

## 1 OBJETO

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

## 2 REFERENCIAS NORMATIVAS

Esta norma es completa.

## 3 MÉTODOS DE ENSAYO

### 3.1 Determinación de calcio por valoración con permanganato de potasio

#### 3.1.1 Principio

La determinación de calcio se realiza a partir del residuo inorgánico resultante de la determinación de cenizas, con el cual se hace una solución que conforma la porción de ensayo. A ésta se le mide el contenido de calcio mediante la precipitación cuantitativa como oxalato de calcio y posterior titulación con permanganato de potasio.

#### 3.1.2 Materiales y equipos

- 3.1.2.1 Balanza analítica, con precisión de 0,1 mg
- 3.1.2.2 Balones aforados de 100 ml
- 3.1.2.3 Beaker de 500 ml
- 3.1.2.4 Cápsula de porcelana, de 50 ml
- 3.1.2.5 Embudos de vidrio para filtración
- 3.1.2.6 Estufa
- 3.1.2.7 Matraces aforados
- 3.1.2.8 Mufla eléctrica
- 3.1.2.9 Papel de filtro Whatman (Nº 40 o equivalente)
- 3.1.2.10 Pipetas volumétricas de 1.5 y 10 ml
- 3.1.2.11 Plancha de calentamiento
- 3.1.2.12 Varillas de vidrio

### 3.1.3 Reactivos

3.1.3.1 Ácido clorhídrico 1:1

3.1.3.2 Acido sulfúrico concentrado

3.1.3.3 Etanol

3.1.3.4 Hidróxido de amonio concentrado

3.1.3.5 Oxalato de sodio ( $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ )

3.1.3.6 Oxalato de amonio ( $\text{C}_2\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ )

3.1.3.7 Permanganato de potasio ( $\text{KMnO}_4$ )

3.1.3.8 Rojo de metilo

### 3.1.4 Preparación de soluciones

#### 3.1.4.1 Solución indicadora de rojo de metilo 0.5

- Disolver 0.5 g de rojo de metilo en 100 ml de alcohol etílico al 96%.

#### 3.1.4.2 Solución de permanganato de potasio ( $\text{KMnO}_4$ ) al 0.05 N

- Pesar 1.6 g de  $\text{KMnO}_4$  diluir con agua destilada caliente y transferir a balón aforado de 1000 ml (no enrasar).
- Tapar y guardar en oscuridad por 2 días.
- Aforar y guardar en frasco ámbar.

#### 3.1.4.2.4 Estandarización de la solución de permanganato

- Secar el oxalato de sodio en estufa a  $105^\circ\text{C}$  por una hora
- Pesar entre 0.1 y 0.2 g de oxalato de sodio.
- Trasvasar cuantitativamente a un beaker de capacidad 500 ml.
- Agregar 250 ml de agua destilada.
- Agregar 7 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado.
- Calentar hasta hervor suave (de  $70^\circ\text{C}$  a  $80^\circ\text{C}$ ), no dejar enfriar.
- Titular con la solución de  $\text{KMnO}_4$  hasta obtener color rosa pálido por 15 seg.
- Realizar por duplicado.

#### 3.1.4.2.5 Cálculo de la normalidad

$$N = \frac{P}{V \times PE}$$

Donde:

N: Normalidad del  $\text{KMnO}_4$   
P: Peso del oxalato de sodio en mg  
V: Volumen de  $\text{KMnO}_4$ , gastado en la titulación en ml  
PE: Peso equivalente 66.999 g/equiv. Oxalato de sodio

### 3.1.4.3 Solución de oxalato de amonio al 4% P/V

Pesar exactamente 4 g de oxalato de amonio ( $\text{C}_2\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ ). Disolver con agua destilada, trasvasar a balón de 100 ml y aforar.

### 3.1.5 Preparación y conservación de la muestra

**3.1.5.1** 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.

**3.1.5.2** 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.

### 3.1.6 Procedimiento

**3.1.6.1** Pesar por duplicado  $5 \pm 0.3$  g de la muestra homogeneizada en una cápsula de porcelana previamente tarada.

**3.1.6.2** Colocar la cápsula en la mufla fría y aumentar gradualmente la temperatura hasta  $525^\circ\text{C}$ .

**3.1.6.3** Cuando las cenizas estén blancas, colocar las cápsulas en el desecador y dejar enfriar.

**3.1.6.4** Agregar a las cenizas 5 ml de ácido clorhídrico 1:1 y calentar en la plancha de calentamiento a baja temperatura hasta sequedad evitando que se pierda ceniza, a fin de deshidratar los silicatos y hacerlos solubles.

**3.1.6.5** Agregar 5 ml de ácido clorhídrico 1:1 y calentar suavemente por 15 min.

**3.1.6.6** Transferir la solución con ayuda de agua destilada y embudo, a un balón aforado de 100 ml y enrasar.

**3.1.6.7** Tomar una alícuota de 50 ml y transferir a un beacker de 500 ml. Agregar agua destilada hasta un volumen aproximado de 150 ml.

**3.1.6.8** Agregar 3 gotas de indicador rojo de metilo y ajustar el pH a 3.0 con hidróxido de amonio y ácido clorhídrico 1:1 (el pH 3.0 se alcanza cuando al agregar una gota de cada uno desaparece el color del otro. hidróxido de amonio: amarillo; ácido clorhídrico: rosado). Se deja de color rosado.

**3.1.6.9** Calentar suavemente hasta ebullición.

**3.1.6.10** Agregar 10 ml de solución oxalato de amonio, tapar y guardar en oscuridad mínimo 4 horas.

**3.1.6.11** Filtrar por papel Whatman N° 40 y lavar con agua destilada, mínimo 3 veces.

**3.1.6.12** Tomar el papel filtro y colocarlo nuevamente en el beaker, añadir agua destilada ( $\pm 50$  ml) agitar con varilla de vidrio suavemente.

**3.1.6.13** Añadir 7 ml de ácido sulfúrico concentrado, teniendo cuidado que no caiga directamente sobre el papel para evitar quemarlo.

**3.1.6.14** Calentar suavemente en la plancha de calentamiento hasta ebullición.

**3.1.6.15** Titular en caliente con permanganato de potasio hasta la aparición del color rosado permanente (15 a 30 segundos)

**3.1.6.16** Registrar los ml consumidos.

**NOTA 1:** Se debe preparar un blanco

### 3.1.7 Expresión de resultados

El contenido de calcio presente en la muestra se expresa con % (m/m) y se calcula mediante la siguiente fórmula:

1 ml de  $\text{KMnO}_4$  0,05 N = 1 mg de calcio

Entonces:

$$\% \text{ Ca} = \frac{V \times N \times 20,004 \times V_t}{A \times P \times 1000} \times 100$$

Donde:

- V : Volumen de  $\text{KMnO}_4$  gastados en la titulación en ml
- N : Normalidad de la solución de  $\text{KMnO}_4$
- A : Alícuota de la solución, de cenizas en ml
- P : Peso de la muestra en g (en la solución utilizada para cenizas)
- Vt : Volumen total de la solución de cenizas en ml
- 20,004 peso equivalente del calcio en mg

### 3.1.8 Informe

En el informe debe contener lo siguiente:

- 3.1.8.1 Fecha de realización del ensayo
- 3.1.8.2 Identificación completa de la muestra
- 3.1.8.3 Resultado del análisis realizado
- 3.1.8.4 Número y título de la Norma Venezolana COVENIN consultada
- 3.1.8.5 Nombre del analista
- 3.1.8.6 Observaciones.

## 3.2 Determinación de calcio por el método de absorción atómica

### 3.2.1 Principio del ensayo

La muestra de carne y productos cárnicos debe ser calcinada, mineralizada y luego digerida con ácido para su procesamiento por absorción atómica.

### 3.2.2 Materiales y equipos

- 3.2.2.1 Balanza analítica con precisión de 0,1 mg
- 3.2.2.2 Balones aforados de 25 y 50 ml.
- 3.2.2.3 Beaker de 600 ml.
- 3.2.2.4 Cápsulas de porcelana de 100 ml de capacidad.
- 3.2.2.5 Embudo pequeño.

**3.2.2.6** Espectrofotómetro de absorción atómica.

**3.2.2.7** Papel filtro Whatman N° 42 o equivalente

**3.2.2.8** Pipetas volumétricas.

**3.2.2.9** Plancha de calentamiento.

### **3.2.3 Reactivos**

Los reactivos utilizados deben ser de calidad analítica reconocida y exentos de los metales a determinar. Se debe emplear agua destilada provenientes de aparatos totalmente de vidrio.

**3.2.3.1** Ácido sulfúrico concentrado, grado absorción atómica.

**3.2.3.2** Ácido clorhídrico concentrado, grado absorción atómica.

**3.2.3.3** Ácido nítrico concentrado, grado absorción atómica.

**3.2.3.4** Agua desionizada o destilada.

**3.2.3.5** Nitrato de magnesio hexahidratado al 50 % (m/v)

**3.2.3.6** Solución patrón del calcio.

### **3.2.4 Preparación y conservación de la muestra**

**3.2.4.1** 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.

**3.2.4.2** 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.

### **3.2.5 Procedimiento**

**3.2.5.1** Preparación de la curva patrón: Preparar la curva patrón del calcio a partir de la solución patrón con las concentraciones que recomienda el manual de operación del equipo o de técnicas de análisis suministradas por el proveedor del equipo.

**3.2.5.2** Pesar de 4 a 6 g de muestra previamente homogeneizada en la cápsula de porcelana.

**3.2.5.3** Añadir 2,5 ml. de la solución de nitrato de magnesio

**3.2.5.4** Colocar en la plancha de calentamiento e ir aumentando gradualmente la temperatura de la plancha hasta la carbonización completa de la muestra.

**NOTA 2:** Evitar un sobrecalentamiento de la muestra, lo cual conlleva a posibilidades de derrame.

**3.2.5.5** Colocar la muestra en la mufla, comenzar en 200° C e ir aumentando en forma gradual a 500 ° C, hasta incineración completa (cenizas blancas).

**3.2.5.6** Sacar la cápsula de la mufla, enfriar y añadir 2 ml de ácido clorhídrico concentrado, calentar en baño de agua (dentro de la campana) hasta evaporación completa.

**3.2.5.7** Adicionar 2 ml de ácido nítrico concentrado, colocar en baño de agua y hervir por un minuto.

**3.2.5.8** Transferir y filtrar (papel filtro N° 42) la muestra a un balón de 25 ml, lavando con la menor cantidad de agua desionizada o destilada y llevar a enrase.

**NOTA 3:** Se puede utilizar 10 ml de ácido sulfúrico al 5% en vez de los ácidos clorhídrico y nítrico y luego calentar por espacio de 30 minutos.

**3.2.5.9 Proceder** a medir la concentración de calcio en el equipo de absorción atómica de acuerdo a las condiciones operativas indicadas en el manual de operación del equipo utilizado.

### **3.2.6 Expresión de resultados**

Los resultados serán calculados con la siguiente fórmula:

$$C = A \times \frac{B}{D}$$

Donde:

- C = Concentración del calcio ( $\mu\text{g/g}$ )
- A = Concentración de la muestra en  $\mu\text{g/ml}$  calculado a partir de la lectura de la absorbancia
- B = Volumen final (dilución en ml)
- D = Peso de la muestra en gramos

### **3.2.7 Informe**

Véase el punto 3.1.8

## **3.3 Determinación de calcio en carne mecánicamente deshuesada (CDM)**

### **3.3.1 Principio del ensayo**

Se basa en la determinación de calcio mediante la titulación ácido-base

### **3.3.2 Materiales y equipos**

**3.3.2.1** Balanza analítica, con precisión de 0,1 mg

**3.3.2.2** Balones aforados de 200 ml.

**3.3.2.3** Beaker de 400 ml

**3.3.2.4** Bureta de 50 ml

**3.3.2.5** Espátula de aluminio

**3.3.2.6** Papel filtro Whatman N° 4 o equivalente.

**3.3.2.7** Pipetas volumétricas de 2 y 10 ml

**3.3.2.8** Plancha de calentamiento

### **3.3.3 Reactivos**

**3.3.3.1** Ácido clorhídrico 1:1

**3.3.3.2** Sal sódica del ácido etilendiamino tetracético (EDTA), 99 % de pureza

**3.3.3.5** Carbonato de calcio 0,02 M

**3.3.3.3** Indicador azul de hidroxinaftol

**3.3.3.4** Solución de hidróxido de potasio y cianuro de potasio (KOH – KCN)

### 3.3.4 Preparación de los reactivos

**3.3.4.1** EDTA 0,02M: Disolver 7,44 de EDTA en agua destilada, transvasar a un balón de 1000 ml y aforar.

**3.3.4.2** Solución de KOH – KCN: Disolver 280 g de KOH en 500 ml de agua destilada. Enfriar, añadir 66 g de KCN, disolver y diluir a 1000 ml con agua destilada.

**NOTA 4:** El KCN debe ser manipulado con guantes.

**3.3.4.3** Carbonato de calcio 0,02M: Pesar 2 g de carbonato de calcio estándar primario (secar 2 horas a 100 °C) y transferir a un balón de 1000 ml. Añadir 500 ml de agua destilada y 10 – 12 ml de HCl (1:1). Calentar a ebullición hasta disolución del CaCO<sub>3</sub>. Enfriar y diluir a volumen con agua destilada.

#### 3.3.4.3.1 Determinación de la relación de EDTA para CaCO<sub>3</sub> por titulación

**3.3.4.3.1.1** Medir 15 ml de la solución de EDTA 0,02M en un beaker de 400 ml.

**3.3.4.3.1.2** Añadir 50 ml de agua destilada.

**3.3.4.3.1.3** Agregar 200 – 300 mg de indicador azul de hidroxinaftol.

**3.3.4.3.1.4** Ajustar con agitación constante el pH a 12,5 +/- 0,2 con la solución de KOH -KCN

**NOTA 5:** Se debe agregar gota a gota ( se gastan aproximadamente 4,5 ml de solución de KOH-KCN)

**3.3.4.3.1.5** Titular con agitación constante con la solución de CaCO<sub>3</sub> 0,02 M hasta observar el primer cambio de color

#### 3.3.4.3.2 Calculo de la relación

$$R = \frac{A}{B}$$

Donde:

A: mililitro de carbonato de calcio gastados

B: mililitro de EDTA añadidos

### 3.3.5 Preparación y conservación de la muestra

**3.3.5.1** 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.

**3.3.5.2** 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.

### 3.3.6 Procedimiento

**3.3.6.1** Pesar 10 g de muestra previamente homogeneizada

**3.3.6.2** Transferir a un beaker de 400 ml., añadir 30 ml de HCl (1:1), colocar 5 perlas de vidrio y tapar con vidrio de reloj.

**3.3.6.3** Llevar a calentamiento, cuando este hirviendo dejar por 20 minutos.

**3.3.6.4** Enfriar y filtrar con papel Whatman N° 4 en un balón de 200 ml.

**NOTA 6:** Recoger 190 ml del filtrado, lavando varias veces con agua destilada

**3.3.6.5** Diluir a volumen y mezclar

**3.3.6.6** Tomar una alícuota de 20 ml y agregar en un beaker de 400 ml, añadir 50 ml de agua destilada y colocar un agitador magnético

**3.3.6.7** Añadir 200 – 300 ,g del indicador y mezclar.

**3.3.6.8** Añadir 25 ml de EDTA y ajustar con agitación constante el pH a 12,5 +/- 0,2 con la solución de KOH – KCN.

**NOTA 7:** No exceder el pH, ya que se puede precipitar el CaCO<sub>3</sub>. Se debe agregar gota a gota (se gastan aproximadamente 4,5 ml)

**3.3.6.9** Titular con agitación constante con la solución de CaCO<sub>3</sub> hasta la obtención del primer cambio de color.

### **3.3.7 Expresión de resultados**

El contenido de calcio presente en la muestra se expresa como % (masa/masa) y se calcula mediante la siguiente fórmula

$$\% \text{ Ca} = (A - B \times R) \times M \times 4$$

Donde:

A: Volumen de EDTA añadido, en ml

B: Volumen de CaCO<sub>3</sub> gastados en la titulación, en ml

R: Radio

M: Molaridad de la solución de EDTA

4: Factor de conversión

**NOTA 8:** En caso de que se utilice un peso de muestra diferente a 10 g o diluciones diferentes a la sugerida, el factor de conversión ( 4 ) debe ser recalculado.

### **3.3.8 Informe:**

Véase el punto 3.1.8

## **BIBLIOGRAFÍA**

Journal AOAC Official method Vol. 66 N° 4. 1983

Manual de operación del equipo de absorción atómica