

## Extracto de soya acuoso – Determinación de la actividad de ureasa

### 1 OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Esta norma establece el método para determinar la actividad de la ureasa en el extracto de soya acuoso.

### 2 REFERENCIAS

NB 313020 Extracto de soya acuoso (Leche de soya base) - Materia prima - Requisitos  
NB 313021 Extracto de soya acuoso (Leche de soya fluida) - Requisitos

### 3 MÉTODO DE ENSAYO

#### 3.1 Principio

Consiste en determinar la actividad de la enzima ureasa como indicador del procesamiento a que fue sometido el extracto de soya acuoso.

#### 3.2 Materiales y reactivos

Solo se deben usar reactivos de grado analítico reconocido.

- Tubos de ensayo de 20 mm x 150 mm, provistos de tapón de caucho
- Fosfato monobásico de potasio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )
- Fosfato dibásico de potasio ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ )
- Urea para análisis
- Solución tampón 0,05 M de fosfato de potasio. Se prepara disolviendo 3,403 g de fosfato monobásico de potasio y 4,344 g de fosfato dibásico de potasio en 100 ml de agua destilada aproximadamente. Se mezcla y se lleva a 1 000 ml. El pH debe ser 7,0, si no lo es se ajusta a este valor mediante soluciones de ácido o bases fuertes. La vida útil de esta solución es de 90 días. El tampón debe mantenerse refrigerado para evitar su descomposición
- Solución tampón de urea fosfato de potasio. Se disuelven 15 g de urea en 500 ml de solución tampón de fosfato de potasio. Se agregan 5 ml de tolueno, el cual sirve de conservante y evita la formación de mohos. El pH de la solución se ajusta en la forma indicada anteriormente.

#### NOTA

El tolueno es inflamable y presenta riesgos de incendio. Los límites explosivos en el aire están desde 1,27 % a 7%. Es tóxico por ingestión, inhalación y absorción por la piel. El TLV en el aire es de 100 ppm. Se debe usar siempre una mascarilla cuando se usa tolueno.

#### 3.3 Aparatos

- Baño maría regulable, capaz de mantener una temperatura de  $30\text{ }^\circ\text{C} \pm 0,5\text{ }^\circ\text{C}$ .
- Potenciómetro provisto de electrodos de vidrio y calomel.
- Balanza analítica con resolución 0,0001g

### 3.4 Procedimiento

Se pesan 0,200 g de la muestra, con aproximación al 0,001g, en un tubo de ensayo y se agregan 10 ml de solución tampón de urea fosfato de potasio. Se tapa el tubo, se agita y se coloca dentro del baño maría a 30 °C. Durante la agitación debe tenerse la precaución de no invertir el tubo.

Se prepara un blanco pesando 0,200 g de la muestra con aproximación al 0,001 g dentro de un tubo de ensayo y agregan 10 ml de solución tampón de fosfato, se tapa el tubo y se agita. Luego se coloca el tubo en un baño maría a 30°C.

Entre la preparación del tubo con la muestra para ensayo y el correspondiente al blanco se debe dejar un intervalo de 5 minutos. Los tubos se agitan con intervalos de 5 minutos.

Se retiran los tubos del baño de agua después de 30 minutos. La porción de 5 ml que sobrenada se transfiere a un vaso de precipitados, manteniendo el intervalo de 5 minutos entre el correspondiente a la muestra y al blanco. El pH se determina exactamente 5 minutos después de retirado el líquido que sobrenada del baño.

#### NOTA

Se debe tener cuidado de todos los materiales de vidrio y de los electrodos para evitar la contaminación. Si el potenciómetro presenta fallas en la entrega de lecturas rápidas y estables, se debe investigar. Frecuentemente, el flujo de electrolitos que atraviesa las fibras porosas del electrodo de calomel puede retardarse por medio de un recubrimiento de la fracción soluble del frijol de soya.

### 3.5 Expresión de resultados

La actividad de ureasa, medida como el incremento de pH, se determina aplicando la siguiente ecuación

$$\Delta pH = pH_1 - pH_2$$

Donde

- $\Delta pH$  = incremento de pH a la ureasa
- $pH_1$  = pH leído para la muestra analizada
- $pH_2$  = pH leído en blanco

## 4 INFORME

Se debe indicar:

- El método usado
- Resultados obtenidos
- Detalles necesarios para la completa identificación de la muestra
- Ensayos efectuados y resultados obtenidos en cada caso.
- Cualquier condición de operación no identificada en esta Norma o señalada como opcional
- Factores que hayan influido en el o los resultados

## 5 BIBLIOGRAFÍA

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación – ICONTEC  
NTC 771 Frijol de soya y sus subproductos. Determinación de actividad de la ureasa