

# **DEPARTAMENTO DE POSGRADOS**

# MAESTRÍA EN GESTIÓN DE LA CALIDAD Y SEGURIDAD ALIMENTARIA

"Determinar la desnaturalización de la proteína de la leche en la etapa de evaporación durante la producción de leche en polvo.".

TRABAJO DE GRADUACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO

"MAGÍSTER EN GESTIÓN DE LA CALIDAD Y SEGURIDAD ALIMENTARIA"

**AUTOR: ING. DIEGO JAVIER PILAMONTA MAÑAY.** 

DIRECTOR: Mgt. Miriam Margoth Briones García.

**CUENCA, ECUADOR** 

2015

## **DEDICATORIA**

Dedicado este proyecto de titulación al todo poderoso
Dios eterno, y a mis dos grandes amores mi madre
y mi esposa Arely. Ellas representaron gran esfuerzo
y tesón en momentos de decline y cansancio.
A ellas este proyecto, que sin ellas,
no hubiese podido culminar.

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a la Universidad y en especial a la Ing. Miriam Briones por darme la oportunidad de realizar los estudios pues como directora de este posgrado su apoyo fue siempre ejemplar.

Al Ing. Claudio Sánchez que con su experiencia supo orientarme y darme la seguridad en la investigación del proyecto.

A mis compañeros y amigos les agradezco su paciencia, confianza y amistad.

#### RESUMEN

Este trabajo consiste en determinar la desnaturalización de la proteína de leche en la etapa de evaporación durante la producción de leche en polvo. La investigación está encaminado a determinar qué cambios se producen por el tratamiento térmico de la leche, con respecto a la proteína de suero que es la más sensible a los tratamientos térmicos.

En la primera fase se da a conocer todo lo referente al producto, sus características y proceso de elaboración, luego se realiza una introducción al estudio de las proteínas de la leche y su interacción con referencia a los TT (Tratamiento Térmico).

En la siguiente fase se indica los valores de operación de temperatura y tiempo que tiene el producto en la producción de la leche en polvo en la etapa de evaporación. Luego se procede a tomar las muestras del lote respectivo; la primera muestra es de la leche pasteurizada del silo ya estandarizado y liberado por calidad, seguido se forma un *pool* de las muestras tomadas cada hora de la leche en polvo durante el ciclo de producción del lote.

En el laboratorio se procede a hacer la separación del suero de leche pasteurizada y la leche en polvo, las mismas que se enviarán a la cuantificación del índice de nitrógeno en la proteína de suero de cada muestra.

Para la cuantificación de la desnaturalización de la proteína del suero de leche tanto de la pasteurizada como de la leche en polvo se utiliza la herramienta de Kjeldahl aplicando la normativa NTE INEN 0016, se realizarán a 15 lotes de producción para así crear una tabla de proteína de suero de leche pasteurizada y proteína de suero de leche en polvo donde su diferencial nos entregara el dato del porcentaje de desnaturalización que tuvo el producto durante el proceso de conversión de liquida a polvo.

El proyecto finalizará exponiendo las conclusiones de la influencia del tratamiento térmico sobre el producto leche en polvo.

Palabras Claves: Proteína, desnaturalización, tratamiento térmico, kjeldahl, leche.

**ABSTRACT** 

This work aims to determine the denaturation of milk protein in the evaporation stage during the

production of milk powder. The assay is designed to determine what changes occur by the thermal

treatment of milk in relation to whey protein, which is the most sensitive to heat treatments.

In the first phase, we explain everything about the product, its features and production process; then

an introduction to the study of milk proteins and their interaction with reference to the TT is

performed.

In the next phase, the product temperature and time processing values during the evaporation stage

on the production of milk powder are mentioned. Then, we proceed to sampling the respective lot;

the first sample is of pasteurized milk from silo tanks already standardized and released by quality.

Next, a pool of the samples of powdered milk production taken every hour during the batch cycle is

carried out.

The separation of whey from pasteurized milk and powder milk is performed in the laboratory.

These samples will be sent for the quantification of nitrogen rates in whey protein from each

sample.

For the quantification of whey protein denaturation of both pasteurized and powdered milk, the

Kjeldahl method is used by applying the 0016 NTE INEN Ecuadorian Technical Norm. This will

be performed to 15 production batches in order to create a table of pasteurized milk whey protein,

and powder milk whey protein. Its differential will give us the percentage of denaturation that the

product had during the liquid to powder conversion process.

The project ends with the conclusions on the influence of heat treatment on powdered milk.

Keywords: Protein, Denaturation, Thermal Treatment, Kjeldahl, Milk

UNIVERSIDAD DEL

AZUAY

Dpto. Idiomas

Lic. Lourdes Crespo

### ÍNDICE DE CONTENIDO

Página Contenido DEDICATORIA ......ii AGRADECIMIENTO ......iii RESUMEN......iv ABSTRACT v ÍNDICE DE CONTENIDO ......vi ÍNDICE DE FIGURAS......viii ÍNDICE DE TABLAS ......ix ÍNDICE ANEXOS.....x CAPÍTULO I......5 1.2.-Propiedades físicas y químicas de los componentes de la leche......7 CAPÍTULO II......24 

1.4 Equipos utilizados	25
1.5 Método Kjeldahl	26
1.6 Diseño experimental	27
1.6.1 Preparación de muestras de suero en leche pasteurizada	27
1.6.2 Obtención de suero dulce de leche pasteurizada	27
1.6.3 Preparación de muestras de suero de leche en polvo	29
1.6.4 Obtención de suero dulce de leche en polvo reconstituida	29
CAPÍTULO III	31
RESULTADOS	31
CAPÍTULO IV	33
DISCUSIÓN	33
CONCLUSIONES	34
RECOMENDACIONES	35
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
REFERENCIAS ELECTRÓNICAS	37
ANEXOS	39

# **ÍNDICE DE FIGURAS**

Fig Nº1 Estructura general de aminoácido	. 11
Fig Nº 2 Configuración de aminoácidos	12
Fig Nº3 Estructura de la proteína	. 14
Fig Nº4 Flujograma de leche en polvo	.23
Fig Nº5 Vestimenta de laboratorio.	. 25
Fig Nº6 Equipos de laboratorio	25
Fig Nº 7 Equipos de laboratorio para reconstitución de leche en polvo	. 26
Fig Nº 8 Preparación de leche en baño maría	27
Fig Nº 9 Suero de leche	28
Fig Nº 10 Curva de la desnaturalización en la proteína del suero de leche	. 32
Fig Nº 11 Efecto de la desnaturalización en la proteína χ- caseína y β- lactoglobulina	33

# **ÍNDICE DE TABLAS**

Tabla Nº 1 Concentración de proteínas	8
Tabla Nº 2 Composición y estructura de proteína de la leche	.13
Tabla Nº 3 Efectos de los tratamientos en proteína de leche	. 18
Tabla Nº 4 Tipos de proteína y sus efecto en los tratamientos tecnológicos	. 19
Tabla Nº 5 Elaboración de leche en polvo	.22
Tabla Nº 6 Datos del porcentaje de proteína en el suero de leche pasteurizada	.28
Tabla Nº 7 Sólidos totales y proteína del suero de leche reconstituida	.30
Tabla Nº 8 Porcentaje de desnaturalización de la proteína de suero de leche	.31

# **ÍNDICE ANEXOS**

Anexo Nº 1 NTE INEN 9:2012 Leche cruda. Requisitos	39
Anexo Nº 2 NTE INEN 298:2011 Leche en polvo y crema en polvo. Requisitos	45
Anexo No 3 NTE INEN 16 Segunda revisión 2015-01 LECHE Y PRODUCTOS LÁCTEOS. DETERMINACIÓN DE CONTENIDO DE NITRÓGENO. MÉTODO KJELDAHL.	53
Anexo Nº 4 Informe de resultados de laboratorio	65

Pilamonta Mañay Diego Javier Trabajo de graduación Ing. Miriam Briones García Mayo, 2015

Proyecto "Determinar la desnaturalización de la proteína de la leche en la etapa de evaporación durante la producción de leche en polvo".

### 1.- INTRODUCCIÓN

La leche es uno de los alimentos más cercano a lo ideal en términos nutricionales ya que posee todo tipo de nutrientes en diferentes proporciones. Es debido a esto el interés de la industria lechera a utilizar diferentes procesos para conservar sus propiedades y cualidades nutritivas.

Actualmente con los alineamientos de la empresa, parte de los pilares es tener productos que justifique su parte nutricional y uno de ellos es la proteína en la producción de leche en polvo. Esto nos ha llevado a implementar planes de gestión en la calidad con respecto al proceso, pues la misión es entregar un producto que proporcione beneficios al consumidor sin comprometer la nutrición, la seguridad alimentaria o la transparencia en lo indicado en las etiquetas.

Al realizar la transformación del producto de líquido a seco en las industrias lácteas se adoptan métodos de deshidratación y uno de ellos en esta industrialización se encuentra la etapa de evaporación, donde elimina el agua del producto en cierto porcentaje y también realiza uno de sus propósitos primarios que es cumplir los requisitos bacteriológicos en el producto mediante el tratamiento térmico.

En este tema se estudia el comportamiento de la proteína del suero de leche durante el tratamiento térmico en el evaporador, donde la combinación de TIEMPO Y TEMPERATURA en la uperización provoca una desnaturalización, para la cuantificación se determina el índice de nitrógeno en la proteína de suero antes y después de esta etapa tal que su diferencial nos indicara el porcentaje de desnaturalización que tendrá la leche en polvo.

Esta desnaturalización provoca la modificación en la conformación globular de la proteína, causando el desdoblamiento de la cadena peptídica hacia formas lineales, así aparecen nuevos enlaces que permiten que las proteínas químicamente sean más reactivas.

La concentración de proteína en la leche varía de 3.0% a 4.0% es decir 30-40 gramos por litro, las proteínas se clasifican en dos grandes grupos: caseínas 80% y proteínas séricas 20%.

La caseína principal proteína de la leche, se encuentra dispersa como un gran número de partículas sólidas tan pequeñas que no sedimentan, y permanecen en suspensión las que está compuesta por 5 clases  $\alpha$  s1,  $\alpha$  s2,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\kappa$ , donde su agrupación con el fosfato de calcio forman partículas coloidales llamadas micelas.

"Debido al bajo contenido de grupos sulfhidrilo, y a que estos se encuentran ligados formando puentes de disulfuro, las caseínas en general tienen una dependencia estructural mínima de los puentes de disulfuro y por lo tanto presentan resistencia a la desnaturalización por calentamiento, sobre todo al compararse con las proteínas del suero, que por su alto contenido de grupos sulfhidrilo son muy termolábiles" (Guzmán Judith Jiménez 2003, pg-17).

Las proteínas séricas están compuestas por:  $\beta$ -lactoglobulina,  $\alpha$ -lactalbúmina, albúmina sérica, inmunoglobulinas, lactoferrina, y algunas enzimas propias de la leche.

La β-lactoglobulina es la más importante de las proteínas de suero donde la estructura secundaria, terciaria, y la "cercanía física de los grupos sulfhidrilo con los puentes de disulfuro en la estructura de la molécula, la convierte en la proteína de la leche más susceptible a la desnaturalización por calor, pues se puede dar muy fácilmente un intercambio entre los grupos sulfhidrilo libres y los que participan en el enlace de disulfuro, desestabilizando a la molécula" (Guzmán Judith Jiménez 2003, pg 18-19).

El determinar la desnaturalización de la proteína en la etapa de uperización es fundamental, pues nos llevara a controlar la relación de tiempo y temperatura en este proceso.

## 2.- PROBLEMÁTICA

La empresa actualmente busca el bienestar al consumidor mediante sus productos por ello, una de las partes en la política de calidad hace referencia en implementar procedimientos de mejoras para ello analiza la etapa de evaporación en el proceso, enfocado en la desnaturalización de la proteína por su tratamiento térmico.

La ausencia de calidad en el producto genera pérdidas monetarias a la empresa, con reducción de ventas, pérdida de mercado y desgaste de imagen. Para evitar este panorama y ofrecer mejores productos la empresa aplica una filosofía de calidad que no se desvía del objetivo trazado en base a las especificaciones normativas del país y propias de la empresa.

La problemática de la desnaturalización de la proteína en el proceso, es determinar si la relación de tiempo y temperatura en el evaporador no disminuye su valor nutricional al producto final a datos no aceptables, para ello se enfoca en determinar el contenido del índice de nitrógeno en la proteína de suero antes y después en el proceso para su evaluación.

El gran interés por la investigación sobre la desnaturalización es también informar cómo influye en su valor nutricional ya que estudios demuestran que la proteína de suero promueve la producción de glutación que es pieza central de los sistemas de defensa antioxidante e inmune del organismo, además tiene un excelente perfil de aminoácidos y la cinética de digestión rápida hace que sea la proteína ideal para consumir luego de actividades deportivas, también existen otras bondades más tales como; desarrollo de la masa muscular, mejora en la composición corporal e ideal para suplementos alimenticios.

Este documento contribuirá significativamente a conocer nuevos temas relevantes en esta área de investigación y servirán para mejorar a la industria de alimentos en procesamiento de leche en polvo.

## 3.- OBJETIVO GENERAL

Determinar la desnaturalización de la proteína en la etapa de evaporación durante el proceso de producción de leche en polvo.

## 3.1. – OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 3.1.1. Describir los puntos del proceso donde existe tratamiento térmico hacia el producto.
- 3.1.2. Determinar qué consecuencia provoca el tratamiento térmico uperización en la proteína de la leche en polvo.
- 3.1.3. Describir el método para determinar el índice de nitrógeno en la proteína aplicando la técnica de Kjeldahl en el suero de la leche antes y después del tratamiento térmico más importante.
- 3.1.4. Determinar el porcentaje de desnaturalización que tiene el producto durante este proceso.

## **CAPÍTULO I**

### 1.- MARCO TEÓRICO.

#### 1.1.- Definición de la leche

### 1.1.1.- Definición legal

**Leche** "es la secreción mamaria normal de animales lecheros obtenidas mediante uno o más ordeños sin ningún tipo de adición o extracción, destinada al consumo en forma de leche líquida o a elaboración ulterior". (CODEX STAN 206-1999. pg-1).

**Producto lácteo** "es un producto obtenido mediante cualquier elaboración de la leche, que puede contener aditivos alimentarios y otros ingredientes funcionalmente necesarios para la elaboración". (CODEX STAN 206-1999. pg-1).

**Leche en polvo**. "Es el producto que se obtiene por la eliminación parcial del agua de constitución de la leche de vaca". (NTE INEN 298:2011 Tercera revisión 2011-06 pg-1).

#### 1.1.2.- Definición dietética

La leche es uno de los alimentos más completo que se encuentra en la naturaleza, por ser rica en proteínas, grasas, vitaminas y minerales, necesarias para la nutrición humana. La proteína de la leche, contiene una gran cantidad de aminoácidos esenciales como necesarios para el organismo humano, la proteína que se encuentra en mayor proporción en la leche es la caseína. Entre la vitaminas que contiene están: la Vitamina B12 (riboflavina) la B1 (tiamina), y las vitamina A, D, E y K liposolubles. Entre los minerales de mayor cantidad están el calcio y el fósforo. Su contenido de grasa se debe principalmente a los triglicéridos. (Gómez Margarita, 2005, pg- 13).

Diego Pilamonta

6

## 1.1.3.- Definición física y sus propiedades

El olor o aroma: "la leche fresca es ligeramente perceptible, sin embargo la leche está ácida o contienen bacterias coliformes, adquiere el olor característico de un establo o a estiércol de las vacas, por lo cual se le da el nombre de "olor a vaca". (Gómez Margarita, 2005, pg- 14).

**Sabor**: "la leche fresca tiene un sabor medio dulce, neutro debido a la lactosa que contiene". (Gómez Margarita, 2005, pg- 14).

**Densidad de la leche:** "está relacionada con la combinación de sus diferentes componentes: el agua (1.000 g/ml); la grasa (0.931g/ml); proteína (1.346g/ml); lactosa (1.666 g/ml) minerales (5.500 g/ml) y Sólidos no grasos (S.N.G. =1.616 g/ml)". (Gómez Margarita, 2005, pg- 14).

**Acidez:** "la leche cruda presenta una acidez titulable resultante de reacciones, de las cuales una de ellas corresponde a la acidez natural de la leche cruda y la otra reacción corresponde a la acidez que se va formando en la leche debido a la acción de las bacterias contaminantes". (Gómez Margarita, 2005, pg- 14).

**PH**: "es el logaritmo del inverso de la concentración de iones de hidrógeno. Cuando la concentración de iones de hidrógeno es de 10-1 a 10-7, corresponde a un pH de 1 a 7 es decir, medio ácido. Si la concentración de iones de hidrógeno es de 10-7 a 10-14 (pH 7 a 14) el medio será alcalino (el pH =7es neutro). Dichas variaciones depende del estado de sanidad de la leche y de los microorganismos responsables de convertir la lactosa en ácido láctico". (Gómez Margarita, 2005, pg- 14).

## 1.1.4.- Composición química

Su composición aproximada es:

Agua = 87,5%.

Grasa = 3.5%.

Proteínas = 3,5%.

Lactosa = 4,7%.

Sales minerales = 0.8%.

### 1.2.-Propiedades físicas y químicas de los componentes de la leche

#### 1.2.1.- Grasa

La grasa (o lípido) constituye el 3,5% de la leche, variando entre razas de vacas y las prácticas de alimentación.

La grasa se encuentra presente en pequeños glóbulos suspendidos en agua. Cada glóbulo se encuentra rodeado de una capa de fosfolípidos, que evitan que los glóbulos se aglutinen entre sí repeliendo otros glóbulos de grasa y atrayendo agua.

Siempre que esta estructura se encuentre intacta, la leche permanece como una emulsión. La mayoría de los glóbulos de grasa se encuentran en la forma de triglicéridos formados por la unión de glicerol con ácidos grasos. (Michel A. Wattiaux. Pg-75)

## 1.2.2.- Proteínas

Las proteína de la leche tienen una estructura definida, su componente fundamental son los aminoácidos. Estos se pueden combinar de diferentes maneras tales como: enlaces peptídicos, puentes disulfuro, enlaces hidrógeno y enlaces iónicos para formar polipeptídicos y estos en proteínas, pero cuando la leche es sometida a diferentes tratamientos esta estructura puede cambiar.

La estructura primaria está conformada por el ordenamiento de la cadena peptídica y su estabilidad se debe al enlace peptídico o de covalencia entre los aminoácidos de la cadena.

La estructura secundaria o espacial constituye las cadenas de aminoácidos que se unen formando una especie de hélice, su estabilidad se debe en partea las uniones con los átomos de hidrógeno.

La estructura terciaria está conformada por varias cadenas replegadas sobre sí mismas. Su estabilidad se debe a los puentes de bilsulfuro existentes entre los aminoácidos sulfurados como la cistina y las fuerzas hidrofóbicas.

La estructura cuaternaria es una unión muy frágil de monómeros o pequeñas unidades moleculares, con enlaces poco energéticos.

La desnaturalización de las proteínas se debe a una modificación limitada de la estructura secundaria y terciaria de las proteínas, sin rompimiento de sus enlaces covalentes, ni separación de fragmentos lo que hace que se reagrupen las cadenas dando lugar a una estructuración diferente de la proteína. Un ejemplo de este se puede observar en la desnaturalización o inactivación de las enzimas por efecto del calor y la separación o precipitación de las proteínas del suero. (Gómez Margarita, 2005, pg- 31).

Las proteínas de la leche se clasifican en dos grandes grupos: caseínas 80% y proteínas séricas20%.

Tabla Nº 1.- Concentración de proteínas

Concentración de las proteínas en la leche (Walstra y Jenness, 1984).

Proteína	Concentración en la leche	% de la proteína total	
Piotenia	(g/kg)	(p/p)	
Proteína total	33.0	100.0	
Caseínas	26.0	79.5	
$\alpha_{sl}\text{-CN}$	10.0	30.6	
$\alpha_{s2}\text{-CN}$	2.6	8.0	
β-CN	9.3	28.4	
κ-CN	3.3	10.1	
γ-CN	0.8	2.4	
Proteínas de suero	6.3	19.3	
β-Lactoglobulina	3.2	9.8	
α-Lactoalbúmina	1.2	3.7	
Inmunoglobulinas	0.7	2.1	
Seroalbúmina	0.4	1.2	
Varias	0.8	2.4	
Proteínas de la membrana	0.4	1.2	
del glóbulo graso	ν.τ	1.2	

Nota: Buraglia Beatriz Miralles (2001), Fuente: <a href="http://biblioteca.ucm.es/tesis/far/ucm-t25082.pdf">http://biblioteca.ucm.es/tesis/far/ucm-t25082.pdf</a>

1.2.2.1.- Caseínas: Las caseínas son un conjunto heterogéneo de proteínas por lo que es difícil fijar una definición. Sin embargo, todas las proteínas englobadas en lo que se denomina caseína tienen una característica común: precipitan cuando se acidifica la leche a pH 4,6. Por ello, a la caseína también se le suele denominar proteína insoluble de la leche las caseínas son relativamente hidrofóbicas (Poco soluble en agua) y carecen de estructura secundaria a terciaria bien definidas.

De acuerdo con su movilidad electrofonética, están constituidas por las fracciones  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\kappa$  y  $\Upsilon$  caseínas, que se distinguen entre sí por su composición de aminoácidos y propiedades funcionales. Las caseínas se encuentran suspendidas en la leche a través de micelas, formadas por complejos macromoleculares de fosfoproteínas y glucoproteínas en suspensión coloidal. El papel nutrimental de la caseína es el suministro de aminoácidos, calcio y fósforo inorgánico.

**1.2.2.2.- Proteínas del suero de leche:** También conocidas como seroproteínas, se consideran proteínas solubles y se clasifican principalmente en albúminas y globulinas, entre las que se incluyen α-lactoalbúminas, β-lactoglobulinas, inmunoglobulinas, proteasas-peptonas y otros compuestos nitrogenados minoritarios no específicos como lactoferrina y lisozima. Las sero-proteínas son consideradas proteínas de alto valor biológico que cuentan con un amplio perfil de aminoácidos que incluye aminoácidos azufrados como la cisteína y la metionina, aminoácidos de cadena ramificada, lisina y triptofano, con lo que se compensan las deficiencias de la caseína. (Dr. García Mariano & L.N Maza Mónica & M.V.Z. Pérez Mónica. 2011 pg-29).

Industrialmente, las proteínas del suero de leche se utilizan en la fabricación de fórmulas infantiles, alimentos para deportistas y como fuente de aminoácidos de cadena ramificada (leucina, isoleucina, valina) para las fórmulas especializadas.

La β-lactoglobulina es la más importante de las proteínas del suero. Su peso molecular es de 18.362 kDa, aunque en la literatura se da a veces el de 36 kDa, pues esta proteína tiende a formar estructura cuaternaria (dímeros) entre unidades iguales, entre cruzadas por dos puentes de disulfuro. Cada

monómero tiene un puente de disulfuro y un sulfhidrilo intramolecular en forma de una cisteína y dos residuos de cistina. La  $\beta$ -lactoglobulina provee aproximadamente el 90% de los grupos sulfhidrilo libres en la leche.

La estructura secundaria y terciaria de la β-lactoglobulina, además de cercanía física de los grupos sulfhidrilo con los puentes de disulfuro en la estructura de la molécula, la convierte en la proteína de la leche más susceptible a la desnaturalización por calor, pues se puede dar muy fácilmente un intercambio entre los grupos sulfhidrilo libres y los que participan en el enlace de disulfuro, desestabilizando a la molécula (Guzmán Judith Jiménez, 2003 pg-18-19).

#### 1.2.3.- Lactosa

Es el principal hidrato de carbono de la leche, y la contiene en un 4.7% aproximadamente. Es un 85% menos dulce que la sacarosa o azúcar común y contribuye, junto con las sales, en el sabor global de la leche, siendo las cantidades de lactosa y sales inversamente proporcionales. La lactosa es fácilmente transformada en ácido láctico por la acción de bacterias.

La cantidad de leche que se sintetiza en los mamíferos depende de la lactosa producida. Para el ser humano, la lactosa constituye la única fuente de galactosa, un importante constituyente de los tejidos nerviosos. (Dr. García Mariano & L.N Maza Mónica & M.V.Z. Pérez Mónica. 2011, 2011 pg-29)

#### 1.3.- Minerales y vitaminas

"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 encuentran en asociación con la caseína de la leche. Como resultado, la leche es la mejor fuente de calcio para el crecimiento del esqueleto del lactante y el mantenimiento de la integridad de los huesos en el adulto". (Michel A. Wattiaux. Pg-75).

### 1.4.- Estudio de las proteínas

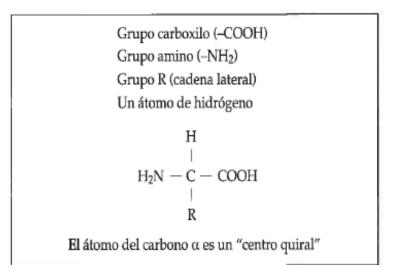
Las proteínas son cadenas de aminoácidos que se pliegan adquiriendo una estructura tridimensional que les permite llevar a cabo miles de funciones.

#### 1.4.1.- Los aminoácidos

"Son unidades básicas que forman las proteínas. Su denominación responde a la composición química general que presentan, en la que un grupo amino (-NH2) y otro carboxilo o ácido (-COOH) se unen a un carbono (-C-). Las otras dos valencias de ese carbono quedan saturadas con un átomo de hidrógeno (-H) y con un grupo químico variable al que se denomina radical (-R)" (Castro Diego 2011 pg-5).

La fórmula básica de un aminoácido es:

Fig Nº1.- Estructura general de aminoácido

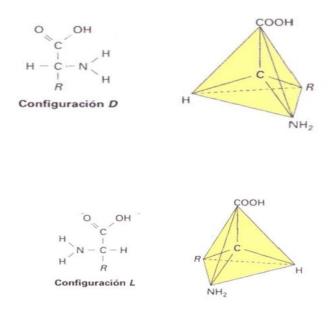


Nota: Bioquímica nutricional de las proteínas capitulo 6 A. Sarria pg-3 Fuente: <a href="http://www.uco.es/master\_nutricion/nb/Bueno%20pediatr/proteinas.pdf">http://www.uco.es/master\_nutricion/nb/Bueno%20pediatr/proteinas.pdf</a>

"Tridimensionalmente el carbono presenta una configuración tetraédrica en la que el carbono se dispone en el centro y los cuatro elementos que se unen a él ocupan los vértices. Cuando en el vértice superior se dispone el -COOH y se mira por la cara opuesta al grupo R, según la disposición del grupo amino (-NH2) a la izquierda o a la derecha del carbono  $\alpha$  se habla de  $\alpha$ -L-aminoácidos o de  $\alpha$ -D-aminoácidos respectivamente. En las proteínas sólo se encuentran aminoácidos de configuración L". (Castro Diego 2011 pg-5).

Configuraciones L y D de los aminoácidos:

Fig Nº 2.- Configuración de aminoácidos



Nota: Estructura y propiedades de las proteínas, Msc M. Luque Victoria pag-3

Fuente: http://www.uv.es/tunon/pdf doc/proteinas 09.pdf

# 1.4.1.1.- Enlace peptídico

Los aminoácidos se encuentran unidos linealmente por medio de uniones peptídicas. Estas uniones se forman por la reacción de síntesis (vía deshidratación) entre el grupo carboxilo del primer aminoácido con el grupo amino del segundo aminoácido.

La formación del enlace peptídico entre dos aminoácidos es un ejemplo de una reacción de condensación. Dos moléculas se unen mediante un enlace de tipo covalente CO-NH con la pérdida de una molécula de agua y el producto de estas uniones un dipéptido. El grupo carboxilo libre del dipéptido reacciona de modo similar con el grupo amino de un tercer aminoácido, y así sucesivamente hasta formar una larga cadena. Podemos seguir añadiendo aminoácidos al péptido, porque siempre hay un extremo NH2 terminal y un COOH terminal. (Peña Fritz Choquesillo, 2014, pg-9).

Tabla Nº 2.- Composición y estructura de proteína de la leche

Proteínas de la Leche

AMINOÁCIDOS	TOTAL DE PROTEÍNAS	CASEÍNAS	a-LACTOALBÚMINA	B-LACTOGLOBULINA
	(%)	(%)	(%)	(%)
Glicina	0,3	0,4	0	1,5
Alanina	2,3	2,3	2,6	7,1
Valina	6,9	7	5	5,8
Leucina	10,8	10,8	14,1	15,5
Isoleucina	6,4	6,1	5,1	6,8
Serina	4,8	5,4	4	4,4
Treonina	4,6	4,4	5	5.3
Ác. Aspártico	5	5,8	9,6	11
Ác. Glutámico	20,5	21,7	15,2	1,8
Arginina	3,8	3,8	3,4	2,9
Lisina	8,1	6,8	7.3	11,3
Cisteína	-	-	-	1,1
Cistina	0,9	0,3	3,1	4
Metionina	2,6	2,9	2,4	3,2
Fenilalanina	5,2	5.5	4,1	3.7
Tiriosina	5.7	6	4	3.7
Histidina	2,4	2,2	1,6	1,6
Prolina	7,6	9,8	4	4,7
triptofano	1,8	1,2	2,1	1,9

Fuente: RIEL,R. Composición y Estructura Físico-Química de la leche, 1991

Nota: TetraPak, La Leche Proteínas, capítulo 2 pg-13.

Fuente: http://www.tetrapak.com/pe/Documents/leche2ok.pdf

#### 1.4.2.- Estructura de las proteínas

Lo que hace distinta a una proteína de otra es la secuencia de aminoácidos de que está hecha, a tal secuencia se conoce como estructura primaria de la proteína. La estructura primaria de una proteína es determinante en la función que cumplirá después, así las proteínas estructurales (como aquellas que forman los tendones y cartílagos) poseen mayor cantidad de aminoácidos rígidos y que establezcan enlaces químicos fuertes unos con otros para dar dureza a la estructura que forman.

Por tanto, podemos distinguir cuatro niveles de estructuración en las proteínas:

- ✓ Estructura primaria
   Determinada por los aminoácidos y su ordenamiento
- ✓ Estructura secundaria
   Disposición espacial de los aminoácidos.

Diego Pilamonta

- α hélice.
- β u hoja plegada.
- ✓ Estructura terciaria.

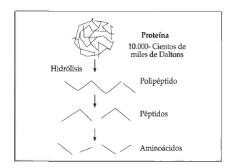
Conformación de la estructura secundaria en el espacio

- Globular.
- Filamentosa.
- ✓ Estructura cuaternaria.

Asociación de varias cadenas polipeptidicas con estructuras terciaria, con enlaces múltiples.

- Hemoglobinas.
- · Colágeno.

Fig Nº3.- Estructura de la proteína



Nota: Bioquímica nutricional de las proteínas capitulo 6 A. Sarria pg-2

Fuente: http://www.uco.es/master\_nutricion/nb/Bueno%20pediatr/proteinas.pdf

## 1.5.- Tratamientos térmicos en la leche

El tratamiento térmico es importante al que se somete la leche y los productos lácteos, las variables principales son tiempo y temperatura, los que se cambian de acuerdo a diferentes propósitos como: Mejorar la calidad higiénica de la leche y su conservación debido a la destrucción de bacterias, enzimas a partir de la esterilización y pasterización de la leche.

#### 1.5.1.- Termización

Es un proceso de conservación que consiste en calentar la leche a temperaturas de 57-68°C durante 15 segundos. La intención de la termización no es higienizar la leche (por higienización se entiende la

eliminación de bacterias patógenas), sino disminuir el número de bacterias termo sensibles, particularmente las llamadas bacterias psicrotrofas y psicrofilas, capaces de multiplicarse de manera significativa a temperaturas en torno a los 8°C. Es el primer paso antes de los tratamientos de elaboración a los que se someterá posteriormente.

La leche sometida a este proceso mantiene su calidad inicial hasta el momento del procesado, siempre que se conserve a 2-4°C. Este proceso también se puede aplicar a la materia prima para elaboración de otros productos lácteos como el yogur o la cuajada. (Dr. Bonet & Dr. Dalmau. Pg-17).

#### 1.5.2.-Pasteurización

"La pasterización se aplica con el fin de destruir los microorganismos patógenos presentes en la leche y la mayoría de las formas vegetativas microbianas. Además, algunas enzimas se inactivan. En la denominada baja pasterización, se aplica una temperatura de 65 °C durante 30 min. Es más frecuente la pasterización mediante la utilización de intercambiadores de calor que funcionan en continuo. Si se aplican 71-75 °C durante 15-40 seg se trata de alta pasterización" (Buraglia Beatriz Miralles 2001, pg-18).

### 1.5.3.- Esterilización UHT (Ultra High Temperature)

"El objetivo es una larga conservación sin ayuda de refrigeración. Puede realizarse en recipientes herméticos que se somete a calentamientos de 110-120 °C durante 5-20 min, o en flujo continuo, tratamiento UHT, sometiendo la leche a temperaturas elevadas durante un periodo de tiempo corto (135-150 °C de 2 a 15 seg). Si se realiza por contacto directo de vapor de agua sobrecalentado se denomina UHT directo, mientras que con intercambiadores de calor tubulares o en placa se denomina UHT indirecto". (Buraglia Beatriz Miralles 2001, pg-19).

### 1.5.4.- Esterilización convencional

También tiene como objetivo la esterilidad comercial de la leche, pero en este caso el tratamiento de calor se aplica al conjunto leche más el envase, Los equipos

utilizados para ellos son autoclaves o torres hidrostáticas: Las temperaturas de trabajo dependen de las características del equipo del envase y suelen oscilar entre 115 y 120° C. Para minimizar el tratamiento térmico necesario para aplicar al conjunto producto más envase, la leche es presterilizada antes de su envasado. No obstante, habitualmente, ese tipo de leche acostumbra a presentar una mayor degradación de los componentes termolábiles en relación con la leche UHT.

#### 1.5.5.- Definición de un tratamiento térmico

Los tratamientos de calentamiento no son ni uniformes ni instantáneos. Para poder comparar el efecto letal de los diferentes tratamientos es necesario que tengamos un patrón común para definirlos.

El valor que expresa en unidades de tiempo y que permite cuantificar el efecto del tratamiento esterilizador se llama función F, la misma que depende de los parámetros (D, Z).

El valor D, o tiempo de reducción decimal mide el tiempo a una determinada temperatura para reducir la concentración de gérmenes en un 90%. D puede variar de 0,2 a 2 minutos según los microorganismos -90%/min a 121,1°C.

Z se define como la temperatura de destrucción microbiana, es decir el número de grados que implica una variación de D de un factor 10.

Fo = 
$$\frac{t}{60} \times \frac{10^{(T-121.1^{\circ}C)/Z}}{60}$$

t = tiempo de esterilización, en segundos, a T°C.

T = temperatura de esterilización, en °C.

z = un valor que expresa el incremento de temperatura necesaria para obtener el mismo efecto letal en la décima parte (1/10) del tiempo (para las esporas 10-10,8°C) normalmente se fija en 10°C.

Para la leche esterilizada UHT, el germen de referencia que se debe tener en cuenta para el cálculo del valor de esterilización es la espora B stearothermophilus Tº de referencia de 138,9° C y Z de 10. El valor Fo mínimo es 6 para tener la seguridad comercial del producto.

## 1.6.- Efectos provocados a la leche por tratamientos térmicos

Cuando la leche es sometida a diferentes temperaturas sus componentes termolábiles como las proteínas y el estado fisicoquímico de sus sales sufren cambios de acuerdo a la intensidad de los tratamientos térmicos, afectando su estabilidad, pH, poder de oxidorredución, características organolépticas y nutritivas

El tratamiento térmico de la leche, en el cual, dependiendo de la temperatura a la que se somete, se presentarán alteraciones físico-químicas, desnaturalización, coagulación y la reacción de Maillard, conocida como caramelización de la leche. Esta desnaturalización provoca la modificación de la conformación globular de la proteína, causando el desdoblamiento de la cadena peptídica hacia formas lineales. Así aparecen nuevos enlaces que permiten que las proteínas químicamente sean más reactivas.

De las proteínas de la leche, la caseína es la de mayor estabilidad ante el proceso térmico; sin embargo, las proteínas del suero son las más afectadas, sobre todo la β-lactoglobulina.

La  $\beta$ -lactoglobulina es el principal portador de grupos sulfhidrilos, que son modificados o separados en el curso de la desnaturalización y que intervienen en la formación del "gusto a cocido" de la leche tratada térmicamente.

El calentamiento de la leche a temperaturas de esterilización provoca un aumento considerable del contenido de materias nitrogenadas no proteicas, como consecuencia de la degradación de las proteínas.

La desnaturalización de las proteínas del suero por calor es un proceso de dos fases: inicia con un desdoblamiento reversible de la proteína que involucra la ruptura de los puentes de hidrógeno y enlaces hidrofóbicos, seguido de una desnaturalización irreversible y la agregación de las moléculas que se da a temperaturas más altas. Las reacciones irreversibles son de intercambio tiol-disulfuro. Se ha sugerido una tercera fase, que depende de la interacción del calcio y resulta en la formación de un agregado proteico mayor. La gelificación de las proteínas del suero puede escribirse como la manifestación física de la desnaturalización inducida por

el calentamiento de las proteínas cuando hay una alta concentración de las mismas (Guzmán Judith Jiménez, 2003 pg-20-21).

"Se ha demostrado que la liberación de los grupos sulfhidrilo de la leche contribuye de manera importante en el desarrollo de estos sabores, además también se le ha relacionado con la desestabilización de las proteínas de la leche". (Guzmán Judith Jiménez, 2003 pg-21)

Cuadro donde se resume los principales efectos del calentamiento sobre los componentes de la leche y sus consecuencias.

Tabla Nº 3.- Efectos de los tratamientos en proteína de leche

SUSTANCIAS MODIFICADAS	MODIFICACIONES	PRINCIPALES CONSECUENCIAS
Lactosa	Descomposición con formación de ácidos grasos	Crecimiento de las bacterias lácticas. Disminución del pH. Caramelización.
Lactosa + proteínas	Reacción entre los grupos aldehídicos y aminados (reacción de Maillard)	Reducción del valor nutritivo de las proteínas, especialmente la lisina. Formación de compuestos reductores y descenso del potencial Redox, dificultando la oxidación de las grasas.  Oscurecimiento.
Proteínas solubles (Beta lactoglobulina)	Aparición de grupos SH y de compuestos sulfurados libres. Desnaturalización e Inactivación de aglutininas.	Sabor a "cocido" Floculación o coagulación Se dificulta la formación de la crema.
Proteínas solubles y caseína	Formación de amoníaco. Formación de complejos de caseína K y Beta – lactoglobulina.	Alteración del sabor, formándose la llamada "capa de la leche" Estabilización por precalentamiento.
Caseína	Degradación de la molécula (desfosforilización y ruptura de los enlaces peptídicos) y modificación del estado micelar de la leche.	Floculación de las suspensiones de caseína a alta temperatura. Floculación y gelificación de la leche.
Materias minerales	Desplazamiento del equilibrio Ca/P soluble Ca/P insoluble. Modificación de la capa superficial de las micelas.	La estabilización por precalentamiento. Insolubilización de las sales de calcio y descenso del pH. Retraso en la coagulación por cuajo. Efectos en la estabilización de las micelas.
Materia grasa	Formación de lactonas por los ácidos monoenos de cadena corta.	Sabor desagradable en las leches concentradas y en polvo.
Vitaminas	Destrucción de las vitaminas B1 y C	Reducción del valor nutritivo.
Enzimas	Inactivación a temperaturas entre 60 °C− 100°C	Inactivación enzimática particularmente de la lipasa y proteasa. Control de la pasterización.
Gases	Pérdida de CO2	Ligero aumento del pH.

Fuente: FAO. 1981.

Nota: Gómez Margarita, 2005, pg- 41 Fuente: <a href="http://es.slideshare.net/luissslglm/m-tecnologia-de-lacteos">http://es.slideshare.net/luissslglm/m-tecnologia-de-lacteos</a>.

Efectos de los tratamientos tecnológicos en la proteína de leche.

Tabla Nº 4.- Tipos de proteína y sus efectos en los tratamientos tecnológicos

	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
Tipo de proteína	Características y efectos de los tratamientos tecnológicos
$\alpha_{s1}$ -caselna	Mayoritaria en la leche de vaca (aproximadamente el 34% del total de la proteína de la
	leche). Es una molécula hidrofóbica que forma parte del interior las micelas y es esencial
	en la incorporación de Ca a las mismas. Resistente a tratamientos térmicos y sensible a
	precipitación ácida o enzimática.
α <sub>s2</sub> -caselna	Menos abundante que la $\alpha_{s1}$ -caseína (aproximadamente el 8% del total de la proteína
	de la leche). También forma parte del interior de las micelas. Resistente a tratamientos
	térmicos y sensible a precipitación ácida o enzimática.
B-caseína	Aproximadamente el 25% del total de la proteína. Es la más hidrofóbica de todas las
	caseínas. Responsable de que durante la refrigeración aumente la hidratación y volumen
	de las micelas de caseínas.
к-caselna	Aproximadamente el 12% del total de la proteína de la leche. Responsable de la
	regulación del tamaño de las micelas de caseínas y de su estabilidad. Es la proteína
	atacada por el cuajo durante la coagulación enzimática. Es la más sensible a los
	tratamientos térmicos de todas las caseínas, y la que interactúa con las proteínas séricas
	desnaturalizadas durante estos tratamientos.
α-lactoalbúmina	Aproximadamente el 4% del total de la proteína de la leche. Es termolábil con
	tratamientos térmicos severos. Forma agregados con las β-lactoglobulinas.
B-lactoglobulinas	Aproximadamente el 9% del total de la proteína de la leche. Es termolábil y juega un
	papel muy importante en los tratamientos térmicos por ser la responsable del sabor
	característico que adquiere la leche tratada térmicamente.
Proteosas-peptonas	Aproximadamente el 2% del total de la proteína de la leche. Presentan acción
	enzimática y juegan un importante papel digestivo. Son estables a los tratamientos
	térmicos moderados y a la acción de los ácidos.
Inmunoglobulinas	Aproximadamente el 2% del total de la proteína de la leche. No son específicas de la
	leche, ya que se encuentran presentes en todos los fluidos corporales. Presentan una
	función defensiva. Son muy termosensibles.
Seroalbúminas	Representan aproximadamente el 1% del total de proteínas de la leche. Son un grupo
	muy heterogéneo que presenta la facultad de ligarse de forma reversible dependiendo
	de las condiciones a diversas sustancias.

Nota: AESAN 2010, pg-41 Fuente:

http://aesan.msssi.gob.es/AESAN/docs/docs/evaluacion\_riesgos/comite\_cientifico/PROTEINAS\_LACTEAS\_ALERGIAS.pdf

## 1.7.- Valor nutricional de las proteínas del suero de leche

## Aplicaciones para productos médicos en nutrición

Las ventajas de utilizar proteínas de suero de leche en productos médicos y de nutrición incluyen los siguientes:

Un sabor limpio, mejoramiento del patrón de aminoácidos, mejoramiento de la estabilidad física del producto, disponibilidad de lactosa de bajo nivel de hidrólisis, anti-oxidantes de alta calidad y la creación de geles que ayudan a ligar la cocoa en polvo, por ejemplo en productos con sabor.

El suplemento de suero de leche también se está utilizando en las fórmulas para los infantes mayores y niños jóvenes. Al irse descubriendo nuevos beneficios que tienen los diversos fragmentos del suero de leche en la salud y de los pépticos derivados del suero de leche en la salud.

Las proteínas del suero de leche son fragmentos naturales de proteína láctea y que se ha demostrado en estudios científicos que promueven naturalmente una fuerte inmunidad, la recuperación eficaz del músculo y extiende los beneficios globales de la actividad física. Las proteínas del suero de leche proporcionan varios beneficios únicos a los atletas.

## 1.8.- Descripción del proceso de elaboración de leche en polvo

Recepción: Para la recepción de leche cruda se realizan las pruebas de calidad tales como: físico-químicas, organolépticas y microbiológicas rápidas, luego se descarga al silo de recepción enfriando por un intercambiador de placas a una temperatura optima de 4°C +/- 2°C.

Pasteurización: En esta etapa se procede a la pasteurizar con el equipo intercambiador de placas, donde la temperatura es de 76 °C y el tiempo de retención 15 seg, durante la pasteurización la leche es homogenizada a 200bar con el objetivo de establecer el mismo diámetro en las partículas de grasa, y finalmente es almacenada en el silo a 4 °C.

Evaporación: En la etapa de evaporación se tiene un equipo de película descendente y de tres efectos, donde la leche circula a través de los tubos que son calentados por vapor y con presión de vacío, pues aquí es donde se produce la ebullición a temperaturas de 65°C a 70°C, haciendo que el contenido de materia seca aumenta según se evapora el agua hasta alcanzar un concentrado de 38° Brix para luego enviar a la siguiente etapa. La mayor temperatura que se tiene es en la

sección de Uperizacion 105 °C+/- 3 °C, con el objetivo de conservar la vida útil de producto y asegurar la inocuidad.

Secado: La leche concentrada ingresa a una cámara de secado por un disco de alta velocidad superior a 10000rpm produciendo una atomización de la leche en unas gotas que tienen contacto con el aire a una temperatura de 170 °C. Para completar el secado de la leche es transportada por el lecho fluidizador que tiene dos etapas controlando el porcentaje de la humedad del producto final.

Tabla Nº 5.- Elaboración de leche en polvo

		CONTROLES	
ETAPA	DESCRIPCIÓN	VARIABLE	RANGO
		Prueba de Alcohol 78% v/v	R-OH: Neg
		Acidez,	%Acidez: 0.14 - 0.16
		Grasa,	Min. 3.0
RECEPCIÓN	Se toma una muestra de leche cruda para el análisis en el laboratorio,:	Densidad,	1.030 – 1.033
LECHE CRUDA		pH.	6.5 - 6.7
		Crioscopia.	-0.530°H-0.550°H
		Adulterantes.	Negativo.
		Antibióticos.	Negativo.
ENFRIAMIENTO Y  ALMACENAMIENTO	La leche cruda pasa a través de un equipo enfriador de placas hasta bajar la temperatura requerida.	Temperatura	4 +/- 2 °C.
HOMOGENIZACION	La leche estandarizada es pasada por un equipo de homogenización, con el fin de buscar una uniformidad en el tamaño de los glóbulos de grasa	Presión	2000 psi
	Finalmente la leche pasa al equipo	Temperatura	76°C
PASTEURIZACION	pasteurizador, por medio de un intercambio de calor la leche alcanza	Flujo	5,000 Lt/h
	temperaturas que permiten reducir la carga bacteriana inicial.	Tiempo retención	15 seg.

	La leche pasterizada es		nacenamiento	4 +/- 2 °C.	
ALMACENAMIENTO	almacenada en tanques previamente lavados y	Verificación Pruebas Pasterización		Fosfatasa: Positiva	
	desinfectados.			Peroxidasa: Positiva	
		Temp. (°C)	Nº 1:	65 ± 2 °C	
		cada efecto	Nº 2:	55 ± 2 °C	
	La leche es sometida a un		Nº 3:	38 ± 2 °C	
	proceso de concentración, a	Presión Vacío			
EVAPORACION	través de vapor y vacío hasta	(mm. Hg.)	-5 ± 1		
	obtener los %S.T. requeridos.	Concentración(º BRIX)	38 ± 2		
UPERIZACIÓN	La leche es calentada, hasta alcanz	zar la Temperatura	Temperatura (°C)	105 °C ±3 °C	
OI EIGEAGIOIV	requerida antes de iniciar la evaporación		Flujo	1300 lt/hora	
	camarada cacado utilizando aira tiltrado a alta		Temp. Entrada cámara	•	170 ± 5°C
SECADO EN CAMARA			Motor Atomizador (rpm)	10.000rpm	
			Temp. Salida de la cámara	83 ± 1°C	
	La leche pulverizada previamente en la cámara, pasa a un lecho fluidizado por aire caliente filtrado, el cual se encarga de dar la textura y humedad final al producto de 3% para ser tamizado y envasado			N4 00 05 00	
SECADO EN LECHOFLUIDIZADOR Y ENVASADO			Temperatura (°C)	N1 90-95 °C. N2 30-35 °C	

Fuente: Elaborado por el autor

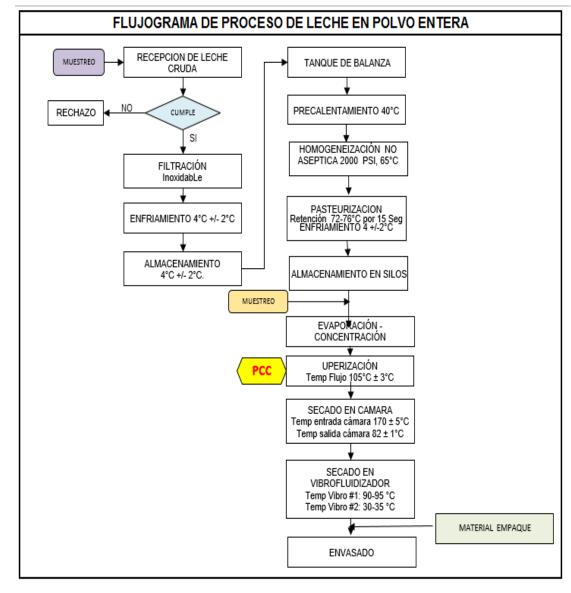


Fig Nº4.- Flujograma de leche en polvo

Fuente: Elaborado por el autor.

# **CAPÍTULO II**

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### 1.1.- Área de estudio

Para el estudio se realiza con las muestras del proceso de leche pasteurizada y leche polvo entera en el laboratorio.

#### 1.2.- Toma de muestras

Leche pasteurizada: El material utilizado para el presente proyecto es de una muestra de leche pasteurizada por lote.

Leche en polvo entera: En cada lote realizamos un *pool* de leche en polvo, donde el ciclo de los lotes es de 16 horas, esto se realiza en los 15 lotes del proyecto.

Se considera el valor de temperaturas en las 15 muestras como referencia en la investigación, donde 5 muestras en temperatura límite inferior, 5 muestras en temperatura de trabajo y 5 muestras en temperatura límite alto.

La numeración de cada lote fue aleatorio sin secuencia en cada fecha realizada.

En este proyecto la identificación de los lotes es según Tabla Nº 5.

Tabla Nº 5.- Nomenclatura de muestras

LOTES	LECHE PASTEURIZADA	LECHE POLVO	TEMPERATURA DE TRABAJO
1	MUESTRA 1	MUESTRA 4	Temperatura media
2	MUESTRA 2	MUESTRA 3	Temperatura baja
3	MUESTRA 1	MUESTRA 2	Temperatura media
4	MUESTRA 3	MUESTRA 4	Temperatura baja
5	MUESTRA C4	MUESTRA C2	Temperatura media
6	MUESTRA C1	MUESTRA C3	Temperatura baja
7	MUESTRA C5	MUESTRA C6	Temperatura media
8	MUESTRA D4	MUESTRA D1	Temperatura alta
9	MUESTRA D5	MUESTRA D3	Temperatura alta
10	MUESTRA D6	MUESTRA D2	Temperatura alta
11	MUESTRA E1	MUESTRA E3	Temperatura baja
12	MUESTRA E4	MUESTRA E2	Temperatura alta
13	MUESTRA E5	MUESTRA E6	Temperatura baja
14	MUESTRA F1	MUESTRA F2	Temperatura media
15	MUESTRA F4	MUESTRA F3	Temperatura alta

En cada una de las muestras se extrae el suero de leche para luego determinar el índice de nitrógeno y así obtener el porcentaje de la desnaturalización en este proceso de TT (Tratamiento Térmico) en la elaboración de la leche entera en polvo.

- 1.3.- Lugar del ensayo. Las muestras del suero de leche son realizadas en el laboratorio de planta y luego son enviadas al laboratorio LABOLAB de la ciudad de Quito para el análisis del índice de nitrógeno en el suero de leche.
- **1.4.- Equipos utilizados**. Los principales equipos utilizados en las actividades fueron los siguientes:



Fig Nº5.- Vestimenta de laboratorio.







Fig Nº 7.- Equipos de laboratorio para reconstitución de leche en polvo

Preparación de muestras.

- Centrífuga.
- Medidor de PH.
- Termómetro.
- Baño María.
- Vasos, pipetas, tubos de ensayo de vidrio

Cuantificación de proteínas.

- Tubos de digestión Kjeldahl.

## 1.5.- Método Kjeldahl

El método a utilizar es la herramienta de Kjeldahl donde se obtiene el valor del índice de nitrógeno en los alimentos, en este caso del suero de la leche mediante la norma NTE INEN 0016, y es utilizado como método de referencia en muchos modelos analíticos de medida de proteína.

El método de medición de proteínas (nitrógeno) por el método de Kjeldahl se basa en la descomposición de los compuestos de nitrógeno orgánico por ebullición con ácido sulfúrico. El hidrógeno y el carbono de la materia orgánica se oxidan para formar agua y bióxido de carbono. El ácido sulfúrico se transforma en sulfato, el cual reduce el material nitrogenado a sulfato de amonio. En este método se usa el sulfato de cobre como catalizador y el sulfato de potasio para aumentar la temperatura de la mezcla y acelerar la digestión.

# 1.6.- Diseño experimental

# 1.6.1.- Preparación de muestras de suero en leche pasteurizada

- Se sacan 1 litro de leche del silo estandarizado en un frasco de vidrio e identificar.
- Se realiza el análisis físico químico del lote según la Tabla Nº 2.
- Se coloca 250ml de la leche en el baño maría hasta alcanzar la temperatura de 40°C.



Fig Nº 8.- Preparación de leche en baño maría

# 1.6.2.- Obtención de suero dulce de leche pasteurizada.

Luego de obtener la temperatura deseada a 40 °C, en los 250ml de leche pasteurizada, se coloca la enzima coagulante también llamada quimosina o cuajo líquido, en una cantidad de 6 ml, se mantiene durante 60min a 40 °C en el baño maría. Luego se deja en reposo 30 min hasta temperatura ambiente y se tamiza para obtener el suero de la leche, para separar residuos de grasa se procede a colocar en la centrifuga a 4500 rpm durante 7 min. Obtenido el suero se coloca en un envase aséptico y se refrigera a 4 °C.



Fig Nº 9.- Suero de leche

Con las muestras de suero se procede hacer el análisis de la proteína de suero mediante el método Kjeldah, donde los resultados se muestran en la Tabla Nº 6.

Tabla № 6.- Datos del porcentaje de proteína en el suero de leche pasteurizada

Datos de la leche Pasteurizada						
LOTE	GRASA	DENSIDAD	PROTEINA DE SUERO			
		DENSIDAD				
#	% (m/m)		% (m/m)			
1	3,4	1,0295	1,050			
2	3,4	1,031	1,070			
3	3,4	1,0294	0,920			
4	3,4	1,0293	0,820			
5	3,5	1,031	1,440			
6	3,5	1,0293	1,060			
7	3,5	1,0298	1,120			
8	3,4	1,03	1,210			
9	3,5	1,031	1,240			
10	3,5	1,0299	1,210			
11	3,4	1,0294	0,890			
12	3,5	1,031	1,300			
13	3,4	1,0293	0,900			
14	3,4	1,0292	0,810			
15	3,4	1,0298	0,980			

# 1.6.3.- Preparación de muestras de suero de leche en polvo

- Se obtiene 20 gr de leche en polvo cada hora durante el ciclo.
- Se realiza un pool 320gr para la reconstitución de leche en polvo a leche liquida
- Se considera los ST de la leche pasteurizada según la Tabla Nº 7.
- Se procede a reconstituir la leche en polvo.
  - o Para la reconstitución se aplica la siguiente formula.
    - g/lt ST = (10,6\*%G)+2,75(D-1000) (Ecuación de Queensville),
       donde D es un valor entero Ejm: D = 1,0300 usar 1030
  - Se pesan la cantidad de leche en polvo en la balanza para obtener
     500ml de leche líquida según la Tabla Nº 7.
  - Se coloca en la licuadora 300ml de agua con la cantidad de leche en polvo pesada, luego licuan por 2 min máximo y colocan en el tubo de ensayo para que este en reposo por 4 min aproximados hasta que la espuma haya disminuido, luego se completa los 500ml con agua.
  - Se agita el tubo de ensayo y obtiene una muestra de leche líquida de 250ml para el ensayo.

# 1.6.4.- Obtención de suero dulce de leche en polvo reconstituida

Con el volumen de 250ml de la leche reconstituida, se coloca en el baño maría hasta obtener la temperatura deseada de 40 °C, se coloca la enzima coagulante también llamada quimosina o cuajo líquido, en una cantidad de 6 ml, se mantiene durante 90min a 40 °C en el baño maría. Luego se deja en reposo 30 min hasta temperatura ambiente y se tamiza para obtener el suero de la leche, para separar residuos de grasa se centrifuga a 4500 rpm durante 7 min. Obtenido el suero se coloca en un envase aséptico y se refrigera a 4 °C.

Luego son enviados al laboratorio para el análisis del índice de nitrógeno del suero de leche.

Tabla Nº 7.- Sólidos totales y proteína del suero de leche reconstituida

	Datos de la	a leche Pasteu	Reconstitución	PROTEINA	
LOTE	GRASA	DENSIDAD	ST	leche polvo 0,5lt	SUERO
#	% g/g		Gramos	Gramos	% (m/m)
1	3,4	1,0295	11,7	58,6	0,85
2	3,4	1,0310	12,1	60,9	0,89
3	3,4	1,0294	11,7	58,5	0,72
4	3,4	1,0293	11,7	58,4	0,69
5	3,5	1,0310	12,2	61,2	1,13
6	3,5	1,0293	11,7	58,6	0,97
7	3,5	1,0298	11,9	59,5	0,87
8	3,4	1,0300	11,9	59,4	0,73
9	3,5	1,0310	12,2	61,1	0,83
10	3,5	1,0299	11,9	59,6	0,81
11	3,4	1,0294	11,7	58,5	0,73
12	3,5	1,0310	12,2	61,2	0,96
13	3,4	1,0293	11,7	58,4	0,79
14	3,4	1,0292	11,6	58,2	0,66
15	3,4	1,0298	11,8	59,0	0,71

# **CAPÍTULO III**

#### **RESULTADOS**

En nuestro estudio para la interpretación del comportamiento de la proteína en el proceso de leche en polvo, se considera la temperatura de trabajo en cada una de las muestras, como se indica la Tabla Nº 8.- para su análisis.

Tabla Nº 8.- Porcentaje de desnaturalización de la proteína de suero de leche

	Proteína Suero de leche		Temperatura	Desnaturalización
LOTE	Pasteurizada	leche en polvo	°C	%
1	1,05	0,85	103	19,05%
2	1,07	0,89	102	16,82%
3	0,92	0,72	104,1	21,74%
4	0,82	0,69	102	15,85%
5	1,44	1,13	104	21,53%
6	1,06	0,97	102	8,49%
7	1,12	0,87	104,5	22,32%
8	1,21	0,73	110,7	39,67%
9	1,24	0,83	110,2	33,06%
10	1,21	0,81	110,5	33,06%
11	0,89	0,73	102,5	17,98%
12	1,3	0,96	107	26,15%
13	0,9	0,79	102	12,22%
14	0,81	0,66	103	18,52%
15	0,98	0,71	107,9	27,55%
	PROMEDIC	)	105,027	22,3%

Realizando la curva regresiva tenemos:

En la tabla se consideran las dos variables importantes, en el eje de las X la temperatura de uperización en °C y en el eje de las Y el porcentaje de la desnaturalización, resultado de medición del índice de nitrógeno en la leche pasteurizada y la leche en polvo de cada muestra.

El valor de temperatura máxima es de 110,7°C y el mínimo de 102 °C rango que permiten evaluar el comportamiento de la proteína de suero en función de la

temperatura, vemos que su comportamiento es proporcional con una pendiente positiva.

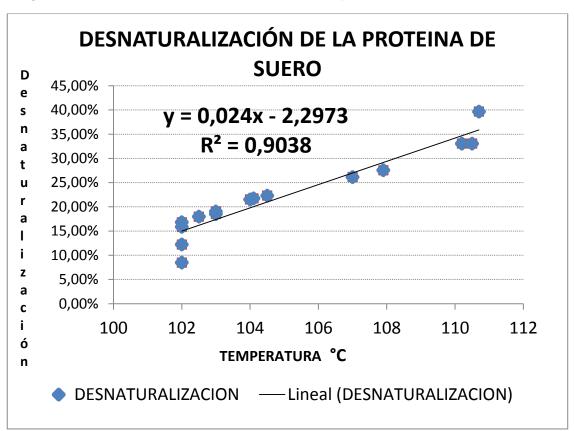


Fig Nº 10.- Curva de la desnaturalización en la proteína del suero de leche

Análisis de la proteína de suero por el método de Kjendahl.

# **CAPÍTULO IV**

# **DISCUSIÓN**

#### Calentamiento de la leche:

El calentamiento de la leche es el tratamiento más importante al que se somete en los procesos de conversión, las variables principales son tiempo y temperatura, haciendo una relacionan de acuerdo a diferentes propósitos, como: seguridad microbiológica, vida útil y estado de producto.

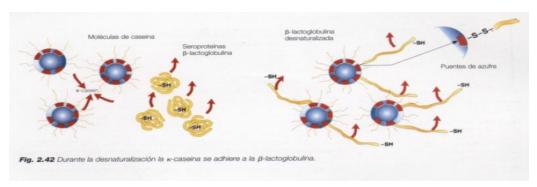
#### Tratamiento térmico:

Al tener ya un producto donde el proceso pasa por un tratamiento térmico partes de la proteína del suero se desnaturaliza y forma complejos con la caseína, disminuyendo el número de enlaces de la caseína dentro y entre moléculas. Esto causa que para formar la cuajada el tiempo sea más largo que lo normal a una leche que haya tenido un tratamiento térmico a menor temperatura.

# Temperatura de inicio en la desnaturalización:

La leche por encima de los 60°C empieza su desnaturalización, el aminoácido sulfurado de la β- lactoglobulina empieza a formar enlaces de azufre entre la molécula de la β-lactoglobulina y una molécula de K-caseína. A más altas temperaturas los compuestos que tiene azufre tales como el sulfuro de hidrógeno son liberados gradualmente.

Fig Nº 11.- Efecto de la desnaturalización en la proteína χ- caseína y β-lactoglobulina.



Nota: TetraPak Iberia. MANUAL DE INDUSTRIAS LACTEAS, 1996.

# Olor y color a cocido:

La liberación de compuestos que contienen azufre proveniente de la  $\beta$ -lactoglobulina y otras proteínas sulfuradas causan el color y sabor a cocido en el producto.

# Estabilidad de las proteínas:

El sistema coloidal de las proteínas de la leche se debe a dos grandes fuerzas que son: las cargas eléctricas y el agua de hidratación. La principal fuerza de estabilidad de la caseína se debe a las cargas eléctricas del radical ácido COO- y básico (NH3) de los aminoácidos. Los cuales ayudan a mantener separadas las micelas de la caseína. En el pH normal de la leche las cargas negativas del aminoácido son las que predominan.

Cuando la leche se acidifica ocurre la disminución de las cargas eléctricas y del agua de hidratación, reduciendo así mismo la capacidad de las micelas de caseína para separarse y es cuando la leche se coagula. Cuando la leche ha sufrido previamente, alguna acidificación puede ser coagulada por acción del alcohol que en este caso actúa como deshidratante. Es en este fenómeno, que se basa la prueba de estabilidad de la leche.

### **CONCLUSIONES**

La desnaturalización en la proteína de la leche se debe a una modificación limitada en la estructura secundaria y terciaria de las proteínas, sin rompimiento de los enlaces covalentes, ni separación de fragmentos, esto hace que se reagrupen las cadenas dando lugar a una estructuración diferente de la proteína.

Para cuantificar el porcentaje de la desnaturalización de este proceso de TT (Tratamiento Térmico) se ha logrado mediante el valor del índice de nitrógeno en el suero de la leche, pues dichas proteínas son las más sensibles a los tratamientos térmicos superiores a 65°C.

El valor del porcentaje en la desnaturalización de las proteínas del suero de la leche es directamente proporcional a la temperatura pico aplicada en dicho proceso y el tiempo de contacto que tenga el producto en esta sección.

El margen de interpretación de los valores de la desnaturalización es para los trabajados de 102 °C a 110°C, menores o superiores a esto no se podrá aplicar, pues se recomienda realizar otro estudio.

La desnaturalización por TT (Tratamiento Térmico) directamente afecta a las proteínas del suero de la leche, puesto que se forman grupos SH y de compuestos sulfurados libre, provocando también el cambio de color y sabor a cocido.

Se evidencia que para obtener el suero de la leche en polvo reconstituida el tiempo de acción de la enzima de cuajo es a mayor tiempo que la leche pasteurizada, porque la β-lactoglobulina desnaturalizada queda adsorbida por la superficie de las micelas de caseína que impide la acción del cuajo.

### **RECOMENDACIONES**

Es recomendable llevar a cabo estudios que investiguen la producción de otros procesos derivados de la leche y sobre todo los productos de alta temperatura para así evaluar los porcentajes de la desnaturalización con respecto a la proteína.

Se recomienda que en la etapa de evaporación los valores de temperatura de los efectos no superen los 65°C a una presión de vacío en el concentrado de leche para evitar la desnaturalización descontrolada en el producto.

Se debe considerar el control de los puntos de TT (Tratamiento Térmico) en este tipo de procesos con planes de acción, para evitar errores que afecten al producto final en la nutrición.

Al realizar la reconstitución de la leche en polvo a leche líquida es recomendable tener los valores del porcentaje de grasa y densidad para obtener los sólidos totales (ST) de la leche y así convertirla a líquida.

# REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CODEX STAN 206-1999. Norma General del Codex para el uso de términos lecheros.

Charles Alias (2003). *Ciencia de la leche*. España; Sevilla. Reimpreso. Editorial Reverté.

NTE INEN 9 (2012) Leche cruda. Requisitos (Ecuador).

NTE INEN 16 (2015) Segunda revisión. Leche y productos lácteos. Determinación de contenido de nitrógeno. Método Kjeldahl. (Ecuador).

NTE INEN 298 (2011) Tercera revisión. *Leche en polvo y crema en polvo. Requisitos* (Ecuador).

Niro A/S (2004). *Tecnología de la Leche en Polvo Evaporación y Secado por Atomización*, Dinamarca Quinta Edición, <u>www.niro.com</u>

Tetra pak Iberia S.A, (1996) *MANUAL DE INDUSTRIAS LACTEAS*, España: Madrid Vicente, calle Almansa.

# REFERENCIAS ELECTRÓNICAS

AESAN (2010). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre proteínas lácteas, alergias y sus métodos de análisis. Revista del comité científico Nº13.

http://aesan.msssi.gob.es/AESAN/docs/docs/evaluacion\_riesgos/comite\_cientifico/PROTEINAS\_LACTEAS\_ALERGIAS.pdf. (Consulta: 12 julio 2014).

Buraglia Beatriz Miralles (2001). Detección de caseinato y suero de leche y productos lácteos mediante técnicas electroforéticas cromatográficas y espectroscópicas (Tesis de Doctor). <a href="http://biblioteca.ucm.es/tesis/far/ucm-t25082.pdf">http://biblioteca.ucm.es/tesis/far/ucm-t25082.pdf</a> (Consulta: 14 agosto 2013).

Castro Diego (2011). *Proteínas*. Universidad San José, (Prueba de Grado Nutrición Normal). Costa Rica: Alajuela.

http://nutriciondiego.jimdo.com/app/download/2384253819/trabajo+final.doc?t=1296880764 (Consulta: 24 enero 2014)

Dr. Bonet & Dr. Dalmau &. . *Libro Blanco de los Lacteos*. España. <a href="http://es.slideshare.net/edgarzuasnabarmatamoros/libro-blanco-de-tecnolgia-de-leche">http://es.slideshare.net/edgarzuasnabarmatamoros/libro-blanco-de-tecnolgia-de-leche</a> (Consulta: 12 julio 2014).

Dr. García Mariano & L.N Maza Mónica & M.V.Z. Pérez Mónica, (2011). *El libro Blanco de la leche y los productos lácteos.* México: Canilec. <a href="http://www.lacteosinsustituibles.es/p/archivos/pdf/LibroBlanco.pdf">http://www.lacteosinsustituibles.es/p/archivos/pdf/LibroBlanco.pdf</a>. (Consulta: 12 diciembre 2013)

Gómez, Margarita (2005). *Tecnología de lácteos*, Colombia: Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD. <a href="http://es.slideshare.net/luissslglm/m-tecnologia-de-lacteos">http://es.slideshare.net/luissslglm/m-tecnologia-de-lacteos</a>. (Consulta: 10 Febrero 2014).

Guzmán, Judith Jiménez. (2003). Influencia de las proteínas de la leche y su tratamiento térmico en la actividad de la β-galactosidasa de Kluyveromyces lactis (Tesis de Doctor en Biotecnología). http://148.206.53.84/tesiuami/UAMI10581.pdf (Consulta: 26 Enero 2014).

Michel A. Wattiaux. *Esenciales lecheras*. EE.UU: Universidad de Wisconsin-Madison. <a href="https://es.scribd.com/doc/71923814/Guia-Tecnica-Basica-de-lecheria-Universidad-de-Wisconsin-Madison#download">https://es.scribd.com/doc/71923814/Guia-Tecnica-Basica-de-lecheria-Universidad-de-Wisconsin-Madison#download</a>. (Consulta: 24 julio 2013).

Mgsl. Luque Victoria, *Estructura y propiedades de las proteínas*. <a href="http://www.uv.es/tunon/pdf">http://www.uv.es/tunon/pdf</a> doc/proteinas 09.pdf</a> (Consulta: 22 febrero 2014).

Peña Fritz Choquesillo. (2014). *Química Orgánica*. <a href="https://es.scribd.com/doc/240925848/PROTEINAS-QUIMICA-ORGANICA">https://es.scribd.com/doc/240925848/PROTEINAS-QUIMICA-ORGANICA</a> (Consulta: 23 agosto 2014).

Sarria A. *Bioquímica Nutricional de las proteínas*. Capitulo 6. <a href="http://www.uco.es/master\_nutricion/nb/Bueno%20pediatr/proteinas.pdf">http://www.uco.es/master\_nutricion/nb/Bueno%20pediatr/proteinas.pdf</a>. (Consulta: 12 agosto 2013).

TetraPak, *La Leche Proteínas*. <a href="http://www.tetrapak.com/pe/Documents/leche2ok.pdf">http://www.tetrapak.com/pe/Documents/leche2ok.pdf</a> (Consulta: 05 agosto 2013).

# **ANEXOS**

Anexo Nº 1.- NTE INEN 9:2012 Leche cruda. Requisitos.



# INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN

Quito - Ecuador

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA

NTE INEN 9:2012 Quinta revisión

LECHE CRUDA. REQUISITOS.

Primera Edición

RAW MILK, REQUIREMENTS.

First Edition

DESCRIPTORES: Tecnología de los alimentos, leche y productos lácteos, leche cruda, requisitos AL 03.01-401
CDU: 637.133.4
CIIU: 3112
ICS: 67.100.01

ロジョン

CIIU: 3112 AL 03.01-401

Norma Técnica
Ecuatoriana
Obligatoria

CDU: 637.133.4

ICS: 67,100.01

LECHE CRUDA REQUISITOS

NTE INEN 9:2012 Quinta revisión 2012-01

#### 1. OBJETO

Esta norma establece los requisitos que debe cumplir la leche cruda de vaca, destinada al procesamiento.

#### 2. ALCANCE

2.1 Esta norma se aplica únicamente a la leche cruda de vaca. La denominación de leche cruda se aplica para la leche que no ha sufrido tratamiento térmico, salvo el de enfriamiento para su conservación, ni ha tenido modificación alguna en su composición.

#### 3. DEFINICIONES

- 3.1 Para efectos de esta norma se adoptan las siguientes definiciones:
- 3.1.1 Leche. Producto de la secreción mamaria normal de animales bovinos lecheros sanos, obtenida mediante uno o más ordeños diarios, higiénicos, completos e ininterrumpidos, sin ningún tipo de adición o extracción, destinada a un tratamiento posterior previo a su consumo.
- 3.1.2 Leche cruda. Leche que no ha sido sometida a ningún tipo de calentamiento, es decir su temperatura no ha superado la de la leche inmediatamente después de ser extraída de la ubre (no más de 40℃).

#### 4. DISPOSICIONES GENERALES

- 4.1 La leche cruda se considera no apta para consumo humano cuando:
- 4.1.1 No cumple con los requisitos establecidos en el Capítulo 5 de la presente norma.
- 4.1.2 Es obtenida de animales cansados, deficientemente alimentados, desnutridos, enfermos o manipulados por personas afectadas de enfermedades infectocontagiosas.
- 4.1.3 Contiene sustancias extrañas ajenas a la naturaleza del producto como: conservantes (formaldehido, peróxido de hidrógeno, hipocloritos, cloraminas, dicromato de potasio, lactoperoxidasa adicionada), adulterantes (harinas, almidones, sacarosa, cloruros, suero de leche, grasa vegetal), neutralizantes, colorantes y residuos de medicamentos veterinarios, en cantidades que superen los límites indicados en la tabla 1.
- 4.1.4 Contiene calostro, sangre, o ha sido obtenida en el período comprendido entre los 12 días anteriores y los 7 días posteriores al parto.
- 4.1.5 Contiene gérmenes patógenos o un contaje microbiano superior al máximo permitido por la presente norma, toxinas microbianas o residuos de pesticidas, y metales pesados en cantidades superiores al máximo permitido.
- 4.2 La leche cruda después del ordeño debe ser enfriada, almacenada y transportada hasta los centros de acopio y/o plantas procesadoras en recipientes apropiados autorizados por la autoridad sanitaria competente.
- 4.3 En los centros de acopio la leche cruda debe ser filtrada y enfriada, a una temperatura inferior a 10°C con agitación constante
- 4.4 Los límites máximos de pesticidas serán los que determine el Codex Alimentarius CAC/MRL 1 (Continúa)

DESCRIPTORES: Tecnologia de los alimentos, leche y productos lácteos, leche cruda, requisitos.

NTE INEN 9 2012-01

4.5 Los límites máximos de residuos de medicamentos veterinarios para la leche serán los que determine el Codex Alimentario CAC/MRL 2.

#### 5. REQUISITOS

#### 5.1 Requisitos específicos

- 5.1.1 Requisitos organolépticos (ver nota 1)
- 5.1.1.1 Color. Debe ser blanco opalescente o ligeramente amarillento.
- 5.1.1.2 Olor. Debe ser suave, lácteo característico, libre de olores extraños.
- 5.1.1.3 Aspecto. Debe ser homogéneo, libre de materias extrañas.
- 5.1.2 Requisitos físicos y químicos
- 5.1.2.1 La leche cruda, debe cumplir con los requisitos físico-químicos que se indican en la tabla 1.

TABLA 1. Requisitos fisicoquímicos de la leche cruda.

REQUISITOS	UNIDAD	MIN.	MAX.	MÉTODO DE ENSAYO
Densidad relativa: a 15 °C A 20 °C		1,029 1,028	1,033 1,032	NTE INEN 11
Materia grasa	% (fracción de masa) <sup>4</sup>	3,0		NTE INEN 12
Acidez titulable como ácido láctico	% (fracción de masa)	0,13	0,17	NTE INEN 13
Sólidos totales	% (fracción de masa)	11,2		NTE INEN 14
Sólidos no grasos	% (fracción de masa)	8,2	*	•
Cenizas	% (fracción de masa)	0,65	-	NTE INEN 14
Punto de congelación (punto crioscópico) **	°C °H	-0,536 -0,555	-0,512 -0,530	NTE INEN 15
Proteínas	% (fracción de masa)	2,9	*	NTE INEN 16
Ensayo de reductasa (azul de metileno)***	h	3		NTE INEN 018
Reacción de estabilidad proteica (prueba de alcohol)	por la adición de 68 % en peso o destinada a ultr	finada a pateuriz e un volumen ig i 75 % en volum apasteurización olumen igual de en volumen		
Presencia de conservantes <sup>1)</sup>		Negativo		NTE INEN 1500
Presencia de neutralizantes <sup>2)</sup>		Negativo		NTE INEN 1500
Presencia de adulterantes <sup>3)</sup>	-	Negativo		NTE INEN 1500
Grasas vegetales		Negativo		NTE INEN 1500
Suero de Leche		Negativo		NTE INEN 2401
Prueba de Brucelosis		Negativo	*	Prueba de anillo PAL (Ring Test)
RESIDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINARIOS <sup>6)</sup>	ug/l	-		Los establecidos en el compendio de métodos de análisis identificados como idóneos para respaldar los LMR del codex <sup>5</sup>

Diferencia entre el contenido de sólidos totales y el contenido de grasa.

Diterencia entre el contenido de solidos totales y el contenido de grasa.

"Ca "H -1, donde le 0,9656

Aplicable a la leche cruda antes de ser sometida a enfriamiento

Conservantes: formaticabilido, peróxido de hidrógeno, cloro, hipocloritos, cloraminas, lactoperoxidosa adicionada y dióxido de cloro.

\*\*Neutralizantes: orina, carbonatos, hidróxido de sodio, jabones.

Adulterantes: Harina y almidones, soluciones azucaradas o soluciones salinas, colorantes, teche en polvo, suero de teche, grasas vegetales.

"Fracción de masa de B, W<sub>e</sub>: Esta cantidad se expresa frecuentemente en por ciento, %. La notación "% (m/m)" no deberá usarse".

Se refiere a aquellos medicamentos vetorinarios aprobados para uso en ganado de producción lechera.

Establecidos por el comité del Codex sobre residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos

NOTA 1. Se podrán presentar variaciones en estas características, en función de la raza, estación climática o alimentación, pero estas no deben afectar significativamente las características sensoriales indicadas.

2012-01

5.1.3 Contaminantes. El límite máximo para contaminantes es el que se indica en la tabla 2.

TABLÁ 2. Limites máximo para contaminantes

Requisito	Límite máximo (LM)	Método de ensayo
Plomo, mg/kg	0,02	ISO/TS 6733
Aflatoxina M1, μα/kα	0,5	ISO 14674

5.1.4 Requisitos microbiológicos. La leche cruda debe cumplir con los requisitos especificados en la tabla 3.

TABLA 3. Requisitos microbiológicos de la leche cruda tomada en hato

Requisito	Límite máximo	Método de ensayo	
Recuento de microorganismos aeróbios mesófilos REP, UFC/cm <sup>3</sup>	1,5 x 10 <sup>6</sup>	NTE INEN 1529:-5	
Recuento de células somáticas/cm³	7,0 x 10 <sup>5</sup>	AOAC - 978.26	

**5.2 Requisitos complementarios**, El almacenamiento, envasado y transporte de la leche cruda debe realizarse de acuerdo a lo que señala el Reglamento de leche y productos lácteos del Ministerio de Salud Pública.

# 6. INSPECCIÓN

- 6.1 Muestreo. El muestreo debe realizarse de acuerdo con la NTE INEN 4.
- **6.2 Aceptación o rechazo.** Se acepta el producto si cumple con los requisitos indicados en esta norma, caso contrario se rechaza.

2012-01

#### APÉNDICE Z

#### Z.1 DOCUMENTOS NORMATIVOS A CONSULTAR

Leche y productos lácteos. Muestreo. Primera Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 4 Revisión. Leche. Determinación de la densidad relativa. Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 11 Primera Revisión. Leche. Determinación del contenido de grasa. Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 12 Leche. Determinación de la acidez titulable. Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 13 Primera Revisión. Leche. Determinación de sólidos totales y Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 14 cenizas. Primera Revisión. Determinación del punto de Leche. Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 15 congelación. Leche. Determinación de las proteínas. Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 16 Primera Revisión. Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 18 Leche. Ensayos de reductasas. Leche. Métodos de ensayo cualitativos para la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1500 determinación de la calidad. Control microbiológico de los alimentos. Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-5 Determinación del número microorganismos aerobios mesófilos REP. Primera Revisión Leche. Determinación de suero de quesería Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2401 en leche. Método cromográfico Milk and milk products -- Determination of lead ISO/TS 6733 content -- Graphite furnace atomic absorption spectrometric method Milk and milk powder -- Determination of aflatoxin M1 content -- Clean-up by immunoaffinity ISO 14674 chromatography and determination by thin-layer chromatography Somatic Cells in milk, Optical Somatic Cell AOAC 978.26 Counting Method (Fossomatic) Revised First Action 1993 Antimicrobial Drug in Milk. Receptor assay. AOAC 988.08 First Action, 1988 Lista de Límites Máximos para Residuos de CODEX ALIMENTARIO CAC/MRL 1-2001 Plaguicidas Limites Máximos del Codex para residuos de CODEX ALIMENTARIO CAC/LMR 02-2005 Medicamentos Veterinarios Norma General del Codex para los CODEX ALIMENTARIUS Codex Stan 193-1995 contaminantes y las toxinas presentes en los alimentos. United States Department of Agriculture, USDA Regulations Drugs Código de práctica de higiene para la leche y CODEX ALIMENTARIO CAC/RCP 57-2004 los productos lácteos Reglamento de leche y productos lácteos. Decreto ejecutivo No. 2800 de 1984-08-01 Registro oficial No. 802 de 1984-08-07

# Z.2 BASES DE ESTUDIO

Norma Andina NA 0063:2009 Leche cruda. Requisitos. Comunidad Andina, Lima 2009.

Norma venezolana COVENIN 903.93 (1R) Leche pasteurizada. Comisión Venezolana de Normas industriales. Caracas, 1989.

Norma Técnica Colombiana NTC 506:93. Productos lácteos. Leche entera Pasteurizada. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación ICONTEC, Santa Fé de Bogotá. Colombia 1993.

Asociación of Oficial Analytical Chemists Oficial Methods of Análisis, última edición.

United States Department of Agriculture Milk for Manufacturing Purposes and its Production and Processing Recommended Requirements Effective. September 1, 2005.

#### INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

Documento: TÍTULO: LECH NTE INEN 9 Ouinta revisión	IES CRUDA. REQUISITOS	Código: AL 03.01-40	
ORIGINAL: Fecha de iniciación del estudio:	REVISIÓN: Fecha de aprobación anterior por Consejo Oficialización con el Carácter de Obliga Resolución No. 071-2008 de 2008-05- publicado en el Registro Oficial No. 490	ntoria por -19	
	Fecha de iniciación del estudio: 2011-04		

Fechas de consulta pública: de

Subcomité Técnico: LECHE Y PRODUCTOS LÁCTEOS

Fecha de iniciación: 2011-07-04 Integrantes del Subcomité Técnico:

Dr. Rafael Vizcarra (Presidente) Ing. Martha Palacios Ing. Alexander Salazar Tiga. Tatiana Gallegos

NOMBRES:

Dra. Rosa Rivadencira Dra. Teresa Rodríguez Dra. Mónica Sosa Dra. María Eufenia Ramón Sr. Rodrigo Gómez de la Torre

Dr. Christian Muñoz de Dra. Rocío Cobos Ing. Patricia Guano Ing. Viviana Salas Dr. David Villegas Dr. Marlon Revelo

Ing. Jorge Chávez Ing. Diego Escudero Ing. Marco Cevallos Dra. Indira delgado Ing. Julio Vera Dra. Katya Yépez Dra. Viviana Gaibor Ing. Sánchez

Ing, Ernesto Toalombo Ing, Pablo Herrera Dr. Hernán Cortes Dr. Hernán Riofrío Dra. Rocio Contero Ing, Paola Simbaña

Dra. Noela Bautista

Ing. Orlando Coba Ing. María E. Dávalos (Secretaria Técnica) INSTITUCIÓN REPRESENTADA:

Fecha de aprobación: 2011-07-04

CENTRO DE LA INDUSTRIA LÁCTEA INLECHE CIA. LTDA. REYBANPAC - LACTEOS

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA -SISTEMA

ALIMENTOS

INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE, QUITO INSTITUTO NACIONAL DE HIGIEN, Guayaquil INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE, Quito

INDUSTRIAS LACTEAS TONI S.A. PRODUCTORES DE LECHE PFIZER Cia, Ltda. QUIMIEN CIA. LTDA. PARMALAT DESCALZI

MIPRO
PASTEURIZADOIRA QUITO

MIPRO
DEL CAMPO CIA. L'TDA.
DEL CAMPO DIA. L'TDA
ALPINA ECUADOR
DPA – NESTLÉ
NESTLÉ S.A.
NESTLÉ S.A.

REYBANPAC – LACTEOS EL SALINERITO PARMALAT

PARMALAT
SECRETARIA DE SALUD – MUNICIPIO, Quito
UNIVERDSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
UNIVERDSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
UNIVERSIDA TÉCNICA PARTICULAR DE

LOJA – ECOLAC MIRAFLORES – ALIMEC

INEN

Otros trámites: Esta NTE INEN 9:2012 (Quinta Revisión), reemplaza a la NTE INEN 9:2008 (Cuarta Revisión).

La Subsecretaría de la Calidad del Ministerio de Industrias y Productividad aprobó este proyecto de norma

Oficializada como: Obligatoria Registro Oficial No. 623 de 2012-01-20 Por Resolución No. 11383 de 2011-12-26

# Anexo $N^{\circ}$ 2.- NTE INEN 298:2011 Leche en polvo y crema en polvo. Requisitos.



# INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN

Quito - Ecuador

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA

NTE INEN 298:2011 Tercera revisión

LECHE EN POLVO Y CREMA EN POLVO. REQUISITOS.

Primera Edición

POWDERED MILK AND POWDERED CREAM. REQUIREMENTS.

First Edition

DESCRIPTORES: Alimentos, productos lácteos, leche en polvo, crema en polvo, requisitos. AL 03.01-421 CDU: 637.143 CIIU: 3112 ICS: 67.100.10

CDU: 637.143 ICS: 67.100.10



CIIU: 3112 AL 03.01-421

Norma Técnica
Ecuatoriana
Obligatoria

# LECHE EN POLVO Y CREMA EN POLVO. REQUISITOS

NTE INEN 298:2011 Tercera revisión 2011-06

#### 1. OBJETO

1.1 Esta norma establece los requisitos que debe cumplir la leche en polvo y la crema\* en polvo.

#### 2. ALCANCE

2.1 Esta norma se aplica a la leche en polvo y crema en polvo que se destina a consumo directo, se incluye a la leche en polvo instantánea y a la leche en polvo reducida en lactosa.

#### 3. DEFINICIONES

- 3.1 Para los efectos de esta norma se adoptan las siguientes definiciones:
- 3.1.1 Leche en polvo. Es el producto que se obtiene por eliminación parcial del agua de constitución de la leche de vaca.
- 3.1.2 Leche en polvo instantánea. Es el producto definido en 3.1.1, cuyas características de reconstitución han sido modificadas mediante un proceso tecnológico para favorecer su disolución.
- 3.1.3 Leche en polvo reducida en lactosa. Es el producto definido en 3.1.1 en donde por procesos tecnológicos la lactosa es desdoblada en glucosa y galactosa.
- 3.1.4 Crema en polvo. Es el producto que se obtiene por eliminación del agua de constitución de la crema de leche.

# 4. CLASIFICACIÓN

- 4.1 La leche en polvo, de acuerdo con el contenido de grasa se clasifica en:
- 4.1.1 Entera
- 4.1.2 Semidescremada
- 4.1.3 Descremada
- 4.2 Leche en polvo reducida en lactosa
- 4.3 La leche y crema en polvo de acuerdo al proceso de deshidratación se clasifica en:
- 4.3.1 Spray
- 4.3.2 Roller

#### 5. DISPOSICIONES ESPECÍFICAS

- 5.1 La leche en polvo y la crema en polvo debe elaborarse a partir de leche y crema que cumplan con la NTE INEN 9 o NTE INEN 712 respectivamente, tratadas térmicamente y bajo condiciones sanitarias que permitan reducir al mínimo la contaminación por microorganismos aplicando el Reglamento de Buenas Prácticas de Manufactura del Ministerio de Salud Pública..
- 5.2 Los limites máximos de plaguicidas serán los que determine el Codex Alimentarius CAČ/ MLR 1 en su ultima edición.
- \* Crema SINÓNIMO DE NATA

(Continúa)

- 5.3 Los límites máximos de residuos de medicamentos veterinarios serán los que determine el Codex Alimentario CAC/MLR 2 en su última edición.
- 5.4 Se permite el uso de vitaminas, minerales y otros nutrientes específicos, de acuerdo con lo establecido en la NTE INEN 1334-2 y en otras disposiciones legales vigentes.

#### 6. REQUISITOS

#### 6.1 Requisitos específicos

# 6.1.1 Requisitos organolépticos:

- a) La leche en polvo y la crema en polvo debe presentar un aspecto homogéneo. El sabor y olor deber ser característico del producto fresco, sin indicios de rancidez (antes y luego de ser reconstituido), sin sabor amargo o cualquier otro sabor u olor extraño u objetable.
- b) La leche en polvo y la crema en polvo pueden contener lecitina, en cantidades limitadas por buenas prácticas de manufactura, BPM.
- c) La leche y crema en polvo obtenida por el método de Spray, observada a través del microscopio, se presentará en forma de gránulos esféricos; la leche y crema en polvo obtenida por el método de Roller se presentará en forma de escamas.

#### 6.1.2 Requisitos físicos y químicos:

6.1.2.1 La leche en polvo debe cumplir con las especificaciones que se indican en la tabla 1.

TABLA 1. Requisitos físico - químicos de la leche en polvo

REQUISITO	UNIDAD	ENTERA MIN MAX	SEMIDESO	REMADA MAX	DESCRI	EMADA MAX	METODO DE ENSAYO
Pérdida por calentamiento	% (m/m)	5,0		5,0	**	5,0	NTEINEN299
Contenido de grasa	% (m/m)	26.0 < 42.0	> 1,5	< 26,0		1,5	NTE INEN 300
Proteína de leche en los sólidos no grasos de la leche (Nx6.37)	% (m/m)	34,0	34,0	\$###	34,0	**	NTE INEN 301
Ceniza	% (m/m)	6,5	1220	7,0	***	8,0	NTE INEN 302
Acidez titulable, expresada como ácido láctico	%	1,35	. <del></del>	1,7	-	1,8	NTE INEN 303
Îndice de solubilidad: Proceso Spray Proceso Roller	cm <sup>3</sup>	1,0 15,0		1,0 15,0	-	1,25 15,0	NTE INEN 306
Lactosa en el producto parcialmente deslactosado	% (m/m)	- 11,5	-	11,5		11,5	AOAC 984.15 15 Ed. Vol 2
Lactosa en el producto bajo en lactosa	% (m/m)	5,7	-	5,7	**	5,7	AOAC 984.15 15 Ed. Vol 2
Particulas quemadas y sedimento	Disco/mg	B/15	**	B /15	7.	B/15	NTEINEN 2468
Para leche en polvo instantánea: Humectabilidad a 40°C	,segundo	60		60	-	60	NTEINEN 2469
Presencia de conservantes <sup>1)</sup>	*	Negativo	Negativo		Negativ	0	NTEINEN 1500
Presencia de neutralizantes <sup>2)</sup>		Negativo	Negativo		Negativ	10	NTEINEN 1500
Presencia de adulterantes <sup>3)</sup>		Negativo	Negativo		Negativ		NTEINEN 1500
Grasa vegetal*		Negativo	Negativo		Negativ		NTEINEN 1500 NTEINEN 2401
Suero de leche*		Negativo	Negativo		Negativ	/0	NI EINEN 2401

<sup>&</sup>quot;El contenido de agua no incluye el agua de cristalización de la lactosa; el contenido de extracto seco magro incluye el agua de cristalización de la lactosa.

1) Conservantes: Formaldehido, peróxido de hidrógeno, cloro, hipocloritos, cloraminas y dióxido de cloro.

2) Neutralizantes: carbonatos, hidróxido de sodio

3) Adulterantes: Harina y almidones, soluciones azucaradas o soluciones salinas, colorantes.

(Continua)

2011-06

6.1.2.2 La crema en polvo debe cumplir con las especificaciones que se indican en la tabla 2.

Tabla 2. Requisitos físico - químicos de la crema en polvo

REQUISITO	UNIDAD	CREMA	MAX	METODO DE ENSAYO
Pérdida por calentamiento**	% (m/m)	-	5,0	NTE INEN 299
Contenido de grasa	% (m/m)	42,0	- 12	NTE INEN 300
Acidez titulable, expresada como ácido láctico	%	-	1,00	NTE INEN 303
Índice de solubilidad: Proceso Spray	cm <sup>3</sup>	44	1,0	NTE INEN 306
Particulas quemadas y sedimento	Disco/mg		B/15	NTE INEN 2468
Presencia de conservantes <sup>1)</sup>	*	Negativo		NTE INEN 1500
Presencia de neutralizantes <sup>2)</sup>	*	Negativo		NTE INEN 1500
Presencia de adulterantes <sup>3)</sup>		Negativo		NTE INEN 1500
Grasa vegetal	\$ T	Negativo		NTE INEN 1500
Suero de leche	2	Negativo		NTE INEN 2401

**6.1.3 Requisitos microbiológicos.** La leche en polvo y la crema en polvo deben cumplir con lo especificado en la tabla 3.

Tabla 3. Requisitos microbiológicos de la leche en polvo y la crema en polvo

Requisitos	n	c	m	M	Método de ensayo
Microorganismos aerobios mesófilos, REP UFC/g	5	2	5,0 x 10 <sup>3</sup>	1,0 x 10 <sup>4</sup>	NTE INEN 1529-5
Enterobacteraceas NMP/g	5	2	< 3		ISO 21528 -1
Enterobacteraceas UFC/g	5	2	ausencia	-	NTE INEN 1529-13
Mohos y levaduras UFC/g	5	0	< 10,0	22	NTE INEN 1529-10
Estafilococos coag. pos. UTC/g	5	1	1,0 x 10 <sup>1</sup>	1,0 x 10 <sup>2</sup>	NTE INEN 1529-14
Salmonella en 25g	10	0	ausencia	-	NTE INEN 1529-15

- **6.1.4 Contaminantes.** El límite máximo de contaminantes en el producto reconstituido será el que establece el Codex Stan 193-1995 en su última versión.
- 6.1.5 Aditivos. Se permite el uso de los Aditivos indicados en la NTE INEN 2074 vigente
- 6.2 Requisitos complementarios
- 6.2.1 El fabricante debe especificar claramente la manera de reconstituir el producto.
- 6.2.2 Las unidades de comercialización de este producto debe cumplir con lo dispuesto en la Ley 2007-76 del Sistema Ecuatoriano de la Calidad.

(Continua)

de cloro.

Neutralizantes: carbonatos, hidróxido de sodio
Adulterantes: Harina y almidones, soluciones azucaradas o soluciones salinas, colorantes

2011-06

# 7. INSPECCIÓN

#### 7.1 Muestreo

7.1.1 El muestreo debe realizarse de acuerdo con lo establecido en la NTE INEN 004.

# 7.2 Aceptación o rechazo

7.2.1 Se acepta el lote si cumple con los requisitos establecidos en esta norma, caso contrario se rechaza.

#### 8. ENVASADO Y EMBALADO

- 8.1 La leche y crema en polvo deben expenderse en envases de grado alimentario, asépticos, y herméticamente cerrados, que aseguren la adecuada conservación del producto.
- 8.2 La leche en polvo y la crema en polvo deben acondicionarse en envases cuyo material, en contacto con el producto, sea resistente a su acción y no altere las características organolépticas del mismo.
- 8.3 El embalaje debe hacerse en condiciones que mantenga las características del producto y aseguren su inocuidad durante el almacenamiento, transporte y expendio.

#### 9. ROTULADO

9.1 La etiqueta debe cumplir con lo especificado en el RTE INEN 022 vigente.

2011-06

#### APÉNDICE Z

# Z.1 DOCUMENTOS NORMATIVOS A CONSULTAR

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 004 Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 009 Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 299 Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 300 Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 301 Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 302 Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 303 Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 303

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 712 Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1334-2

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1500

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-5

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-10

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-13

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-14

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-15

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2074

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2468

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2469

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2401

Reglamento Técnico Ecuatoriano RTE INEN 022 Ley 2007-76 del Sistema Ecuatoriano de la Calidad

Leche y productos lácteos. Muestreo.

Leche cruda. Requisitos

Leche en polvo. Determinación de la humedad Leche en polvo. Determinación de la grasa. Leche en polvo. Determinación de la proteína. Leche en polvo. Determinación de las cenizas. Leche en polvo. Determinación de la acidez. Leche en polvo. Determinación del indice de solubilidad.

Crema de leche. Requisitos

Rotulado de productos alimenticios para consumo humano. Parte 2. Rotulado nutricional. Requisitos.

Leche. Métodos de ensayo cualitativos para la determinación de la calidad.

Control microbiológico de los alimentos. Determinación del número de microorganismos aerobios mesófilos REP.

Control microbiológico de los alimentos. Determinación del número de mohos y levaduras viables.

Control microbiológico de los alimentos. Determinación Enterobacteriaceae. Recuento en placa por siembra en profundidad.

Control microbiológico de los alimentos. Determinación del número de Staphylococcus aureus.

Control microbiológico de los alimentos. Salmonella. Método de Detección.

Aditivos alimentarios permitidos para consumo humano, Listas positivas. Regulsitos

Leche y productos lácteos. Determinación de particulas quemadas y sedimento en leche y crema en polvo.

Leche y productos lácteos. Determinación de la humectabilidad en leche en polvo instantánea. Leche determinación de suero de quesería en leche fluida y en polvo. Método de cromatografía

líquida de alta eficacia.
Rotulado de productos alimenticios, procesado

Rotulado de productos alimenticios, procesados, envasados y empaquetados. Requisitos

REGLAMENTO DE BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA PARA ALIMENTOS PROCESADOS Decreto Ejecutivo 3253, Registro Oficial 696 de 4 de Noviembre del 2002

Norma ISO 21528-1 Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal methods for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae -- Part 1: Detection and enumeration by MPN technique with pre-enrichment.

Codex Alimentarius CAC/MRL 1 Lista de límites máximos para residuos de plaguicidas en los alimentos.

Codex Alimentarius CAC/MRL 2 Lista de limites máximos para residuos de medicamentos veterinarios.

Codex Stan 193-1995 Contaminantes en los alimentos

(Continua)

2011-06

AOAC 972.25 Atomic Absorption Spectrophotometric Method. Final Action 1976, 15 Edition, Vol 1.

AOAC 980.21 Aflatoxin  $M_1$  in Milk and Chesse, Thin layer Chromatographic Method Fisrt Action 1980, 15 Edition, Vol 2.

AOAC 984.15 Lactose in milk. Enzymatic method. Final Action 1985, 15 Edition, Vol 2.

#### Z.2 BASES DE ESTUDIO

MERCOSUR Identidad y Calidad de la Leche en Polvo MERCOSUR/GMC/RES. Nº 82/93.

SECRETARIA DE ECONOMIA NORMA Oficial Mexicana NOM-155-SCFI-2003, Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado- Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba. DIARIO OFICIAL 7 Viernes 12 de septiembre de 2003.

Programa Conjunto FAO/OMS Norma del Codex para las leches en polvo y la nata (crema) en polvo CODEX STAN 207-1999. Adoptada en 1999. Enmendada en 2010

### INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

TÍTULO: LECHE EN POLVO Y CREMA EN POLVO. Código: NTE INEN 298 AL 03.01-421 Tercera revisión REQUISITOS ORIGINAL: REVISIÓN: Fecha de aprobación anterior por Consejo Directivo 2009-03-27 Fecha de iniciación del estudio: Oficialización con el Carácter de Obligatoria por Resolución No. 025-2009 de 2009-05-04 publicado en el Registro Oficial No. 596 de 2009-05-22 Fecha de iniciación del estudio: 2010-10 Fechas de consulta pública: de

Subcomité Técnico: LECHE Y PRODUCTOS LÁCTEOS

Fecha de iniciación: 2010-11-30 Integrantes del Subcomité Técnico: Fecha de aprobación: 2010-11-30

#### NOMBRES:

Dr. Rafael Vizcarra (Presidente) Ing. Julio Gutierrez Ing. Juan Carlos Romero

Dra. Diana Garnica Dra. Teresa Rodríguez

Ing. Fernando Párraga Dra. Verónica Iñiguez Dra. Indira Delgado

Dra. Mónica Sosa Dr. Alexander Salazar Dra. Ana Maria Hidalgo

Ing. Daniel Tenorio

Ing. María E. Dávalos (Secretaria Técnica)

#### INSTITUCIÓN REPRESENTADA:

CENTRO DE LA INDUSTRIA LÁCTEA UTA - FACULTAD DE ALIMENTOS LACTEOS SAN ANTONIO INDUSTRIAS LÁCTEAS TONI S.A. INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE,

Guayaquil PROLAC ALIMEC S.A.

ALPINA ECUADOR S.A.
INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE, Quito

REYBANPAC - LACTEOS LABORATORIOS OSP - UNIVERSIDAD

CENTRAL AILACCEP INEN

Otros trámites: Esta NTE INEN 298:2011 (Tercera Revisión), reemplaza a la NTE INEN 298:2009 (Segunda Revisión).

Esta norma anula y reemplaza a la NTE INEN 714:1983

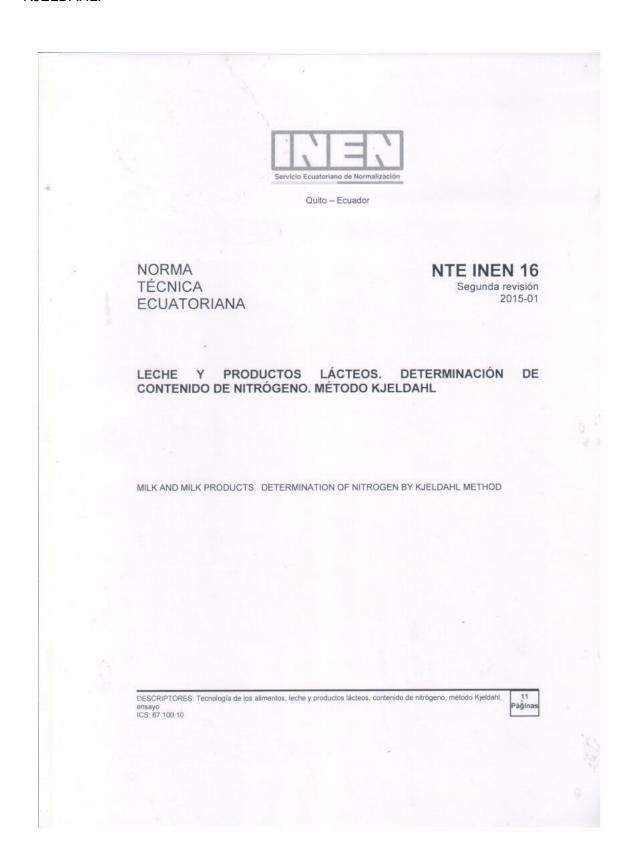
La Subsecretaria de Industrias, Productividad e Innovación Tecnológica del Ministerio de Industrias y Productividad aprobó este proyecto de norma

Oficializada como: Obligatoria

Por Resolución No. de 11 124 de 2011-05-20

Registro Oficial No. 479 de 2011-06-28

Anexo No 3.- NTE INEN 16 Segunda revisión 2015-01 LECHE Y PRODUCTOS LÁCTEOS. DETERMINACIÓN DE CONTENIDO DE NITRÓGENO. MÉTODO KJELDAHL.



2015-01

- 5.1.5 Bureta o pipeta automática, capaz de suministrar 1,0 mL de la solución de sulfato de cobre (ver 6.1.2).
- 5.1.6 Probetas graduadas, de 50 mL, 100 mL y 500 mL de capacidad.
- **5.1.7** Aparato de digestión (ver nota 3), para sostener los matraces Kjeldahl (ver 5.1.2) en una posición inclinada (aproximadamente 45°), con calentadores eléctricos o quemadores a gas que no calienten los matraces por encima del nivel de su contenido, y con un sistema de extracción de vapor.
- 5.1.7.1 La fuente de calor debe ser ajustable para controlar la configuración máxima del calentador que se utilizará durante la digestión. Precalentar la fuente de calor hasta establecer la temperatura de evaluación. En el caso de los calentadores a gas, el período de precalentado será de 10 min y para calentadores eléctricos debe ser de 30 min. Para cada uno de los calentadores, determinar el punto de ajuste del calentador, que permita llevar 250 mL de agua incluyendo de 5 a 10 núcleos de ebullición a una temperatura inicial de 25 °C entre 5 min a 6 min hasta su punto de ebullición. Este es el ajuste máximo del calentador que se debe utilizar durante la digestión.
- 5.1.8 Aparato de destilación, hecho de vidrio de borosilicato u otro material adecuado para que pueda acoplarse a un matraz Kjeldahl (ver 5.1.2) que conste de una cabeza difusora eficiente conectada a un condensador eficaz de tubo interior recto y un tubo de salida conectado a su extremo inferior.
- 5.1.8.1 Los tubos de conexión y el (los) tapón(es) deben ser ajustados y preferiblemente deben ser de neopreno.
- 5.1.9 Matraces cónicos, de 500 mL de capacidad, graduados cada 200 mL.
- **5.1.10** Bureta (ver nota 4), de 50 mL de capacidad, graduado por lo menos cada 0,01 mL, cumpliendo con los requisitos.
- 5.1.10.1 Por otra parte se puede utilizar una bureta automática, si se cumplen con los mismos requisitos.
- **5.1.11** *Titulador automático provisto de un pH-metro.* El pH-metro debe ser correctamente calibrado en un rango de pH de 4 a 7, siguiendo los procedimientos de calibración normalmente utilizados en un laboratorio.

### 6. REACTIVOS Y MATERIALES

- 6.1 Utilizar únicamente reactivos de grado analíticamente reconocido, a menos que se especifique lo contrario, agua destilada, desmineralizada o de pureza equivalente.
- 6.2 Sulfato de potasio (K2SO4), libre de nitrógeno.
- 6.3 Solución de sulfato de cobre (II), c (CuSO<sub>4</sub>), 5,0 g por 100 mL. Disolver 5,0 g de sulfato de cobre (II) pentahidratado (CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O) en agua, en un matraz volumétrico de 100 mL. Diluir hasta la marca y mezclar.
- 6.4 Ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ), con una fracción de masa de por lo menos 95% a 98%, libre de nitrógeno ( $p_{20} = 1,84 \text{ g / mL}$  aproximadamente).
- 6.5 Solución de hidróxido de sodio (NaOH), libre de nitrógeno, que contiene 50 g de hidróxido de sodio por 100 g de solución.

NOTA 4. ISO 385-1, class A. Laboratory glassware - Burettes - Part 1: General requirements

NOTA 3. Alternativamente podrán utilizarse otros aparatos de digestión mientras el principio de funcionamiento sea el mismo descrito en este numeral.

NTE INEN 16 2015-01

- **6.6** Solución indicadora. Disolver 0,1 g de rojo de metilo en etanol al 95% (fracción en volumen) en 50 mL de etanol. Disolver 0,5 g de verde de bromocresol en etanol al 95% (fracción en volumen) en 250 mL de etanol. Mezclar una parte de la solución de rojo de metilo con cinco partes de la solución verde de bromocresol o combinar y mezclar ambas soluciones.
- **6.7** Solución de ácido bórico, c (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>), 40,0 g / L. Disolver 40,0 g de ácido bórico en 1 litro de agua caliente, dejar enfriar a 20°C y aforar en un matraz volumétrico a 1000 mL, añadir 3 mL de solución indicadora (ver 6.6) y mezclar. Almacenar la solución, hasta que esté presente un ligero color naranja, en una botella de vidrio de borosilicato. Proteger la solución de la luz y fuentes de vapor de amoniaco durante el almacenamiento.
- 6.7.1 Si se utiliza el pH-metro electrónico para el punto final de la titulación, la adición de la solución indicadora a la solución de ácido bórico puede ser omitida. Por otro lado, el cambio de color también se puede utilizar como una verificación de los procedimientos adecuados de titulación.
- 6.8 El ácido clorhídrico solución estándar (ve nota 5) c (HCI),  $(0.1\pm0.000\ 5)$  mol / L. Para preparar 1 litro de solución de HCI 0,1 M, tomar 8,60 mL de HCI de pureza 36,5% a 38% y aforar a 1 litro con agua libre de CO<sub>2</sub>.
- **6.8.1** Se recomienda que el material pueda ser comprado previamente estandarizado por el fabricante para que cumplañ las especificaciones anteriores.
- 6.9 Sulfato de amonio [(NH<sub>4</sub>) 2SO<sub>4</sub>]. Ensayo de pureza mínimo del 99,9% (fracción de masa) en material seco.
- 6.9.1 Inmediatamente antes de su uso, secar el sulfato de amonio a 102  $^{\circ}$ C  $\pm$  2  $^{\circ}$ C durante no menos de 2 h. Enfriar a temperatura ambiente en un desecador.
- **6.10** El triptófano  $(C_{11}H_{12}N_2O_2)$  o clorhidrato de lisina  $(C_6H_{15}CIN_2O_2)$ . Ensayo de pureza mínimo 99% (fracción de masa).
- 6.10.1 No secar estos reactivos en una estufa antes de su uso.
- 6.11 Sacarosa, con un contenido de nitrógeno de no más de 0,002% (fracción de masa).
- 6.11.1 No secar la sacarosa en una estufa antes de su uso.

#### 7. MUESTREO

- 7.1 El muestreo debe realizarse de acuerdo con la NTE INEN 4.
- 7.2 Es importante que el laboratorio reciba una muestra que sea realmente representativa y no haya sido dañada o cambiada durante el transporte o almacenamiento.

#### 8. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

- 8.1 Calentar la muestra para el ensayo a 38°C en baño de agua (ver 5.1.1). Mezclar suavemente la muestra en varias ocasiones, invirtiendo el frasco sin provocar formación de espuma por el batido. Enfriar la muestra a temperatura ambiente inmediatamente antes de pesar la porción de ensayo (ver 9.1) (ver nota 6).
- NOTA 5. A menudo, los errores sistemáticos (que pueden evitarse) introducidos por un analista al diluir un ácido concentrado y luego determinar la molaridad del ácido, puede reducir la reproducibilidad del método. El analista no debe usar una solución para titulación que tenga una concentración superior a 0,1 mol/L, ya que esto podría reducir el volumen total por titulación de la muestra y la incertidumbre en la legibilidad de la bureta que podría convertirse en un porcentaje mayor del valor. Esto tendrá un impacto negativo sobre la repetibilidad y reproducibilidad del método. Las mismas situaciones y otras fuentes de error se presentan cuando otro ácido (por ejemplo, ácido sulfúrico) se sustituye por ácido clorhidrico. Así, estas sustituciones no son recomendables.
- NOTA 6. Se aconseja este tamaño de la muestra para la aplicación de este método para productos lácteos diferentes, ver el Anexo A.

2015-0006

2015-01

#### 9. PROCEDIMIENTO

9.1 Porción de ensayo y tratamiento previo. En un matraz Kjeldahl limpio y seco (ver 5.1.2), añadir 5 a 10 núcleos de ebullición (ver 5.1.4), 15,0 g de sulfato de potasio (ver 6.2), 1,0 mL de solución de sulfato de cobre (II) (ver 6.3), y aproximadamente 5 mL ± 0,1 mL de la muestra preparada (ver capítulo 8), pesar con una aproximación de 0,1 mg y 25 mL de ácido sulfúrico (ver 6.4). Usar el ácido sulfúrico para lavar cualquier solución de sulfato de cobre (II), sulfato de potasio o porción remanente en el cuello del matraz. Si algún residuo carbonizado aún queda en el cuello, enjuagar con una pequeña cantidad de agua. Mezclar suavemente el contenido del matraz Kjeldahl.

#### 9.2 Determinación

- 9.2.1 Digestión. Encender el sistema de extracción de vapor del aparato de digestión (ver 5.1.7) antes de comenzar. Calentar el matraz Kjeldahl y su contenido (ver 9.1) en el equipo de digestión, estableciendo la temperatura lo suficientemente baja de tal manera que la espuma no suba hasta el cuello del matraz Kjeldahl. Digerir con este ajuste del calentador hasta que aparezca vapor blanco en el matraz después de aproximadamente 20 min. Aumentar la temperatura del calentador a la mitad del ajuste máximo determinado en el numeral 5.1.7.1 y continuar su calentamiento durante 15 min. Al final del período de 15 min, aumentar el calor a la posición máxima determinada en el numeral 5.1.7.1. Después de la digestión se presenta un color (azul verde claro), continuar la ebullición durante 1 hora a 1,5 horas al ajuste máximo. Si el líquido no hierve, puede ser que el ajuste del quemador este démasiado bajo. El tiempo total de digestión debe ser entre 1,8 h y 2,25 h.
- 9.2.1.1 Para determinar el tiempo específico necesario de ebullición para las condiciones de análisis en un laboratorio que utiliza un conjunto particular de aparatos, seleccionar una muestra de leche de alto contenido de proteínas y grasa para determinar su contenido de proteínas usando diferentes tiempos de ebullición (1 hora a 1,5 horas) después de la clarificación. El resultado medio de proteína se incrementa al aumentar el tiempo de ebullición, se vuelve constante y luego disminuye cuando el tiempo de ebullición es demasiado largo. Seleccionar el tiempo de ebullición que produce el resultado máximo de proteína.
- 9.2.1.2 Al final de la digestión, esta debe ser clara y libre de material no digerido. Se debe permitir que la muestra digerida se enfríe a temperatura ambiente en un matraz descubierto y separado de la fuente de calor durante un período de aproximadamente de 25 min. Si el matraz se deja sobre los quemadores calientes para enfriar, se necesitará más tiempo para llegar a la temperatura ambiente. La muestra después de la digestión, enfriada debe ser líquida o líquida con pocos cristales pequeños en la parte inferior del matraz al final del período de 25 min. de enfriamiento. Después de la digestión no dejar la muestra sin diluir en los matraces durante toda la noche. La muestra, después de la digestión no diluida, puede cristalizarse durante este período y será muy difícil conseguir que se diluya de nuevo en solución (ver nota 7).
- 9.2.1.3 Añadir 300 mL de agua en los matraces Kjeldahl de 500 mL o 400 mL de agua cuando se utilizan matraces Kjeldahl de 800 mL. Utilizar también agua para lavar el cuello del matraz. Mezclar bien el contenido para asegurarse que los cristales se separen y disuelvan. Añadir 5 a 10 núcleos de ebullición (ver 5.1.4). Dejar que la mezcla se enfríe de nuevo a temperatura ambiente antes de la destilación. Las muestras después de la digestión se pueden tapar y mantener para la destilación para un momento posterior.

NOTA 7. La cristalización excesiva después de 25 min es el resultado de la pérdida de ácido indebida durante la digestión y puede resultar valores bajos en la prueba. La excesiva pérdida de ácido es causada por la aspiración excesiva de vaporso por un tiempo prolongado de la digestión causada por un ajuste máximo incorrecto del quemador.

NTE INEN 16 2015-01

9.2.2 Destilación. Abrir el suministro de agua al condensador del aparato de destilación (ver 5.1.8). Añadir 75 mL de solución de hidróxido de sodio (ver 6.5) a la muestra diluida de la digestión (ver 9.2.1) verter cuidadosamente la solución por el cuello inclinado del matraz Kjeldahl para formar una capa en la parte inferior del bulbo del matraz. Debe haber una interfaz limpia entre las dos soluciones. Para reducir la posibilidad de pérdida de amoniaco, inmediatamente después de la adición de la solución de hidróxido de sodio al matraz Kjeldahl, conectar rápidamente al aparato de destilación (ver 5.1.8). La punta del tubo de salida del condensador sumergir en 50 mL de la solución de ácido bórico (ver 6.1.6) contenida en un matraz cónico (ver 5.1.9). Agitar vigorosamente el matraz de Kjeldahl para mezclar su contenido completamente hasta que no sean visibles capas separadas de solución en el matraz. Poner el matraz sobre el calentador. Encender el quemador a un ajuste lo suficientemente alto como para hervir la mezcla. Continuar la destilación hasta que comience la hornilla. Apagar el condensador de agua. Enjuagar el interior y exterior de la punta del tubo de salida de agua y recoger el lavado en un matraz cónico y mezclar.

- 9.2.2.1 La tasa de destilación debe ser de tal manera, que se reúna aproximadamente 150 mL de destilado antes que la ebullición irregular inicie. El volumen total de contenido en el matraz cónico será de aproximadamente 200 mL. Si el volumen de destilado recogido es inferior a 150 mL, entonces es probable que se haya añadido menos de 300 mL de agua para diluir la muestra después de la digestión. La eficiencia del condensador debe ser tal, que la temperatura del contenido del matraz cónico no sea superior a los 35 °C durante la destilación cuando se utiliza un punto final colorimétrico.
- 9.2.3 Titulación (ver notas 8 y 9). Titular el contenido del matraz cónico (ver 9.2.2) con el ácido clorhídrico (ver 6.8) utilizando una bureta (ver 5.1.5). El objetivo es alcanzar la primera traza de color rosa en el contenido. Estimar la lectura de la bureta que debe tener una aproximación a 0,05 mL. Una placa illuminada y un agitador magnético pueden ayudar a visualizar el punto final.
- 9.2.3.1 Alternativamente, titular el contenido del matraz (ver 9.2.2) con el ácido clorhídrico (ver 6.8) utilizando un titulador adecuadamente calibrado provisto de un medidor de pH (ver 5.1.11). El punto final de pH de la titulación se alcanza a pH 4,6, al conseguir el punto final de la curva de titulación (punto de inflexión). Leer en el valorador automático la cantidad del titulante utilizada.
- 9.3 Ensayo en blanco. Siempre se titula los blancos con el mismo ácido clorhídrico (ver 6.8) y bureta (ver 5.1.5) o un titulador automático provisto de un pH-metro (ver 5.1.11) como el que se utiliza en las etapas del ensayo. Llevar a cabo un ensayo en blanco siguiendo el procedimiento descrito en los numerales 9.1 hasta el numeral 9.2.3. Sustituir la porción de ensayo con 5 mL de agua y aproximadamente 0,85 g de sacarosa (ver nota 10) (ver 6.11).
- 9.3.1 Mantener un registro de los valores en blanco. Si los valores de los blancos cambian, identificar la causa.

NOTA 8. La primera traza de color rosa se observa entre pH 4,6 y 4,3 para el sistema indicador y 4% de solución de ácido bórico que se específica en este método. En la práctica la tasa de cambio de pH en función de la adición de 0,1 mol/L de HCl es muy rápida dentro de rango de pH. Esta toma 0,05 mL de 0,1 mol/L de HCl para cambiar el pH en 0,3 unidades en el rango de pH de 4,6 a 4,3 en este sistema.

NOTA 9. Estadísticas de rendimiento dentro y entre laboratorios de este método fueron determinadas usando un punto final de color en la titulación. Comparando los resultados de las pruebas finales, incluyendo sus pruebas en blanco, obtenidas con un punto final de pH a 4.6 con el punto final colorimétrico por titulación, se mostró satisfactoriamente y estadísticamente que no hubo diferencia significativa entre ellos.

NOTA 10. El propósito de la sacarosa en un blanco o un estándar de recuperación es la de actuar como material orgánico para consumir una cantidad de ácido sulfúrico, durante la digestión que es aproximadamente equivalente a una porción de ensayo. Si la cantidad de ácido sulfúrico residual libre al final de la digestión es demasiado baja, la recuperación de nitrógeno por ambas pruebas de recuperación en el 9.4.2 y 9.4.3 será baja. Sin embargo, si la cantidad de ácido residual presente al final de la digestión es sufficiente para retener todo el nitrógeno, pero las condiciones de temperatura y el tiempo durante digestión no fueron suficientes para liberar todo el nitrógeno de una muestra, la recuperación de nitrógeno en 9.4.2 será aceptable y la recuperación de nitrógeno en 9.4.3 será baja.

NTE INEN 16 2015-01

9.3.2 La cantidad del titulante utilizada en el blanco debe ser siempre mayor que cero. Los blancos dentro del mismo laboratorio deben ser consistentes a través del tiempo. Los valores típicos en blanco son iguales o inferiores a 0,2 mL (ver nota 11).

#### 9.4 Pruebas de recuperación

- 9.4.1 La precisión del procedimiento debería ser revisada periódicamente por medio de las pruebas de recuperación siguientes, llevadas a cabo de conformidad con el numeral 9.1 a 9.2.3.
- 9.4.2 Compruebe que no haya pérdida de nitrógeno mediante el uso de una porción de muestra de 0,12 g de sulfato de amonio (ver 6.9), junto con 0,85 g de sacarosa (ver 6.11) (ver nota 12).
- 9.4.2.1 El porcentaje de nitrógeno recuperado será entre 99,0% y 100,0% para todas las posiciones en el aparato. Para recuperaciones de menos de 99%, la concentración del titulante es mayor que el valor declarado, o la pérdida de nitrógeno pudo haberse producido en la digestión o destilación. Es posible utilizar una mezcla de sulfato de amonio y una pequeña cantidad de ácido sulfúrico (la cantidad de residuo que queda al final de una digestión) en un matraz Kjeldahl. Diluir en un volumen normal de agua, añadir la cantidad normal de hidróxido de sodio y destilar. Si la recuperación de nitrógeno es todavía baja con la misma cantidad, la pérdida de nitrógeno está en el aparato de destilación y no en el de la digestión. La probable causa podría ser un tubo con fuga en un sistema tradicional o las puntas de los condensadores no fueron sumergidos bajo la superficie del ácido bórico al inicio de la destilación. El aparato debe pasar estas pruebas antes verificar las recuperaciones descritas por el procedimiento en numeral 9.4.3.
- 9.4.2.2 En el caso de que la recuperación de nitrógeno sea superior al 100%, y no se observe pérdida de nitrógeno, las posibles causas podrían ser las siguientes:
- a) el sulfato de amonio está contaminado;
- b) la concentración real del titulante es inferior a su valor declarado;
- c) la calibración de la bureta para la titulación está mal;
- d) la temperatura del titulante está por encima de la temperatura de calibración de la bureta; o
- e) el flujo de salida del titulante de la bureta excede la velocidad máxima a la que la calibración de la bureta es válida.
- 9.4.3 Verificar la eficiencia del procedimiento de la digestión utilizando 0,16 g de clorhidrato de lisina o 0,18 g de triptófano (ver 6.10) junto con 0,67 g de sacarosa (ver 6.11).
- 9.4.3.1 Por lo menos una fracción de masa de 98% de nitrógeno debe ser recuperada. Si la recuperación es inferior a 98%, después de haber recuperado una fracción de masa del 99% al 100% en sulfato de amonio, entonces el tiempo o la temperatura de digestión es insuficiente (siga el procedimiento del numeral 9.2.1 y nota 7) o hay una muestra de material que no está digerida (es decir, muestra carbonizada) en el interior del matraz Kjeldahl. La evaluación final del desempeño se hace mejor por la participación en un programa de ensayos de aptitud dentro y entre laboratorios, los parámetros estadísticos se calculan con base en el análisis de muestras de ensayo de leche.
- 9.4.4 Resultados más bajos en cualquiera de las pruebas de recuperación (o superior a 100,0% en el numeral 9.4.2) indican fallas en el procedimiento o una incorrecta concentración de la solución de ácido clorhídrico (ver 6.8).

NOTA 11. Si el blanco ya es color rosa antes del comienzo de la titulación, algo está mal. Por lo general, en estos casos, los matraces cónicos no están limpios o el agua proveniente del vapor puede condensarse en el exterior del aparato condensador y gotear en el matraz de recogida causando contaminación.

NOTA 12. La verificación de la recuperación de sulfato de amonio no da información sobre la capacidad de las condiciones de la digestión de liberar nitrógeno, que está enlazado en las estructuras de proteínas.

2015-01

#### 10. CÁLCULOS

#### 10.1 Cálculo del contenido de nitrógeno

10.1.1 Calcular el contenido en nitrógeno de la muestra, w<sub>N</sub>, utilizando la siguiente ecuación:

$$w_N = \frac{1,400 \ 7(V_S - V_b)M_r}{m} \tag{1}$$

donde:

w<sub>N</sub> es el contenido de nitrógeno de la muestra, expresado como porcentaje en masa;

Vs es el valor numérico del volumen, en millilitros, del ácido clorhídrico (ver 6.8) utilizado en la determinación (9.2.3), expresado por lo menos con una aproximación de 0,05 mL;

V<sub>b</sub> es el valor numérico del volumen, en mililitros, del ácido clorhídrico (ver 6.8) utilizado en el ensayo en blanco (ver 9.3), expresado por lo menos con una aproximación de 0,05 mL;

Mr es el valor numérico de la molaridad exacta del ácido clorhídrico (ver 6.8), expresado con cuatro decimales

m es el valor numérico, en gramos, de la porción de la masa de ensayo (ver 9.1), expresado con una aproximación de 0,1 mg.

10.1.2 Expresar los resultados obtenidos con cuatro decimales, si es necesario para los cálculos posteriores. En el caso de resultados finales, expresar el contenido de nitrógeno con tres decimales y para el contenido de proteína con dos decimales. Los resultados obtenidos no se deben redondear aún más hasta que el uso final del valor del ensayo sea hecho (ver nota 13).

#### 10.2 Cálculo del contenido de proteína cruda

10.2.1 Calcular el contenido en proteína cruda de la muestra, utilizando la siguiente ecuación:

$$W_p = W_N * 6,38$$
 (2)

donde

w<sub>p</sub> es la proteína cruda de la muestra, expresada como un porcentaje de la masa;

 $w_N$  es el contenido de nitrógeno de la muestra, expresado como un porcentaje de la masa con cuatro decimales (ver 10.1);

6,38 es el factor de multiplicación generalmente aceptado para expresar el contenido de nitrógeno como contenido de proteína cruda. También llamada factor de conversión utilizado para los productos lácteos.

10.2.2 Expresar los resultados obtenidos para el contenido de proteína cruda con tres decimales, si es necesario para cálculos posteriores. En el caso de ser resultados finales (ver 9.1), éstos se expresan con dos decimales.

NOTA 13. Esto es particularmente cierto para los valores que se van a utilizar en cálculos posteriores. Un ejemplo se presenta cuando los valores de ensayos individuales obtenidos del análisis de muchos materiales de muestra son usados para el cálculo estadístico de desempeño del método para la variación dentro y entre laboratorios. Otro ejemplo, se presenta cuando los valores se utilizan como una referencia para la calibración del instrumento (por ejemplo, analizador infrarrojo de leche) donde los valores de muchas muestras se utilizan en un cálculo de regresión simple o múltiple. En tal caso, los resultados obtenidos no deben ser redondeados antes de que se utilicen para los cálculos posteriores.

2015-01

#### 11. PRECISIÓN

- 11.1 Ensayos entre laboratorios. Los valores de los límites de repetibilidad y reproducibilidad se deriva del resultado de un estudio entre laboratorios llevado a cabo de acuerdo con ISO 5725 (ver nota 14). Los detalles de la prueba entre laboratorios del método se resumen en las referencias en el pie de página (ver nota 15). Los valores derivados de esta prueba no pueden ser aplicables a rangos de concentración y matrices diferentes a las indicadas.
- 11.2 Repetibilidad. La diferencia absoluta entre dos resultados de pruebas independientes e individuales, obtenidas utilizando el mismo método, con idénticos materiales de prueba en el mismo laboratorio por el mismo operador con el mismo equipo dentro de un intervalo corto de tiempo, no será más de 5% de los casos mayores que 0,006% de contenido de nitrógeno (0,038% de contenido de proteína cruda).
- 11.3 Reproducibilidad. La diferencia absoluta entre dos resultados individuales, obtenidos utilizando el mismo método, con idéntico material de prueba en laboratorios diferentes, con distintos operadores y utilizando equipos diferentes, no será más de 5% de los casos mayores que 0,007 7% de contenido de nitrógeno (0,049% de contenido de proteína cruda).

#### 12. INFORME DE RESULTADOS

- 12.1 El informe del ensayo debe especificar:
- 12.1.1 Toda la información necesaria para la completa identificación de la muestra;
- 12.1.2 El método de muestreo utilizado, si se conoce;
- 12.1.3 El método de ensayo utilizado;
- 12.1.4 Todos los detalles operativos no especificados en esta norma o considerados como opcionales, junto con los detalles de cualquier incidente que pueda haber influido en el (los) resultado(s):
- 12.1.5 El resultado de la (las) prueba(s) obtenido;
- 12.1.6 Si la repetibilidad se ha comprobado, citar el resultado final obtenido;
- 12.1.7 Si la recuperación se ha comprobado, citar el resultado final obtenido.

NOTA 14. ISO 5725:1986 (la totalidad de sus partes) se utilizó para obtener los datos de precisión.

NOTA 15. BARBANO, D.M. CLARK, J.L., DUNHAM, C.E.and FLEMING, J.R. Kjeldahl methods for determination of total nitrogen content. Of milk: collaborative study. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 73, 1990, pp 849-859.

LYNCH, J.M., BARBANO, D.M. and FLEMING, J.R. Performance evaluation of direct forced-air total solids and Kjeldahl total nitrogen methods: 1990 through 1995. J. Assoc. Off. Anal. Chem. Int., 80, 1997, pp, 1038-1043.

2015-01

#### ANEXO A

# PROCEDIMIENTO MODIFICADO PARA EL ANÁLISIS DE OTROS PRODUCTOS LÁCTEOS CUANDO NO EXISTE UNA NORMA SEPARADA PARA ESTOS PRODUCTOS

#### A.1 General

A.1.1 El procedimiento descrito en esta norma ha sido optimizado y su rendimiento evaluado para el análisis de la leche bovina. Si una norma separada no existe, un laboratorio puede utilizar el mismo procedimiento, con una ligera modificación, para la determinación del contenido de nitrógeno de una gama de productos lácteos. Sin embargo, debería tenerse en cuenta que el procedimiento y los resultados para los mismos no se han validado para los usos indicados.

#### A.2 Procedimiento

- A.2.1 Pesar con precisión de 0,1 mg la masa necesaria de la porción de muestra, tomada de una muestra debidamente preparada, como se describe a continuación. Procedimiento de la determinación del contenido de nitrógeno utilizando el método descrito en el numeral 9.1 al 9.4.
- A.2.2 Las cantidades de ácido sulfúrico (ver 6.4) y la solución de hidróxido de sodio (ver 6.5) utilizadas en la digestión y el proceso de destilación no deben ser cambiadas. Cambios en la relación de ácido, a otros componentes mediante el incremento de la cantidad de ácido, disminuye al punto de ebullición inicial de la mezcla en la digestión y esto no es recomendable.
- A.2.3 Un tamaño adecuado de la porción de prueba se debe utilizar cuando se trabaja con los reactivos como se especifica en esta norma. La porción de ensayo apropiada para cualquier muestra de ensayo puede ser estimada como se indica a continuación: La cantidad óptima de proteína por matraz Kjeldahl (ver numeral 5.1.2) deberá estar comprendida entre 0,15 g y 0,30 g por matraz para cualquier muestra de ensayo. Así, si una muestra de ensayo promedio del queso Cheddar, que contiene 24,00% de proteína, la porción de masa de la muestra debe estar entre 0,625 g y 1,25 g. La decisión de utilizar masas que se promedien en el extremo inferior del rango o en el extremo superior del rango, depende de la cantidad de ácido del resto de los componentes de la muestra (es decir, la grasa e hidratos de carbono) que se consumen durante la digestión.
- A.2.4 El método describe una adición de 25 mL (aprox. 46 g) de ácido sulfúrico a la porción de muestra en el matraz Kjeldahl. Para el final de la digestión, aproximadamente 15 g de ácido sulfúrico tiene que ser dejado en el matraz para retener todo el nitrógeno.
- A.2.5 Cabe señalar que el ácido sulfúrico es consumido por la porción de ensayo y también se pierde debido a la volatilización durante la digestión. La pérdida por volatilización puede ser igual a la cantidad consumida por la materia orgánica en una porción de ensayo. La cantidad final de ácido residual será una función de ambos procesos. La pérdida excesiva de ácido por volatilización (causada por la aspiración excesiva de gases durante la digestión o los cuellos de los matraces que son demasiado calientes) puede resultar también un poco de ácido residual que queda al final de la digestión, aunque el tamaño de la porción de prueba sea correcto.
- A.2.6 Poco ácido residual se traducirá en la cristalización de la digestión después de 25 min de enfriamiento y recuperación mínima de nitrógeno.
- A.2.7 La crema que contiene 40% de grasa es un ejemplo de un producto dificil. En este caso, el contenido de proteína o de nitrógeno de la muestra es bajo y el contenido de grasa es alto. Suponga que una muestra de crema contiene en promedio alrededor del 40% de grasa, proteína 1,9% y el 2,9% de lactosa. Para conseguir 0,15 g de proteína en el matraz Kjeldahl (ver 5.1.2), utilizar una porción de muestra de 7,89 g. Esta porción de ensayo podría contener 3,16 g de grasa, que por sí mismo consumiría 56,9 g (30,9 mL) de ácido sulfúrico en la digestión sin permitir cualquier pérdida de ácido sulfúrico debido a la volatilización (basado en la suposición de que 1 g de grasa consume 18 g de ácido sulfúrico durante la digestión). Este es un ejemplo donde la cantidad de porción de ensayo debe ser reducida para permitir una cantidad adecuada de ácido sulfúrico que permanezca al final de la digestión. En el caso de las muestras de prueba como crema, la titulación debe ser utilizada con la concentración más baja (0,01 mol/L). En estos casos, la cantidad de la porción de ensayo necesita

9 de 11

NTE INEN 16 2015-01

ser reducida para permitir una cantidad adecuada de ácido sulfúrico para que permanezca al final de la digestión.

- A.2.8 La cantidad de sacarosa necesaria para un blanco o normas de recuperación de otros productos de la leche bovina puede ser determinada como sigue:
- A.2.8.1 En primer lugar, se requiere una estimación del contenido aproximado de grasa, proteína e hidratos de carbono para el tipo de material de la muestra de ensayo y la porción de la masa de ensayo aproximada para ser utilizada en la digestión.
- A.2.8.2 En segundo lugar, durante la digestión 1 g de grasa consumirá aproximadamente 18 g de ácido sulfúrico, 1 g de proteína consumirá alrededor de 9 g de ácido sulfúrico y 1 g de carbohidratos consumirá aproximadamente 7 g de ácido sulfúrico.
- A.2.9 Basándose en la información anterior, la cantidad de ácido consumido por una porción de ensayo y el de la sacarosa necesaria para consumir la misma cantidad de ácido durante la digestión puede ser calculada. La cantidad calculada de sacarosa debe ser usada en el blanco y en el nivel de recuperación de sulfato de amonio.
- A.2.10 Para el estándar de recuperación de nitrógeno de los aminoácidos (ver 8.4.3), reducir la cantidad de sacarosa por la cantidad de ácido a ser consumido (calculado como proteína) por el clorhidrato de lisina o el triptófano. Se supone que la recuperación de nitrógeno de la digestión para el aparato utilizado, es el mismo para las muestras de ensayo distintas de la leche, sin llevar a cabo experimentos de recuperación para producir condiciones que logren niveles similares de ácido sulfúrico residual al final de la digestión.
- A.2.11 Para los productos lácteos deshidratados como la leche en polvo se procederá de acuerdo a las directrices descritas en este anexo.

10 de 11

2015-01

#### APÉNDICE Z

# Z.1 DOCUMENTOS NORMATIVOS A CONSULTAR

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 3 Leche y productos lácteos. Definiciones.

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 4 Leche y productos lácteos. Muestreo.

Norma ISO 5725 Accuracy (trueness and precision) o measurement methods and results (todas las partes).

# Z.2 BASES DE ESTUDIO

ISO 8968-1: 2001, Milk — Determination of nitrogen content — Part 1: Kjeldahl method.

AOAC Official Method 991.20:2006 Nitrogen (Total) in Milk. Kjeldahl Methods.

AOAC Official Method 936.15:2005 Standard Solution of Hydrochloric Acid.

NTC 5025, 2001-12-19. Leche y productos lácteos. Determinación del contenido de nitrógeno,

11 de 11

#### INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

Documento: TÍTULO: LECHE Y PRODUCTOS LÁCTEOS. DETERMINACIÓN DEL Código ICS: NTE INEN 16 CONTENIDO DE NITRÓGENO. MÉTODO DE KJELDAHL 67.100.10

ORIGINAL:

Fecha de iniciación del estudio:

REVISIÓN:

Fecha de aprobación del Consejo Directivo 1983-06-14 Oficialización con el Carácter de Obligatoria por Acuerdo Ministerial No. 271 del 1984-04-18 publicado en el Registro Oficial No. 748 del 1984-05-21

Fecha de iniciación del estudio: 2012-04-23

Fechas de consulta pública: 2012-05-03 a 2012-05-18

Subcomité Técnico: LECHE Y PRODUCTOS LÁCTEOS Fecha de iniciación: 2012-06-13

Fecha de iniciación: 2012-06-13 Integrantes del Comité Técnico: Fecha de aprobación: 2012-06-20

#### NOMBRES: -

Dra. Ana María Hidalgo (Presidenta)
Ing. Edwin Vera Calle
Ing. Jaime Campaña
Dr. Raúl Naranjo
Bioquím. Elena Larrea
Quím. Alimentos Paola Cuji
Ing. Angélica Tutasi
Ing. Lorena Tapia
Ing. Juan Morales
Gabriela Salazar

Ing. María José Andrade Ing. Gisela Medina (Secretaria Técnica) INSTITUCIÓN REPRESENTADA:

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL CAPEIPI

DEFENSORÍA DEL PUEBLO INEN INEN

MIPRO (DIDECO)

PASTEURIZADORA QUITO UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

INEN

**MIPRO** 

Otros trámites: Esta NTE INEN 16:2015 (Segunda revisión), reemplaza a la NTE INEN 16:1984 (Primera revisión)

La Subsecretaría de la Calidad del Ministerio de Industrias y Productividad aprobó este proyecto de norma

Oficializada como: Voluntaria Registro Oficial No. 413 de 2015-01-10 Por Resolución No. 14516 de 2014-12-19

# Anexo Nº 4.- Informe de resultados de laboratorio.



Orden de trabajo 143989 Hoja 1 de 1

NOMBRE DEL CLIENTE: Diego Pilamonta

DIRECCIÓN: Cuenca

FECHA DE RECEPCION: 21 de octubre del 2014

MUESTRA: Suero

DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA: Líquido color amarillo tenue

ENVASE: Frasco de vidrio

CONTENIDO DECLARADO: ----FECHA DE TOMA DE MUESTRA: -----

FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYO: 21 - 22 de octubre del 2014

REFERENCIA: 143989- 143992
MUESTREADO: Por cliente
CONDICIONES AMBIENTALES: 23°C 39 %HR

# ANÁLISIS QUÍMICO:

PARÁMETRO	MÉTODO	RESULTADO
Muestra 1	PEE/LA/01 INEN 16	0.85
Muestra 2	PEE/LA/01 INEN 16	0.89
Muestra 3	PEE/LA/01 INEN 16	1.07
LP1	PEE/LA/01 INEN 16	1.05

Dr. Oscar Luzuriaga PRESIDENTE

El presente informe es válido sólo para la muestra analizada. Este informe no debe reproducirse más que en su totalidad previa autorización escrita de LABOLAB

\* Autorización de envío vía electrónica: Dr. Oscar Luzuriaga – Pdte. Fecha emisión: 23-10-2014
Este informe no remplaza al original y será válido únicamente por escrito en hoja membretada con sellos respectivos y firma original de la persona responsable.
Edición electrónica : Ed 02: Agosto 2014

INFORME TECNICO, FICHA DE ESTABILIDAD, INFORMACION NUTRICIONAL PARA REGISTRO SANITARIO

Análisis físico, químico, microbiológico, entomológico de: alimentos, aguas, bebidas, materias primas, balanceados, cosméticos, pesticidas, suelos, metales pesados y otros.

Av. Pérez Guerrero Oe-21-11 y Versalles – Of. 12 B – 2do. Piso – Telefax: 2563225 / 2235404 / 3214333 / 3214353 Cel.: 09 9590412

E-mails: secretaria@labolab.com.ec / servicioalcliente@labolab.com.ec /cecilialuzuriaga@labolab.com.ec 

Quito – Ecuador



Orden de trabajo 144142 Hoja 1 de 1

NOMBRE DEL CLIENTE: Diego Pilamonta

DIRECCIÓN: Cuenca

FECHA DE RECEPCION: 29 de octubre del 2014

MUESTRA: Suero

DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA: Líquido color amarillo tenue

ENVASE: Frasco de vidrio

CONTENIDO DECLARADO: ----

FECHA DE TOMA DE MUESTRA: 28 de octubre del 2014 FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYO: 29 - 31 de octubre del 2014

 REFERENCIA:
 144142 - 144145

 MUESTREADO:
 Por cliente

 CONDICIONES AMBIENTALES:
 24°C 40 %HR

#### ANÁLISIS QUÍMICO:

PARÁMETRO	MÉTODO	RESULTADO
Muestra 1	PEE/LA/01 INEN 16	0.92
Muestra 2	PEE/LA/01 INEN 16	0.72
Muestra 3	PEE/LA/01 INEN 16	0.82
Muestra 4	PEE/LA/01 INEN 16	0.69

Dr. Oscar Luzuriaga PRESIDENTE

El presente informe es válido sólo para la muestra analizada.

Este informe no debe reproducirse más que en su totalidad previa autorización escrita de LABOLAB

\* Autorización de envío vía electrónica: Dr. Oscar Luzuriaga – Pdte.

Fecha emisión: 05-11-2014

Este informe no remplaza al original y será válido únicamente por escrito en hoja membretada con sellos respectivos y firma original de la persona responsable.

Edición electrónica : Ed 02: Agosto 2014

INFORME TECNICO, FICHA DE ESTABILIDAD, INFORMACION NUTRICIONAL PARA REGISTRO SANITARIO

Análisis físico, químico, microbiológico, entomológico de: alimentos, aguas, bebidas, materias primas, balanceados, cosméticos, pesticidas, suelos, metales pesados y otros.

Av. Pérez Guerrero Oe-21-11 y Versalles – Of. 12 B – 2do. Piso – Telefax: 2563225 / 2235404 / 3214333 / 3214353 Cel.: 09 9590412

E-mails: secretaria@labolab.com.ec / servicioalcliente@labolab.com.ec /cecilialuzuriaga@labolab.com.ec

Www.labolab.com.ec



Orden de trabajo 144277 Ĥoja 1 de 1

NOMBRE DEL CLIENTE: Diego Pilamonta

DIRECCIÓN: Cuenca

FECHA DE RECEPCION: 11 de noviembre del 2014

MUESTRA: Suero de leche

DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA: Líquido color amarillo tenue

ENVASE: Frasco de vidrio

CONTENIDO DECLARADO: FECHA DE TOMA DE MUESTRA:

FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYO: 12 - 14, 17 de noviembre del 2014

REFERENCIA: 144277 - 144282 MUESTREADO: Por cliente CONDICIONES AMBIENTALES: 23°C 48 %HR

# ANÁLISIS QUÍMICO:

PARÁMETRO	MÉTODO	RESULTADO
Muestra C1 Muestra C2 Muestra C3 Muestra C4 Muestra C5 Muestra C6	PEE/LA/01 INEN 16 PEE/LA/01 INEN 16 PEE/LA/01 INEN 16 PEE/LA/01 INEN 16 PEE/LA/01 INEN 16 PEE/LA/01 INEN 16	1.06 1.13 0.97 1.44 1.12 0.87

Dr. Oscar Luzuriaga PRESIDENTE

El presente informe es válido sólo para la muestra analizada. Este informe no debe reproducirse más que en su totalidad previa autorización escrita de LABOLAB

\* Autorización de envío vía electrónica: Dr. Oscar Luzuriaga – Pdte.

Fecha emisión: 18-11-2014

Este informe no remplaza al original y será válido únicamente por escrito en hoja membretada con sellos respectivos y firma original de la persona responsable. : Ed 02: Agosto 2014 Edición electrónica

INFORME TECNICO, FICHA DE ESTABILIDAD, INFORMACION NUTRICIONAL PARA REGISTRO SANITARIO

Análisis físico, químico, microbiológico, entomológico de: alimentos, aguas, bebidas, materias primas, balanceados, cosméticos, pesticidas, suelos, metales pesados y otros.

Av. Pérez Guerrero Oe-21-11 y Versalles — Of. 12 B — 2do. Piso — Telefax: 2563225 / 2235404 / 3214333 / 3214353 Cel.: 09 9590412

E-mails: secretaria@labolab.com.ec / servicioalcliente@labolab.com.ec / cecilialuzuriaga@labolab.com.ec

Quito — Ecuador

www.labolab.com.ec



Orden de trabajo 144283 Hoja 1 de 1

NOMBRE DEL CLIENTE: Diego Pilamonta

DIRECCIÓN: Cuenca

FECHA DE RECEPCION: 11 de noviembre del 2014

MUESTRA: Suero de leche

DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA: Líquido color amarillo tenue

ENVASE: Frasco de vidrio

CONTENIDO DECLARADO: ----FECHA DE TOMA DE MUESTRA: -----

FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYO: 12 - 14, 17 de noviembre del 2014

REFERENCIA: 144283 – 144288 MUESTREADO: Por cliente CONDICIONES AMBIENTALES: 23°C 48 %HR

### ANÁLISIS QUÍMICO:

PARÁMETRO	MÉTODO	RESULTADO
Muestra D1 Muestra D2 Muestra D3 Muestra D4 Muestra D5 Muestra D6	PEE/LA/01 INEN 16 PEE/LA/01 INEN 16 PEE/LA/01 INEN 16 PEE/LA/01 INEN 16 PEE/LA/01 INEN 16 PEE/LA/01 INEN 16	0.73 0.81 0.83 1.21 1.24 1.21

Dr. Oscar Luzuriaga PRESIDENTE

El presente informe es válido sólo para la muestra analizada.

Este informe no debe reproducirse más que en su totalidad previa autorización escrita de LABOLAB

\* Autorización de envío vía electrónica: Dr. Oscar Luzuriaga – Pdte.

Fecha emisión: 18-11-2014

Este informe no remplaza al original y será válido únicamente por escrito en hoja membretada con sellos respectivos y firma original de la persona responsable.

Edición electrónica : Ed 02: Agosto 20

INFORME TECNICO, FICHA DE ESTABILIDAD, INFORMACION NUTRICIONAL PARA REGISTRO SANITARIO

Análisis físico, químico, microbiológico, entomológico de: alimentos, aguas, bebidas, materias primas, balanceados, cosméticos, pesticidas, suelos, metales pesados y otros.

Av. Pérez Guerrero Oe-21-11 y Versalles – Of. 12 B – 2do. Piso – Telefax: 2563225 / 2235404 / 3214333 / 3214353 Cel.: 09 9590412

E-mails: secretaria@labolab.com.ec / servicioalcliente@labolab.com.ec / cecilialuzuriaga@labolab.com.ec

Ouito – Ecuador



Orden de trabajo 144289 Ĥoja 1 de 1

NOMBRE DEL CLIENTE: Diego Pilamonta

DIRECCIÓN: Cuenca

FECHA DE RECEPCION: 11 de noviembre del 2014

Suero de leche MUESTRA:

DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA: Líquido color amarillo tenue

ENVASE: Frasco de vidrio

CONTENIDO DECLARADO: FECHA DE TOMA DE MUESTRA:

FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYO: 12 - 14, 17 de noviembre del 2014

REFERENCIA: 144289-144294 MUESTREADO: Por cliente CONDICIONES AMBIENTALES: 23°C 48 %HR

# ANÁLISIS QUÍMICO:

PARÁMETRO	MÉTODO	RESULTADO
Muestra E1 Muestra E2 Muestra E3 Muestra E4 Muestra E5 Muestra E6	PEE/LA/01 INEN 16 PEE/LA/01 INEN 16 PEE/LA/01 INEN 16 PEE/LA/01 INEN 16 PEE/LA/01 INEN 16 PEE/LA/01 INEN 16	0.89 0.96 0.73 1.30 0.90 0.79

Dr. Oscar Luzuriaga PRESIDENTE

El presente informe es válido sólo para la muestra analizada. Este informe no debe reproducirse más que en su totalidad previa autorización escrita de LABOLAB

\* Autorización de envío vía electrónica: Dr. Oscar Luzuriaga - Pdte.

Fecha emisión: 18-11-2014

Este informe no remplaza al original y será válido únicamente por escrito en hoja membretada con sellos respectivos y firma original de la persona responsable.

Edición electrónica : Ed 02: Agosto 2014

INFORME TECNICO, FICHA DE ESTABILIDAD, INFORMACION NUTRICIONAL PARA REGISTRO SANITARIO

unálisis fisico, químico, microbiológico, entomológico de: alimentos, aguas, bebidas, materias primas, balanceados, cosméticos, pesticidas, suelos, metales pesados y otros.

Av. Pérez Guerrero Oe-21-11 y Versalles – Of. 12 B – 2do. Piso – Telefax: 2563225 / 2235404 / 3214333 / 3214353 Cel.: 09 9590412

E-mails: secretaria@labolab.com.ec / servicioalcliente@labolab.com.ec / cecilialuzuriaga@labolab.com.ec 

Ouito – Ecuador



Orden de trabajo 144295 Hoja 1 de 1

NOMBRE DEL CLIENTE: Diego Pilamonta

DIRECCIÓN: Cuenca

FECHA DE RECEPCION: 11 de noviembre del 2014

MUESTRA: Suero de leche Líquido color amarillo tenue

DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA:

ENVASE: Frasco de vidrio

CONTENIDO DECLARADO: FECHA DE TOMA DE MUESTRA:

FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYO: 12-14, 17 de noviembre del 2014

144295-144298 REFERENCIA: MUESTREADO: Por cliente CONDICIONES AMBIENTALES: 23°C 48 %HR

#### ANÁLISIS QUÍMICO:

PARÁMETRO	MÉTODO	RESULTADO
Muestra F1	PEE/LA/01 INEN 16	0.81
Muestra F2	PEE/LA/01 INEN 16	0.66
Muestra F3	PEE/LA/01 INEN 16	0.71
Muestra F4	PEE/LA/01 INEN 16	0.98

Dr. Oscar Luzuriaga PRESIDENTE

El presente informe es válido sólo para la muestra analizada.

Este informe no debe reproducirse más que en su totalidad previa autorización escrita de LABOLAB

\* Autorización de envío vía electrónica: Dr. Oscar Luzuriaga – Pdte.

Fecha emisión: 18-11-2014

Este informe no remplaza al original y será válido únicamente por escrito en hoja membretada con sellos respectivos y firma original de la persona responsable. Édición electrónica : Ed 02: Agosto 2014

INFORME TECNICO, FICHA DE ESTABILIDAD, INFORMACION NUTRICIONAL PARA REGISTRO SANITARIO

Análisis físico, químico, microbiológico, entomológico de: alimentos, aguas, bebidas, materias primas, balanceados, cosméticos, pesticidas, suelos, metales pesados y otros.

Av. Pérez Guerrero Oe-21-11 y Versalles – Of. 12 B – 2do. Piso – Telefax: 2563225 / 2235404 / 3214333 / 3214353 Cel.: 09 9590412

E-mails: secretaria@labolab.com.ec / servicioalcliente@labolab.com.ec /cecilialuzuriaga@labolab.com.ec

Quito – Ecuador