Azúcares** integrado por las siguientes instituciones:

- ❖ Ministerio del Azúcar.
- ❖ Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente.
- ❖ Ministerio de Comercio Exterior.
- ❖ Ministerio de Comercio Interior.
- ❖ Ministerio de la Industria Alimenticia.
- ❖ Ministerio de Salud Pública.

- Se corresponde con la determinación de azúcares reductores en azúcares blancos por el método modificado de Ofner GS2-6 (2001), que es un método catalogado como oficial por la ICUMSA.

© NC, 2005

Todos los derechos reservados. A menos que se especifique, ninguna parte de esta publicación podrá ser reproducida o utilizada en alguna forma o por medios electrónicos o mecánicos, incluyendo las fotocopias, fotografías y microfilmes, sin el permiso escrito previo de:

Oficina Nacional de Normalización (NC)

Calle E No. 261, Vedado, Ciudad de La Habana, Habana 4, Cuba.

Impreso en Cuba

Índice

Prefacio	2
Indice	3
Introducción	4
1. Alcance y esfera de aplicación	5
2. Definiciones	5
3. Fundamento del método	5
4. Reactivos	6
5. Utensilios e instrumentos	7
6. Procedimiento	8
7. Expresión de los resultados	9
Bibliografía	11

0 Introducción

Los azúcares reductores, en particular la dextrosa y la fructosa, constituyen una de las impurezas principales en los productos involucrados en el proceso de producción de los azúcares blancos; su determinación contribuye a evaluar su comportamiento dentro del proceso. Este método es el oficial de la industria azucarera cubana y está incluido en el Manual de Métodos Analíticos para el Control Unificado. Azúcar Refino. (MACU)

DETERMINACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES EN AZÚCARES BLANCOS—MÉTODO VOLUMÉTRICO DE OFNER MODIFICADO

1 Alcance y esfera de aplicación

Este método mide el poder reductor de soluciones de azúcares blancos que contienen sustancias reductoras, por ejemplo, azúcar invertido en una solución débilmente alcalina de Cu^{++} acomplejado con tartrato. El método es aplicable a azúcares blancos y a todos los azúcares que contengan menos de 0.5 % m/m de humedad.

2 Definiciones

2.1 Azúcares reductores: son mono y oligosacáridos que tienen un grupo aldehídico o cetónico libre los cuales presentan un efecto reductor sobre ciertos agentes oxidantes.

2.2 Azúcar invertido es una mezcla equimolar de glucosa y fructosa.

2.3 Sustancias reductoras: en los productos azucareros constituyen la suma de los azúcares reductores y otras sustancias, definidas por el poder reductor que presentan sobre los reactivos que se utilizan para la determinación de azúcares reductores. Como el contenido de azúcares reductores está, en la mayoría de los casos, expresado como la cantidad equivalente de azúcar invertido, ésta es la cantidad de azúcar invertido que muestra el mismo poder reductor en las condiciones de la reacción.

3 Fundamento del método

El complejo formado entre los iones Cu^{++} y el tartrato de sodio y potasio se reduce por los azúcares reductores a Cu^+ que precipita como Cu_2O . El Cu_2O precipitado se determina por valoración yodimétrica. El Cu_2O es oxidado a Cu^{++} con un exceso de yodo en solución ácida y este exceso es contravalorado con tiosulfato de sodio.

La reacción entre los azúcares reductores y el complejo de Cu^{++} no es estequiométrica. La cantidad de Cu_2O formado depende de las condiciones establecidas para la reacción, las que deben mantenerse estrictamente constantes.

Se ha determinado que 1 ml de solución de yodo 0.01615 mol/L es equivalente a 1 mg de azúcares reductores, una vez que se ha tenido en cuenta la corrección por el efecto reductor de la sacarosa.

La modificación del método original de Ofner, por A. Emmerich, consiste en incluirle las siguientes características del Método del Instituto de Berlín:

La cantidad de cobre en el reactivo de Ofner se aumenta 40 % para extender el límite de medición del método, menor de 20 mg, hasta 25-30 mg.

Se introduce un ensayo en blanco que tiene en cuenta la influencia de las impurezas de los reactivos.

Se incluye un "ensayo en frío" para que las sustancias reductoras contenidas en la muestra, que no son azúcares reductores, formen Cu_2O y éste reaccione con el yodo a temperatura ambiental.

Una de las mayores ventajas del método de Ofner, comparado con el del Instituto de Berlín, consiste en la corrección por el efecto de la sacarosa, que asigna a su poder reductor, valores de sólo 1 mg por cada 1.0 g de sacarosa. Ésta es la mitad del utilizado por el método del Instituto de Berlín y es mucho más constante y fiable.

4 Reactivos

Sólo utilice agua destilada o agua de calidad similar. Todos los reactivos deben ser de calidad analítica o superior, a no ser que se especifique otra cosa.

4.1 Carbón activado pulverizado.

4.2 Pedazos pequeños de piedra pómez o perlas ebullidoras.

4.3 Hidrógenofosfato de disodio dodecahidratado, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$

4.4 Ácido acético glacial, $\rho_{20} = 1.05 \text{ g/ml}$.

4.5 Solución de ácido acético, aprox. 5 mol/L.

4.6 Tartrato de sodio y potasio (Sal de Rochelle o Seignette).

4.7 Sulfato de cobre pentahidratado, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

4.8 Carbonato de sodio.

4.9 Almidón soluble.

4.10 Ácido clorhídrico, aprox. 1 mol/L.

4.11 Ácido clorhídrico, aprox. 2 mol/L.

4.12 Solución de Ofner modificada. Pese 7.0 g de sulfato de cobre pentahidratado (4.7), 10.0 g de carbonato de sodio (4.8), 300 g de tartrato de sodio y potasio (4.6) y 50 g de hidrógenofosfato de disodio dodecahidratado (4.3) en un matraz aforado de 1 000 ml. Disuelva en aprox. 900 ml de agua (si es necesario caliente ligeramente para disolver). Caliente la solución durante 2 horas en un baño de agua hirviente. Enfríe a temperatura ambiental y enrase. Añada aprox. 10 g de carbón activado (4.1) y agite durante 5-10 minutos. Filtre la solución (5.10).

4.13 Solución de yodato de potasio 0.016667 mol/L. Pese 3.5667 g de yodato de potasio, KIO_3 . Trásváselo a un matraz aforado de 1 000 ml, disuelva con agua y enrase.

NOTA: Seque el yodato de potasio durante 3 horas a 100 °C antes de utilizarlo,

4.14 Solución de almidón, indicador para el yodo. Disuelva 1 g de almidón soluble en 100 ml de solución saturada de cloruro de sodio. Hierva la solución durante unos minutos.

4.15 Yoduro de potasio, KI.

4.16 Solución de tiosulfato de sodio 0.03333 mol/L. Diluya una solución de tiosulfato de sodio 0.1 mol/L hasta tres veces su volumen y estandarízela con yodato de potasio. Disuelva 2 g de yoduro de potasio en 10 ml de agua. Añádale 5 ml de ácido clorhídrico aprox. 2 mol/L (4.11) y 10.0 ml de solución de yodato de potasio 0.016667 mol/L (4.13). Cubra el frasco con un vidrio de reloj, agite suavemente y deje la solución en la oscuridad aprox. 30 minutos. Valore el yodo formado con solución de tiosulfato de sodio (4.16) hasta completa decoloración, añada 1 ml de solución de almidón (4.14) inmediatamente antes del punto final. Calcule el factor f_T de la solución de tiosulfato:

$$f_T = \frac{30.96}{V_T}$$

V_T = ml de solución de tiosulfato de sodio utilizados.

NOTA: f_T corrige la concentración de la solución de yodo utilizada al valor de 0.01615 mol/L determinado experimentalmente, para el cual 1 ml corresponde a 1 mg de azúcares reductores.

4.17 Solución de yodo 0.016667 mol/L. Diluya una solución de yodo 0.05 mol/L hasta tres veces su volumen y estandarízela con la solución de tiosulfato de sodio 0.03333 mol/L (4.16). Pipetee 25.0 ml de la solución de yodo en un Erlenmeyer de 300 ml. Añádale 5 ml de ácido acético 5 mol/L (4.5) y, después de agitar suavemente la mezcla, contravalore con la solución de tiosulfato de sodio 0.03333 mol/L (4.16). Añada 1 ml de solución de almidón (4.14) antes de alcanzar el punto final. Calcule el factor f_Y de la solución de yodo:

$$f_Y = \frac{V_T \times f_T}{25}$$

V_T = ml de solución de tiosulfato de sodio utilizados

f_T = factor de corrección de la solución de tiosulfato de sodio

5 Utensilios e instrumentos

5.1 Balanza analítica – que aprecie 0.1 mg.

5.2 Balanza de precisión – que aprecie 0.1 g.

5.3 Buretas - de 50 ml.

5.4 Erlenmeyers - de 300 ml, aproximadamente, preferiblemente con tapa esmerilada.

5.5 Matraces aforados – 1 000 ml y 200 ml.

5.6 Pipetas - de 1 ml, 15 ml y 50 ml.

5.7 Vidrios de reloj – para cubrir los Erlenmeyers.

5.8 Fuente térmica apropiada.

5.9 Baño de agua.

5.10 Papel de filtro.

6 Procedimiento

6.1 Preparación de la muestra. La solución de ensayo no debe contener más de 25 mg de azúcar invertido en 50 ml de solución. Por lo que usualmente debe disolver con agua 40 g de azúcar refino y diluirla hasta 200 ml.

6.2 "Ensayo en caliente". Mezcle 50.0 ml de la solución preparada (6.1) con 50.0 ml de la solución de Ofner (4.12). Añada a la mezcla unos pedazos de piedra pómez (4.2).

(a) Utilizando una fuente térmica apropiada, haga que la mezcla comience a hervir en 4 - 5 min.. Mantenga la ebullición durante 5 minutos. Tome el comienzo de la ebullición cuando numerosas burbujas de vapor lleguen a toda la superficie. Enfríe la mezcla en un baño con agua fría. La mezcla debe alcanzar la temperatura ambiental a los 10 min. aproximadamente.

(b) Añada 1 ml de ácido acético concentrado (4.4). Adicione solución de yodo (4.17) hasta que la mezcla tome el color típico del yodo. En este paso el exceso de yodo oxida al Cu^+ y disuelve al Cu_2O precipitado. El yodo sobrante debe ser tal que en la contravaloración se consuman entre 10 y 15 ml de tiosulfato de sodio (4.16).

Añada 15 ml de ácido clorhídrico 1 mol/L (4.10), vertiéndolo por toda la pared interna del frasco para arrastrar hacia la solución las gotas residuales.

Tape el frasco y agite suavemente durante 2 minutos hasta que el precipitado de Cu_2O se disuelva completamente.

Valore la muestra con tiosulfato de sodio 0.03333 mol/L (4.16). Añada 1 ml de solución de almidón inmediatamente antes de alcanzar el punto final.

Repita los pasos (a) y (b) con otra solución preparada y mezclada con la solución de Ofner y anote el promedio de las dos réplicas V_1 y V_2 para el yodo y el tiosulfato respectivamente.

6.3 "Ensayo en frío". Mezcle 50.0 ml de la muestra preparada (6.1) con 50.0 ml de la solución de Ofner (4.12).

Deje la mezcla a la temperatura ambiental durante 10 min. Repita el paso (b). Anote los valores V_3 y V_4 .

6.4 "Ensayo en blanco". Mezcle 50 ml de agua con 50 ml de solución de Ofner (4.12). Repita los pasos (a) y (b). Anote los volúmenes V_5 y V_6 .

NOTA: Es esencial que el tiempo entre la adición de la solución de yodo y el comienzo de la contravaloración sea igual para el "ensayo en caliente" y el "ensayo en frío".

7. Expresión de los resultados

7.1 Cálculo de los resultados

Volumen de yodo añadido para el "ensayo en caliente" = V_1
 Volumen de tiosulfato añadido para el "ensayo en caliente" = V_2

Volumen de yodo añadido para el "ensayo en frío" = V_3
 Volumen de tiosulfato añadido para el "ensayo en frío" = V_4

Volumen de yodo añadido para el "ensayo en blanco" = V_5
 Volumen de tiosulfato añadido para el "ensayo en blanco" = V_6

Consumo corregido de solución de yodo 0.016667 mol/L

Calculo del "ensayo en caliente", $A = ((V_1 \times f_Y) - (V_2 \times f_T))$
 Calculo del "ensayo en frío", $B = ((V_3 \times f_Y) - (V_4 \times f_T))$
 Calculo del "ensayo en blanco", $C = ((V_5 \times f_Y) - (V_6 \times f_T))$

donde:

f_Y = es el factor de la solución de yodo, calculado en 4.17, y
 f_T = es el factor de la solución de tiosulfato, calculado en 4.16.

Corrección de la sacarosa D, es 0.1 ml de solución de yodo/g de sacarosa en la mezcla que se valora.

$$\text{Azúcares reductores, \% (m/m)} = \frac{(A - B - C - D)}{s \times 10}$$

donde s = la cantidad de muestra, en gramos, contenida en 50 ml de solución preparada (6.1).

7.2 Ejemplo de cálculo. Se pesaron 100 g de azúcar refino y se llevaron a 200 ml, luego. 50.0 ml de esta solución contienen 25 g de sacarosa.

Volumen de solución de yodo añadida al ensayo en caliente: 25.00 ml.

Volumen de tiosulfato de sodio consumido: 21.71 ml.

Volumen de solución de yodo añadido al ensayo en frío: 25.00 ml.

Volumen de tiosulfato de sodio consumido: 25.00 ml.

Volumen de yodo añadido al ensayo en blanco: 25.00 ml.

Volumen de tiosulfato de sodio consumido: 25.00 ml.

El f_T calculado fue 1.029.

El f_Y calculado fue 1.031.

$$A = ((25.00 \times 1.031) - (21.71 \times 1.029)) = 3.4354$$

$$B = ((25.00 \times 1.031) - (24.72 \times 1.029)) = 0.3381$$

$$C = ((25.00 \times 1.031) - (25.00 \times 1.029)) = 0.05$$

$$D = 25.0 \times 0.1 = 2.50$$

$$\text{Azúcares reductores, \% (m/m)} = \frac{(3.4354 - 0.3381 - 0.05 - 2.50)}{25 \times 10} = 0.0022 \% \text{ (m/m)}$$

7.3 Precisión. Las relaciones de Horwitz en un ensayo colaborativo donde se analizaron tres muestras con contenidos de azúcares reductores de 0.002, 0.004 y 0.011 % fueron de 17.3, 8.3 y 4.0 respectivamente, lo que indica que la precisión no fue adecuada para azúcares con estos niveles de azúcares reductores.

En cambio, para dos muestras ensayadas colaborativamente y que contenían 0.04 y 0.09 % de azúcares reductores, las relaciones de Horwitz fueron satisfactorias. Para estos dos azúcares las diferencias entre dos resultados obtenidos en condiciones de repetibilidad no deben ser más de 0.007 y 0.022 % respectivamente, mientras para dos resultados obtenidos en condiciones de reproducibilidad las diferencias no deben ser más de 0.015 y 0.029 % respectivamente.

Bibliografía

- Official Methods of analysis of the Association of Official Agricultural Chemist, (1955), A.O.A.C., Washington, 548, 901
- Proc. 11th Session, ICUMSA 1954, 20
- Proc. 15th Session ICUMSA, 1970, 147
- Schneider F, ed. (1979): Sugar Analysis: ICUMSA Methods, 57
- Proc. 15th Session ICUMSA, 1970, 132
- Carter M P, (1998) Referee's Report, Subject 15, ICUMSA
- Proc.23rd Session, India, 2002, Subject 13. Reducing Sugars