

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	<b>CÓDIGO</b> Por asignar
	DETERMINACIÓN DE ACIDEZ CUANTITATIVA EN LECHE LÍQUIDA POR EL MÉTODO VOLUMÉTRICO	EDICIÓN 1
		PÁGINA 1 de 5

## 1. OBJETO

Esta norma tiene por objeto establecer los pasos a seguir para la determinación de la acidez por titulación en leche entera cruda, pasteurizada y ultrapasteurizada, semidescremada y descremada.

## 2. ALCANCE

Esta norma aplica a todas las muestras recepcionadas para tal fin en la Unidad de Análisis Industriales, Sección de Alimentos del Departamento de Química de la Universidad del Cauca.

## 3. ASPECTOS GENERALES

La leche fresca tiene un valor de acidez alrededor de 0,14-0,19 % en términos de ácido láctico, la cual es debida al CO<sub>2</sub> disuelto, a los fosfatos ácidos, a las proteínas (principalmente la caseína) y a los citratos ácidos contenidos en la leche.

Se determina por titulación con una solución de hidróxido de sodio 0,1 N previamente estandarizada, utilizando como indicador una solución alcohólica de fenolftaleína.

La leche fresca contiene muy poco ácido láctico. Bajo la influencia de algunos microorganismos, la lactosa presente puede ser convertida en ácido láctico para que la acidez aumente.

La leche, con un grado de acidez demasiado alto, es una materia prima inadecuada para la preparación de leches de consumo y productos lácteos.

<b>FECHA</b> Agosto de 2007	<b>ELABORÓ</b> Marisol Salazar S. (BICAMSA)	<b>REVISÓ</b> Profesora: Olga Lucía Hoyos	<b>APROBÓ</b> Profesora: Maite Del Pilar Rada
--------------------------------	---	---	---

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	CÓDIGO Por asignar
	DETERMINACIÓN DE ACIDEZ CUANTITATIVA EN LECHE LÍQUIDA POR EL MÉTODO VOLUMÉTRICO	EDICIÓN 1
		PÁGINA 2 de 5

#### 4. INTERFERENCIAS

La inadecuada cadena de conservación de la muestra de leche, puede afectar su acidez; igualmente, la presencia de sustancias inhibidoras de acción antibiótica, interfieren en la capacidad normal de acidificación.

#### 5. MUESTREO Y PRESERVACIÓN

Recolectar la muestra en recipientes de plástico ó vidrio de boca ancha y cierre hermético, cuando provengan de cantinas o tanques.

El volumen de la muestra empleada, varía de acuerdo, con la finalidad del muestreo. Cuando se trate de envases unitarios para venta directa, se tomará como muestra del lote, tres unidades para el análisis físico-químico.

Una vez recolectadas, las muestras deben ser refrigeradas rápidamente a 4 °C. El transporte de muestras al laboratorio, debe realizarse en un recipiente isotérmico o nevera que no soporte temperaturas supremas a la recomendada.

Las muestras deben ser registradas y rotuladas para un control adecuado. Dentro de los datos a consignar están:

- Lugar, fecha y hora de muestreo.
- Tanque de enfriamiento ó higienización, ó número de lote.
- Nombre de entidad ó establecimiento responsable.
- Tipo de muestra.
- Volumen o número de muestras recolectadas.
- Fecha y hora de recibo, así como de la temperatura de la muestra al momento de la entrega.

FECHA Agosto de 2007	ELABORÓ Marisol Salazar S. (BICAMSA)	REVISÓ Profesora: Olga Lucía Hoyos	APROBÓ Profesora: Maite Del Pilar Rada
-------------------------	--	--	--

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	CÓDIGO Por asignar
	DETERMINACIÓN DE ACIDEZ CUANTITATIVA EN LECHE LÍQUIDA POR EL MÉTODO VOLUMÉTRICO	EDICIÓN 1
		PÁGINA 3 de 5

Para asegurar una muestra homogénea antes de cualquier análisis, mezcle cuidadosamente los líquidos transvasando de un recipiente a otro. Si es el caso, donde no desaparezcan los grumos de crema, tibia en baño de agua a 37 °C, mezcle y enfríe a 15-20 °C para realizar los respectivos análisis.

Los análisis deben realizarse dentro de las 24 horas siguientes al muestreo.

## 6. CONTENIDO

### 6.1 Materiales y Equipos

- Microbureta de 10 mL
- Pipeta volumétrica de 10 mL
- Pipeta graduada de 2 mL
- Erlenmeyer de 100 mL

### 6.2 Reactivos

- Fenolftaleína, CARLO ERBA
- Alcohol etílico absoluto, CARLO ERBA, 95-96 %
- Hidróxido de sodio, CARLO ERBA, 98 %

#### 6.2.1 Soluciones

- Solución de fenolftaleína al 1 % p/v en alcohol etílico al 95-96 %
- Solución estándar de NaOH 0,1 N.

FECHA Agosto de 2007	ELABORÓ Marisol Salazar S. (BICAMSA)	REVISÓ Profesora: Olga Lucía Hoyos	APROBÓ Profesora: Maite Del Pilar Rada
-------------------------	--	--	--

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <b>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</b> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	CÓDIGO Por asignar
	DETERMINACIÓN DE ACIDEZ CUANTITATIVA EN LECHE LÍQUIDA POR EL MÉTODO VOLUMÉTRICO	EDICIÓN 1
		PÁGINA 4 de 5

### 6.3. Procedimiento

- Mida volumétricamente con pipeta y por triplicado, 10 mL de leche homogenizada en tres erlenmeyer de 100 mL. Añada aproximadamente 2 mL de solución de fenolftaleína a cada recipiente.

- Llene la microbureta con la solución estándar de NaOH 0,1 N y titule el contenido de los erlenmeyer hasta la aparición de un color rosa débil que permanezca durante 1 minuto. La titulación no debe gastar más de 20 segundos.

- La determinación debe hacerse por triplicado.

### 6.4. Cálculo

La acidez en % (p/v) de ácido láctico, se determina como sigue:

$$\% \text{acidez} = \frac{V_x N_x F}{V_m} \times 100$$

Donde:

V = Volumen de NaOH gastado en la titulación

N = Normalidad del NaOH

F = Factor de conversión a ácido láctico: 90 g ácido láctico.

V<sub>m</sub> = Volumen de muestra titulado

La diferencia entre los resultados de las tres determinaciones paralelas, no debe exceder a 0,3 grados de acidez.

FECHA Agosto de 2007	ELABORÓ Marisol Salazar S. (BICAMSA)	REVISÓ Profesora: Olga Lucía Hoyos	APROBÓ Profesora: Maite Del Pilar Rada
-------------------------	--	--	--

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <b>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</b> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	CÓDIGO Por asignar
	<b>DETERMINACIÓN DE ACIDEZ</b> <b>CUANTITATIVA EN LECHE LÍQUIDA POR EL</b> <b>MÉTODO VOLUMÉTRICO</b>	EDICIÓN 1
		PÁGINA 5 de 5

## 6.5 Interpretación

Según la norma del Ministerio de Salud, decreto número 2437<sup>2</sup>, los valores de acidez expresados como ácido láctico (% p/v) para leche líquida, debe cumplir los siguientes rangos:

LECHE	PROCESO DE HIGIENIZACIÓN	MÍNIMO, (%)	MÁXIMO, (%)
ENTERA	CRUDA	0,13	0,19
	PASTEURIZADA	0,14	0,19
	ULTRAESTEURIZADA	0,14	0,19
SEMIDESCREMADA	PASTEURIZADA	0,14	0,19
	ULTRAESTEURIZADA	0,14	0,19
DESCREMADA	PASTEURIZADA	0,14	0,19
	ULTRAESTEURIZADA	0,14	0,19

Los valores para la leche pasteurizada y ultrapasteurizada, se cumplen tanto para leche entera como para leches semidescremadas y descremadas.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

Esta norma está basada en:

1. AOAC. Volume II: Food Composition; Additives; Natural Contaminants. Chapter 33. Dairy Products. Method 947.05. Acidity of Milk. En: Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL. William Horwitz, USA. 17<sup>th</sup> edition. Published by AOAC INTERNATIONAL, (2003). p. 7.
2. NORMAS Y PROCEDIMIENTOS REGLAMENTARIOS DE LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS. Ministerio de Salud. Capítulo IV. De la clasificación de las leches. Decreto N° 2437 30 de Agosto de 1983.
3. KIRK, R., SAWYER, R. y EGAN, H. Composición y análisis de alimentos de Pearson. México: Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V. 1996.

FECHA Agosto de 2007	ELABORÓ Marisol Salazar S. (BICAMSA)	REVISÓ Profesora: Olga Lucía Hoyos	APROBÓ Profesora: Maite Del Pilar Rada
-------------------------	--	--	--

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	<b>CÓDIGO</b> Por asignar
	<b>PRUEBA DE FOSFATASA EN LECHE          LÍQUIDA POR EL MÉTODO DE HIDRÓLISIS          ENZIMÁTICA</b>	<b>EDICIÓN 1</b>
		<b>PÁGINA 1 de 5</b>

## 2. OBJETO

Esta norma tiene por objeto establecer los pasos a seguir, para determinar la eficiencia del proceso de pasteurización de la leche entera, pasteurizada y ultrapasteurizada, semidescremada y descremada.

## 2. ALCANCE

Esta norma aplica a todas las muestras recepcionadas para tal fin en la Unidad de Análisis Industriales, Sección de Alimentos, Departamento de Química, Universidad del Cauca.

## 3. ASPECTOS GENERALES

Las fosfatasa son enzimas que están invariablemente presentes en la leche cruda y son inactivadas durante la pasteurización. Se ha demostrado que es más difícil destruir estas enzimas que los organismos patógenos más resistentes al calor que pueda contener la leche.

Aunque presentes en pequeñas cantidades, las enzimas pueden influir de forma importante en la estabilidad de los productos lácteos. Sus efectos son mayores en el procesado a alta temperatura y tiempo corto y en el almacenamiento prolongado de los productos, puesto que tales condiciones favorecen la actividad residual de las enzimas o su reactivación.

La prueba de fosfatasa incluye la incubación de la leche con p-nitrofenilorto-fosfato disódico en condiciones alcalinas. Cuando la leche contiene fosfatasa se produce un color amarillo debido a la formación de p-nitrofenol.

<b>FECHA</b> Agosto de 2007	<b>ELABORÓ</b> Marisol Salazar S. (BICAMSA)	<b>REVISÓ</b> Profesora: Olga Lucía Hoyos	<b>APROBÓ</b> Profesora: Maite Del Pilar Rada
--------------------------------	---	---	---

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	CÓDIGO Por asignar
	<b>PRUEBA DE FOSFATASA EN LECHE LÍQUIDA POR EL MÉTODO DE HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA</b>	EDICIÓN 1
		PÁGINA 2 de 5

#### 4. INTERFERENCIAS

Todo el material de vidrio, tapones y herramientas de muestreo deben estar muy limpios. Los cierres plásticos fenólicos sobre los frascos de reactivos pueden causar contaminación fenólica; por tanto, se requiere de material exento de fenol.

#### 5. MUESTREO Y PRESERVACIÓN

Recolectar la muestra en recipientes de plástico ó vidrio de boca ancha y cierre hermético, cuando provengan de cantinas o tanques.

El volumen de la muestra empleada, varía de acuerdo, con la finalidad del muestreo. Cuando se trate de envases unitarios para venta directa, se tomará como muestra del lote, tres unidades para el análisis físico-químico.

Una vez recolectadas, las muestras deben ser refrigeradas rápidamente a 4 °C. El transporte de muestras al laboratorio, debe realizarse en un recipiente isotérmico o nevera que no soporte temperaturas supremas a la recomendada.

Las muestras deben ser registradas y rotuladas para un control adecuado. Dentro de los datos a consignar están:

- Lugar, fecha y hora de muestreo.
- Tanque de enfriamiento ó higienización, ó número de lote.
- Nombre de entidad ó establecimiento responsable.
- Tipo de muestra.
- Volumen o número de muestras recolectadas.
- Fecha y hora de recibo, así como de la temperatura de la muestra al momento de la entrega.

FECHA Agosto de 2007	ELABORÓ Marisol Salazar S. (BICAMSA)	REVISÓ Profesora: Olga Lucía Hoyos	APROBÓ Profesora: Maite Del Pilar Rada
-------------------------	--	--	--

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	CÓDIGO Por asignar
	<b>PRUEBA DE FOSFATASA EN LECHE LÍQUIDA POR EL MÉTODO DE HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA</b>	EDICIÓN 1
		PÁGINA 3 de 5

Para asegurar una muestra homogénea antes de cualquier análisis, mezcle cuidadosamente los líquidos transvasando de un recipiente a otro. Si es el caso donde no desaparezca los grumos de crema, tibia en baño de agua a 37 °C, mezcle y enfríe a 15-20 °C para realizar los respectivos análisis.

Los análisis deben realizarse dentro de las 24 horas siguientes al muestreo.

## 6. CONTENIDO

### 6.1 Materiales y Equipos

- Tubos de ensayo ancho de 3 cm de diámetro
- Pipeta volumétrica de 5 mL
- Pipeta volumétrica de 1 mL
- Algodón estéril
- Termómetro de 360 °C
- Baño maría Fisher Scientific Isotemp 205

NOTA: El material debe ser lavado con anterioridad con mezcla sulfocrómica, abundante agua, NaOH diluido, abundante agua, hacer enjuagues con agua caliente y finalmente con agua destilada.

### 6.2 Reactivos

- NaHCO<sub>3</sub>, MERCK, 99,5 %
- Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, MERCK, 99,9 %
- p-Nitrofenilortofosfato-disódico, MERCK, 98 %

FECHA Agosto de 2007	ELABORÓ Marisol Salazar S. (BICAMSA)	REVISÓ Profesora: Olga Lucía Hoyos	APROBÓ Profesora: Maite Del Pilar Rada
-------------------------	--	--	--

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	CÓDIGO Por asignar
	<b>PRUEBA DE FOSFATASA EN LECHE LÍQUIDA POR EL MÉTODO DE HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA</b>	EDICIÓN 1
		PÁGINA 4 de 5

### 6.2.1 Soluciones

- Solución tampón de carbonato-bicarbonato: 0,35 g de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> anhidro y 0,15 g de NaHCO<sub>3</sub>, se disuelven en agua y se llevan a un volumen de 100mL.
- Solución p-nitrofenilortofosfato disódico al 0,15 % en solución tampón de CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>
- Leche cruda

### 6.3 Procedimiento

- A dos tubos de ensayo, adicionar 5 mL de la solución p-nitrofenilortofosfato disódico y taparlos con el algodón.
- Colocar los tubos al baño maría a 37 °C durante 5 minutos.
- Agregar al primer tubo 1 mL de la muestra de leche a analizar y al segundo 1 mL de leche cruda como referencia.
- Colocar los tubos al baño maría e incubar durante dos horas a 37 °C.
- Después de este tiempo, observar si hay desarrollo de color en el tubo con la muestra o si el color blanco inicial permanece inalterado.
- La prueba debe realizarse por triplicado.

### 6.4 Interpretación

El cambio de color blanco a amarillo en la muestra, indica la presencia de fosfatasa. El tubo con la leche cruda debe ser siempre de color amarillo intenso.

FECHA Agosto de 2007	ELABORÓ Marisol Salazar S. (BICAMSA)	REVISÓ Profesora: Olga Lucía Hoyos	APROBÓ Profesora: Maite Del Pilar Rada
-------------------------	--	--	--

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	<b>CÓDIGO</b> Por asignar
	<b>PRUEBA DE FOSFATASA EN LECHE          LÍQUIDA POR EL MÉTODO DE HIDRÓLISIS          ENZIMÁTICA</b>	<b>EDICIÓN 1</b>
		<b>PÁGINA 5 de 5</b>

## 7. BIBLIOGRAFÍA

Esta norma está basada en:

1. NORMAS Y PROCEDIMIENTOS REGLAMENTARIOS DE LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS. Ministerio de Salud. Capítulo IV. De la clasificación de las leches. Decreto N° 2437 30 de Agosto de 1983.
2. HOYOS, O., VELEZ, P. Manual de prácticas de laboratorio, Análisis de alimentos. Universidad del Cauca. Facultad de ciencias Naturales, Exactas y de la Educación. Departamento de química. Popayán. 2001.
3. KIRK, R., SAWYER, R. y EGAN, H. Composición y análisis de alimentos de Pearson. 2da edición. Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V México 1996. p. 608-609.
4. FENNEMA, O. Química de los alimentos. Editorial Acriba, S. A. Zaragoza (España). 1993. p. 900-901

<b>FECHA</b> Agosto de 2007	<b>ELABORÓ</b> Marisol Salazar S. (BICAMSA)	<b>REVISÓ</b> Profesora: Olga Lucía Hoyos	<b>APROBÓ</b> Profesora: Maite Del Pilar Rada
--------------------------------	---	---	---

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	<b>CÓDIGO</b> Por asignar
	<b>PRUEBA DE REDUCTASA EN LECHE          LÍQUIDA POR EL MÉTODO DE REDUCCIÓN          DE AZUL DE METILENO</b>	<b>EDICIÓN 1</b>
		<b>PÁGINA 1 de 6</b>

## 1. OBJETO

Esta norma tiene por objeto establecer los pasos a seguir, para la determinación de la calidad bacteriológica por la reducción de azul de metileno, en leche entera cruda, pasteurizada y ultrapasteurizada, semidescremada y descremada.

## 2. ALCANCE

Esta norma aplica a todas las muestras recepcionadas para tal fin en la Unidad de Análisis Industriales, Sección de Alimentos del Departamento de Química de la Universidad del Cauca.

## 3. ASPECTOS GENERALES

La Reductasa, es la prueba que hace referencia a la actividad reductora de los microorganismos y de las sustancias reductoras de la leche, las cuales logran un descenso del potencial redox, visualizado mediante el cambio de color del azul de metileno adicionado a la leche. Esta prueba, está entonces, relacionada con la calidad higiénica de la leche.

El método de reducción del azul de metileno estima, indirectamente, el número de bacterias, en términos del tiempo requerido para que se lleve a cabo la decoloración de una mezcla de leche y azul de metileno, después de iniciada la incubación. La prueba depende de que la actividad reductora de los microorganismos logren un descenso del potencial redox y este cambio se valora visualmente mediante la reducción del azul de metileno. Este método depende de la habilidad de las bacterias en la leche, una vez iniciada la incubación, para crecer y utilizar el oxígeno disuelto en la mezcla.

<b>FECHA</b> Agosto de 2007	<b>ELABORÓ</b> Marisol Salazar S. (BICAMSA)	<b>REVISÓ</b> Profesora: Olga Lucía Hoyos	<b>APROBÓ</b> Profesora: Maite Del Pilar Rada
--------------------------------	---	---	---

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <b>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</b> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	CÓDIGO Por asignar
	<b>PRUEBA DE REDUCTASA EN LECHE</b> <b>LÍQUIDA POR EL MÉTODO DE REDUCCIÓN</b> <b>DE AZUL DE METILENO</b>	EDICIÓN 1
		PÁGINA 2 de 6

Los diferentes intervalos de tiempo de reducción del azul de metileno, permiten agrupar las muestras en grupos o clases. En general, el tiempo de reducción es inversamente proporcional al número inicial de bacterias en la muestra.

#### 4. INTERFERENCIAS

Una inadecuada esterilización del material a emplear, puede provocar la contaminación de la muestra.

#### 5. MUESTREO Y PRESERVACIÓN

Recolectar la muestra en recipientes de plástico ó vidrio de boca ancha y cierre hermético, cuando provengan de cantinas o tanques.

El volumen de la muestra empleada, varía de acuerdo con la finalidad del muestreo. Cuando se trate de envases unitarios para venta directa, se tomará como muestra del lote, tres unidades para el análisis físico-químico.

Una vez recolectadas, las muestras deben ser refrigeradas rápidamente a 4 °C. El transporte de muestras al laboratorio, debe realizarse en un recipiente isotérmico o nevera que no soporte temperaturas supremas a la recomendada.

Las muestras deben ser registradas y rotuladas para un control adecuado. Dentro de los datos a consignar están:

- Lugar, fecha y hora de muestreo.
- Tanque de enfriamiento ó higienización, ó número de lote.
- Nombre de entidad ó establecimiento responsable.
- Tipo de muestra.

FECHA Agosto de 2007	ELABORÓ Marisol Salazar S. (BICAMSA)	REVISÓ Profesora: Olga Lucía Hoyos	APROBÓ Profesora: Maite Del Pilar Rada
-------------------------	--	--	--

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	CÓDIGO Por asignar
	<b>PRUEBA DE REDUCTASA EN LECHE LÍQUIDA POR EL MÉTODO DE REDUCCIÓN DE AZUL DE METILENO</b>	EDICIÓN 1
		PÁGINA 3 de 6

- Volumen o número de muestras recolectadas.
- Fecha y hora de recibo, así como de la temperatura de la muestra al momento de la entrega.

Para asegurar una muestra homogénea antes de cualquier análisis, mezcle cuidadosamente los líquidos transvasando de un recipiente a otro. Si es el caso, donde no desaparezcan los grumos de crema, tibie en baño de agua a 37 °C, mezcle y enfríe a 15-20 °C para realizar los respectivos análisis.

Los análisis deben realizarse dentro de las 24 horas siguientes al muestreo.

## 6. CONTENIDO

### 6.1 Materiales y Equipos

- Tubo de ensayo de 3 cm diámetro
- Varilla de agitación
- Pipeta volumétrica de 10 mL
- Pipeta volumétrica de 1 mL
- Pipeta volumétrica de 5 mL
- Algodón estéril
- Termómetro de 360 °C
- Baño maría Fisher Scientific Isotemp 205
- Vaso de 250 mL
- Recipiente estéril de color ámbar
- Probeta de 250 mL

NOTA: El material debe ser lavado con anterioridad con mezcla sulfocrómica durante 24 horas, abundante agua de la llave, solución MA 01 alcalina al 5 %, abundante agua de la llave, y por último debe realizar enjuagues con agua de la llave caliente y con agua destilada.

FECHA Agosto de 2007	ELABORÓ Marisol Salazar S. (BICAMSA)	REVISÓ Profesora: Olga Lucía Hoyos	APROBÓ Profesora: Maite Del Pilar Rada
-------------------------	--	--	--

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <b>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</b> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	CÓDIGO Por asignar
	<b>PRUEBA DE REDUCTASA EN LECHE</b> <b>LÍQUIDA POR EL MÉTODO DE REDUCCIÓN</b> <b>DE AZUL DE METILENO</b>	EDICIÓN 1
		PÁGINA 4 de 6

## 6.2 Reactivos

- Alcohol etílico, CARLO ERBA, al 96 %
- Azul de metileno, MERCK
- Agua destilada

### 6.2.1 Soluciones

- Solución MA 01 alcalina, 5 % (pH 11,5)
- Solución madre de azul de metileno: Se prepara disolviendo azul de metileno en alcohol al 96 % hasta saturación. Recomendación: Esta solución debe conservarse en un recipiente estéril de color ámbar y bajo condiciones de refrigeración. No estará en condiciones de ser usada si ha sido expuesta a la luz del sol o si han transcurrido 2 meses desde su preparación.
- Solución de trabajo diaria de azul de metileno: Se prepara diluyendo 5 mL de la solución madre, en 195 mL de agua destilada.
- Mezcla sulfocrómica:  $K_2Cr_2O_7$  al 10 % en  $H_2SO_4$  concentrado.

## 6.3 Procedimiento

- En un tubo de ensayo, adicione 10 mL de leche cuidando de no mojar las paredes del tubo.
- Agregue volumétricamente con pipeta, 1 mL de la solución de trabajo de azul de metileno. Agite constantemente para conseguir homogeneidad completa.
- Tape el tubo con un algodón y colóquelo en un baño de agua a una temperatura de 37-38 °C, cuidando que el nivel del agua exceda al de la leche. Evite la exposición de los tubos a la luz.

FECHA Agosto de 2007	ELABORÓ Marisol Salazar S. (BICAMSA)	REVISÓ Profesora: Olga Lucía Hoyos	APROBÓ Profesora: Maite Del Pilar Rada
-------------------------	--	--	--

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <b>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</b> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	CÓDIGO Por asignar
	<b>PRUEBA DE REDUCTASA EN LECHE</b> <b>LÍQUIDA POR EL MÉTODO DE REDUCCIÓN</b> <b>DE AZUL DE METILENO</b>	EDICIÓN 1
		PÁGINA 5 de 6

- Monitoree el tiempo que tarda la mezcla en decolorarse, la cual ocurre cuando todo el contenido del tubo se ha decolorado o al menos 5 mm de la superficie.

- Como criterio de comparación, adicione a un tubo similar, 40 mL de la muestra de leche y 1 mL de agua corriente, la cual ha sido sumergida con anterioridad en agua hirviendo durante 5 minutos. Este tubo, colóquelo en el baño de agua al mismo tiempo con el tubo que contiene la muestra y continúe el procedimiento de igual manera.

#### 6.4 Cálculo

El tiempo de reducción del azul de metileno (TRAM), se informa en unidades absolutas de tiempo.

#### 6.5. Interpretación

El tiempo de decoloración se establece como el tiempo de reducción del azul de metileno (TRAM). Con base a dicho tiempo, se puede concluir sobre el estado de conservación y pureza de la muestra, como se indica a continuación<sup>2</sup>:

1. Leche muy mala: Si no se conserva el color por más de 20 minutos.
2. Leche mala: Si conserva el color de 20 minutos a 2 horas.
3. Leche de calidad mediana: Si conserva el color de 2 a 5 ½ horas.
4. Leche de primera calidad: Si conserva el color más de 5 ½ horas.

Según la norma del Ministerio de Salud, decreto número 2437<sup>1</sup>, la prueba de reductasa para leche líquida, debe cumplir en horas los siguientes rangos:

FECHA Agosto de 2007	ELABORÓ Marisol Salazar S. (BICAMSA)	REVISÓ Profesora: Olga Lucía Hoyos	APROBÓ Profesora: Maite Del Pilar Rada
-------------------------	--	--	--

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	CÓDIGO Por asignar
	<b>PRUEBA DE REDUCTASA EN LECHE LÍQUIDA POR EL MÉTODO DE REDUCCIÓN DE AZUL DE METILENO</b>	EDICIÓN 1
		PÁGINA 6 de 6

LECHE ENTERA	MÍNIMO (Horas)	MÁXIMO (Horas)
<b>CRUDA</b>	4	-
<b>PASTEURIZADA</b>	7	-
<b>ULTRAPASTEURIZADA</b>	7	-

Las horas establecidas para leche pasteurizada y ultrapasteurizada incluyen también a las leches semidescremadas y descremadas.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

Esta norma está basada en:

1. **NORMAS Y PROCEDIMIENTOS REGLAMENTARIOS DE LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS.** Ministerio de Salud. Capítulo IV. De la clasificación de las leches. Decreto N° 2437, 30 de Agosto de 1983.
2. **HOYOS, O., VÉLEZ, P.** Manual de prácticas de laboratorio, Análisis de alimentos. Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación. Departamento de química. Popayán. 2001.
3. **KIRK, R., SAWYER, R. y EGAN, H.** Composición y análisis de alimentos de Pearson. México: Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V. 1996.
4. **ALMANZA, F. y BARRERA, E.** Tecnología de Leches y derivados. Santa fé de Bogota, D.C: Unisur. 1995.

FECHA Agosto de 2007	ELABORÓ Marisol Salazar S. (BICAMSA)	REVISÓ Profesora: Olga Lucía Hoyos	APROBÓ Profesora: Maite Del Pilar Rada
-------------------------	--	--	--

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	<b>CÓDIGO</b> Por asignar
	<b>DETERMINACIÓN DE DENSIDAD EN LECHE LÍQUIDA POR EL MÉTODO AEROMÉTRICO</b>	<b>EDICIÓN 1</b>
		<b>PÁGINA 1 de 5</b>

## 1. OBJETO

Esta norma tiene por objeto establecer los pasos a seguir, para la determinación de la densidad por lactodensímetro en leche entera cruda, pasteurizada y ultrapasteurizada, semidescremada y descremada.

## 2. ALCANCE

Esta norma aplica a todas las muestras recepcionadas para tal fin en la Unidad de Análisis Industriales, Sección de alimentos del Departamento de Química de la Universidad del Cauca.

## 3. ASPECTOS GENERALES

La densidad (ó peso específico de la leche) es un parámetro que sirve para realizar una inspección preliminar de la leche, con referencia a su normalidad, adulteración o alteración de la leche; cualquier alteración por adición de agua, puede ser fácilmente identificada debido a que esta característica de la leche no se encontrará dentro del rango normal. La leche con una composición normal, posee una gravedad específica que varía de 1,029 a 1,033 (a 15 °C). Se determina utilizando un lactodensímetro ASSISTENT (15-40 grados lactodensímetros según Quevenne; 0-30 °C).

La composición de la leche varía considerablemente con la raza de la vaca, el estado de lactancia, el alimento, la época del año y muchos otros factores; aún así, algunos parámetros pueden ser utilizados para indicar si han ocurrido alteraciones y adulteraciones en su composición, su estado de conservación y pureza, entre otros.

<b>FECHA</b> Agosto de 2007	<b>ELABORÓ</b> Marisol Salazar S. (BICAMSA)	<b>REVISÓ</b> Profesora: Olga Lucía Hoyos	<b>APROBÓ</b> Profesora: Maite Del Pilar Rada
--------------------------------	---	---	---

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	<b>CÓDIGO</b> Por asignar
	<b>DETERMINACIÓN DE DENSIDAD EN LECHE          LÍQUIDA POR EL MÉTODO AEROMÉTRICO</b>	<b>EDICIÓN 1</b>
		<b>PÁGINA 2 de 5</b>

Es importante antes de evaluar la densidad, tener claro si la leche a analizar es entera, descremada o semidescremada, puesto que la densidad aumenta con el descremado de la leche.

#### 4. INTERFERENCIAS

La formación de espuma y burbujas de aire, pueden interferir generando una lectura errónea; para evitarlas, agregue la leche lentamente a la probeta inclinada.

#### 5. MUESTREO Y PRESERVACIÓN

Recolectar la muestra en recipientes de plástico ó vidrio de boca ancha y cierre hermético, cuando provengan de cantinas o tanques.

El volumen de la muestra empleada, varía de acuerdo, con la finalidad del muestreo. Cuando se trate de envases unitarios para venta directa, se tomará como muestra del lote, tres unidades para el análisis físico-químico

Una vez recolectadas, las muestras deben ser refrigeradas rápidamente a 4 °C. El transporte de muestras al laboratorio, debe realizarse en un recipiente isotérmico o nevera que no soporte temperaturas supremas a la recomendada.

Las muestras deben ser registradas y rotuladas para un control adecuado. Dentro de los datos a consignar están:

- Lugar, fecha y hora de muestreo.
- Tanque de enfriamiento ó higienización, ó número de lote.
- Nombre de entidad ó establecimiento responsable.
- Tipo de muestra.

<b>FECHA</b> Agosto de 2007	<b>ELABORÓ</b> Marisol Salazar S. (BICAMSA)	<b>REVISÓ</b> Profesora: Olga Lucía Hoyos	<b>APROBÓ</b> Profesora: Maite Del Pilar Rada
--------------------------------	---	---	---

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	CÓDIGO Por asignar
	<b>DETERMINACIÓN DE DENSIDAD EN LECHE LÍQUIDA POR EL MÉTODO AEROMÉTRICO</b>	EDICIÓN 1
		PÁGINA 3 de 5

- Volumen o número de muestras recolectadas.
- Fecha y hora de recibo, así como de la temperatura de la muestra al momento de la entrega.

Para asegurar una muestra homogénea antes de cualquier análisis, mezcle cuidadosamente los líquidos transvasando de un recipiente a otro. Si es el caso donde no desaparezca los grumos de crema, tibie en baño de agua a 37 °C, mezcle y enfríe a 15-20 °C para realizar los respectivos análisis.

Los análisis deben realizarse dentro de las 24 horas siguientes al muestreo.

## 6. CONTENIDO

### 6.1 Materiales y Equipos

-Lactodensímetro, ASSISTENT (15-40 grados lactodensímetros según Quevenne; 0-30 °C)

-Probeta de 250 mL

### 6.2 Reactivos

No requiere

### 6.3 Procedimiento

- En una probeta de 250 mL (en posición inclinada para evitar la formación de espuma e incorporación de aire), vierta suavemente 200 mL de leche homogenizada y a una temperatura de 15 °C o cercana ( $\pm 1,0$  °C).

FECHA Agosto de 2007	ELABORÓ Marisol Salazar S. (BICAMSA)	REVISÓ Profesora: Olga Lucía Hoyos	APROBÓ Profesora: Maite Del Pilar Rada
-------------------------	--	--	--

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <b>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</b> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	CÓDIGO Por asignar
	<b>DETERMINACIÓN DE DENSIDAD EN LECHE LÍQUIDA POR EL MÉTODO AEROMÉTRICO</b>	EDICIÓN 1
		PÁGINA 4 de 5

- Introduzca el lactodensímetro por todo el centro del líquido y dando una leve rotación para evitar que se pegue a las paredes.

- Cuando el lactodensímetro se estabilice, lea la densidad, en el enrase de la leche con la escala del lactodensímetro.

- Anote la lectura de la densidad y la temperatura que indica el termómetro para la posterior corrección.

#### 6.4 Cálculos

- La densidad se expresa en g/mL, leída en grados lactodensímetros según Quevenne. Una vez leídos, debe realizarse su corrección, con las siguientes ecuaciones:

$$\text{Grados Quevenne corregidos} = \text{grados leídos} + 0,2(T \text{ leída en } ^\circ\text{C} - 15 ^\circ\text{C}) \quad (\text{Ecuación 1})$$

Nota: Si la lectura de temperatura, es mayor a la temperatura de referencia, la corrección se realiza sumando 0,2 a los grados lactodensímetros leídos por cada grado centígrado por encima de la temperatura de referencia.

$$\text{Grados Quevenne corregidos} = \text{grados leídos} - 0,2(15 ^\circ\text{C} - T \text{ leída en } ^\circ\text{C}) \quad (\text{Ecuación 2})$$

Nota: Si la lectura de temperatura, es inferior a la temperatura de referencia, la corrección se realiza restando 0,2 a los grados lactodensímetros leídos por cada grado centígrado por debajo de la temperatura de referencia.

#### 6.5 Interpretación

Según la norma del Ministerio de Salud, decreto número 2437<sup>1</sup>, los valores de densidad (15°/15 °C) para leche líquida, debe cumplir los siguientes rangos:

FECHA Agosto de 2007	ELABORÓ Marisol Salazar S. (BICAMSA)	REVISÓ Profesora: Olga Lucía Hoyos	APROBÓ Profesora: Maite Del Pilar Rada
-------------------------	--	--	--

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	CÓDIGO Por asignar
	<b>DETERMINACIÓN DE DENSIDAD EN LECHE LÍQUIDA POR EL MÉTODO AEROMÉTRICO</b>	EDICIÓN 1
		PÁGINA 5 de 5

LECHE	PROCESO DE HIGIENIZACIÓN	MÍNIMO, (g/mL)	MÁXIMO, (g/mL)
ENTERA	CRUDA	1,029	1,033
	PASTEURIZADA	1,030	1,033
	ULTRAPASTEURIZADA	1,030	1,033
SEMIDESCREMADA	PASTEURIZADA	1,031	1,0335
	ULTRAPASTEURIZADA	1,031	1,0335
DESCREMADA	PASTEURIZADA	1,034	1,036
	ULTRAPASTEURIZADA	1,034	1,036

## 7. BIBLIOGRAFÍA

Esta norma esta basada en:

1. NORMAS Y PROCEDIMIENTOS REGLAMENTARIOS DE LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS. Ministerio de Salud. Capitulo IV. De la clasificación de las leches. Decreto N° 2437 30 de Agosto de 1983.
2. HOYOS, O., VELEZ, P. Manual de prácticas de laboratorio, Análisis de alimentos. Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación. Departamento de química. Popayán. 2001.
3. KIRK, R., SAWYER, R. y EGAN, H. Composición y análisis de alimentos de Pearson. México: Compañía Editorial Continental, S.A de C.V. 1996.
4. ALMANZA, F. y BARRERA, E. Tecnología de Leches y derivados. Santa fe de Bogota, D.C: Unisur. 1995.

FECHA Agosto de 2007	ELABORÓ Marisol Salazar S. (BICAMSA)	REVISÓ Profesora: Olga Lucía Hoyos	APROBÓ Profesora: Maite Del Pilar Rada
-------------------------	--	--	--

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	<b>CÓDIGO</b> Por asignar
	<b>DETERMINACIÓN DEL pH DE LA LECHE          LÍQUIDA POR EL MÉTODO          POTENCIOMÉTRICO</b>	<b>EDICIÓN 1</b>
		<b>PÁGINA 1 de 4</b>

## 1. OBJETO

Esta norma tiene por objeto establecer los pasos a seguir para la determinación del pH, utilizando un pH-metro en leche entera cruda, pasteurizada y ultrapasteurizada, semidescremada y descremada.

## 2. ALCANCE

Esta norma aplica a todas las muestras recepcionadas para tal fin en la Unidad de Análisis Industriales, Sección de Alimentos del Departamento de Química de la Universidad del Cauca.

## 3. ASPECTOS GENERALES

La leche fresca tiene un pH alrededor de 6,6, valor que la clasifica como ligeramente ácida; esta acidez es debida al CO<sub>2</sub> disuelto, a los fosfatos ácidos, a las proteínas (principalmente la caseína) y a los citratos ácidos contenidos en la leche.

La leche, con un grado de acidez demasiado alto, es una materia prima inadecuada para la preparación de leches de consumo y productos lácteos. Por otro lado, las determinaciones de pH pueden ser mucho más importantes que las determinaciones de acidez titulable, ya que la acción de las enzimas, precipitación de las caseínas, gusto a ácido, etc, están relacionados directamente con los valores de pH.

Se determina empleando un electrodo de vidrio, acoplado a un pH-metro previamente calibrado.

<b>FECHA</b> Agosto de 2007	<b>ELABORÓ</b> Marisol Salazar S. (BICAMSA)	<b>REVISÓ</b> Profesora: Olga Lucía Hoyos	<b>APROBÓ</b> Profesora: Maite Del Pilar Rada
--------------------------------	---	---	---

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	CÓDIGO Por asignar
	DETERMINACIÓN DEL pH DE LA LECHE LÍQUIDA POR EL MÉTODO POTENCIOMÉTRICO	EDICIÓN 1
		PÁGINA 2 de 4

#### 4. INTERFERENCIAS

La inadecuada cadena de conservación de la muestra de leche, puede afectar su acidez; igualmente, la presencia de sustancias inhibidoras de acción antibiótica, interfieren en la capacidad normal de acidificación.

#### 5. MUESTREO Y PRESERVACIÓN

Recolectar la muestra en recipientes de plástico ó vidrio de boca ancha y cierre hermético, cuando provengan de cantinas o tanques.

El volumen de la muestra empleada, varía de acuerdo, con la finalidad del muestreo. Cuando se trate de envases unitarios para venta directa, se tomará como muestra del lote, tres unidades para el análisis físico-químico

Una vez recolectadas, las muestras deben ser refrigeradas rápidamente a 4 °C. El transporte de muestras al laboratorio, debe realizarse en un recipiente isotérmico o nevera que no soporte temperaturas supremas a la recomendada.

Las muestras deben ser registradas y rotuladas para un control adecuado. Dentro de los datos a consignar están:

- Lugar, fecha y hora de muestreo.
- Tanque de enfriamiento ó higienización, ó número de lote.
- Nombre de entidad ó establecimiento responsable.
- Tipo de muestra.
- Volumen o número de muestras recolectadas.
- Fecha y hora de recibo, así como de la temperatura de la muestra al momento de la entrega.

FECHA Agosto de 2007	ELABORÓ Marisol Salazar S. (BICAMSA)	REVISÓ Profesora: Olga Lucía Hoyos	APROBÓ Profesora: Maite Del Pilar Rada
-------------------------	--	--	--

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	CÓDIGO Por asignar
	DETERMINACIÓN DEL pH DE LA LECHE LÍQUIDA POR EL MÉTODO POTENCIOMÉTRICO	EDICIÓN 1
		PÁGINA 3 de 4

Para asegurar una muestra homogénea antes de cualquier análisis, mezcle cuidadosamente los líquidos transvasando de un recipiente a otro. Si es el caso, donde no desaparezcan los grumos de crema, tibia en baño de agua a 37 °C, mezcle y enfríe a 15-20 °C para realizar los respectivos análisis.

Los análisis deben realizarse dentro de las 24 horas siguientes al muestreo.

## 6. CONTENIDO

### 6.1 Materiales y Equipos

- Vaso de precipitados de 100 mL
- Termómetro 0-100 °C
- pH-metro, METTLER TOLEDO 8603, acoplado a un electrodo, MT INLAB 413

### 6.2 Reactivos

- Soluciones de calibración del pH-metro: Solución tampón pH 7,00, METTLER TOLEDO y solución tampón pH 4,01, METTLER TOLEDO

### 6.3 Procedimiento

- Encienda el pH-metro y espere a que se estabilice, durante aproximadamente 5 minutos.
- En un vaso de 100 mL, agregue 50 mL de la leche a analizar, cuidando que cubra el bulbo del electrodo.
- Una vez la leche esté a temperatura ambiente (20-21 °C), introduzca el electrodo y realice la lectura.

FECHA Agosto de 2007	ELABORÓ Marisol Salazar S. (BICAMSA)	REVISÓ Profesora: Olga Lucía Hoyos	APROBÓ Profesora: Maite Del Pilar Rada
-------------------------	--	--	--

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	<b>CÓDIGO</b> Por asignar
	<b>DETERMINACIÓN DEL pH DE LA LECHE          LÍQUIDA POR EL MÉTODO          POTENCIOMÉTRICO</b>	<b>EDICIÓN 1</b>
		<b>PÁGINA 4 de 4</b>

- La determinación se hace por triplicado.

#### **6.4 Interpretación**

Según lo establecido en la literatura<sup>1</sup>, el pH de la leche debe variar en un rango de 6,4 a 6,6.

#### **7. BIBLIOGRAFÍA**

Esta norma está basada en:

1. KIRK, R., SAWYER, R. y EGAN, H. Composición y análisis de alimentos de Pearson. México: Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V. 1996.
2. ALMANZA, F y BARRERA, E. Tecnología de Leches y derivados. Santa fe de Bogotá, D.C: Unisur. 1995.

<b>FECHA</b> Agosto de 2007	<b>ELABORÓ</b> Marisol Salazar S. (BICAMSA)	<b>REVISÓ</b> Profesora: Olga Lucía Hoyos	<b>APROBÓ</b> Profesora: Maite Del Pilar Rada
--------------------------------	---	---	---

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	<b>CÓDIGO</b> Por asignar
	<b>DETERMINACIÓN DE GRASA EN LECHE          LÍQUIDA POR EL MÉTODO GERBER</b>	<b>EDICIÓN 1</b>
		<b>PÁGINA 1 de 6</b>

## 1. OBJETO

Esta norma tiene por objeto establecer los pasos a seguir, para la determinación del porcentaje de grasa por el método Gerber en leche entera cruda, pasteurizada y ultrapasteurizada, semidescremada y descremada.

## 2. ALCANCE

Esta norma aplica a todas las muestras recepcionadas para tal fin en la Unidad de Análisis Industriales, Sección de Alimentos del Departamento de Química de la Universidad del Cauca.

## 3. ASPECTOS GENERALES

La grasa constituye un 3,5 a 4,0 % en la leche, variando con la raza de las vacas y con las prácticas de alimentación. La fracción lipóide (suponiendo el 98 % de los lípidos), está constituida principalmente por triglicéridos y por cantidades menores de diglicéridos, monoglicéridos y ácidos grasos procedentes de la hidrólisis de los primeros. El resto lo constituyen fosfolípidos y el residuo insaponificable, principalmente, carotenos y vitaminas A y D.

En la leche, la grasa está emulsionada en forma de microglóbulos grasos, que están rodeados por una membrana doble de fosfolípidos y proteínas.

Se determina empleando el método Gerber, el cual consiste en la destrucción de los componentes orgánicos de la leche (exceptuando la materia grasa) con ácido sulfúrico concentrado, alcohol amílico y posterior centrifugación en unos tubos llamados butirómetros. La materia grasa se separa de la fase acuosa en la columna calibrada del butirómetro para determinar su porcentaje.

<b>FECHA</b> Agosto de 2007	<b>ELABORÓ</b> Marisol Salazar S. (BICAMSA)	<b>REVISÓ</b> Profesora: Olga Lucía Hoyos	<b>APROBÓ</b> Profesora: Maite Del Pilar Rada
--------------------------------	---	---	---

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	<b>CÓDIGO</b> Por asignar
	<b>DETERMINACIÓN DE GRASA EN LECHE          LÍQUIDA POR EL MÉTODO GERBER</b>	<b>EDICIÓN 1</b>
		<b>PÁGINA 2 de 6</b>

#### 4. INTERFERENCIAS

La emulsión de la grasa y la carbonización de las mismas, puede interferir en el procedimiento; por tanto, estas se evitan con la adición inmediata del alcohol amílico.

#### 5. MUESTREO Y PRESERVACIÓN

Recolectar la muestra en recipientes de plástico ó vidrio de boca ancha y cierre hermético, cuando provengan de cantinas o tanques.

El volumen de la muestra empleada, varía de acuerdo, con la finalidad del muestreo. Cuando se trate de envases unitarios para venta directa, se tomará como muestra del lote, tres unidades para el análisis físico-químico.

Una vez recolectadas, las muestras deben ser refrigeradas rápidamente a 4 °C. El transporte de muestras al laboratorio, debe realizarse en un recipiente isotérmico o nevera que no soporte temperaturas supremas a la recomendada.

Las muestras deben ser registradas y rotuladas para un control adecuado. Dentro de los datos a consignar están:

- Lugar, fecha y hora de muestreo.
- Tanque de enfriamiento ó higienización, ó número de lote.
- Nombre de entidad ó establecimiento responsable.
- Tipo de muestra.
- Volumen o número de muestras recolectadas.
- Fecha y hora de recibo, así como de la temperatura de la muestra al momento de la entrega.

<b>FECHA</b> Agosto de 2007	<b>ELABORÓ</b> Marisol Salazar S. (BICAMSA)	<b>REVISÓ</b> Profesora: Olga Lucía Hoyos	<b>APROBÓ</b> Profesora: Maite Del Pilar Rada
--------------------------------	---	---	---

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b>	CÓDIGO
	<i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES: SECCIÓN ALIMENTOS</i>	Por asignar
	DETERMINACIÓN DE GRASA EN LECHE LÍQUIDA POR EL MÉTODO GERBER	EDICIÓN 1
		PÁGINA 3 de 6

Para asegurar una muestra homogénea antes de cualquier análisis, mezcle cuidadosamente los líquidos transvasando de un recipiente a otro. Si es el caso, donde no desaparezcan los grumos de crema, tibie en baño de agua a 37 °C, mezcle y enfríe a 15-20 °C para realizar los respectivos análisis.

Los análisis deben realizarse dentro de las 24 horas siguientes al muestreo.

## 6. CONTENIDO

### 6.1 Materiales y Equipos

- Butirómetros Gerber milk – lait 65 °C con tapa. Escala 0-8 %
- Pipeta volumétrica de 11 mL
- Pipeta volumétrica de 10 mL
- Pipeta volumétrica 1 mL
- Plancha Corning
- Termómetro de 360 °C
- Vaso de precipitados de 400 mL
- Centrífuga Gerber modelo K 56 A de 1380 rpm
- Paño

### 6.2 Reactivos

- Ácido Sulfúrico para Gerber ( $\rho$ . 1,813 a 20 °C, aprox. 90 %)
- Alcohol amílico puro ( $\rho$ . 0,813 a 20 °C)

### 6.3 Procedimiento

- Medir volumétricamente 10 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> para Gerber e introducirlos en el butirómetro evitando mojar las paredes.

FECHA	ELABORÓ	REVISÓ	APROBÓ
Agosto de 2007	Marisol Salazar S. (BICAMSA)	Profesora: Olga Lucía Hoyos	Profesora: Maite Del Pilar Rada

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	CÓDIGO Por asignar
	<b>DETERMINACIÓN DE GRASA EN LECHE LÍQUIDA POR EL MÉTODO GERBER</b>	EDICIÓN 1
		PÁGINA 4 de 6

- Agregar por la pared del butirómetro, 11 mL de leche con la pipeta correspondiente y cuidando que no se mezcle con el ácido. Inmediatamente adicione 1 mL de alcohol amílico, el cual ayuda a romper las emulsiones y a prevenir la carbonización de las mismas.

- Tape el butirómetro con su tapón correspondiente y envuélvalo en un paño para evitar quemaduras debidas a la fuerte reacción exotérmica producida al agitar de forma efectiva el butirómetro.

- Coloque el butirómetro en un baño de agua a 65-70 °C por 15 minutos con el tapón hacia abajo.

- Centrifugue a 1380 rpm durante 10 minutos.

- Nuevamente colóquelo en el baño de agua por 5 min, hasta que la separación de la grasa sea nítida. En ese momento, lea el espesor de la capa grasa acumulada en la parte superior calibrada. Para un ajuste adecuado del tapón de cierre, haga coincidir la base de la columna de grasa con el cero de la escala para hacer la lectura correspondiente.

- La determinación debe hacerse por triplicado.

#### 6.4 Cálculo

El contenido de materia grasa en (% p/v) se determina por lectura directa en la escala correspondiente al butirómetro empleado.

FECHA Agosto de 2007	ELABORÓ Marisol Salazar S. (BICAMSA)	REVISÓ Profesora: Olga Lucía Hoyos	APROBÓ Profesora: Maite Del Pilar Rada
-------------------------	--	--	--

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b>	CÓDIGO
	<i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES: SECCIÓN ALIMENTOS</i>	Por asignar
	<b>DETERMINACIÓN DE GRASA EN LECHE LÍQUIDA POR EL MÉTODO GERBER</b>	EDICIÓN 1
		PÁGINA 5 de 6



### 6.5 Interpretación

Según la norma del Ministerio de Salud, decreto número 2437<sup>2</sup>, el porcentaje de grasa para leche líquida, debe cumplir los siguientes rangos:

LECHE	PROCESO DE HIGIENIZACIÓN	MÍNIMO, (%)	MÁXIMO, (%)
ENTERA	CRUDA	3,0	-
	PASTEURIZADA	3,0	-
	ULTRAPASTEURIZADA	3,0	-
SEMIDESCREMADA	PASTEURIZADA	1,5	2,0
	ULTRAPASTEURIZADA	1,5	2,0
DESCREMADA	PASTEURIZADA	0,1	0,5
	ULTRAPASTEURIZADA	0,1	0,5

FECHA	ELABORÓ	REVISÓ	APROBÓ
Agosto de 2007	Marisol Salazar S. (BICAMSA)	Profesora: Olga Lucía Hoyos	Profesora: Maite Del Pilar Rada

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	<b>CÓDIGO</b> Por asignar
	<b>DETERMINACIÓN DE GRASA EN LECHE          LÍQUIDA POR EL MÉTODO GERBER</b>	<b>EDICIÓN 1</b>
		<b>PÁGINA 6 de 6</b>

## 7. BIBLIOGRAFÍA

Esta norma está basada en:

1. AOAC. Volume II: Food Composition; Additives; Natural Contaminants. Chapter 33. Dairy Products. Method 2000.18. Fat Content of Raw and Pasteurized Whole Milk. Gerber Method by Weight. En: Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL. William Horwitz, USA. 17 th edition. Published by AOAC INTERNATIONAL, (2003). p. 21-22A.
2. NORMAS Y PROCEDIMIENTOS REGLAMENTARIOS DE LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS. Ministerio de Salud. Capitulo IV. De la clasificación de las leches. Decreto N° 2437 30 de Agosto de 1983.
3. HOYOS, O., VELEZ, P. Manual de prácticas de laboratorio, Análisis de alimentos. Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación. Departamento de química. Popayán. 2001.
4. KIRK, R., SAWYER, R. y EGAN, H. Composición y análisis de alimentos de Pearson. México: Compañía Editorial Continental, S.A. de CV. 1996.
5. ALMANZA, F. y BARRERA, E. Tecnología de Leches y derivados. Santa fé de Bogota, D.C: Unisur. 1995

<b>FECHA</b> Agosto de 2007	<b>ELABORÓ</b> Marisol Salazar S. (BICAMSA)	<b>REVISÓ</b> Profesora: Olga Lucía Hoyos	<b>APROBÓ</b> Profesora: Maite Del Pilar Rada
--------------------------------	---	---	---

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	CÓDIGO Por asignar
	DETERMINACIÓN DE EXTRACTO SECO EN LECHE LÍQUIDA POR EL MÉTODO GRAVIMÉTRICO	EDICIÓN 1
		PÁGINA 1 de 5

## 1. OBJETO

Esta norma tiene por objeto establecer los pasos a seguir, para la determinación del contenido de sólidos totales por gravimetría en leche entera cruda, pasteurizada y ultrapasteurizada, semidescremada y descremada.

## 2. ALCANCE

Esta norma aplica a todas las muestras recepcionadas para tal fin en la Unidad de Análisis Industriales, Sección de alimentos del Departamento de Química de la Universidad del Cauca.

## 3. ASPECTOS GENERALES

El extracto seco (ó también denominado sólidos totales) está compuesto por materia grasa en emulsión, azúcares como lactosa, proteínas en suspensión coloidal, sales minerales y vitaminas.

Se determina por la evaporación de la materia volátil presente en la leche a la temperatura de ebullición del agua, constituyéndose en el residuo remanente de la evaporación. Se determina aplicando la técnica de secado a 98 ó 100 °C.

En este método, una cantidad exactamente conocida de la muestra preparada, se evapora en baño de maría para eliminar la mayor parte del agua y luego se somete a desecación en una estufa hasta la obtención de peso constante.

La determinación de sólidos totales (ST) y sólidos no grasos (SNG), es de gran importancia para determinar si una muestra cumple o no con los requisitos legales establecidos, y si adicionalmente se realizan otras pruebas complementarias, se logra establecer si una leche ha sido adulterada.

FECHA Agosto de 2007	ELABORÓ Marisol Salazar S. (BICAMSA)	REVISÓ Profesora: Olga Lucía Hoyos	APROBÓ Profesora: Maite Del Pilar Rada
-------------------------	--	--	--

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	CÓDIGO Por asignar
	DETERMINACIÓN DE EXTRACTO SECO EN LECHE LÍQUIDA POR EL MÉTODO GRAVIMÉTRICO	EDICIÓN 1
		PÁGINA 2 de 5

#### 4. INTERFERENCIAS

Un resultado erróneo en la determinación de sólidos totales puede ser causado por la incompleta evaporación de la materia volátil ó por la humedad de la arena utilizada.

#### 5. MUESTREO Y PRESERVACIÓN

Recolectar la muestra en recipientes de plástico ó vidrio de boca ancha y cierre hermético, cuando provengan de cantinas o tanques.

El volumen de la muestra empleada, varía de acuerdo con la finalidad del muestreo. Cuando se trate de envases unitarios para venta directa, se tomará como muestra del lote, tres unidades para el análisis físico-químico.

Una vez recolectadas, las muestras deben ser refrigeradas rápidamente a 4 °C. El transporte de muestras al laboratorio, debe realizarse en un recipiente isotérmico o nevera que no soporte temperaturas supremas a la recomendada.

Las muestras deben ser registradas y rotuladas para un control adecuado. Dentro de los datos a consignar están:

- Lugar, fecha y hora de muestreo.
- Tanque de enfriamiento ó higienización, ó número de lote.
- Nombre de entidad ó establecimiento responsable.
- Tipo de muestra.
- Volumen ó número de muestras recolectadas.
- Fecha y hora de recibo, así como de la temperatura de la muestra al momento de la entrega.

FECHA Agosto de 2007	ELABORÓ Marisol Salazar S. (BICAMSA)	REVISÓ Profesora: Olga Lucía Hoyos	APROBÓ Profesora: Maite Del Pilar Rada
-------------------------	--	--	--

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	<b>CÓDIGO</b> Por asignar
	DETERMINACIÓN DE EXTRACTO SECO EN LECHE LÍQUIDA POR EL MÉTODO GRAVIMÉTRICO	<b>EDICIÓN 1</b>
		<b>PÁGINA 3 de 5</b>

Para asegurar una muestra homogénea antes de cualquier análisis, mezcle cuidadosamente los líquidos trasvasando de un recipiente a otro. Si es el caso, donde no desaparezcan los grumos de crema, tibie en baño de agua a 37 °C, mezcle y enfríe a 15-20 °C para realizar los respectivos análisis.

Los análisis deben realizarse dentro de las 24 horas siguientes al muestreo.

## 6. CONTENIDO

### 6.1 Materiales y Equipos

- Cápsula de porcelana de 5 cm diámetro
- Espátula
- Balanza analítica Mettler AE 200 ( $\pm 0,0001$ )
- Pipeta volumétrica de 5 mL
- Vaso de precipitados de 100 mL
- Plancha Corning
- Horno de secado WTB Binder entre 98 y 100 °C
- Desecador
- Arena calcinada

### 6.2 Reactivos

No requiere, solo se utilizará arena calcinada para realizar el proceso.

### 6.3 Procedimiento

- Agregar 10-15 g de arena calcinada a una cápsula de porcelana de 5 cm de diámetro y pesar el conjunto. Tare y agregue 5 mL de la leche a analizar con pipeta volumétrica.

<b>FECHA</b> Agosto de 2007	<b>ELABORÓ</b> Marisol Salazar S. (BICAMSA)	<b>REVISÓ</b> Profesora: Olga Lucía Hoyos	<b>APROBÓ</b> Profesora: Maite Del Pilar Rada
--------------------------------	---	---	---

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <b>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</b> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	<b>CÓDIGO</b> Por asignar
	DETERMINACIÓN DE EXTRACTO SECO EN LECHE LÍQUIDA POR EL MÉTODO GRAVIMÉTRICO	EDICIÓN 1
		PÁGINA 4 de 5

- Evapore a baño de agua en ebullición durante 10-15 minutos, exponiendo a la acción del vapor, la máxima superficie posible del fondo del recipiente.
- Coloque la cápsula en el horno de secado (entre 98 y 100 °C) hasta sequedad, durante dos horas y media. Enfríe en desecador antes de pesar.
- La determinación debe hacerse por triplicado.

#### 6.4 Cálculo

El contenido de sólidos totales se determina como sigue:

$$\% \text{ sólidos totales } (p/p) = \frac{\text{peso residuo}}{\text{peso muestra}} \times 100$$

Donde:

Peso residuo = Peso final - peso de: (cápsula + arena)

Peso muestra =  $V_{\text{leche}} \times \rho$ , donde  $\rho$  = densidad a 15 °C

#### 6.5 Interpretación

Según la norma del Ministerio de Salud, decreto número 2437<sup>2</sup>, el porcentaje de sólidos totales (p/p) para leche líquida, debe cumplir los siguientes rangos:

<b>FECHA</b> Agosto de 2007	<b>ELABORÓ</b> Marisol Salazar S. (BICAMSA)	<b>REVISÓ</b> Profesora: Olga Lucía Hoyos	<b>APROBÓ</b> Profesora: Maite Del Pilar Rada
--------------------------------	---	---	---

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <b>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</b> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	CÓDIGO Por asignar
	<b>DETERMINACIÓN DE EXTRACTO SECO EN          LECHE LÍQUIDA POR EL MÉTODO          GRAVIMÉTRICO</b>	EDICIÓN 1
		PÁGINA 5 de 5

LECHE	PROCESO DE HIGIENIZACIÓN	MÍNIMO, (%p/p)	MÁXIMO, (%p/p)
ENTERA	CRUDA	11,3	-
	PASTEURIZADA	11,3	-
	ULTRAPASTEURIZADA	11,3	-
SEMIDESCREMADA	PASTEURIZADA	9,8	-
	ULTRAPASTEURIZADA	8,7	-
DESCREMADA	PASTEURIZADA	9,8	-
	ULTRAPASTEURIZADA	8,7	-

## 7. BIBLIOGRAFÍA

Esta norma está basada en:

1. AOAC. Volume II: Food Composition; Additives; Natural Contaminants. Chapter 33. Dairy Products. Method 925.23. Solids (Total) in Milk. En: Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL. William Horwitz, USA. 17 th edition. Published by AOAC INTERNATIONAL, (2003) p. 10
2. NORMAS Y PROCEDIMIENTOS REGLAMENTARIOS DE LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS. Ministerio de Salud. Capitulo IV. De la clasificación de las leches. Decreto N° 2437, 30 de Agosto de 1983.
3. HOYOS, O., VÉLEZ, P. Manual de prácticas de laboratorio, Análisis de alimentos. Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación. Departamento de química. Popayán. 2001.
4. FENEMA, O. Química de los alimentos. España: Editorial Acriba. 1993.
5. KIRK, R., SAWYER, R. y EGAN, H. Composición y análisis de alimentos de Pearson. México: Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V. 1996.

FECHA Agosto de 2007	ELABORÓ Marisol Salazar S. (BICAMSA)	REVISÓ Profesora: Olga Lucía Hoyos	APROBÓ Profesora: Maite Del Pilar Rada
-------------------------	--	--	--

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	<b>CÓDIGO</b> Por asignar
	<b>DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA EN LECHE          LÍQUIDA POR EL MÉTODO KJELDAHL</b>	<b>EDICIÓN 1</b>
		<b>PÁGINA 1 de 6</b>

## 1. OBJETO

Esta norma tiene por objeto establecer los pasos a seguir, para la determinación del contenido de proteína por el método Kjeldahl en leche entera cruda, pasteurizada y ultrapasteurizada, semidescremada y descremada.

## 2. ALCANCE

Esta norma aplica a todas las muestras recepcionadas para tal fin en la Unidad de Análisis Industriales, Sección de Alimentos del Departamento de Química de la Universidad del Cauca.

## 3. ASPECTOS GENERALES

La mayor parte del nitrógeno de la leche se encuentra en forma de proteína; el nitrógeno restante, está constituido por aminoácidos libres y en menor proporción por creatina, úrea y amoníaco.

Las proteínas de la leche se clasifican en dos grandes grupos: Las caseínas en suspensión coloidal, que constituyen aproximadamente el 80 % de las proteínas de la leche y el 20 % restante lo constituyen las proteínas del suero, principalmente la  $\beta$ -lactoglobulina y  $\alpha$ -lactoalbúmina.

La concentración de proteína en la leche varía con la raza de la vaca y en relación con la cantidad de grasa en la leche: Cuanto mayor es la cantidad de grasa, mayor es la cantidad de proteína. Su porcentaje se halla alrededor de 3,0 a 4,0 %.

Se determina empleando el método Kjeldahl, el cual consiste en la combustión húmeda del nitrógeno orgánico presente en la muestra. El porcentaje de proteína corresponderá entonces al porcentaje de nitrógeno determinado por este método, multiplicado por 6,38, factor establecido para leches.

<b>FECHA</b> Agosto de 2007	<b>ELABORÓ</b> Marisol Salazar S. (BICAMSA)	<b>REVISÓ</b> Profesora: Olga Lucía Hoyos	<b>APROBÓ</b> Profesora: Maite Del Pilar Rada
--------------------------------	---	---	---

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	<b>CÓDIGO</b> Por asignar
	<b>DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA EN LECHE          LÍQUIDA POR EL MÉTODO KJELDAHL</b>	<b>EDICIÓN 1</b>
		<b>PÁGINA 2 de 6</b>

#### 4. INTERFERENCIAS

La inadecuada cadena de conservación de la muestra de leche, puede afectar la proteína presente, interfiriendo en un resultado erróneo del porcentaje proteico de la leche a analizar.

#### 5. MUESTREO Y PRESERVACIÓN

Recolectar la muestra en recipientes de plástico ó vidrio de boca ancha y cierre hermético, cuando provengan de cantinas o tanques.

El volumen de la muestra empleada, varía de acuerdo, con la finalidad del muestreo. Cuando se trate de envases unitarios para venta directa, se tomará como muestra del lote, tres unidades para el análisis físico-químico

Una vez recolectadas, las muestras deben ser refrigeradas rápidamente a 4 °C. El transporte de muestras al laboratorio, debe realizarse en un recipiente isotérmico o nevera que no soporte temperaturas supremas a la recomendada.

Las muestras deben ser registradas y rotuladas para un control adecuado. Dentro de los datos a consignar están:

- Lugar, fecha y hora de muestreo.
- Tanque de enfriamiento ó higienización, ó número de lote.
- Nombre de entidad ó establecimiento responsable.
- Tipo de muestra.
- Volumen o número de muestras recolectadas.
- Fecha y hora de recibo, así como de la temperatura de la muestra al momento de la entrega.

<b>FECHA</b> Agosto de 2007	<b>ELABORÓ</b> Marisol Salazar S. (BICAMSA)	<b>REVISÓ</b> Profesora: Olga Lucía Hoyos	<b>APROBÓ</b> Profesora: Maite Del Pilar Rada
--------------------------------	---	---	---

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	<b>CÓDIGO</b> Por asignar
	DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA EN LECHE LÍQUIDA POR EL MÉTODO KJELDAHL	<b>EDICIÓN 1</b>
		<b>PÁGINA 3 de 6</b>

Para asegurar una muestra homogénea antes de cualquier análisis, mezcle cuidadosamente los líquidos transvasando de un recipiente a otro. Si es el caso, donde no desaparezcan los grumos de crema, tibie en baño de agua a 37 °C, mezcle y enfríe a 15-20 °C para realizar los respectivos análisis.

Los análisis deben realizarse dentro de las 48 horas siguientes al muestreo.

## 6. CONTENIDO

### 6.1 Materiales y Equipos

- Pipeta volumétrica de 1 mL
- Pipeta graduada de 10 mL
- Espátula
- Vidrio reloj
- Microbureta de 10 mL
- Balanza analítica Mettler AE 200 ( $\pm 0,0001$ )
- Estufa de digestión BÜCHI K-424
- Tubos de digestión Kjeldahl
- Equipo de destilación BÜCHI K-314
- Erlenmeyer de 250 mL

### 6.2 Reactivos

- Etanol, CARLO ERBA, 99,8 %
- Fenolftaleína, CARLO ERBA
- NaOH, comercial
- H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, comercial
- HCl, MERCK, 37 %
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, MERCK, 96 %

<b>FECHA</b> Agosto de 2007	<b>ELABORÓ</b> Marisol Salazar S. (BICAMSA)	<b>REVISÓ</b> Profesora: Olga Lucía Hoyos	<b>APROBÓ</b> Profesora: Maite Del Pilar Rada
--------------------------------	---	---	---

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b>	CÓDIGO
	<i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	Por asignar
	DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA EN LECHE LÍQUIDA POR EL MÉTODO KJELDAHL	EDICIÓN 1
		PÁGINA 4 de 6

### 6.2.1 Soluciones

- HCl 0,1 N, previamente estandarizado
- NaOH, al 30 % en agua destilada
- H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, al 4 % en agua destilada
- Indicador de Tashiro: 0,2 g de rojo de metilo y 0,1 g de azul de metileno en 100 mL de etanol
- Catalizador: 10 g K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,3 g TiO<sub>2</sub>, 0,3 g CuSO<sub>4</sub>.

### 6.3 Procedimiento

- Vierta volumétricamente 1 mL de leche en un tubo de digestión kjeldahl; agregue 1 g de catalizador y 9 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado.
- Instale el tubo kjeldahl en la estufa de digestión y gradúe el calentamiento suavemente hasta que deje de formar espuma durante una hora (regulador de energía en posición 4 y 5). Continúe la digestión durante aproximadamente tres horas a 370 °C, hasta que la muestra esté completamente clara y libre de materia orgánica.
- Completada la digestión, apague la estufa y aísle los tubos para dejarlos enfriar a temperatura ambiente; ya fríos los tubos, adicioneles unas gotas de fenolftaleína, hasta obtener una coloración naranja e instálelos en el destilador BÜCHI para adicionarles directamente 50 mL de NaOH al 30 % en exceso (hasta coloración azul tenue que se obtiene al finalizar la reacción) y así liberar el amoníaco, el cual se destila por arrastre de vapor y se recoge en un erlenmeyer de 250 mL que contiene H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> al 4 % con tres gotas de solución indicadora de tashiro que da una coloración violeta.

FECHA	ELABORÓ	REVISÓ	APROBÓ
Agosto de 2007	Marisol Salazar S. (BICAMSA)	Profesora: Olga Lucía Hoyos	Profesora: Maite Del Pilar Rada

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <b>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</b> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	CÓDIGO Por asignar
	<b>DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA EN LECHE</b> <b>LÍQUIDA POR EL MÉTODO KJELDAHL</b>	EDICIÓN 1
		PÁGINA 5 de 6

- Destilar por cinco minutos más después del cambio de color a verde en el contenido del erlenmeyer o hasta obtener el doble del volumen inicial.

- Finalmente, títule el borato de amonio contenido en el erlenmeyer con HCl 0,1N, hasta obtener nuevamente una coloración violeta.

- La determinación debe hacerse por triplicado y paralelamente se debe montar un blanco (catalizador y el H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado) en las mismas proporciones y bajo las mismas condiciones del procedimiento.

#### 6.4 Cálculo

Para determinar el porcentaje de nitrógeno, se utiliza la siguiente fórmula:

$$\% \text{Nitrógeno} = \frac{V_{\text{HCl}} \times N_{\text{HCl}} \times F}{g_{\text{muestra}}} \times 100$$

El contenido de proteína se determina como sigue:

$$\% \text{proteína} = \% \text{Nitrógeno} \times 6,38$$

Donde:

V<sub>HCl</sub> = Volumen de ácido gastado en la titulación

N<sub>HCl</sub> = Normalidad del ácido

F = factor de conversión a gramos de nitrógeno: 14 g N<sub>2</sub>.

FECHA Agosto de 2007	ELABORÓ Marisol Salazar S. (BICAMSA)	REVISÓ Profesora: Olga Lucía Hoyos	APROBÓ Profesora: Maite Del Pilar Rada
-------------------------	--	--	--

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	CÓDIGO Por asignar
	<b>DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA EN LECHE LÍQUIDA POR EL MÉTODO KJELDAHL</b>	EDICIÓN 1
		PÁGINA 6 de 6

## 6.5 Interpretación

Según lo establecido en la literatura<sup>4</sup>, la proteína de la leche debe ser de 3,0 %.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

Esta norma está basada en:

1. AOAC. Volume II, Food Composition; Additives; Natural Contaminants. Chapter 33. Dairy Products. Method 991.20. Nitrogen (Total) in Milk. En: Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL. William Horwitz, USA. 17<sup>th</sup> edition. Published by AOAC INTERNATIONAL, (2003). p. 10-11.
2. HOYOS, O., VELEZ, P. Manual de prácticas de laboratorio, Análisis de alimentos. Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación. Departamento de química. Popayán. 2001.
3. FENEMA, O. Química de los alimentos. España. Editorial Acriba. 1993.
4. KIRK, R., SAWYER, R. y EGAN, H. Composición y análisis de alimentos de Pearson. México: Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V. 1996.

FECHA Agosto de 2007	ELABORÓ Marisol Salazar S. (BICAMSA)	REVISÓ Profesora: Olga Lucía Hoyos	APROBÓ Profesora: Maite Del Pilar Rada
-------------------------	--	--	--

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	CÓDIGO Por asignar
	<b>DETERMINACIÓN DE CENIZAS EN LECHE LÍQUIDA POR EL MÉTODO DE CALCINACIÓN EN MUFLA</b>	EDICIÓN 1
		PÁGINA 1 de 5

## 1. OBJETO

Esta norma tiene por objeto establecer los pasos a seguir, para la determinación del contenido de cenizas o minerales por calcinación en leche entera cruda, pasteurizada y ultrapasteurizada, semidescremada y descremada.

## 2. ALCANCE

Esta norma aplica a todas las muestras recepcionadas para tal fin en la Unidad de Análisis Industriales, Sección de alimentos del Departamento de Química de la Universidad del Cauca.

## 3. ASPECTOS GENERALES

Las cenizas (ó material mineral) están integradas por compuestos inorgánicos no volátiles, caracterizables por sus reacciones y propiedades químicas. Se determina por calcinación a 550 °C.

La leche es una fuente excelente para la mayoría de los minerales requeridos para el crecimiento del lactante. La digestibilidad del calcio y fósforo es generalmente alta, en parte debido a que se encuentra en asociación con la caseína de la leche. Como resultado, la leche es la mejor fuente de calcio para el crecimiento del esqueleto y mantenimiento de la integridad de los huesos.

Otro mineral de interés en la leche es el hierro, cuya función es evitar el crecimiento bacteriano. Se halla en bajas concentraciones

Las cenizas totales de la leche genuina varían aproximadamente de 0,71 a 0,75 % y constituyen cerca del 8,3 % de los sólidos no grasos.

FECHA Agosto de 2007	ELABORÓ Marisol Salazar S. (BICAMSA)	REVISÓ Profesora: Olga Lucía Hoyos	APROBÓ Profesora: Maite Del Pilar Rada
-------------------------	--	--	--

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	CÓDIGO Por asignar
	<b>DETERMINACIÓN DE CENIZAS EN LECHE LÍQUIDA POR EL MÉTODO DE CALCINACIÓN EN MUFLA</b>	EDICIÓN 1
		PÁGINA 2 de 5

#### 4. INTERFERENCIAS

Una temperatura superior a los 550 °C podría descomponer los carbonatos presentes y se volatilizarían otras sustancias como los compuestos de fósforo, produciendo resultados erróneos.

#### 5. MUESTREO Y PRESERVACIÓN

Recolectar la muestra en recipientes de plástico ó vidrio de boca ancha y cierre hermético, cuando provengan de cantinas o tanques.

El volumen de la muestra empleada, varía de acuerdo con la finalidad del muestreo. Cuando se trate de envases unitarios para venta directa, se tomará como muestra del lote, tres unidades para el análisis físico-químico.

Una vez recolectadas, las muestras deben ser refrigeradas rápidamente a 4 °C. El transporte de muestras al laboratorio, debe realizarse en un recipiente isotérmico o nevera que no soporte temperaturas supremas a la recomendada.

Las muestras deben ser registradas y rotuladas para un control adecuado. Dentro de los datos a consignar están:

- Lugar, fecha y hora de muestreo.
- Tanque de enfriamiento ó higienización, ó número de lote.
- Nombre de entidad ó establecimiento responsable.
- Tipo de muestra.
- Volumen ó número de muestras recolectadas.
- Fecha y hora de recibo, así como de la temperatura de la muestra al momento de la entrega.

FECHA Agosto de 2007	ELABORÓ Marisol Salazar S. (BICAMSA)	REVISÓ Profesora: Olga Lucía Hoyos	APROBÓ Profesora: Maite Del Pilar Rada
-------------------------	--	--	--

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	CÓDIGO Por asignar
	<b>DETERMINACIÓN DE CENIZAS EN LECHE LÍQUIDA POR EL MÉTODO DE CALCINACIÓN EN MUFLA</b>	EDICIÓN 1
		PÁGINA 3 de 5

Para asegurar una muestra homogénea antes de cualquier análisis, mezcle cuidadosamente los líquidos trasvasando de un recipiente a otro. Si es el caso, donde no desaparezcan los grumos de crema, tibie en baño de agua a 37 °C, mezcle y enfríe a 15-20 °C para realizar los respectivos análisis.

Los análisis deben realizarse dentro de las 48 horas siguientes al muestreo.

## 6. CONTENIDO

### 6.1 Materiales y Equipos

- Balanza analítica Mettler AE 200 ( $\pm 0,0001$ )
- Crisol de porcelana con tapa
- Pinza para crisol
- Espátula
- Desecador
- Horno de secado WTB Binder a 60 y 100 °C
- Horno de calcinación o mufla TERRIGENO, D-8

### 6.2 Reactivos

- Mezcla sulfocrómica:  $K_2Cr_2O_7$  al 10 % en  $H_2SO_4$  concentrado.

### 6.3 Procedimiento

- Seque en el horno de secado a 100 °C por 30 minutos, un crisol de porcelana con tapa (previamente lavado con mezcla sulfocrómica, agua corriente y agua destilada) y posteriormente enfríelo dentro de un desecador y anote su peso.
- Tare y pese con precisión 1,0000 ( $\pm 0,0001$ ) g de la muestra de leche.

FECHA	ELABORÓ	REVISÓ	APROBÓ
Agosto de 2007	Marisol Salazar S. (BICAMSA)	Profesora: Olga Lucía Hoyos	Profesora: Maite Del Pilar Rada

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <b>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</b> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	CÓDIGO Por asignar
	<b>DETERMINACIÓN DE CENIZAS EN LECHE</b> <b>LÍQUIDA POR EL MÉTODO DE</b> <b>CALCINACIÓN EN MUFLA</b>	EDICIÓN 1
		PÁGINA 4 de 5

- Coloque el crisol sin tapa en el horno a 60 °C hasta sequedad de la muestra. Lleve el crisol tapado al horno de calcinación y aumente progresivamente la temperatura sin que exceda los 425 °C, con el fin de lograr la incineración y liberación de los compuestos gaseosos sin formación de llamas.
- Aumente gradualmente la temperatura hasta llegar a 550 °C y mantenga la temperatura constante por 2 horas para obtener unas cenizas blancas o grisáceas.
- Completado el tiempo de calcinación, baje la temperatura del horno a unos 100 °C aproximadamente. Saque cuidadosamente los crisoles y llévelos al desecador para su enfriamiento.
- Pese los crisoles fríos.

#### 6.4 Cálculos

El contenido de cenizas se determina como sigue:

$$\%cenizas = \frac{Pesocenizas}{Pesomuestra} \times 100$$

Donde:

Peso cenizas = (Peso final en g de cenizas + crisol con tapa) – peso en g de crisol vacío con tapa.

Peso muestra = peso en g de leche

#### 6.5 Interpretación

Según lo reportado en la literatura<sup>4</sup>, las cenizas totales varían aproximadamente de 0,71 a 0,75 %<sup>4</sup>.

FECHA Agosto de 2007	ELABORÓ Marisol Salazar S. (BICAMSA)	REVISÓ Profesora: Olga Lucía Hoyos	APROBÓ Profesora: Maite Del Pilar Rada
-------------------------	--	--	--

	<b>NORMA INSTRUCTIVA</b> <i>UNIDAD DE ANÁLISIS INDUSTRIALES:</i> <b>SECCIÓN ALIMENTOS</b>	<b>CÓDIGO</b> Por asignar
	<b>DETERMINACIÓN DE CENIZAS EN LECHE          LÍQUIDA POR EL MÉTODO DE          CALCINACIÓN EN MUFLA</b>	<b>EDICIÓN 1</b>
		<b>PÁGINA 5 de 5</b>

## 7. BIBLIOGRAFÍA

Esta norma está basada en:

1. AOAC. Volume II: Food Composition; Additives; Natural Contaminants. Chapter 33. Dairy Products. Method 945.46. Ash of Milk. En: Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL. William Horwitz, USA. 17 th edition. Published by AOAC INTERNATIONAL, (2003). p. 10.
2. HOYOS, O., VELEZ, P. Manual de prácticas de laboratorio, Análisis de alimentos. Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación. Departamento de química. Popayán. 2001.
3. FENEMA, O. Química de los alimentos. España: Editorial Acriba. 1993.
4. KIRK, R., SAWYER, R. y EGAN, H. Composición y análisis de alimentos de Pearson. México: Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V. 1996.

<b>FECHA</b> Agosto de 2007	<b>ELABORÓ</b> Marisol Salazar S. (BICAMSA)	<b>REVISÓ</b> Profesora: Olga Lucía Hoyos	<b>APROBÓ</b> Profesora: Maite Del Pilar Rada
--------------------------------	---	---	---

