

Iniciación a la bromatología (prácticas)	Protocolos de análisis	Ref: 15.4
<b>ALMIDÓN (ESPECTROFOTOMETRÍA)</b>		

## OBJETIVO Y FUNDAMENTOS

Eliminación de los azúcares por extracción, solubilización del almidón y reacción colorimétrica con reactivo de antrona.

## MATERIAL

Balanza analítica.  
 Baño de agua con regulación de temperatura.  
 Centrífuga.  
 Embudo cónico.  
 Espectrofotómetro.  
 Frasco lavador.  
 Escala.  
 Matraz aforado de 200 ml.  
 Matraz erlenmeyer de 100 ml.  
 Matraces aforados de 100 ml (8)  
 Papel de filtro.  
 Papel milimetrado.  
 Pipetas de 5 ml.  
 Tubos de ensayo de 20 ml.  
 Tubos de centrífuga de 100 ml, con tapón esmerilado.  
 Tubos para espectrofotómetro.

## REACTIVOS

Ácido perclórico del 52% (preparado a partir de ácido perclórico del 60% pa y agua destilada).  
 Agua destilada.  
 Alcohol etílico al 80 % (a partir de alcohol etílico del 96% pa y agua destilada).  
 Alcohol etílico del 96 % pa.  
 Éter de petróleo 50-70°C pa.  
 Reactivo de antrona (preparación extemporánea, máximo 4 días a 0°C; disolver 0'2 gramos de antrona pa en 100 ml de ácido sulfúrico del 96% pa).

## METODOLOGÍA

- 1.- Pesar entre 0'4 y 2 gramos de muestra (según sea el supuesto contenido de almidón) en un erlenmeyer de 100 ml.
- 2.- Añadir 25 ml de disolución alcohol-éter, tapar y sacudir con energía durante 3 o 4 minutos.
- 3.- Pasar a un tubo de centrífuga de 100 ml, lavando con un poco de alcohol-éter y

centrifugar; decantar y reservar la disolución alcohol-éter.

4.- Añadir 10 ml de alcohol etílico caliente al 80 %, sacudir y centrifugar; decantar y reservar la disoluciónalcohólica. Repetir la extracción con alcohol.

5.- Añadir 5 ml de agua destilada y agitar.

6.- Añadir 6'5 ml de disolución de ácido perclórico al 52% y agitar durante 5 minutos; dejar reposar 15 minutos.

7.- Añadir 20 ml de agua destilada y centrifugar. Pasar el líquido a un matraz aforado de 100 ml.

8.- Repetir los pasos 5 y 6, pero dejando reposar 30 minutos.

9.- Transferir todo (líquido y residuo) al matraz aforado, agitar, enrasar y homogeneizar.

11.- Filtrar; tomar 5 ml de filtrado y transferir a un matraz aforado de 200 ml, enrasar y homogeneizar .

12.- Pipetear 5 ml de la disoluciónanterior a un tubo i añadir 10 ml de reactivo de antrona; mezclar y calentar durante 5 minutos en baño de agua a 100°C; enfriar a continuación a temperatura ambiente y determinar la absorbancia a 630 nm frente a a un blanco con agua y reactivo, antes de que pasen 30 minutos.

### Curva patrón de glucosa

1.- Preparar una disolución madre de glucosa, disolviendo 0'1 gramos de D(+)- glucosa anhidra pa hasta 100 ml en agua destilada.

2.- Preparar disoluciones de trabajo disolviendo 1, 2, 5, 7 i 10 ml de disolución madre de glucosa hasta 100 ml en agua destilada; las concentraciones correspondientes son de 0'01, 0'02, 0'05, 0'07 y 0'10 mg/ml.

3.- Proceder con cada disolución de trabajo como en el punto 12 de la metodología y construir una curva de calibrado, representando las concentraciones de glucosa (abscisas) frente la absorbancia (ordenadas).

## CÁLCULOS

Determinar la concentración correspondiente de glucosa en la curva de calibrado, expresándolo en glucosa equivalente.

$$\text{Almidón (\%)} = \frac{400 \cdot C}{m}$$

**C** = concentración de glucosa en la curva de calibrado en mg/ml.

**m** = masa de muestra en gramos.

## OBSERVACIONES

Para muestras con un contenido alto de azúcares, es preciso repetir más veces las extracciones de los primeros pasos.

Si queremos expresar el resultado como "almidón real", deberá considerarse que el factor de conversión glucosa/almidón es de 1'06

**Cuestionario 15.4.- Almidón (espectrofotometría)**

- 1.- Hacer el esquema gráfico del procedimiento analítico.
- 2.- Deducir razonadamente la fórmula utilizada en los cálculos.
- 3.- Confeccionar el correspondiente "boletín de análisis".