INSTITUTO DE INVESTIGACION DE LOS RECURSOS MARINOS

INFORME No. 20

Métodos analíticos para el control de producción de harina y aceite de pescado

T. Sparre
J. Sánchez
R. Lam

LA PUNTA CALLAO

1963

INSTITUTO DE INVESTIGACION DE LOS RECURSOS MARINOS

INFORME N° 20

METODOS ANALITICOS PARA EL CONTROL DE PRODUCCION DE HARINA Y ACEITE DE PESCADO

Por

T. Sparre, J. Sánchez y R. Lam

INTRODUCCION

Es una realidad que muchas fábricas peruanas de harina de pescado no reúnen las condiciones necesarias para efectuar un adecuado control de su producción. Existe la opinión que la instalación de un laboratorio químico resultaría demasiado costoso, mientras que en realidad el no efectuar un eficiente control químico de la producción, es un lujo que en la actualidad ningún industrial debe permitirse.

Repetidas veces hemos recibido solicitudes pidiendo colaboración para la instalación de laboratorios químicos, e instrucción del personal y solicitándonos métodos analíticos adecuados. Todo esto se ha tomado en cuenta, empezando con el presente informe que contiene una recopilación de los diferentes métodos que nosotros consideramos los más indispensables para el control rutinario en la producción de harina y de aceite de pescado.

Se ha elegido métodos sencillos y rápidos que no exigen práctica ni conocimientos químicos avanzados, pero que sin embargo son suficientemente exactos para el control diario.

Es un hecho que cuando se realiza un análisis que servirá como base para operaciones comerciales, los métodos a emplearse deben ser estrictamente estandarizados y su ejecución requiere mucha práctica.

Cabe destacar la importancia del rol que desempeña el laboratorio, en el incremento de la tecnificación para obtener un producto de cali-

dad óptima y uniforme. Durante las diferentes etapas de la producción debe controlarse las condiciones de trabajo para detectar de inmediato cualquier anormalidad en el proceso, como por ejemplo un cocimiento o un prensado defectuoso, pérdidas de aceite en el agua de cola, harina con alto tenor graso ó con un secado excesivo, etc.

Realizando un análisis específico se controlaría fácilmente el rendimiento obtenido comparandolo con el máximo teóricamente obtenible. Se llegará también a localizar las deficiencias que dan como resultado una harina poco digerible, aceite con alta acidez, etc.

Un laboratorio eficiente debe ser la mejor instalación en la fábrica, el orgullo del establecimiento. Es necesario una superficie de 20-25 metros cuadrados como mínimo. Debe ubicarse en la fábrica, pero preferiblemente lejos de la maquinaria, debe ser limpio y de fácil mantenimiento. La fábrica debe tener un químico que tenga como única misión la de obtener las muestras necesarias, luego prepararlas y analizarlas. Si los resultados arrojan alguna irregularidad deberá informar en la brevedad posible.

El control analítico debe efectuarse según un plan determinado de acuerdo a las necesidades de cada fábrica. Brindaremos nuestra colaboración cuando se nos solicite.

Se considerará la conveniencia de organizar un curso de capacitación para analíticos siempre que se manifieste el suficiente interés. Avisaremos por circulares a la industria cuando se pueda realizar este curso.

Podemos proporcionar mayor información acerca de los métodos analíticos descritos cada vez que las personas interesadas la requieran.

Sabiendo que en varias empresas están en uso métodos diferentes agradeceríamos recibir información al respecto, así como también algunas referencias de nuestro trabajo. Esperamos que este informe sea útil y pueda contribuir al aumento de la eficiencia de la Industria Pesquera.

El presente compendio contiene una descripción de los métodos analíticos más importantes, para el control del proceso de fabricación y calidad de los productos en las plantas de harina de anchoveta.

Así mismo, contiene una lista del equipo de laboratorio necesario para efectuar las siguientes determinaciones en:

1.- Harina de Pescado:

- Proteinas
- Grasa (Método Rápido y Método Soxhlet)
- Humedad
- Sales Minerales (Cenizas)
- Cloruros (como Cl Na)

2.- Agua de Cola:

- Sólidos Totales
- Sólidos en solución
- Residuos (fango)
- Aceite (Método Gerber)

3.- Concentrado de Agua de Cola:

- Sólidos Totales
- Aceite

4.- Anchoveta (Pescado)

- Grasa
- Sólidos totales

5.- Aceite:

- Acidez
- Humedad
- Residuos

Además se pueden efectuar análisis : del cake y licor de prensa

I N D I C E

METODOS ANALITICOS

	Pág. No.
INTRODUCCION.....	1
I. - MUESTREO Y TRATAMIENTO DE LA MUESTRA	5
II. - SOLIDOS TOTALES	
- Sólidos totales en el pescado y en la torta de prensa....	7
- Humedad en la harina de pescado.....	7
- Sólidos totales en el agua de cola.....	8
- Sólidos totales en el concentrado de agua de cola (solubles de pescado).....	9
- Sólidos en solución en el agua de cola.....	9
III. - GRASA	
-Grasa en el pescado.....	10
-Grasa en la harina de pescado.....	11
-Acidez en el aceite.....	13
-Humedad y materia volátil en el aceite.....	13
-Fango o Residuos en el aceite.....	15
-Aceite en el agua de cola.....	16
IV. - PROTEINAS	
-Proteinas brutas o totales en la harina de pescado....	18
-Proteinas solubles en la harina de pescado.....	21
-Proteinas digeribles en la harina de pescado.....	22
V. - SALES MINERALES	
-Sales minerales (Cenizas) en la harina de pescado....	23
-Cloruros (ClNa) en la harina de pescado.....	23
VI. - SOLUCIONES NORMALES E INDICADORES.....	24
EQUIPO Y MATERIAL DE LABORATORIO	
-Relación del equipo y material de laboratorio.....	29

I. MUESTREO Y TRATAMIENTO DE LA MUESTRA

El obtener una muestra representativa de una partida grande de un producto es tarea bastante complicada, a veces más difícil que el mismo análisis químico.

Para el control de la fabricación de harina y aceite de pescado, recomendamos los procedimientos que suscintamente indicamos a con tinuación y como ya lo hemos mencionado en la introducción de este informe, en caso de duda debe solicitarse instrucciones más detalladas a una persona entendida.

Pescado (Anchoveta)

Durante toda la descarga se extrae a intervalos fijos una pequeña porción de muestra, de tal manera que al final de la operación se tenga por lo menos 10 kilos.

Se pasa la muestra obtenida por un molinillo para carne, teniendo cuidado de no desperdiciar el agua de sangre ni las espinas, que se juntará con la masa para una perfecta homogenización. Mediante el cuarteo, empleando una cruceta se saca la cuarta parte, que se vuelve a homogenizar removiendo intensivamente. El cuarteo se vuelve a efectuar 2 o 3 veces más hasta obtener una muestra de unos 250 gramos la que puede guardarse por un tiempo corto en un envase bien cerrado.

Harina

Se consigue una muestra de unos 5-10 kilos , sacando pequeñas cantidades a intervalos fijos (control del secado) o de las bolsas que se encuentra en rumas, por medio de una plumilla, es decir perforando un gran número de bolsas situadas en distintas partes de la ruma. (control de embarque). Obtenida la muestra, se realiza el cuarteo empleando la cruceta y se mezcla el remanente para otra operación igual, hasta obtener una cantidad representativa de 250 - 500 gramos.

La muestra debe guardarse de inmediato en un frasco herméticamente cerrado.

Aceite

Para el control rutinario se obtiene pequeñas muestras a intervalos fijos de la salida de la centrífuga, juntando el todo en un frasco grande.

Terminado el muestreo es suficiente agitar un poco el frasco para homogenizar el contenido y separar una pequeña cantidad en un frasco limpio, seco y bien tapado. Si no se puede analizar de inmediato la muestra se guarda en un lugar oscuro.

Torta de Prensa

Generalmente se sacan muestras para control inmediato. La muestra obtenida durante el lapso de 1-2 minutos se guarda en un frasco hermeticamente cerrado para evitar la pérdida de agua por evaporación de la masa caliente.

Agua de Cola

La muestra se obtiene en pequeñas porciones y a intervalos fijos durante toda la producción. El frasco donde se guarda la muestra se mantiene todo el tiempo bien cerrado.

La homogenización del agua de cola no presenta dificultades, si se calienta y agita moderadamente hasta conseguir una buena distribución de los glóbulos grasos.

Solubles de Pescado

Se procede como se ha descrito para el agua de cola. Obtenida la muestra representativa se transfiere a un vaso y si se deja en reposo un cierto tiempo se observarán 3 zonas: lodo o fango en el fondo del vaso: sólidos en suspensión en la zona intermedia y aceite en la parte superior. Es por eso necesario mezclar bien la muestra y si ésta es muy viscosa, será conveniente además calentarla para obtener una solución homogénea.

Nota

Creemos oportuno mencionar que todos los análisis deben efectuarse por duplicado, tomando como resultado el promedio, siempre que no exista mucha diferencia entre ambos. En caso contrario repetir los análisis.

II- SOLIDOS TOTALES

SOLIDOS TOTALES EN EL PESCADO Y EN LA TORTA DE PRENSA

Método

Para el análisis se toma aproximadamente 8-10 gramos de pasta de pescado o de torta de prensa en una cápsula de porcelana previamente tarada. La muestra debe distribuirse lo más uniformemente posible sobre las paredes de la cápsula de manera de ofrecer la máxima superficie de evaporación. Efectuada esta operación, de inmediato pesar exactamente la muestra (con 3 decimales de aproximación). Esto debe hacerse lo más rapidamente posible, para evitar la evaporación.

La muestra se introduce en una estufa a 103 -105° C durante toda la noche. Al día siguiente, sacar la muestra de la estufa y ponerla en un desecador durante 15 minutos , luego pesarla.

Cálculos

El porcentaje de sólidos totales se determina mediante la siguiente operación:

$$\% \text{ Sólidos totales} = \frac{\text{Peso materia seca}}{\text{Peso muestra}} \times 100$$

Nota

Si a los sólidos totales se les resta la grasa se obtiene los sólidos (materia seca) no grasa.

HUMEDAD EN LA HARINA DE PESCADO

Método 1.: Por secado en estufa.

Colocar 5 gramos de harina de pescado en una cápsula de acero inoxidable ó en una luna de reloj y (de acuerdo al Método Oficial) poner la muestra 4 horas en la estufa a 103 -105°C. Enfriar durante 15 minutos en el desecador y pesar hasta peso constante.

Cálculos

El resultado se obtendrá en gramos de agua por 100 gramos de muestra, multiplicando la pérdida de peso en grs. por 20.

Método 2: Por secado con lámparas infrarrojas.

Se utilizan aparatos "Ultra X"; "Cenco" u otras marcas.

La pesada debe ser de 5 ó 10 gramos según la capacidad del aparato. Se debe seguir las instrucciones proporcionadas por el fabricante. Se encuentra el porcentaje por lectura directa en una escala.

El método se funda en el mismo principio del método 1, pero el tiempo requerido es tan solo 10-12 minutos.

SOLIDOS TOTALES EN EL AGUA DE COLA

Tomar la muestra y agitar manualmente para homogenizar el contenido, luego con una pipeta medir 10 ml. de agua de cola y transferirla a una cápsula de porcelana ó de acero inoxidable (antes pesar la cápsula y anotar su peso).

Introducir la cápsula con la muestra en una estufa a 103-105°C durante toda la noche. Algunos prefieren evaporar sobre baño maría hasta sequedad parcial para acelerar la operación; para el mismo fin, se puede utilizar una lámpara infrarroja. Al día siguiente colocar la muestra en un desecador por 15 minutos, pesar la cápsula y anotar el peso.

Luego con una espátula remover completamente la muestra y colocar nuevamente la cápsula en la estufa hasta obtener peso constante.

Como los sólidos de la muestra son muy higroscópicos la operación de pesada debe hacerse lo más rápido posible.

Cálculos

Como 10 ml. de agua de cola pesan aproximadamente 10 gramos, se encuentra el resultado en gramos de sólidos totales por 100 gramos de muestra con suficiente aproximación mediante la siguiente operación:

% Sólidos totales = Peso materia seca x 10

SOLIDOS EN SOLUCION EN EL AGUA DE COLA

El procedimiento es igual al método anterior con la diferencia que el agua de cola se filtra (o se centrifuga durante 20 minutos) y la determinación se hace con el filtrado ó centrifugado.

Cálculos

Igual a los cálculos de sólidos totales en el agua de cola.

Nota

Los residuos en el agua de cola, representan la diferencia entre los sólidos totales y los sólidos en solución, más grasa.

CONCENTRADO DE AGUA DE COLA (Solubles de Pescado)

Método 1

Tomar más o menos 2 gramos de concentrado de agua de cola y colocar la muestra en una cápsula de acero inoxidable que previamente ha sido tarada junto con una varilla de vidrio. Después pesar todo el conjunto y por diferencia determinar el peso exacto de la muestra.

Añadir 4-6 mls. de agua destilada y realizar la dilución con la ayuda de la varilla, introducir la muestra en la estufa (incluyendo la varilla) y secarla durante 10-12 horas aproximadamente a 103-105°C. Después seguir el procedimiento indicado para sólidos totales en el agua de cola. Si se desea, puede acelerarse la operación mediante evaporación de la mayor parte del líquido en baño-maría, o también con una lámpara infrarroja como ha sido indicado anteriormente.

Cálculos

El resultado se obtiene en gramos de sólidos totales por 100 gramos de muestra (aproximación de una cifra decimal) mediante la operación:

$$\% \text{ Sólidos totales} = \frac{\text{Peso materia seca}}{\text{Peso de muestra}} \times 100$$

Método 2

Un método más fácil y rápido, aunque no muy exacto es empleando el refractómetro común (como el usado para determinar el porcentaje de azúcar en solución). Una pequeña cantidad de muestra se coloca en el prisma del refractómetro , y se lee el porcentaje directamente en la escala graduada, con una aproximación de 1%. El método es de mucha utilidad en el control industrial.

III GRASA

GRASA EN EL PESCADO (Anchoveta)

Extracción con Benceno

Método

Se pesa en una cápsula de porcelana,exactamente 10 gramos de pasta. Con una cucharita se transfiere la pasta a un mortero de porcelana, se pesa luego en la misma cápsula 20 gramos de sulfato de sodio anhídro, teniendo cuidado que los restos de la pasta en la cápsula y en la cucharita se incorporen bien con el sulfato de sodio y sean después transferidos al mortero. Se tritura uniformemente la pasta con el sulfato de sodio, para que éste absorba toda el agua de la muestra,reduciéndose la mezcla a un polvo seco; a veces es necesario emplear un poco más de los 20 gramos de sulfato de sodio usados para que el polvo parezca seco al tacto.

La mezcla se transfiere a un papel satinado y de este a un frasco (para muestras de aceite) de 90 -100 mls. de capacidad. Si el pescado es muy grasoso, conviene limpiar el mortero con un poco de sulfato de sodio que luego se agregará a la muestra en el frasco.

Se añade después exactamente 50 ml. de benceno mediante una pipeta (si se tuviesen muchas muestras por analizar conviene utilizar una pipeta automática). El frasco se cierra bien con un tapón de jebe y se agita durante una hora, en un aparato agitador. (Si no se dispone de esta máquina sacudir a mano enérgicamente a intervalos frecuentes, durante 1 hora , y dejar en reposo hasta la mañana siguiente para que se complete la extracción) .

Después de la agitación se deja el frasco en reposo durante unos minutos para que se asiente el contenido y obtener así la máxima cantidad de líquido claro encima del sedimiento. La solución clara se filtra utilizando un papel de filtro; se debe operar rápidamente y cubrir el embudo con una luna de reloj, para evitar la pérdida de benceno por evaporación durante la filtración.

Si se dispone de una centrífuga y equipo necesario, el líquido puede centrifugarse en vez de filtrarse. En cuanto se tenga suficiente cantidad de líquido filtrado, pipetear 20 ml. en una cápsula previamente tarada.

El benceno se evapora parcialmente bajo una lámpara infrarroja utilizando para esta operación una campana para gases y después se completa la evaporación en una estufa durante 2 horas a 103 -105°C. Se enfria en un desecador durante 15 minutos y luego se pesa la cápsula.

Cálculos

El porcentaje de grasa se determina utilizando la siguiente fórmula:

% grasa = gramos de grasa x 26

El método de benceno no es muy exacto, pero satisfactorio para el control Industrial.

GRASA EN LA HARINA DE PESCADO

Extracción con Benceno (Determinación Rápida)

Método

Se pesan exactamente 10 gramos de harina de pescado y se trituran en un mortero con 10 gramos de sulfato de sodio anhídro ; la mezcla se transfiere a un papel satinado y luego a un frasco de muestra de aceite de 90 - 100 ml. de capacidad. Se agrega 50 ml. de benceno mediante una pipeta automática y se cierra con un tapón de goma. El frasco se agita durante 1/2 hora en una máquina agitadora (o energicamente a mano). Luego se deja en reposo el frasco durante 5 minutos hasta que se obtenga una solución clara. Se filtra o se centrifuga y luego se

sigue exactamente el método y la fórmula dada para determinar grasa en el pescado.

GRASA (ACEITE) EN LA HARINA DE PESCADO

Extracción con Eter Etílico en el Aparato Soxhlet

Método

Se pesan exactamente 5 gramos de harina en una cápsula y se transfieren a un dedal de extracción, limpio, libre de grasa y se seca exactamente 2 horas a 103- 105 °C en una estufa. El balón del estractor debe haber permanecido 1/2 hora en la estufa, enfriado en desecador y pesado en balanza analítica. Luego se extrae el aceite durante 12 horas con éter etílico en el extractor Soxhlet.

Terminada la extracción, se recupera casi la totalidad del éter utilizado. El éter que aún quede en el balón, se evapora colocándolo en baño-maría y después en la estufa por espacio de 2 horas a 103° 105°C (es peligroso colocar en la estufa directamente el balón que aún contiene éter, porque puede provocar un incendio ó explosión).

Los vapores pesados de éter, que aún queden dentro del balón, serán desalojados por medio de succión, utilizando para ello una bomba de vacío.

Se deja enfriar el balón en el desecador y se pesa. (No frotarlo demasiado fuerte, porque se carga electricamente y causa dificultades durante la pesada).

Cálculos

El resultado se calcula como gramos de grasa (aceite) en 100 gramos de muestra y se indica con una cifra decimal de aproximación, según la fórmula siguiente:

$$\% \text{ Grasa} = \frac{\text{Gramos grasa en la muestra}}{\text{Gramos de harina}} \times 100$$

ACIDEZ EN EL ACEITE

Método

Se pipetean 11 ml. de aceite y se transfiere a un Erlenmeyer tarado que luego se pesa con la muestra. (Se puede usar la misma pipeta que para el método Gerber). Luego se agrega al Erlenmeyer 40 - 50 mls. de éter etílico. (que previamente ha sido neutralizado con solución de potasa alcohólica 1/10 N, utilizando unas gotas de fenoltaleina como indicador.).A la solución contenida en el Erlenmeyer se le agrega 4 a 5 gotas de fenoltaleina y después se titula con solución de potasa alcoholica (KOH 1/10N) hasta obtener un viraje de incoloro a rosado, color que debe permanecer 10-15 segundos.

El índice de acidez se expresa en % de ácido oléico.

Cálculos

$$\% \text{ Acidez en el aceite} = \frac{2.82 \times \text{ml. de KOH } 1/10 \text{ N} \times f}{\text{Peso de muestra}}$$

Nota

Si el aceite es muy oscuro, es preferible pesar por ejemplo 2 gramos de aceite y añadir 50-80 ml. de éter etílico (previamente neutralizado) y 8 -10 gotas de fenoltaleína; después titular.

HUMEDAD EN EL ACEITE

Método 1: Por destilación con Xilol

Se utiliza un aparato extractor de humedad (ver figura) que consta: de un extractor propiamente dicho, que tiene una escala graduada con divisiones de 0.2 ml; de un refrigerante con corriente de agua y de un balón para muestras.

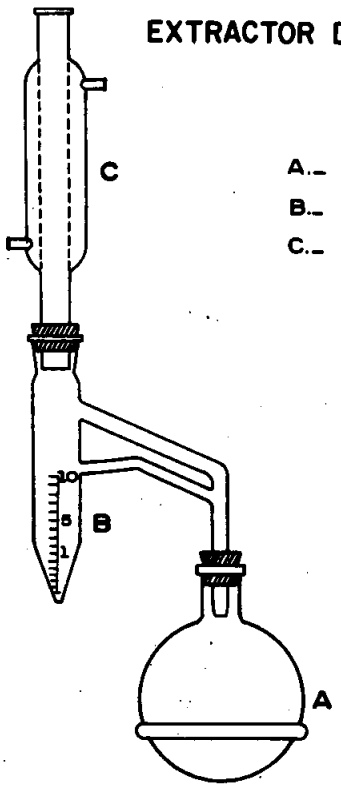
Se pesan 50 gramos de aceite para analizar y se vierten al balón. Luego se le añade 50 mls. de Xilol $C_6 H_4 (CH_3)_2$. Después se

conecta el balón al extractor y se hace funcionar el sistema refrigerante. Inmediatamente se calienta el balón hasta ebullición por espacio de 1-1.5 horas (si se utiliza un mechero emplear una rejilla con asbesto). Luego se deja enfriar aproximadamente 1/2 hora. Acto seguido se efectúa la lectura de la cantidad de agua acumulada directamente en la escala graduada del extractor.

Cálculos

$$\% \text{ de agua en el aceite} = \frac{\text{Lectura del agua en ml. x 100}}{\text{peso de muestra}}$$

Después de la determinación no se recupera el Xilol porque contiene impurezas y agua.



EXTRACTOR DE AGUA EN ACEITE

A.- Balón
B.- Aparato Extractor
C.- Refrigerante

Método 2: Por secado empleando bomba de vacío (la determinación incluye toda materia volátil)

En un balón de cuello largo (aproximadamente de 10 cms.) se hace succión con una bomba de vacío, al mismo tiempo que se calienta el balón hasta una temperatura que pueda soportar con la mano con el objeto de eliminar el agua que pueda retener; después enfriar el balón en un desecador por espacio de 15-20 minutos, luego pesarlo en una balanza analítica.

Pesar en el balón más o menos 10 gramos de aceite (con 3 cifras decimales). Conectar el sistema de vacío y calentarlo suavemente con un mechero Bunsen, agitándolo al mismo tiempo. Evitar la ebullición rápida para impedir la pérdida de aceite, (el punto final de esta operación se aprecia cuando aparecen vapores blancos). Como probablemente existe condensado de agua en el cuello del balón, al final de la operación calentar también esta parte para facilitar la evaporación del posible condensado.

Efectuado esto, se desconecta el sistema de vacío sin cerrar la llave de la bomba y el balón se enfría a la temperatura ambiente por 30 minutos; luego se pesa. La operación de calentar y pesar debe repetirse hasta obtener peso constante, se calienta siempre suavemente para evitar el desprendimiento de vapores de aceite.

Cálculos

$$\% \text{ Humedad y Materia Volátil en el aceite} = \frac{\text{Pérdida de peso}}{\text{Gramos de muestra}} \times 100$$

FANGO O RESIDUOS EN EL ACEITE DE PESCADO

Método

Pesar 10 gramos de aceite en un vaso, añadir 50 ml. de benceno a 80-82°C (trabajar bajo tiro o campana para gases y utilizar hornilla eléctrica . No emplear llama directa). Preparar un papel de filtro de la siguiente manera: en un embudo colocar un papel filtro de 9 cms. de diámetro, lavarlo con 50 ml. de benceno a 80-82°C. sacarlo y colocarlo en una luna de reloj, luego introducirlo en la estufa a 105°C durante 10 minutos, sacar el papel de filtro y enfriarlo duran-

te 10 minutos a temperatura del ambiente y luego pesarlo.

El aceite y el benceno contenido en el vaso, se calienta hasta el punto de ebullición del benceno y se filtra utilizando el papel de filtro previamente preparado. Como aún queda un poco de aceite sobre el filtro junto con el fango, es necesario lavarlo con 100 ml. de benceno caliente (se recomienda calentar los 100 mls. de benceno en dos partes de 50 mls. cada una para evitar el peligro de inflamación).

Obtenido el fango libre de aceite en el papel de filtro, colocarlo sobre una luna de reloj e introducirlo en la estufa durante 10 minutos luego enfriar a temperatura del ambiente por espacio de 10 minutos y pesar.

Cálculos

Para los 10 gramos de muestra de aceite:

% residuos = [(peso papel filtro + residuos) - peso papel filtro] x 10

Nota

Tener cuidado con los gases tóxicos del benceno, por eso recomendamos efectuar todas las operaciones de calentamiento en un tiro para gases.

ACEITE EN EL AGUA DE COLA

Método

Pipetear 10 ml. de ácido sulfúrico al 85% y ponerlos en un butirómetro (teniendo cuidado de hacerlo introduciendo la pipeta al butirómetro). Manteniendo el butirómetro inclinado, se vierten lentamente sobre el ácido, formando una capa sobre él, 11 ml. de agua de cola (previamente agitada) de modo tal que al principio no se produzca una mezcla de ambos líquidos. Acto seguido, se añade 1 ml. de alcohol amílico. Cerrar el butirómetro con un tapón de goma especial y también

la tapa de la "gradilla especial" utilizada para colocar los butirómetros al realizar el análisis.

Efectuada esta operación, sujetar la gradilla con ambas manos, darle un movimiento rotatorio, hasta que el contenido de los butirómetros se mezcle bien. Tener mucho cuidado al momento de abrir la tapa de la gradilla, por ser la reacción exotérmica. (la posición de la abertura del butirómetro debe ser tal, que en caso de proyección del tapón, no ocasione accidentes al operador).

Los butirómetros se colocan inmediatamente en la centrífuga Gerber. Centrifugar durante 5 minutos a 1200 rpm. (colocar los butirómetros en la centrífuga con los bulbos dirigidos hacia el eje de la misma). Terminada la centrifugación se sacan los butirómetros y el porcentaje de aceite se lee directamente en la escala. En el caso que el contenido de aceite se encuentre fuera de la escala, se ajusta el tapón de forma tal que el aceite se ubique en la escala y se pueda efectuar la respectiva lectura.

Reactivos

Acido sulfúrico al 85% en peso: En un vaso de 500 ml. poner 100 ml. de agua destilada; agregar 312 ml. de ácido sulfúrico concentrado (p. e. 1. 84) con mucho cuidado y despacio por las paredes del vaso, para evitar accidentes.

Nota

Si en el momento de la lectura del porcentaje de aceite, hubiera una pequeña cantidad de fango en el aceite, calentar el butirómetro en baño-maría a una temperatura cercana al punto de ebullición. Después centrifugar para la correcta lectura.

IV. - PROTEINAS

DETERMINACION DE PROTEINAS BRUTAS EN LA HARINA DE PESCADO

METODO DE KJELDAHL

MODIFICADO POR GUNNING-ARNOLDS

Método

Pesada y digestión

Pesar exactamente 1 gramo de harina (con 4 cifras decimales) transferirlo en un balón Kjeldahl de 800 mls. de capacidad. Añadir 10 gramos de sulfato de Potasio , una gota de mercurio (equivalente a 0.6 gramos) y 20 mls. de ácido sulfúrico (H_2SO_4 p.e. = 1.84) ; agitar el contenido y calentar suavemente en el aparato digestor hasta que la solución se torne incolora (1/2 - 1 hora) . Producida esta decoloración, calentar 40 minutos más y dejar enfriar la solución.

Realizar en paralelo con la muestra problema, una muestra en blanco, cada vez que se utilice nuevos reactivos ó se preparen nuevas soluciones . Para esto pesar 0.25 gr. de sacarosa pura y transferirlo a un balón Kjeldahl y agregarle los demás reactivos.

Destilación

Al contenido frío del balón añadir 300 mls. de agua destilada, luego 8-10 gramos de granallas de zinc y por último 100 mls, de una solución alcalina concentrada (preparada con 400 gramos de NaOH y 10 gramos de SNa_2 por litro). Esta última solución se adiciona cuidadosamente por las paredes del balón. En seguida adáptese rápidamente el balón al aparato de destilación que está compuesto de una válvula Kjeldahl, un refrigerante con corriente de agua , una alargadera y un frasco Erlenmeyer de 300 mls., en el cual se ha colocado previamente 25 mls. de solución de ácido sulfúrico 4/10 N. además 8 a 10 gotas de rojo de metilo como indicador y agua destilada en cantidad suficiente para que la extremidad de la alargadera quede sumergida en el líquido. Caliéntese el balón y manténgase su contenido en ebullición durante 30-40 minutos , o hasta que se haya obtenido más o menos 150 mls.

de destilado en el Erlenmeyer. Para mayor seguridad antes de suspender la operación, se probará con papel Tornasol rojo el destilado que aún sigue cayendo por la extremidad de la alargadera.

Una vez que se ha comprobado que ha cesado el desprendimiento de amoníaco desconéctese la alargadera. Apáguese el fuego y lávese aquélla con agua destilada sobre el Erlenmeyer.

Titulación

Una vez frío el contenido del fraco Erlenmeyer, valórese el exceso de ácido sulfúrico que no ha sido saturado por el amoníaco, con solución de hidróxido de sodio 1/7N, utilizando como indicador el rojo de metilo.

Cálculos

a=N° de mls. de NaOH 1/7N, usados en la muestra problema.

b=N° de mls. de NaOH 1/7N, usados en la muestra en blanco.

X= (b - a) x f

f= factor de la solución de NaOH 1/7N.

p=gramos de harina utilizada como muestra.

1 ml. de NaOH 1/7 N = 12.5 mgr. de proteínas. Si se sigue el método indicado, empleando exactamente 1 gr. de muestra (p=1) el porcentaje de proteínas se determina:

% Proteínas =1.25 X

Reactivos

Acido sulfúrico (H_2SO_4 p. e = 1.84)

Sulfato de Potasio K_2SO_4 p. a.

Mercurio Metálico Hg.

Solución de NaOH al 40% en peso

En una cubeta de aeero; poner 667 gramos de NaOH en escamas y 1000 ml. de agua destilada y agitar. El volúmen de esta solu-

ción después de enfriar será de 1.17 litros. Añadir después 11.7 gramos de sulfuro de sodio (Na_2S). Guardar la solución por 2-3 días:después eliminar el carbonato de sodio que se ha formado en la superficie. La solución debe usarse libre de carbonato de sodio.

Método 2

Pesada y Digestión

Pesar exactamente 1 gramo de harina (con 4 cifras decimales.) transferirlo a un balón Kjeldahl de 800 mls. de capacidad. Añadir 10 gramos de sulfato de potasio, 1 gramo de sulfato de cobre y 25 mls. de ácido sulfúrico (H_2SO_4 p. e. = 1.84) . Calentar la mezcla lentamente en el aparato digestor hasta que cese la espuma producida, luego calentar fuertemente y continuar la digestión hasta completa oxidación por espacio de 2 horas aproximadamente, de tal manera que la digestión dure hasta que el contenido del balón tome el color verde claro desprovisto de materia orgánica. De esta manera los compuestos nitrogenados habrán pasado al estado de sulfato de amonio.

Realizar en paralelo con la muestra problema, una muestra en blanco, cada vez que se use nuevos reactivos o se preparen nuevas soluciones. Para esto agregarle al balón Kjeldahl todos los reactivos sin emplear muestra.

Destilación

Dejar enfriar el balón y añadir 250 mls. de agua destilada , luego 8-10 gramos de granallas de zinc y por último 80 mls. de solución concentrada de hidróxido de sodio (1:1) por las paredes del balón con mucho cuidado. En seguida adáptese rápidamente el balón al aparato de destilación que está compuesto de una válvula Kjeldahl, un refrigerante con corriente de agua, una alargadera y un frasco Erlenmeyer de 500 mls., en el cual se ha colocado previamente 90 mls. exactos de una solución de ácido sulfúrico 1/10 N y agua destilada en cantidad suficiente para que la extremidad de la alargadera quede sumergida en el líquido. Caliéntese el balón y manténgase su contenido en ebullición durante 30-40 minutos. al cabo de los cuales todo el amoníaco se habrá destilado y combinado completamente con el ácido sulfúrico valorado. Para mayor seguridad antes de suspender la operación se probará con papel tornasol rojo el destilado que aún sigue cayendo por la extremidad de la alargadera.

Una vez que se ha comprobado que ha cesado el desprendimiento de amoníaco, desconéctese la alargadera. Apáguese el fuego y lávese aquella con agua destilada sobre el Erlenmeyer.

Titulación

Una vez frío el contenido del frasco Erlenmeyer, valórese el exceso de ácido sulfúrico que no ha sido saturado por el amoníaco, con solución de hidróxido de sodio 1/10 N y anaranjado de metilo como indicador.

Cálculos

$$\% \text{ Proteínas} = \left[(\text{mls. } H_2SO_4 \ 1/10 \text{ N x f}) - (\text{ml. NaOH } 1/10 \text{ N x f}) \right] \times 0.875$$

Nota

La cantidad de Nitrógeno por 6.25 que eventualmente arroja el resultado de la muestra en blanco, debe restarsele al % de Proteínas obtenida en la muestra problema.

PROTEINAS SOLUBLES EN LA HARINA DE PESCADO

Método

Pesar 10 gramos de harina de pescado y colocarlo en una fiola de 250 ml., añadir 150-170 ml de agua destilada. Calentar en un baño-maría hasta ebullición, agitar de vez en cuando, después enfriar; luego, enrazar la fiola con agua destilada y mezclar el contenido homogéneamente.

Filtrar la solución empleando para esto un papel de filtro de pliegos densos.

Tomar 25 ml. del filtrado y transferirlos a un balón Kjeldahl y después se sigue exactamente el método para determinación de proteínas brutas en la harina de pescado.

Cálculos

El resultado se relaciona con respecto al porcentaje de proteínas brutas, según la fórmula siguiente:

$$\% \text{ Proteínas solubles referidas} = \frac{\text{Proteínas solubles}}{\text{Proteínas brutas}} \times 100$$

PROTEINAS DIGERIBLES EN LA HARINA DE PESCADO

Pesar 2 gramos de harina (desgrasarla con éter etílico , si la harina contiene 12% o más de grasa), ponerla en un frasco Erlenmeyer de 300 ml. de capacidad, enseguida añadir 215 ml. de agua destilada a 38-40°C., de temperatura, después de unos minutos agitar el Erlenmeyer con la mano, agregar 5 ml. de solución de ácido clorhídrico (HCl) (250 gramos/lt.) y 25 ml. de solución fresca de Pepsina Langebechs (20 gramos/lt.)

En una estufa, que en su interior tiene un aparato agitador especial, colocar la muestra y agitarla durante 4 horas a 37°C; al término de este tiempo parar el agitador.

La muestra debe permanecer en la estufa toda la noche hasta el día siguiente (aproximadamente 20 horas a 37°C). Después de este tiempo total, agregar 5 ml. más de solución de ácido clorhídrico (250 gramos/lt.) y agitar nuevamente la muestra durante 1 hora a la misma temperatura de 37°C. Parar el agitador y dejar la muestra otras 24 horas en la estufa a 37°C.

Filtrar la muestra, empleando el embudo Buchner y bomba de vacío.

El papel filtro utilizado será del tipo "Cinta blanca especial". Después de lavar el Erlenmeyer y el filtro con 150 ml. de agua destilada hervida a 100 °C. Tomar el papel de filtro junto con la muestra y determinar el contenido de Nitrógeno , por el método Kjeldahl.

Al tenor de nitrógeno obtenido, restarle los gramos de nitrógeno que contenía el papel de filtro.

De esta manera se determina la cantidad de proteínas no digeribles y por diferencia obtenemos el porcentaje de proteínas digeribles.

V. - SALES MINERALES

SALES MINERALES (CENIZAS) EN LA HARINA DE PESCADO

Método

Pesar 5 gramos de harina y ponerlos en un crisol de porcelana (previamente tarado), quemar la harina hasta combustión completa de la materia orgánica, utilizando para ello un mechero a gas, luego introducir el crisol en la mufla eléctrica y calcinar a 550°C hasta "cenizas blancas", luego dejar enfriar en el desecador durante 15 minutos y pesar.

Cálculos

$$\% \text{ Sales minerales} = \frac{\text{Gramos de Cenizas}}{\text{Gramos de muestra}} \times 100$$

DETERMINACION DE CLORUROS (Como Cloruro de Sodio) EN LA HARINA DE PESCADO

Método

Pesar exactamente 5 gramos de harina de pescado, trasnferirla a una fiola de 500 ml., añadir 300 ml. de agua destilada, agitar la solución durante 30 minutos en una máquina agitadora. Enrazar la fiola con agua destilada. Filtrar si es necesario (generalmente el liquido en la parte superior es claro).

De la fiola pipetear 50 ml. de solución clara a un Erlenmeyer de 300 ml. Agregar 10 ml. de solución de Nitrato de Plata (NO_3Ag) 1/10 N con una pipeta y 5 ml. de ácido Nítrico concentrado (HNO_3). Todos los cloruros precipitarán , después de un leve calentamiento de la solución con un mechero Bunsen, Enfriar la solución en agua fría.

Titular después con solución de sulfocianuro de amonio (NH_4CNS) 1/10N, utilizando como indicador sulfato Férrico-Amónico ($FeNH_4(SO_4)_2 12H_2O$).

Reactivos

Solución de nitrato de plata NO_3Ag 1/10 N

Solución de sulfocianuro de amonio NH_4CNS 1/10 N

Solución saturada de sulfato férrico amónico $FeNH_4(SO_4)_2 \cdot 12 H_2O$ a la que se agrega gota a gota ácido nítrico hasta que el color cambie a amarillo.

Cálculos

a = N° mls. solución NO_3Ag x f

b = N° mls. de NH_4CNS x f

f .= Factor de las soluciones

% Cloruros = 1.169 x (a- b)

VI. - SOLUCIONES NORMALES E INDICADORES

Soluciones Normales

1. - Solución de ácido clorhídrico 1/10 N

Tomar 25 ml. de HCl concentrado y completar hasta 3 litros con agua destilada. Valorar esta solución ácida, con carbonato de sodio p.a. como sigue: Previamente se seca esta sal en la estufa a 240°C por 2 horas y después se enfría en el desecador.

Pesar 3 partes, cada una entre 0.1 - 0.2 gramos de carbonato de sodio y transferirlos a 3 erlenmeyer de 300 ml. de capacidad. Agregar en cada uno de ellos 50 ml. de agua destilada y 10 gotas de ro-

jo de metilo como indicador.

Titular la solución de carbonato de sodio con la solución de HCl 1/10 N que se desea valorar; cuando el color vira a rojo, calentar el Erlenmeyer hasta punto de ebullición de la solución y titular nuevamente hasta que vuelva el color rojo.

Usando el promedio de las 3 titulaciones se encuentra el factor siguiente:

$$HCl\ 1/10N\ f = \frac{\text{Gramos de } CO_3\ Na_2 \times 10{,}000}{\text{mls. } HCl \times 52.98}$$

2. Solución de NaOH 1/7 N para la determinación de Proteínas

Pesar 17 gramos de NaOH p.a. (exento de Carbonato) y añadir 3 litros de agua destilada fresca.

Valorar la solución con el HCl 1/10 N ya preparada(Solución N° 1) ó mejor con ácido succínico (COOH - CH_2 - CH_2 - COOH). Este ácido debe secarse durante 1 hora en la estufa a 110 °C. Enfriar en el desecador y pesar 3 partes: cada una entre 0.20 - 0.25 gramos y transferir a 3 Erlenmeyer de 300 ml. Añadir 50 ml. de agua destilada en cada uno, además 10 gotas de fenoltaleína como indicador. Después titular con la solución de NaOH 1/7 N que se desea valorar, tomando como punto final la aparición de un color rojo. Usando el promedio de mls. de las 3 titulaciones, se obtiene el factor siguiente:

$$NaOH\ 1/7\ N\ f = \frac{\text{Gramos de ácido succínico} \times 7{,}000}{\text{ml. de NaOH } 1/7\ N \times 59.02}$$

Si se usa para valorar, solución de HCl 1/10 N, tomar 3 partes de 50 ml. de ésta solución y transferir a 3 Erlenmeyer, añadir 10 gotas de fenoltaleína y titular con NaOH 1/7 N, el viraje debe ser a rojo.

Usando el promedio de las 3 titulaciones, se obtiene el factor siguiente:

$$NaOH\ 1/7\ N\ f = \frac{\text{mls. de } HCl\ 1/10\ N \times f\ HCl\ 1/10N \times 7}{\text{mls. de NaOH } 1/7\ N \times 10}$$

3. Solución de H_2SO_4 4/10 N para determinar Proteínas

Tomar 40 mls. de H_2SO_4 concentrado (p. e. = 1.84) transferirlo muy cuidadosamente en más o menos 200 ml. de agua destilada. Enfriar y agregar agua destilada hasta 3 litros.

Valorar la solución de H_2SO_4 4/10 N con solución de NaOH 1/7N (Solución N° 2) Tomar con una pipeta 3 porciones de H_2SO_4 4/10 N de 20 mls. c/u. en 3 Erlenmeyer de 300 mls. Agregar 4-5 gotas de mezcla de los indicadores : rojo de metilo y azul de metileno (solución N° 10).

Titular con NaOH 1/7 N hasta cambio de color de azul-rojo a verde.

El factor será el siguiente:

$$H_2SO_4\ 4/10\ N\ f = \frac{\text{mls. NaOH } 1/7\ N \times f\ \text{NaOH } 1/7\ N}{\text{mls. } H_2SO_4\ 4/10\ N \times 2.8}$$

4. Solución de KOH 1/10 N para determinar Acidez libre en el aceite

Pesar 16.8 gramos de KOH en 3 litros de alcohol de 96%. Corregir la solución con HCl 1/10 N (Solución N° 1) Agregar fenoltaleína como indicador.

$$KOH\ 1/10\ N\ f = \frac{\text{mls. HCl } 1/10\ N \times f\ \text{HCl } 1/10\ N}{\text{mls. KOH } 1/10\ N}$$

5. Solución de Nitrato de Plata $AgNO_3$ 1/10 N

Pesar 17 gramos de $AgNO_3$ en una fiola de 1 litro de capacidad. Añadir más o menos 300 mls. de agua destilada y agitar. Cuando todo el Nitrato se haya disuelto, enrazar la fiola con agua destilada. Preparada la solución, guardarla en frascos oscuros (color ámbar) y protegerla de la acción de la luz.

Valorar la solución de $AgNO_3$ preparada con solución de ClNa p. a. de la siguiente manera: Secar más o menos 5 gramos de Cl Na en la estufa a 120 °C , enfriar en un desecador, luego pesar exactamente

0.5846 gramos, ponerlo en una fiola de 100 ml, Agregar 40-50 mls. aproximadamente de agua destilada para disolver todo el cloruro y después enrazar la fiola con agua destilada (se ha obtenido solución 1/10 N de Cl Na con f = 1,000). Tomar 25 ml. de solución con una pipeta en 3 Erlenmeyer y añadirle 8 - 10 gotas de cromato de potasio ($CrO_4 K_2$) (50 gramos /litro) luego titular directamente con solución de $AgNO_3$.

Tomar el promedio del gasto de las 3 muestras.

1 ml. $AgNO_3$ 1/10 N = 0.005846 gramos Cl Na.

$$AgNO_3\ 1/10\ N\ f = \frac{\text{mls. Cl Na}}{\text{mls. Ag. } NO_3}$$

Nota

Cuando se use solución de $AgNO_3$ para efectuar la titulación, no regresar el contenido sobrante de la bureta al frasco, porque destruye la solución original.

6. Solución de NH_4 CNS 1/10 N

Pesar 8 gramos de NH_4CNS, ponerlos en una fiola de 1 litro de capacidad. Agregar más o menos 250 ml. de agua destilada y agitar para disolver la sal. Después enrazar la fiola con agua destilada.

Valorar la solución con Nitrato de Plata: 10 ml, de $AgNO_3$ se colocan en un Erlenmeyer de 300 ml. y 25 ml. de agua destilada; luego agregar 1 ml. de indicador (solución N°11). Titular con solución de NH_4 CNS 1 /10 N hasta obtener el viraje a color rojo oscuro. Realizar dos muestras en paralelo y tomar el promedio de ml. gastados.

$$NH_4CNS\ N/10\ f = \frac{\text{mls. } AgNO_3\ 1/10\ N \times f\ AgNO_3\ 1/10\ N}{\text{mls. } NH_4\ CNS\ 1/10\ N}$$

Indicadores

7. Rojo de metilo

0.1 gramo de rojo de metilo y 60 mls. alcohol etílico en una fiola de 100 ml. agitar y añadir agua destilada hasta completar 100 ml.

8. Fenoltaleína

1 gramo de fenoltaleína y 60 ml. alcohol etílico en una fiola de 100 ml. luego completar con agua destilada a 100 mls.

9. Azul de Metileno

0.1 gramo de azul de metileno en 100 ml. de alcohol etílico en una fiola de 100 mls.

10. Mezcla: Rojo de metilo + azul de Metileno

(Para determinar Proteínas)

Mezcla: 1:1 de las soluciones N° 7 y 9. El pH cambia a 5.4.

11. Sulfato Férrico Amónico

35 gramos de $(SO_4)_2FeNH_4 \cdot 12H_2O$ y 100 mls. de agua destilada añadir 10 mls de HNO_3 concentrado hasta coloración amarilla.

12. Anaranjado de Metilo

0.1 gramo de anaranjado de metilo y 60 ml, alcohol etílico en fiola de 100 ml. agitar y añadir agua destilada hasta completar 100 ml.

EQUIPO Y MATERIAL DE LABORATORIO

1	Balanza analítica de precisión
1	Balanza sencilla sensibilidad 10 mgr.
1	Higrómetro Infra-rojo "Ultra x Simplex' o "Cenco"
1	Molinillo para carne
1	Estufa eléctrica
1	Centrífuga Gerber
8	Butirómetros con su tapón de jebe
1	Mortero de porcelana
1	Equipo de digestión y destilación Kjeldahl
8	Balones Kjeldahl de 800 ml.
1	Baño maría con control de temperatura
1	Mufla eléctrica
2	Mecheros
10	Crisoles de porcelana de 45 cc.
24	Cápsulas de porcelana No. 000
2	Pipetas de 50 ml.
4	Pipetas de 20 ml.
4	Pipetas de 11 ml.
4	Pipetas de 10 ml.
2	Pipetas de 1 ml.
1	Porta pipetas
1	Espátula
2	Fiolas con tapa esmerilada de 100 ml.
2	Fiolas con tapa esmerilada de 500 ml.
2	Fiolas con tapa esmerilada de 1000 ml.
4	Equipos extractores soxhlets
4	Frascos de 400 ml.
4	Frascos de 250 ml.
12	Embudos pyrex 60°
1	Estante para embudos
1	Desecador de vidrio
2	Buretas corrientes de 50 ml.
2	Buretas automáticas de 50 ml.
1	Probeta de 500 ml.
1	Probeta de 100 ml.
1	Probeta de 50 ml.
12	Frascos de vidrio para muestras de 100 ml. de capacidad
2	Termómetros de vidrio de 0° - 150° C
1	Frasco lavador - Pisceta de 1 litro
3	Cajas de papel de filtro No. 20 R de 12.5 cms.
6	Cucharitas de acero
6	Frascos goteros para indicadores
24	Tapones de jebe Nos. 1 - 2
3	Tazones de fierro enlozado de 2 kg. de capacidad