

6980
20

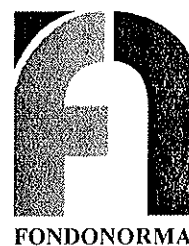
**NORMA
VENEZOLANA**

**COVENIN
1218:2002**

**CARNE Y PRODUCTO CÁRNICO.
DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO
DE NITRÓGENO**

(2^{da} Revisión)

INSTITUTO VENEZOLANO
DE NORMALIZACIÓN
PUBLICACIONES OFICIALES
CARACAS - VENEZUELA



PRÓLOGO

La presente norma sustituye totalmente a la Norma Venezolana **COVENIN 1218:1980 Carne y productos cárnicos. Determinación de nitrógeno**, fue revisada de acuerdo a las directrices del Comité Técnico de Normalización **CT10 Productos Alimenticios**, por el Subcomité Técnico **SC5 Productos Cárnicos** y aprobada por **FONDONORMA** en la reunión del Consejo Superior N° 2002-09 de fecha **09/10/2002**.

En la revisión de esta norma participaron las siguientes entidades: Ministerio de Sanidad y Desarrollo Social; Instituto Nacional de Higiene; Instituto Nacional de Nutrición; Universidad Simón Bolívar; CIEPE; General Mills de Venezuela, C.A.; Hermo, S.A.; Industria Alimenticia Corralito; Plumrose Latinoamericana, C.A.; Proagro-Protinal; Charvenca; AICAR.

Depósito Legal: If55520026652791
ISBN: 980-06-3054-6
ICS: 67.120.10

**NORMA VENEZOLANA
CARNE Y PRODUCTO CÁRNICO.
DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO
DE NITRÓGENO**

**COVENIN
1218:2002
(2^{da} Revisión)**

1 OBJETO

Esta Norma Venezolana contempla tres métodos de referencia para la determinación del contenido de nitrógeno en carne y productos cárnicos.

2 REFERENCIAS NORMATIVAS

Esta norma es completa.

3 DEFINICIONES

Para los propósitos de esta Norma Venezolana COVENIN aplica la siguiente definición:

3.1 Contenido de nitrógeno

Es la cantidad de nitrógeno correspondiente al amoníaco producido y determinado bajo las condiciones que fija esta norma.

3.2 Contenido de proteína

Es la cantidad de proteína correspondiente al nitrógeno determinado, según las condiciones que fije esta norma multiplicado por el factor 6,25. El contenido de proteína se expresa en porcentaje.

4 MÉTODOS DE ENSAYO

4.1 Método I

4.1.1 Principio

Este método consiste en la digestión de la muestra a ensayar con ácido sulfúrico concentrado, usando sulfato cúprico pentahidratado como catalizador, para convertir el nitrógeno orgánico a iones de amonio en un exceso de solución de ácido bórico. Titular con ácido clorhídrico con el fin de determinar el amoníaco presente en el ácido bórico y calcular el contenido de nitrógeno de la muestra a partir de la cantidad de amoníaco producido.

4.1.2 Equipos y materiales

4.1.2.1 Molinillo de carne provisto de un plato con orificios de un diámetro no mayor de 4 mm.

4.1.2.2 Bureta de 50 ml.

4.1.2.3 Matraz de Kjeldahl de 800 ml o 500 ml

4.1.2.4 Equipo de destilación a vapor o equipo de destilación ordinario.

4.1.2.5 Fuente de calor para llevar a cabo la digestión que permita el calentamiento del matraz de Kjeldahl en posición inclinada, de tal forma que la fuente de calor solamente toque aquella parte de la pared del matraz que está por debajo del nivel de líquido. También se puede usar un plato de asbesto con un orificio en su centro, de forma que solo la parte inferior del frasco esté expuesta al calor.

4.1.2.6 Equipo para succionar los gases producidos durante la digestión.

4.1.2.7 Balanza (apreciación 0,001 g)

4.1.2.8 Matraces aforados de 1000 ml.

4.1.2.9 Matraz erlenmeyer de 500 ml.

4.1.2.10 Mechero.

4.1.2.11 Papel encerado, piezas de 9 cm x 6 cm, libre de proteínas

4.1.2.12 Regularizadores de ebullición.

4.1.2.12.1 Para la digestión. Perlas de vidrio o trocitos de porcelana.

4.1.2.12.2 Para la destilación. Trocitos de piedra pómez o carburo de silicio.

4.1.3 Reactivos

Todos los reactivos deben ser de grado analítico y el agua debe ser destilada o de pureza equivalente, a menos que se especifique lo contrario.

4.1.3.1 Ácido clorhídrico 36,5 % a 38 %

4.1.3.2 Sulfato cúprico penta hidratado ($\text{Cu SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$).

4.1.3.3 Sulfato de potasio anhidro (K_2SO_4).

4.1.3.4 Ácido sulfúrico ($d = 1,84 \text{ g/ml}$).

4.1.3.5 Hidróxido de sodio (NaOH).

4.1.3.5.1 Solución de hidróxido de sodio libre de carbonato que contenga aproximadamente 33 g. de hidróxido de sodio (NaOH) por 100 g de solución. Disolver 500 g. de hidróxido de sodio (NaOH) en 1000 ml de agua.

4.1.3.6 Ácido bórico (H_3BO_3).

4.1.4 Soluciones

4.1.4.1 Solución de ácido bórico: Disolver 40 g. del ácido bórico en agua destilada y llevar a volumen en un matraz aforado de 1000 ml.

4.1.4.2 Solución valorada de ácido clorhídrico 0,1N.

4.1.4.3 Solución indicadora (rojo de metilo-azul de metileno). Disolver 2 g. de rojo de metilo y 1 g. de azul de metileno en un matraz aforado de 1000 ml llevando a volumen con etanol al 95 % (v/v). El cambio de color de esta solución ocurre a pH 5,4. La solución se debe guardar en una botella de color ámbar, protegida de la luz y en lugar fresco.

4.1.5 Preparación y conservación de la muestra

4.1.5.1 Se parte de una muestra representativa no menor de 200 g. La muestra se homogeniza haciéndola pasar al menos 2 veces por el molinillo de carne y luego mezclar.

4.1.5.2 Guardar la muestra una vez homogenizada en un envase de vidrio o similar con tapa de seguridad para aire y agua de tal manera que se evite su deterioro o cambio de composición. Analizar la muestra tan pronto como sea posible, pero siempre dentro de las 24 horas siguientes a su preparación.

4.1.6 Procedimiento

4.1.6.1 Pesar con una apreciación de 0,001 g sobre el papel encerado, alrededor de 2 g de la muestra preparada ó 1,5 g si se trata de una muestra con alto contenido de grasa.

4.1.6.2 Transferir la muestra de ensayo a un matraz de Kjeldahl, en el cual se ha colocado previamente unas perlas de vidrio o porcelana, 15 g de sulfato de potasio anhidro y 0,5 g de sulfato cúprico.

NOTA 1: Evitar que el material se adhiera al cuello del matraz Kjeldahl.

4.1.6.3 Añadir al matraz de Kjeldahl 25 ml de ácido sulfúrico, mezclar agitando suavemente el líquido y colocar un tapón de goma.

4.1.6.4 Colocar el matraz en posición inclinada formando con la vertical un ángulo de 40° sobre la fuente de calor. Al principio calentar el matraz suavemente hasta que el líquido cese de formar espuma y el contenido se haya fundido. Luego aumentar la temperatura hasta ebullición, rotando el matraz ocasionalmente hasta que el líquido se vuelva transparente y de color azul-verdoso. Dejar que ebulle el líquido por una hora y media más. El tiempo total de digestión no debe ser menor de 2 horas.

NOTA 2: La mezcla se solidifica si se deja en reposo.

4.1.6.5 Enfriar el matraz hasta una temperatura de 40 ° C y añadir cuidadosamente 50 ml de agua destilada. Mezclar y dejar enfriar a temperatura ambiente.

4.1.6.6 Verter en el matraz Erlenmeyer 50 ml de solución de ácido bórico, añadir unas gotas de solución indicadora (4 gotas), mezclar y colocar bajo el condensador del equipo de destilación, de forma que el extremo quede sumergido en el líquido contenido en el matraz.

4.1.6.7 Tratar el contenido del matraz de Kjeldahl por uno de los dos procedimientos descritos a continuación.

4.1.6.7.1 En el caso de destilación a vapor: transferir el contenido del matraz Kjeldahl al matraz del equipo de destilación, enjuagar el matraz con 50 ml de agua destilada y añadir 100 ml de hidróxido de sodio, a lo largo del cuello inclinando del matraz a fin de que las dos capas en el matraz no se mezclen. Inmediatamente conectar el matraz al aparato de destilación y calentar el líquido por medio de vapor hasta que ebulle durante 20 minutos. Calentar suavemente para reducir la formación de espuma. El volumen de destilado recogido debe ser al menos de 150 ml.

4.1.6.7.2 En caso de destilación ordinaria: diluir cuidadosamente el contenido del matraz de Kjeldahl con 300 ml de agua destilada y mezclar. Luego de 15 min. añadir 100 ml de solución de hidróxido de sodio a lo largo del cuello inclinado del matraz a fin de que las dos capas contenidas en el matraz no se mezclen. Inmediatamente conectar el matraz al equipo de destilación. Destilar alrededor de 250 ml tomando la precaución de que el destilado se enfríe y evitar el calentamiento de la solución de ácido bórico contenido en el frasco de recolección.

4.1.6.8 En cualquiera de las dos formas de destilación, bajar el matraz de recolección justo antes de que termina la destilación de manera que el orificio de salida del condensador quede por encima del líquido. Enjuagar la parte final del aparato de destilación (interna y externamente) con un poco de agua destilada. Verificar la destilación completa del amoníaco usando papel tornasol rojo humedecido con agua destilada, su color no debe ser afectado por el líquido que gotea del condensador.

4.1.6.9 Si la destilación se considera incompleta, suspender el calentamiento y llevar a cabo una nueva destilación.

4.1.6.10 Titular el contenido del matraz de recolección con solución de ácido clorhídrico (0,1 N) anotando el volumen gastado en la titulación. Se deben realizar dos determinaciones.

4.1.6.11 Realizar un blanco usando papel encerado y todos los reactivos en las mismas cantidades que para la muestra.

NOTA 3: Realizar las determinaciones en una atmósfera libre de vapores de amoníaco.

4.1.7 Expresión de los resultados

4.1.7.1 El contenido de nitrógeno total, como porcentaje en masa de la muestra es igual a:

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{(V_1 - V_0) \times A}{M} \times 100$$

Donde:

A = 0.0014 (1 ml ácido clorhídrico 0,1 N equivalente a 0,0014 g de nitrógeno)

V₀ = Volumen de la solución de ácido clorhídrico 0,1 N usado en la titulación del blanco, en mililitros

V₁ = Volumen de la solución de ácido clorhídrico usado en la titulación de la muestra de ensayo, en mililitros

M = Masa de la muestra de ensayo, en gramos.

NOTA 4: A fin de determinar el contenido de proteínas, se multiplica el nitrógeno total por el factor 6,25. El contenido de proteínas se expresa en porcentaje.

4.1.7.2 Tomar como resultado final la media aritmética de dos determinaciones, siempre que se cumpla (4.1.7.3) con la repetibilidad.

4.1.7.3 La diferencia entre los resultados de dos determinaciones realizadas simultáneamente por un mismo analista no debe ser mayor de 0,10 g de nitrógeno por 100 g de muestra-

4.1.8 Informe

En el informe del ensayo se debe indicar:

4.1.8.1 Fecha de realización del ensayo

4.1.8.2 Identificación completa de la muestra

4.1.8.3 Resultado del análisis

4.1.8.4 Número, título y método de la norma COVENIN consultada

4.1.8.5 Nombre del analista

4.1.8.6 Observaciones

4.2 Método II

4.2.1 Principio

Este método consiste en la digestión de la muestra a ensayar con ácido sulfúrico concentrado, usando sulfato de cobre como catalizador, para convertir el nitrógeno orgánico a iones de amonio en un exceso de solución de ácido clorhídrico. Titular con hidróxido de sodio a fin de determinar el amoníaco presente en el ácido clorhídrico y calcular el contenido de nitrógeno de la muestra a partir de la cantidad de amoníaco producido.

4.2.2 Equipos y materiales

4.2.2.1 Molinillo de carne provisto de un plato con orificios de un diámetro no mayor de 4 mm.

4.2.2.2 Bureta de 50 ml.

4.2.2.3 Matraz de Kjeldahl de 800 ml o 500 ml

4.2.2.4 Equipo de destilación a vapor o equipo de destilación ordinario.

4.2.2.5 Fuente de calor para llevar a cabo la digestión que permita el calentamiento del matraz de Kjeldahl en posición inclinada, de tal forma que la fuente de calor solamente toque aquella parte de la pared del matraz que está por debajo del nivel de líquido. También se puede usar un plato de asbesto con un orificio en su centro, de forma que solo la parte inferior del frasco esté expuesta al calor.

4.2.2.6 Equipo para succionar los gases producidos durante la digestión.

4.2.2.7 Balanza (apreciación 0,001 g)

4.2.2.8 Matraces aforados de 1000 ml.

4.2.2.9 Matraz erlenmeyer de 500 ml.

4.2.2.10 Mechero.

4.2.2.11 Papel encerado, piezas de 9 cm x 6 cm, libre de proteínas

4.2.2.12 Regularizadores de ebullición.

4.2.2.12.1 Para la digestión. Perlas de vidrio o trocitos de porcelana.

4.2.2.12.2 Para la destilación. Trocitos de piedra pómez o carburo de silicio.

4.2.3 Reactivos

4.2.3.1 Alcohol

4.2.3.2 Catalizador Kjeldahl (15 g K_2SO_4 + 0,45 g $CuSO_4$ ó 15 g $NaSO_4$ + 0,45 g $CuSO_4$).

4.2.3.3 Ácido sulfúrico 96 – 98 %

4.2.3.4 Ácido clorhídrico 35 – 37 %

4.2.3.5 Zinc metálico si el catalizador no tiene piedra pómez-

4.2.3.6 Solución indicadora (rojo de metilo)

4.2.3.7 Talato ácido de potasio ($C_6H_4COOKCOOH$)

4.2.4 Soluciones

4.2.4.1 **Solución de NaOH $0,2 \pm 0,0004$ N:** Adicionar 108 ml NaOH (1+1) y diluir a 10 L en agua libre de CO_2 , estandarizar contra talato, usando fenolftaleína como indicador.

4.2.4.2 **Solución fenolftaleína:** Disolver 1 g. de fenolftaleína en 60 ml de alcohol y llevar con agua hasta 100 ml. pH 8,3 incoloro, pH 9,8 rosado lila

4.2.4.3 **Solución ácida estandarizada, $0,2 \pm 0,004$ N de HCl ó H_2SO_4 :** Preparar una de estas 2 soluciones:

4.2.4.3.1 **Ácido clorhídrico:** Diluir 178 ml 35 - 37% de HCl a 10 L. Estandarizar con solución NaOH.

4.2.4.3.2 **Ácido sulfúrico:** Diluir 55 ml de H_2SO_4 al 98% a 10 L. Estandarizar contra solución de NaOH.

4.2.4.4 **Solución de hidróxido de sodio:** Preparar 100 ml de NaOH con 100 ml de agua (1+1).

4.2.5 Preparación y conservación de la muestra

4.2.5.1 Se parte de una muestra representativa no menor de 200 g. La muestra se homogeniza haciéndola pasar al menos 2 veces por el molinillo de carne y luego mezclar.

4.2.5.2 Guardar la muestra una vez homogenizada en un envase de vidrio o similar con tapa de seguridad para aire y agua de tal manera que se evite su deterioro o cambio de composición. Analizar la muestra tan pronto como sea posible, pero siempre dentro de las 24 horas siguientes a su preparación.

4.2.6 Procedimiento

4.2.6.1 Colocar 2 a 2,2 g de muestra pesada en el matraz Kjeldahl. Adicionar el catalizador y 40 ml de ácido sulfúrico.

4.2.6.2 Colocar el frasco en posición inclinada y calentar suavemente hasta que cese la espuma (si es necesario, añada pequeñas cantidades de parafina para reducir la espuma).

4.2.6.3 Aumentar la temperatura hasta ebullición rotando el matraz ocasionalmente hasta que el líquido se vuelva transparente, dejar ebullicir por un tiempo total no menor de 2 horas.

4.2.6.4 Enfriar, adicionar 200 ml de agua y dejar en reposo hasta que la temperatura sea menor a 25 °C. Adicionar un poco de zinc granulado para prevenir una ebullición violenta.

4.2.6.5 Inclinat matraz de Kjeldahl, adicionar el hidróxido de sodio sin agitar (por cada 10 ml de ácido sulfúrico usado, o su equivalente diluido, adicionar 15 g de hidróxido de sodio sólido o solución suficiente para hace el contenido altamente alcalino).

4.2.6.6 Inmediatamente conectar el matraz Kjeldahl al bulbo de destilación o condensador. Con el extremo del condensador sumergido en una solución de ácido estandarizado, adicionar 5 a 7 gotas del indicador en el recipiente que recolecta el destilado rotando el frasco para mezclar todo el contenido.

4.2.6.7 Calentar hasta que todo el amoniaco sea destilado, el volumen del destilado debe ser mayor o igual a 150 ml.

4.2.6.8 Remover el recipiente recolector del destilado, lavar el extremo del condensador con agua destilada. Titular el contenido del recipiente recolector del destilado con solución estándar de hidróxido de sodio. Anotar el volumen gastado en la titulación.

4.2.6.9 Se debe usar un blanco con los reactivos usados para la muestra.

4.2.7 Expresión de resultados

El contenido de nitrógeno, como porcentaje en masa de la muestra es igual a:

$$\%N = \frac{[(\text{ml ácido} \times N \text{ ácido}) - (\text{ml NaOH} \times N \text{ NaOH})] \times 1,4007}{\text{g de muestra}}$$

4.2.8 Informe

Véase punto 4.1.8

4.3 Método III. Kjeldahl Automático

4.3.1 Método directo. Principio

El método consiste en mineralizar la muestra por vía húmeda con ácido sulfúrico concentrado y alcalinizar por medio de solución de hidróxido de sodio. El amoníaco liberado es arrastrado por destilación y recogido sobre ácido bórico. La posterior valoración con ácido clorhídrico permite el cálculo de la cantidad inicialmente presente de proteína en la muestra.

4.3.2 Método indirecto. Principio

El método consiste en mineralizar la muestra vía húmeda con ácido sulfúrico concentrado y alcalinizar por medio de solución de hidróxido de sodio. El amoníaco liberado es arrastrado por destilación y recogido en una cantidad determinada de ácido sulfúrico ó ácido clorhídrico, valorando el exceso con solución de hidróxido de sodio.

4.3.3 Equipos

Analizador Kjeldahl (proteína-nitrógeno) automático ó semiautomático, ó equivalente, para lo cual se debe aplicar el procedimiento indicado por el fabricante

BIBLIOGRAFÍA

ISO 937-1978 Meat and meat products. Determination of nitrogen content. (Reference Method). First Edition.

COPANT 967-1978 Carne y sus productos. Determinación del contenido de nitrógeno.

AOAC Official Method 928.08 Nitrogen in meat 1^{era}. Edición. 1983

AOAC Official Method 981.10 Crude protein in meat 1983

Participaron en la revisión de este documento: Afanador, Maria Victoria; Ascanio, Norelis; Castro, Roger; Galvis, Lisbeth; Caro, Rosa; Del Valle, Lugo Lugo; Fermín, Lesly; Leon, Ana Mercedes; Molina, Mildred; Ovalles, Martha; Vivas, Elizabeth.