



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

Cálculo del contenido en azúcares totales en alimentos por el método de Bertrand

Apellidos, nombre	Fernández Segovia, Isabel (isferse1@tal.upv.es) Fuentes López, Ana (anfuelo@upvnet.upv.es) García Martínez, Eva (evgarmar@tal.upv.es)
Departamento	Departamento de Tecnología de Alimentos
Centro	ETSIAMN - Universitat Politècnica de València



1 Resumen de las ideas clave

El análisis de azúcares es muy importante en tecnología de alimentos por diversos motivos. Para llevarlo a cabo existe una gran variedad de métodos, basados en distintos principios. Cuando se quiere determinar el contenido en azúcares reductores o en azúcares totales, el empleo de los métodos químicos basados en la reducción del cobre es una opción muy adecuada. A su vez, este tipo de metodología incluye una gran variedad de métodos, entre los que cabe destacar el método de Bertrand. En este objeto de aprendizaje se va a explicar la forma de llevar a cabo los cálculos para determinar el contenido en azúcares totales de una muestra, que ha sido analizada por el método de Bertrand.

2 Objetivos

Con este artículo se pretende que el alumno sea capaz de:

- Calcular la concentración de azúcares totales en una muestra, a partir de los resultados obtenidos en el laboratorio, cuando se aplica el método de Bertrand.

3 Introducción

Los métodos de análisis de carbohidratos podrían clasificarse en 4:

- a) Métodos químicos basados en la reducción del cobre.
- b) Métodos físicos (refractometría y polarimetría)
- c) Métodos enzimáticos
- d) Métodos cromatográficos

Los métodos reductométricos determinan la totalidad de los azúcares reductores presentes en una muestra. Estos métodos se basan en la capacidad reductora de los distintos azúcares sobre disoluciones salinas de metales pesados (sobre todo cobre).

Todos los monosacáridos se encuentran en forma hemiacetálica, con su grupo lactol libre. En disolución alcalina la estructura hemiacetálica se rompe y el grupo carbonilo reductor se libera. Es decir, todos los monosacáridos tienen poder reductor.

En el caso de oligosacáridos, no todos poseen poder reductor. En los oligosacáridos, el enlace entre monosacáridos (enlace glicosídico), se forma entre el grupo lactol de un monosacárido y un grupo -OH del otro. Si este grupo hidroxilo corresponde al grupo lactol del segundo monosacárido, el disacárido resultante carecería de poder reductor, por no tener ningún grupo lactol libre, como es el caso de la sacarosa. Sin embargo, si el grupo lactol de, al menos 1 monosacárido queda libre, el oligosacárido resultante sí que presentaría poder reductor, como sucede en el caso de la maltosa. Para determinar los azúcares no reductores, deben escindirse primero por hidrólisis ácida o enzimática, a sus correspondientes monosacáridos, que sí son reductores.



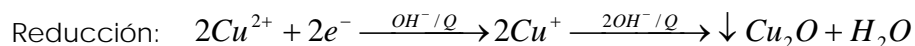
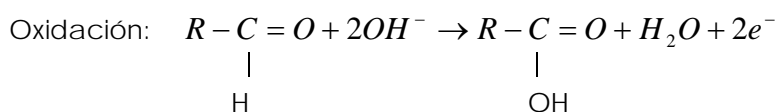
Por tanto, mediante los métodos químicos basados en la reducción del cobre, se pueden determinar solamente azúcares reductores. Si se quieren determinar azúcares reductores y no reductores, es necesario someter a la muestra previamente a un proceso de hidrólisis y, de esta forma, todos los azúcares presentes se transformarán en azúcares reductores, pudiendo así determinar los azúcares totales.

La reacción que se da en este tipo de métodos es la que tiene lugar entre las disoluciones de azúcares y las disoluciones alcalinas de sulfato cúprico a alta temperatura.

Las disoluciones empleadas en estas determinaciones contienen sulfato cúprico, un álcali y tartrato sódico potásico (sustituido por ácido cítrico en algunos métodos). Es muy usual utilizar las disoluciones de Fehling (Fehling A: disolución de CuSO_4 ; Fehling B: disolución de tartrato sódico potásico e hidróxido sódico).

Como se ha comentado anteriormente, en disolución alcalina la estructura hemiacetalica de los azúcares se rompe y el grupo carbonilo reductor se libera. Éste se oxida con el ión Cu^{2+} en disolución alcalina a temperatura de ebullición y en condiciones de trabajo estrictamente controladas, reduciéndose el ión Cu^{2+} a ión Cu^+ , formándose finalmente un precipitado de óxido cuproso, tal y como se muestra a continuación:

Azúcar



El método de Bertrand se basa en la determinación de la cantidad de Cu_2O formado, empleando una disolución ácida de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ y posterior valoración con KMnO_4 .

4 Desarrollo

En este apartado se definirán las etapas principales de las que consta el método de Bertrand, así como las semi-reacciones de oxidación-reducción que tienen lugar, para poder entender el fundamento de dicha metodología y llevar a cabo los cálculos.

4.1 Etapas del método de Bertrand

Los pasos principales de este método para determinar azúcares totales son los siguientes:

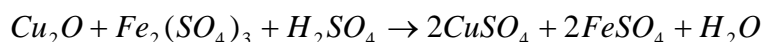
- Hidrólisis de la muestra en disolución para transformar azúcares no reductores en azúcares reductores.
- Eliminación de todas las materias reductoras distintas de los azúcares que podrían interferir en el análisis por defecación.



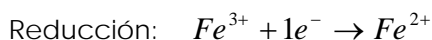
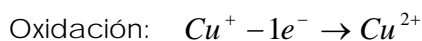
- Alcalinización.
- Reacción entre la disolución de azúcares totales con una disolución de sal cúprica a alta temperatura, formándose óxido cuproso.
- Reacción entre el óxido cuproso y sulfato férrico en disolución ácida, con formación de la sal ferrosa equivalente.
- Valoración de la sal ferrosa formada con permanganato potásico de normalidad conocida.

4.2 Semi-reacciones del método de Bertrand

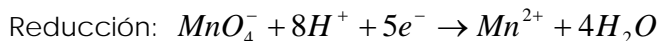
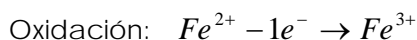
Una vez formado el óxido cuproso por reacción entre los azúcares reductores y el ión cúprico, las reacciones y semi-reacciones que tienen lugar son las siguientes:



El catión cuproso se oxida a cúprico, mientras que el catión férrico del reactivo se reduce a ferroso cuantitativamente.



El catión ferroso se valora con permanganato potásico:



Los cálculos se basarían en lo siguiente:

equivalentes de MnO_4^- = equivalentes de Fe^{2+} = equivalentes de Cu^+

4.3 Metodología del cálculo de la cantidad de azúcares totales en un alimento

A continuación se explica con un supuesto práctico, cómo llevar a cabo los cálculos necesarios para obtener la cantidad de azúcares totales en una muestra de un alimento que ha sido analizada con el método de Bertrand.

La metodología analítica explicada en este ejemplo está abreviada. Se puede conocer la metodología exacta consultando el libro publicado por Camacho y col. (2011)¹. Esta metodología es aplicable al análisis de harinas, galletas, leguminosas, pastas, etc.

¹ Camacho, M.M.; Doménech, E.; Escriche, I.; Fernández-Segovia, I.; García-Martínez, E.; Serra, J.A.; Yuste, A.: "Prácticas de laboratorio de análisis y control de calidad de alimentos". Ed. Universidad Politécnica de Valencia, 2011.



Supuesto práctico:

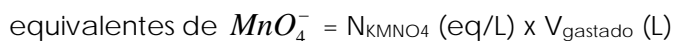
Se desea conocer el contenido en azúcares totales expresados en glucosa de una muestra. Para ello se llevan a cabo los siguientes pasos:

- Se pesan 1,5 g de la muestra y se hace una hidrólisis ácida con 100 mL de agua y 7 mL de HCl concentrado en caliente.
- A continuación se añaden 5 mL de crema de alúmina y se alcaliniza con 11 mL de una disolución de NaOH 6 N. La disolución obtenida se pone en un aforado de 250 mL, se afora con agua destilada y se filtra.
- Se toman 5 mL del filtrado y se ponen con el licor de Fehling en exceso (10 mL de Fehling A y 10 mL de Fehling B) en un Erlenmeyer. Se lleva a ebullición y se mantiene durante 3 min. De esta forma se da la reducción de parte del cobre que precipita como óxido cuproso.
- El precipitado de óxido cuproso se lava con agua y se disuelve en sulfato férrico en caliente. El sulfato ferroso formado se valora con KMnO_4 0,01 N, del cual se gastan 20,8 mL para la valoración.

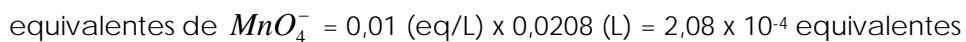
A continuación vamos a ver cómo se calcularían los mg de cobre que han sido reducidos por los azúcares de la muestra. Posteriormente veremos cómo se calcula a partir de ese dato, el contenido en azúcares totales de la muestra de partida.

1. *Cálculo de los mg de cobre reducidos por los azúcares:*

Como se ha explicado en el apartado 4.2, los cálculos se basarían en lo siguiente:



Sabemos que la normalidad del KMnO_4 es 0,01 eq/L y que el volumen gastado fue de 20,8 mL, por tanto,



Para calcular los mg de cobre habrá que multiplicar los mequivalentes por el peso atómico del Cu (63,55 mg/meq):

$$\text{mg Cu} = \text{meq Cu} \times \text{Pat} = 0,208 (\text{meq}) \times 63,55 (\text{mg/meq}) = \underline{\underline{13,21 \text{ mg Cu}}}$$

2. *Cálculo del contenido en azúcares totales (g/100 g) en la muestra de partida:*

El método de Bertrand incluye una tabla que relaciona los mg de cobre calculados en el punto anterior, con los mg de glúcido. La Tabla 1 muestra un fragmento de dicha tabla.



La tabla de Bertrand contempla que los mg de glúcido se pueden expresar como mg de glucosa o como mg de azúcar invertido, aunque realmente se trata de mg de azúcares totales.

Los mg de cobre que hemos calculado en el apartado anterior los tenemos que buscar en una de las dos columnas con el nombre de "Glucosa" o de "Azúcar invertido", dependiendo de cómo queramos expresar el resultado final.

Los mg de azúcares totales los miramos en la última columna llamada "mg de glúcido".

mg de cobre equivalente a:		mg de glúcido
Glucosa	Azúcar invertido	
11,00		5
13,20		6
15,00		7
16,87		8
18,60		9
20,40	20,60	10
22,40	22,60	11
24,30	24,60	12

Tabla 1. Reproducción parcial de la Tabla de Bertrand.

Por tanto, en nuestro ejemplo, tenemos que buscar el valor de **13,21 mg de cobre**, en la columna de "Glucosa" o de "Azúcar invertido". En este caso concreto no podemos elegir, ya que el primer valor o valor más bajo en la columna de "Azúcar invertido" es 20,60.

Por tanto, nosotros buscaremos en la fila de "Glucosa" el valor de **13,20** y mirando en esa misma fila, en la columna de "mg de glúcido" veremos el valor que le corresponde, que en este caso son **6 mg de glúcido**.

Esos 6 mg de glúcido calculados, son los que contienen los 5 mL del extracto de la muestra que hemos hecho reaccionar con los reactivos de Fehling. Sin embargo, hemos de calcular los g de glúcido que hay en 100 g de muestra. Para ello, hemos de tener en cuenta la preparación de la muestra, que simplificando ha sido la siguiente:

1,5 g muestra → 250 mL de disolución "Disolución 1"

De esos 250 mL → 5 mL se han hecho reaccionar con el Fehling



- Por lo tanto, primero hemos de calcular la concentración de azúcar en los 5 mL del extracto (C_1):

$$C_1 = 6 \text{ mg glúcido}/5 \text{ mL} = 1,2 \text{ mg glúcido/mL de disolución}$$

- Esa concentración (C_1) es la misma que hay en los 250 mL. Por tanto, a partir de C_1 podemos saber los mg de glúcido que hay en la *Disolución 1*, que a su vez, serían los mg de glúcido que contenían los 1,5 g de muestra:

$$\text{mg glúcido en } \textit{Disolución 1} = C_1 \times 250 \text{ mL}$$

$$\text{mg glúcido en } \textit{Disolución 1} = 1,2 \text{ mg/mL de disolución} \times 250 \text{ mL} = 300 \text{ mg} = 0,3 \text{ g}$$

$$\text{g de glúcido o de azúcares totales en 1,5 g muestra} = 0,3 \text{ g}$$

$$\text{g azúcares totales}/100 \text{ g} = (0,3 \text{ g}/1,5 \text{ g muestra}) \times 100 =$$

$$= \underline{\underline{20 \text{ g azúcares totales}/100 \text{ g}}}$$

Es decir, el contenido en azúcares totales del alimento analizado sería:
20 g /100 g de alimento.

5 Cierre

A lo largo de este objeto de aprendizaje hemos visto los principios del análisis de azúcares totales por el método de Bertrand, que es un método químico basado en la reducción del cobre. Además, se ha detallado paso a paso la metodología para llevar a cabo los cálculos del contenido en azúcares totales en un alimento, partiendo de los datos obtenidos en el laboratorio al aplicar el método de Bertrand.

6 Bibliografía

[1] Camacho, M.M.; Doménech, E.; Escriche, I.; Fernández-Segovia, I.; García-Martínez, E.; Serra, J.A.; Yuste, A.: "Prácticas de laboratorio de análisis y control de calidad de alimentos". Ed. Universidad Politécnica de Valencia, 2011.

[2] Matissek, R.; Schnepel, F.M.; Steiner, G.: "Análisis de los Alimentos. Fundamentos, Métodos y Aplicaciones". Ed. Lavoisier Paris, 1998.