

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

METODO ALTERNATIVO PARA EVALUAR LA CALIDAD DE
PROTEINAS Y GRASAS CONTENIDAS EN



LECHE

INFORME DE TESIS

Presentado por:

Willmer Salomón Girón Ramírez

Para optar al título de

Químico Farmacéutico

Guatemala, julio 1997

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

06
T(1797)
C.4

JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

DECANO	LIC. JORGE RODOLFO PEREZ FOLGAR
SECRETARIO	LIC. OSCAR FEDERICO NAVE HERRERA
VOCAL I	LIC. MIGUEL ANGEL HERRERA GALVEZ
VOCAL II	LIC. GERARDO LEONEL ARROYO CATALAN
VOCAL III	LIC. RODRIGO HERRERA SAN JOSE
VOCAL IV	BR. ANA MARIA RODAS CARDONA
VOCAL V	BR. HAYRO OSWALDO GARCIA GARCIA

ACTO QUE DEDICO

A DIOS

A El sea la Gloria y la Honra por los siglos de los siglos Amén. Por su infinita misericordia puedo ver hoy cumplirse lo que dice en su Santa Palabra, "Todo es posible si puedes creer". Gracias Dios, a tí te pertenece éste Título, mi vida y todo lo que tengo.

A MIS PADRES

Moisés Girón Rosales.

María Luisa de Girón.

Por su gran apoyo, enseñanzas, comprensión y sacrificio en toda mi vida, que Dios les Bendiga. Después de Dios son lo más valioso.

A MIS HERMANOS

Vioneth y Moisés.

Por ser valiosos instrumentos que Dios puso en mi vida para realizar sus planes. Gracias por lo que han hecho por mí, privandose de muchas cosas, que Dios les Bendiga. Junto con mi mamá son lo más valioso que tengo después de Dios.

A MI CUÑADO

Raúl.

Gracias por toda tu ayuda, apoyo y cariño.

A MIS AMIGOS

Por su incondicionable y constante apoyo.

AGRADECIMIENTO

A Lic. Luis Fernando Girón por su asesoría, comprensión, paciencia y tiempo que proporcionó para la realización de éste trabajo.

A Lic. Elfego Rolando López por toda la ayuda que me proporcionó y sobre todo por su gran amistad.

INDICE

	Página
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCION	3
3. ANTECEDENTES	5
4. JUSTIFICACIONES	7
5. OBJETIVOS	8
6. HIPOTESIS	9
7. MATERIALES Y METODOS	10
8. RESULTADOS	16
9. DISCUSION DE RESULTADOS	19
10. CONSLUSIONES	22
11. RECOMENDACIONES	24
12. REFERENCIAS	25
13. ANEXOS	27

1. RESUMEN

En la actualidad, en el país, se cuenta únicamente con tres métodos oficiales (Kjeldahl, Babcock y Rose-Gottlieb) para la evaluación de proteínas y grasas contenidas en la leche, los cuales resultan de alto costo para los pequeños productores de leche y difíciles de adoptar para efectuar un control de calidad confiable y válido para evaluar calidad en su producto. Por esto, en el presente trabajo de investigación, se evaluaron algunos métodos alternativos que tuvieran como características: bajo costo y sencillos de realizar, para que los pequeños productores lecheros obtengan un beneficio directo, al saber, aproximadamente, cuál es la calidad de su producto.

Luego de realizar una recopilación de datos, referente a métodos alternativos, para éstos análisis, se propusieron dos métodos para cada análisis, de grasa y de proteína. Un método propuesto para las proteínas, fué el del Reactivo de Folín, método colorimétrico que careció de especificidad, y no proporcionó resultados satisfactorios para la investigación. El otro método propuesto para proteínas, fué la titulación con formol, modificada, método que proporcionó resultados diferentes al método oficial. Se realizó una serie de análisis y se encontró experimentalmente un factor de corrección para aplicarlo al

método, con lo cual se le da validez. Este método es semicuantitativo y de carácter orientador, respecto al porcentaje de proteínas.

Para el análisis de grasas, se propuso una reacción del enlace éster, que es una reacción colorimétrica con la leche, pero sus resultados no fueron reproducibles ni confiables, por lo que el método no es aplicable para la evaluación de materia grasa contenida en la leche. Por último, se evaluó el método alternativo, proceso gravimétrico de Werner Schimed, cuyo principio es el de la separación del material graso de la caseína, mediante una hidrólisis, para poder realizar una lectura directa de la cantidad de grasa, pero los resultados no fueron satisfactorios por lo que el método carece de efectividad.

2. INTRODUCCION

Una próspera industria lechera, puede tener efectos muy importantes sobre el bienestar de un país. Si se considera, que al igual que otros sectores de la Zootecnia y la industria lechera, se constituye en un apoyo para el desarrollo de la agricultura, que tiene un marcado efecto sobre el desarrollo económico y social, en sus zonas de influencia. La necesidad de atender la creciente demanda de alimentos para una población mundial en expansión, tiende a ocultar la necesidad paralela de que la calidad de los alimentos responda a los requisitos nutricionales establecidos.

La falta de proteínas de calidad, es una de las deficiencias fundamentales de los alimentos consumidos por la mitad de la población mundial. (1)

El valor nutricional de la leche es muy completo, como pocos alimentos. La leche es la única materia proporcionada por la naturaleza para servir exclusivamente como fuente de alimentación. Las proteínas que contiene la leche son ideales, tanto por su calidad como por su equilibrada composición, para satisfacer las necesidades de aminoácidos del hombre. Su contenido de minerales y vitaminas es excepcional, no solo en proporción sino en cantidad.

A parte de las condiciones patológicas de las vacas que originan la producción de leche anormal, existen otros factores que afectan su composición, entre éstos se encuentra la adulteración y el descremado de la misma. Debido a que los tres métodos oficiales (Kjeldahl para proteínas, Babcock y RoseGottlieb para grasas) utilizados para la evaluación de proteínas y grasas en leches, son de alto costo para los pequeños productores de leche, por la cantidad, tipo de infraestructura y equipo de laboratorio que requieren, resulta difícil efectuar un control de calidad pertinente, con el objeto de asegurar calidad en su producto; por lo que se considera necesario desarrollar métodos sencillos y de bajo costo, lo cual traerá beneficios significativos para los pequeños productores lecheros y por consiguiente a la población en general.

El presente trabajo de investigación proporciona un aporte a la Industria lechera, al facilitar al menos un método alternativo para el análisis de leches, dicho método es la Titulación con Formol, modificada, la cual es de bajo costo y de beneficio para el pequeño productor, ya que a través de ensayos sencillos se puede evaluar el porcentaje de proteínas contenidos en la leche.



3. ANTECEDENTES

Determinación de Proteínas:

Actualmente en Guatemala se tiene como método oficial para la Determinación de Proteínas el método de Kjeldahl (2) ; método que se basa en la oxidación de la proteína con ácido sulfúrico para formar amoníaco, el cual puede destilarse después de tratarse con hidróxido de sodio para su destilación, expresando luego el contenido de proteínas en porcentaje en masa.

En poca literatura se encuentran métodos alternativos para determinar proteínas, como el método colorimétrico del reactivo de Folin (ácido fosfomolibdico-fosfotúngtico) el cual es reducido por las proteínas para formar un complejo azul de molibdeno. También se encuentra el método de titulación con formol, en el que al adicionar formalina a la solución acuosa neutralizada de leche, el grupo $-NH_2$ reacciona para formar el grupo metilenoimino $-N=CH_2$ con la liberación de un protón que puede titularse. Para cuya aplicación se deberán realizar modificaciones, las cuales son descritas mas adelante.

Determinación de Grasas:

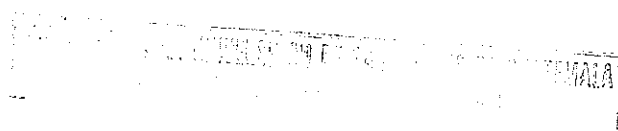
Los métodos oficiales para la determinación de grasas en leche, son el método gravimétrico de Rose-Gottlieb, que consiste básicamente en pesar la leche, extraer la materia grasa mediante la utilización de una mezcla de éter/petróleo, y pesar finalmente la grasa obtenida; y el método de Babcock, que utiliza ácido sulfúrico para disolver los componentes no grasos, utilizando además la centrifugación para acelerar la separación de las grasas.

Los métodos alternativos que se encuentran para ésta determinación de grasas son el proceso gravimétrico de Werner-Schmid para cuya aplicación se hicieron modificaciones, las cuales se describen más adelante y otro método alternativo que son reacciones con el enlace éster. (Ver referencias 1,3,4)

4. JUSTIFICACION

Sí se considera el alto valor nutricional que posee la leche, necesario e indispensable para la vida humana, es preocupante que la leche llegue al consumidor sin la cantidad real de nutrientes como consecuencia de adulteraciones (más frecuentes con agua), esta adulteración puede ocurrir cuando la leche es trasladada de la finca productora hacia la planta pasteurizadora.

Extremo que puede evitarse, si en la finca se dispone de procedimientos para determinar y registrar la calidad de la leche. La solución sería que el pequeño productor efectúe algunos controles allí mismo, como el análisis de la cantidad de proteína a través de la Titulación con Formol modificada, que por su sencillez de aplicabilidad y bajo costo de inversión no representa mayor dificultad para ser efectuados en cualquier lugar.



5. OBJETIVOS

5.1 Objetivos Generales:

- 5.1.1 Plantear un método alternativo para evaluar la calidad de proteínas y grasas contenidas en leche de vaca.

5.2 Objetivos Específicos:

- 5.2.1 Desarrollar un método alternativo sencillo, de bajo costo y confiable, para verificar la cantidad de grasa contenida en la leche fluída.
- 5.2.2 Proponer un método de análisis sencillo y práctico, que permita al pequeño y mediano productor de leche, determinar la cantidad de proteína contenida en la leche.

6. HIPOTESIS

Los métodos propuestos para determinar el contenido de proteínas y grasas poseen las siguientes características respecto a los correspondientes oficiales: confiables, reproducibles y de menor costo.

7. MATERIALES Y METODOS

7.1 Universo de Trabajo:

7.1.1 El método oficial para la determinación de proteínas, el método de Kjeldahl; los métodos oficiales para la determinación de grasas, el método de Babcock y/o el método de Rose-Gottlieb. Los métodos alternativos propuestos para el estudio.

7.2 Medios:

7.2.1 Recursos Humanos

7.2.1.1 Autor: Willmer S. Girón R.

Asesor: Lic. Luis Fernando Girón.

7.2.2 Recursos Físicos

7.2.2.1 Laboratorio de el Departamento de Análisis Aplicado de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

7.2.2.2 Bibliografía de Referencia.

7.2.3 Recursos Materiales

- 7.2.3.1 Matraz Kjeldahl, de 1000 cc
 - 7.2.3.2 Aparato completo de Kjeldahl
 - 7.2.3.3 Botella normalizada de Babcock para análisis de leche.
 - 7.2.3.4 Centrifugadora
 - 7.2.3.5 Baño de María
 - 7.2.3.6 Balanza analítica de precisión que aprecie 0.1 mg
 - 7.2.3.7 Estufa
 - 7.2.3.8 Desecador
 - 7.2.3.9 Cristalería de Laboratorio en general
- 7.2.4 Reactivos
- 7.2.4.1 Oxido mercurico
 - 7.2.4.2 Sulfato de potasio
 - 7.2.4.3 Acido sulfúrico concentrado
 - 7.2.4.4 Solución de sulfuro alcalino
 - 7.2.4.5 Solución concentrada de hidróxido de sodio
 - 7.2.4.6 Granellas de cinc
 - 7.2.4.7 Indicador de rojo de metilo
 - 7.2.4.8 Solución de ácido sulfúrico 0.1 N
 - 7.2.4.9 Hidróxido de amonio
 - 7.2.4.10 Alcohól etílico

- 7.2.4.11 Eter etílico
- 7.2.4.12 Eter de petróleo
- 7.2.4.13 Reactivo de Folin
- 7.2.4.14 Fenolftaleína 0.5%
- 7.2.4.15 Solución neutra de oxalato de potasio
- 7.2.4.16 Hidróxido de sodio 0.1M
- 7.2.4.17 Formalina
- 7.2.4.18 Acido clorhídrico concentrado
- 7.2.4.19 Hidroxilamina
- 7.2.4.20 Leche fluída de vaca

7.3 Procedimiento

7.3.1 Obtención: Se obtendrán muestras de leches que se comercializan en el país.

7.3.2 Metodos

7.3.2.1 Análisis de Proteínas

7.3.2.1.1 Método Oficial de Kjeldahl:

Ver procedimiento en Anexo No.1 Norma Guatemalteca Obligatoria
COGUANOR 34 046 h5.

7.3.2.1.2 Titulación con Formol modificada:

Adicionar a 10 ml de leche 10 gotas de indicador de Fenolftaleína al 0.5% y 8 gotas de solución neutra, saturada, de oxalato de potasio. Mezcle. Dejar reposar durante unos minutos y neutralizar con hidróxido de sodio 0.1M hasta color rosa. Adicionar 2 ml de formalina y mezclar.

Dejar en reposo por algunos minutos. Titular la nueva acidez con hidróxido de sodio 0.1M hasta el mismo color rosa (titulación aml). Titular separadamente 2 ml de formalina mas 10 ml de agua (bml) como blanco. El contenido de proteínas (equivalente a N*6.38 del método de Kjeldahl) Se obtiene en forma de porcentaje, aplicando la siguiente fórmula: $1.7(a-b)\%$. Se estandarizará la cantidad de álcali que da la coloración para ese porcentaje de proteína.

Así se establece la cantidad de alcali necesaria para saber que en la titulación se llega a los porcentajes de proteínas requeridos. Proceso que evita el trabajo de titular porque se tendrá ya en una tabla las cantidades de álcali que indican si se cumple con los requerimientos proteínicos (34 g/L de Proteínas). (4)

7.3.2.1.3 Reactivo de Folin

Se trabajó junto con los resultados del método de Kjeldahl, debe indicarse el número de gotas de reactivo necesarias para alcanzar el color azul, dicho en otras palabras se establecerán las diferentes tonalidades de color azul que pertenezcan a las diferentes concentraciones obtenidas con el método de Kjeldahl, para que al analizar alguna leche se determine la cantidad de reactivo necesario para producir el color que dará el porcentaje de proteínas establecido con lo que una variante en el color permitirá buscar en una tabla de colores, a que color pertenece, esto indicará al mismo tiempo la concentración de proteínas que posee según el método Kjeldahl. (4)

7.3.2.2 Análisis de grasas

7.3.2.2.1 Método oficial de Rose-Gottlieb

Ver procedimiento en anexo No.2 Norma Guatemalteca Obligatoria COGUANOR 34 046 h2.

7.3.2.2.2 Método oficial Babcock

Ver procedimiento en anexo No.3 Guatemalteca Obligatoria COGUANOR 34 046 h3.

7.3.2.2.3 Proceso gravimétrico de Werner Schmid: Medir 10 ml de leche en un tubo, adicionar 10 ml de ácido clorhídrico y sumergir en agua hirviente hasta que se disuelve toda la caseína. En ésta etapa la mezcla debe ser café y la grasa se observará en la superficie, medir entonces la cantidad de grasa en el tubo diseñado. (4)

7.3.2.2.4 Reacciones con el enlace: Es una reacción colorimétrica con hidroxilamina, la reacción debe presentar un cuerpo coloreado al reaccionar junto con cloruro férrico. La prueba se realizó en cada muestra de leche luego de analizar con cualquiera de los métodos oficiales para poder elaborar la tabla de colores, que indique la tonalidad de color a que porcentaje de grasa equivale según el método oficial, o simplemente indicar si se encuentra dentro del rango establecido (35 g/L de grasa) (1)

8. RESULTADOS

Para el análisis de proteínas en la leche, se realizó la evaluación de dos métodos alternativos. El primero de ellos es un análisis en el que se utilizó el **Reactivo de Folin**; en dicho método se utilizaron muestras de leche a distintas diluciones, para poder observar cambios de tonalidad de color debido a las diferentes concentraciones de proteínas; pero el reactivo de Folin no mostró los resultados esperados, ya que se observaron las mismas tonalidades de color en las distintas diluciones de leche; el color que se observó fué un color azul-violeta, resultado que no es satisfactorio y no es de utilidad para los análisis requeridos.

El método alternativo fué la **Titulación con Formol, Modificada**, método que mostró reproducibilidad en sus resultados, y el tiempo en el cual se realiza el análisis es sumamente corto. Se seleccionó una muestra de leche a la cual se le realizaron en forma repetida los análisis de proteínas por el método oficial de Kjeldahl, de donde se obtuvo resultados uniformes; a continuación se realizaron en forma repetida los análisis con la titulación con formol, modificada, obteniendo resultados uniformes entre ellos. Dichos resultados son diferentes a los obtenidos con el método de Kjeldahl; esos resultados no son comparables por la diferencia numérica que presentan, ya que en promedio el

resultado de porcentaje de proteína obtenido con Kjeldahl es de 2.97% y el promedio obtenido con el método alternativo es de 3.57%. Al observar la reproducibilidad del método alternativo, se buscó una forma de poder establecer un factor de corrección, dicho factor se encontró numéricamente despejando la ecuación $3.57X = 2.97$; se encontró que el factor de corrección es de 0.8319. Se hace notar que éste método no es de un criterio cuantitativo, sino que semicuantitativo, para orientación del pequeño y mediano productor de leche, según los objetivos hacia los cuales está encaminado éste trabajo de investigación.

Para el análisis de grasas se evaluaron dos métodos alternativos. El primero de ellos fué el **Proceso Gravimétrico de Werner Schimed**, con el cual se debería observar una separación adecuada del material constituido por la grasa para realizar la lectura de la cantidad de grasa contenida en la leche, pero la separación observada fué mínima por lo que no se pudo realizar una lectura correcta. Este método no se ajustó a los objetivos de la investigación al no revelar una lectura adecuada de la cantidad de grasa y al invertir mucho tiempo para su realización.

9. DISCUSION DE RESULTADOS

El resultado obtenido con el método del reactivo de Folín no es de utilidad para la evaluación de las proteínas, ya que se desarrollaron una serie de ensayos en los cuales se trató la leche a distintas diluciones, pero al adicionar el reactivo las coloraciones obtenidas eran uniformes, y para cumplir con los objetivos lo deseado era que a diferente dilución se obtuviera un color distinto o un tono de color marcado, pero con el resultado podemos ver que el reactivo no es específico para reaccionar con las proteínas contenidas en la leche, bajo éstas condiciones de trabajo, es decir, condiciones mínimas de laboratorio.

Con la titulación con formol modificada se obtuvieron resultados reproducibles, ya que se hicieron varias repeticiones del análisis y los resultados fueron bastantes reproducibles obteniendo un promedio de porcentaje de proteínas como se indicó en la sección de resultados. Este método tiene un caracter semicuantitativo, por lo que será de utilidad para el pequeño y mediano productor de leche, para que en la finca productora, pueda hacer su análisis de proteínas y tener una orientación referente a la cantidad de proteína que contiene la leche que distribuyen, con lo cual ellos, puedan asegurar que la leche se expende sin adulteración.

Lo que se hizo con los resultados de éste análisis, fué que a la misma muestra de leche, se le realizaron los análisis de Kjeldahl, análisis que como es de suponer, por ser el método oficial, presenta resultados uniformes, pero distintos a los obtenidos con el método alternativo. Se observó que la diferencia entre los valores se mantenía en cada análisis, por lo que se buscó un número que corrigiera dicha diferencia, el cual al aplicarlo dió el resultado deseado, y corrigió esa desviación que presenta el método alternativo. Lo que se pretende ahora es que la persona al analizar la muestra de leche, con el método alternativo, pueda aplicar ese factor de corrección y pueda obtener un resultado que le de una orientación del valor real del porcentaje de proteína que marcaría su muestra al aplicar el método oficial de Kjeldahl.

Respecto a los resultados obtenidos con los métodos alternativos para analizar grasas, se puede afirmar que el proceso gravimétrico de Werner Schimed es un método que presenta algunas ventajas respecto al método oficial: utiliza reactivos de menor peligro, como por ejemplo, el oficial utiliza ácido sulfúrico densidad 1.82, y pureza 90.5 - 92.8% (concentrado) y el alternativo ácido clorhídrico densidad 1.19, y pureza 37% (concentrado); el alternativo utiliza cristalería de uso común y

de menor precio en comparación con el oficial; pero presenta la gran desventaja que invierte mucho tiempo y además no es preciso ni reproducible. Lo que sucede con éste método es que no hay una separación completa de caseína y grasa, y cuando se desprende la grasa, no es siempre la misma cantidad, y rápidamente el material de caseína se mezcla con el material graso. Por lo tanto éste método no es de utilidad para analizar las grasas contenidas en la leche.

Con el método alternativo, de reacciones con el enlace éster, se realizaron diluciones de leche, la primera sin adición de agua, 5 ml de leche, las demás 4:1, 3:2 y 2:3 (leche:agua), lo ideal hubiese sido que entre cada dilución hubiera diferencias de tonalidad de color marcadas, para que así posteriormente a cada dilución se le realizara el análisis con el método oficial y saber los valores reales de grasa a que correspondería cada tono de color, pero los colores sólo se marcaron bien en las diluciones límite, es decir, un amarillo lechoso se observó en la leche sin adulteración y un amarillo muy fuerte en la dilución 2:3, color que es casi el característico del cloruro férrico al disolverse en el agua, por lo que éste método carece de precisión y no es aplicable para el análisis de grasa contenida en la leche.

10. CONCLUSIONES

- 10.1 El método alternativo del reactivo de Folín, no satisface las características requeridas respecto al método oficial, las cuales deben ser: confiable y reproducible.
- 10.2 La titulación con formol, modificada, es un análisis semicuantitativo de utilidad, por medio de éste, se podrán obtener resultados que brindan una orientación del valor real del porcentaje de proteína que marcaría la muestra al ser analizada con el método oficial de Kjeldahl.
- 10.3 La titulación con formol, modificada, posee las siguientes características, respecto al método oficial de proteínas: confiable, reproducible y de menor costo.
- 10.4 El método alternativo propuesto para el análisis de grasas, el proceso gravimétrico de Werner Schimed, carece de precisión y confiabilidad, por lo tanto no es útil para los objetivos de esta investigación.

10.5 El método alternativo de reacciones con el enlace éster, carece de precisión y confiabilidad, por lo que no es aplicable para el análisis de grasas contenidas en la leche.

11. RECOMENDACIONES

11.1 Que los pequeños y medianos productores de leche, utilicen el método propuesto ya que por ser confiable y de bajo costo, y podrán obtener beneficios favorables a través de su aplicación.



12. REFERENCIAS

1. Ciencia de la Leche. Principios de Técnica Lechera. Compañía editorial Continental S.A. México, 2da edición febrero 1980. pp. 84-86
2. Leche y Productos Lácteos. Norma Guatemalteca Obligatoria COGUANOR 34 046 h5, 34 046 h2, 34 046 h2, Ministerio de Economía. C.A. Publicada en el Diario Oficial de fecha 16 de marzo de 1976.
3. JUDKINS, Henry. 1981. La Leche, su Producción y Procesos. Compañía editorial Continental S.A. México D.F novena impresión. pp. 223-230
4. EGAN. Harold. 1987. Análisis Químico de Alimentos de Pearson. 2da edición. México, Compañía editorial S.A. pp. 31-35, 449-453.
5. Asociación Americana de Salud Pública. Normas para el examen de los Productos Lácteos. Undécima edición 1960. pp. 356,434, 453,477,450,445,446

6. REVILLA, Aurelio. 1982. Tecnología de la Leche. 2da edición. San José de Costa Rica. pp 343-345
7. BLAND, J.M. 1986. Statistical Methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. The Lancet.
8. MENDENHAL, W.P. Sheaffer. 1991. Estadística Matemática con Aplicaciones. Tercera edición, México. Editorial Iberoamericana.
9. WYLER, J. 1996. Métodos alternativos para analizar Grasas en Leches. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Depto. de Análisis Inorgánico. (Entrevista personal)
10. CANGA, M. 1996. Métodos alternativos para analizar Grasas y Proteínas y Leches. Guatemala, Universidad del Valle de Guatemala. Facultad de Farmacia. (Entrevista personal)
11. ALMENGOR, Leticia, 1996. Métodos alternativos para analizar Grasas y Proteínas en Leches. Laboratorio de Productos Ecológicos. LAPRE S.A. Guatemala. (Entrevista Personal)

13. ANEXOS

INDICE DE ANEXOS

- 13.1 Determinación de Proteínas, Método de Kjeldahl, Norma
Guatemalteca Obligatoria COGUANOR 34 046 h5
- 13.2 Determinación de Grasas, Método de Rose-Gottlieb, Norma
Guatemalteca Obligatoria COGUANOR 34 046 h2
- 13.3 Determinación de Grasas, Método de Babcock, Norma
Guatemalteca Obligatoria COGUANOR 34 046 h3
- 13.4 Marcha de la titulación de formol modificada

ANEXO No.1

LECHE Y PRODUCTOS LACTEOS**Determinación de Proteínas**

1. OBJETO

Esta norma tiene por objeto establecer el método para determinar el contenido de proteína en la leche fresca, leche pasteurizada, leche evaporada, leche condensada, leche en polvo y leche malteada.

2. APARATOS NECESARIOS

2.1 Matraz Kjeldahl, de 1000 cc

2.2 Aparato completo de Kjeldahl, para la digestión y destilación.

2.3 Erlenmeyer, de 450 cc

2.4 Bureta, de 50 cc

3. REACTIVOS NECESARIOS

3.1 Oxido mercúrico, o mercurio metálico, reactivo para análisis.

3.2 Sulfato de potasio, o sulfato de sodio anhidro, libre de nitratos.

3.3 Acido sulfúrico concentrado ($d=1.84$), libre de nitrógeno.

3.4 Solución de sulfuro alcalino, o de tiosulfato alcalino. Se prepara al disolver 40 g de sulfuro de potasio en un litro de agua destilada, o bien, puede también usarse una solución de 40 g de sulfuro de sodio u 80 g de tiosulfato de sodio pentahidratado en un litro de agua destilada.

3.5 Solución concentrada de hidróxido de sodio. Se prepara al disolver en agua destilada 450 g de hidróxido de sodio solido, libre de nitratos, después de lo cual se diluye con agua destilada hasta un volumen de un litro. La densidad relativa mínima de esta solución deberá ser mayor de 1.36.

3.6 Granallas de zinc, reactivo para análisis.

3.7 Indicador de rojo de metilo. Se prepara al disolver 1 g de rojo de metilo en 200 cc de alcohol etílico de 95% (v/v)

3.8 Solución de ácido sulfúrico 0.1 N

3.9 Solución de hidróxido de sodio 0.1 N

PREPARACION DE LA MUESTRA

Leche fresca y leche pasteurizada, homogenizada o no. Se lleva la muestra a una temperatura de aproximadamente 20°C, se mezcla hasta que esté homogénea, vaciándola repetidamente de un recipiente limpio a otro y se mide o se pesa rápidamente la cantidad que se va a utilizar en el ensayo. Si se forman grumos de crema y éstos no se dispersan, calentar la muestra en baño de maría a 38°C aproximadamente, y se mezcla hasta que esté homogénea, usar un gendarme, si es necesario, para reincorporar cualquier partícula de crema adherida al recipiente. Cuando la gras permanezca dispersa, se enfría la muestra aproximadamente a 20°C antes de transferir la porción de ensayo.

Leche concentrada sin adición de azúcar (leche evaporada).

Se agita el envase, y al mismo tiempo se invierte varias veces, luego se abre y se vierte el producto, lentamente, a un segundo envase provisto de una tapa hermética. Se mezcla al vertir el contenido repetidas veces de un envase a otro, teniendo cuidado de incorporar e la muestra cualquier cantidad de grasa u otro constituyente adherido a las paredes o a las orillas del primer envase. Finalmente, se transfiere la leche, tan completamente como sea posible, al segundo envase y se cierra este. Si es necesario, se calienta el envase, sin abrir, en un baño maria a 40-60°C a temperatura ambiente, se quita la tapa y se mezcla perfectamente, usando una cuchara o una espátula, hasta que no se note separación de grasa.

Leche concentrada azucarada (leche condensada). Se abre el envase y se mezcla perfectamente la leche con una cuchara o con una espátula. Se emplea movimiento rotatorio de arriba a abajo, en tal forma que todo el contenido del envase se remueva y se mezcle, debe tenerse cuidado de incorporar en la muestra cualquier cantidad de leche adherida a las paredes y a los bordes del envase.

Se transfiere el producto tan completamente como sea posible a un segundo envase provisto de una tapa hermetica y se cierra.

Si fuera necesario, se calienta el envase, sin abrir, en un baño maria a 30-40°C se vacía todo el producto al raspar con una espátula lo que haya quedado adherido a las paredes, a una cápsula de capacidad suficiente para efectuar una mezclado perfecto, el cual se lleva a cabo hasta que toda la masa esté completamente homogénea. Luego se pesan 100 g y se agita vigorosamente. Para el cálculo del contenido de proteínas se debe tomar en cuenta la dilución efectuada.

Leche en polvo y leche malteada. Con el objeto de mezclar perfectamente la leche en polvo, se traslada la muestra a un recipiente bien seco, provisto de tapa hermética, y que tenga una capacidad igual al doble de la cantidad de la muestra; se cierra y se mezcla bien el contenido al agitar e invertir sucesivamente el recipiente. Para sacar la porción de muestra para análisis se abre y se cierra el recipiente tan rápido como sea posible para reducir al mínimo la absorción de humedad.

PROCEDIMIENTO OPERATORIO

a) De acuerdo al del tipo de producto, se pesa o se mide la cantidad de muestra que se indica a continuación:

Leche fresca y leche pasteurizada: 5g de la muestra preparada como se indica.

Leche evaporada: 5g de la muestra preparada como se indica.

Leche condensada: 10 cc de la muestra preparada diluida como se indica.

Leche en polvo y leche malteada: 1g de la muestra preparada como se indica.

b) La muestra pesada o medida se transfiere a un matraz y se agrega 0.7 g de óxido mercuríco o 0.65 g de mercurio metálico, 15g de sulfato de potasio en polvo o de sulfato de sodio anhidro, 25 cc de ácido sulfúrico concentrado y un trocito de parafina, el agregado de esta última tiene por objeto reducir la formación de espuma durante la digestión.

c) Se lleva a cabo la digestión, colocando en forma inclinada el matraz en la hornilla del aparato de Kjeldahl, calentar, al principio suavemente, hasta que ya no se observe formación de espuma, después de lo cual, se lleva a fuerte ebullición hasta que el contenido del matraz se observe cristalino e incoloro y se continúa el calentamiento por lo menos durante 30 minutos adicionales.

d) Se deja enfriar, se agregan aproximadamente 200 cc de agua destilada, se enfría por debajo de 25 °C, se agregan 25 cc de la solución de sulfuro o tiosulfato y se mezcla para precipitar el mercurio.

e) Se agregan unas pocas granallas de zinc para evitar la ebullición en forma brusca.

f) Inclinar el matraz, se agregan con cuidado 50 cc de la solución concentrada de hidróxido de sodio, o mayor cantidad si fuera necesario, para alcanzar fuerte alcalinidad en el contenido del matraz, vertir cuidadosamente por las paredes del mismo, sin agitación, con el fin de que se formen dos capas.

OBSERVACION. La solución de tiosulfato, se puede mezclar con la solución concentrada de hidróxido de sodio antes de agregarlas al matraz.

g) Inmediatamente se conecta el matraz al condensador por medio de una alargadera. El extremo de salida del condensador debe estar sumergido en 50cc de la solución de ácido sulfúrico 0.1 N, contenida en el erlenmeyer de 450 cc de capacidad, a la cual se le agrega unas 5 a 7 gotas de rojo de metilo.

h) Rotar el matraz para mezclar completamente su contenido y luego se calienta.

i) Se destila hasta que el amoniaco haya pasado a la solución ácida contenida en el erlenmeyer, lo cual se logra después de destilar por lo menos 150 cc.

j) Se titula el exceso de ácido en el erlenmeyer con la solución de hidróxido de sodio 0.1 N.

k) Se debe hacer un ensayo en blanco con todos lo reactivos, sin la muestra, seguir todo el procedimiento operatorio descrito, desde el apartado b) en adelante.

6. OBTENCION DE LOS RESULTADOS

El contenido de proteínas en la muestra de leche se expresa en porcentaje en masa, y se obtiene de acuerdo a las fórmulas siguientes.

$$\text{Porcentaje de proteínas} = \frac{(V1 N1 - V2 V2) - (V3 N1 - V4 N2)}{m}$$

m

* 8.932

V1 = Volumen de la solución de ácido sulfúrico para recoger el destilado de la muestra, en cc.

N1 = Normalidad de la solución de ácido sulfúrico.

V2 = Volumen de la solución de hidróxido de sodio empleado en la titulación, en cc.

N2 = Normalidad de la solución de hidróxido de sodio empleada en la titulación.

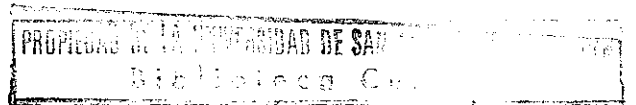
V3 = Volumen de la solución de ácido sulfúrico para recoger el destilado del ensayo en blanco.

V4 = Volumen de la solución de hidróxido empleado en la titulación del ensayo en blanco.

m = masa de la muestra de leche, en gramos.

7. CORRESPONDENCIA

Para la redacción de esta norma se ha tenido en cuenta: la Norma ICAITI 34 046 h5.



ANEXO No.2

LECHE Y PRODUCTOS LACTEOS**Determinación del contenido de grasa****en la leche por el método de Rose-Gottlieb**

1. OBJETO

Esta norma tiene por objeto la determinación de la riqueza en materia grasa, por el procedimiento de Rose-Gottlieb, en la leche fresca, leche pasteurizada, leche evaporada, leche condensada, leche en polvo y leche malteada.

2. DEFINICIONES

2.1 Riqueza en materia grasa. Es la cantidad total, expresada en porcentaje en peso, de sustancias extraíbles de la leche y productos lácteos según el método que se describe en esta norma.

3. APARATOS NECESARIOS

3.1 Balanza analítica de precisión, que aprecie 0.1mg.

3.2 Centrífuga, apropiada para colocar los tubos de extracción y capaz de mantener una velocidad de 600 r/min.

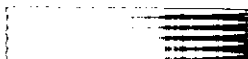
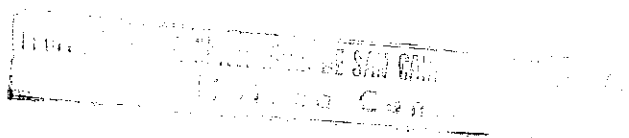
3.3 Estufa, con ventilación y regulador de temperatura, ajustada a 102' mas menos 2'C, o estufa de secado al vacio, ajustada a una temperatura de 70 a 75'C, y una presición absoluta menor de 50 mm de mercurio.

3.4 Erlenmeyer, de 150 a 250 cc de capacidad.

3.5 Tubos o matraces apropiados para la extracción. Se pueden usar tubos de Rohrig o matraces de Mojonnier, con tapones herméticos de vidrio esmerilado, de corcho de neopreno o de cualquier otro material que no sea afectado por los solventes usados. Si se usan tapones de corcho deben ser de calidad y tratados por extracciones sucesivas con eter etílico y eter de petróleo, luego se dejan en agua destialad a 60'C o mas, durante por lo menos 20 min, y se dejan enfriar en la misma agua para que esten saturados cuando se empleen.

3.6 Material para facilitar la ebullición, exento de grasa, no poroso, por ejemplo perlas de vidrio o pedazos de carburo de silicio.

3.7 Baño de maría, de 60 a 70'C.



3.8 Desecador, con cloruro de calcio anhidro, u otro deshidratante apropiado.

4. REACTIVOS NECESARIOS

4.1 Hidróxido de amonio, aprox. 250 g/l de NH_3 , o una solución de una concentración conocida mayor.

4.2 Alcohol etílico, del 94 al 97%

4.3 Eter etílico, exento de peróxido

Observaciones. Para verificar la ausencia de peróxidos, a 10 cc del eter, contenidos en una pequeña probeta provista de tapón de vidrio esmerilado y previamente enjuagada con el eter, se agrega 1 cc de solución de yoduro de potasio al 10% recientemente preparado. Se agita adecuadamente y se deja en reposo durante 1 minuto. No debe aparecer coloración amarilla en ninguna de las capas. El eter etílico puede mantenerse libre de peróxidos al añadir una lamina de zinc húmeda, que haya sido completamente sumerigida en una solución de sulfato de cobre diluída y acidificada, durante un minuto, luego lavada con agua. Deben usarse aproximadamente 80 cm cuadrados de zinc por litro y debe ser cortada en tiras de una longitud suficiente para llegar, desde el fondo hasta por lo menos, la mitad del envase.

4.4 Eter de petroleo, fracción que destila entre 30 y 60'C.

5. PREPARACION DE LA MUESTRA

5.1 Leche Fresca. Se lleva la muestra a una temperatura de, aproximadamente, 20'C, se mezcla hasta que este homogenea, vaciándola repetidas veces de un recipiente limpio a otro, y se mide o se pesa rápidamente la cantidad que se vaya a utilizar. Si se forman grumos de crema y estos no se dispersan, se calienta la muestra en baño de maria a 38'C, aproximadamente, y se mezcla hasta que este homogenea, usar un gendarme, si es necesario, para reincorporar cualquier película de crema adherida al recipiente o al tapon. Cuando la grasa permanezca dispersa, se enfría la muestra a 20'C, aproximadamente, antes de transferir la porción de ensayo.

6. PROCEDIMIENTO OPERATORIO

- a) Se seca el erlenmeyer, agregar unas perlas de vidrio, en una estufa de 30 minutos a una hora. Sedeja enfriar en el desecador y se pesa con aproximadamente de 0.1mg.

- b) De acuerdo al tipo de producto, se pesa, con aproximación de 0.001 g, la cantidad de muestra que se indica a continuación:

	Gramos
Leche fresca	10
Leche pasteurizada	10
Leche evaporada	4-5
Leche condensada	4-5
Leche Integra en polvo	1
Leche en polvo total o parcialmente descremada	1.5
Leche malteada	1

c) De acuerdo con el tipo de producto de que se trate, se procede de la siguiente forma:

Leche fresca y leche pasteurizada: a la muestra, pesada en el matraz se agrega 1.5 cc de hidróxido de amonio, o 2 cc si la muestra es ácida, se mezcla completamente y se continua el bprocedimiento según se indica en el inciso d).

d) Se agregan 10 cc de alcohol etílico, y se mezcla del contenido del matraz o tubo de extracción, agitar bien.

e) Se añaden 25 cc de eter etílico y, después de cerrar el matraz o tubo de extracción, se mezcla el contenido, agitar e invertir repetidamente durante 1 min. Si es necesario, se enfría bajo un chorro de agua.

f) Se añaden 25 cc de eter de petroleo, empleando los primeros centímetros cúbicos para enjuagar el tapon y el interior del cuello del matraz o tubo de extracción, se cierra y se mezcla el contenido, agitar e invertir repetidamente durante 30 seg.

g) Se centrifuga a 600 revoluciones por minuto durante un tiempo suficiente hasta que la capa superior de eter etílico y eter de petroleo este completamente limpida y totalmente separada de la capa acuosa. En algunos casos de leches condensados, para tener una completa separación de la emulsión empleando 600 rev/min., se requieren tiempos hasta de 20 minutos.

Observación. De no disponerse de centrifugadora, el matraz o tubo de extracción se deja en reposo hasta que se efectuó la separación entre las dos capas.

h) Al erlenmeyer tarado conteniendo las perlas de vidrio, transfiere, lo mas completamente posible, la capa de solvente eter etílico y eter de petroleo, por decantacion o con ayuda de un sifón a presión, tener cuidado de no arrastrar ninguna porción de la capa acuosa. A continuación se enjuagan el tapón del aparato de extracción y el sifón con unos mililitros de mezcla de partes iguales de los dos solventes, los cuales se incorporan al contenido del erlenmeyer.

- i) Se repite la extracción otras dos veces, utilizar en cada una de ellas 15 cc de eter etílico y 15 cc de eter de petroleo, seguir el procedimiento descrito anteriormente, pero omitir el enjuague después de la última extracción.

Observaciones. Cuando la transferencia de la capa de solventes no se lleve a cabo por medio de un sifón, puede ser necesaria agregar un poco de agua destilada para elevar el nivel de separación entre las dos capas a fin de facilitar la decantación.

- j) Se evaporan cuidadosamente, en baño maría, los solventes contenidos en el erlenmeyer y se seca el residuo en la estufa, durante una hora, colocar el erlenmeyer en posición horizontal.
- k) Se deja enfriar el erlenmeyer a la temperatura ambiente en el deseacador y se pesa con aproximación de 0.001g. Se repite el proceso de secamiento por periodos de 30 a 60 minutos, efectuar pesadas sucesivas hasta peso constante.
- l) Se agregan 15 a 25 cc de eter de petroleo para verificar si el extracto es completamente soluble. Se calienta suavemente y se agita hasta que toda la grasa se haya disuelto.

- m) Cuando el extracto es completamente soluble en el eter de petroleo, la cantidad de grasa es la diferencia de peso entre el matraz que contenia el extracto y el peso original del matraz vacio.
- n) Si el extracto no es completamente soluble, se extrae la grasa del matraz por lavadas sucesivas con eter de petroleo tibio, dejar que la porción insoluble se sedimente antes de cada decantación. Se enjuaga la parte exterior del cuello del matraz tres veces. Se calienta durante una hora en la estufa el erlenmeyer con el extracto insoluble, colocado en posición horizontal. Luego se enfría en el desecador y se pesa como se describio anteriormente. La cantidad de grasa en este caso es la diferencia de peso entre el erlenmeyer con el extracto total y el del erlenmeyer con el residuo insoluble.

Observación. Se debe hacer una prueba en blanco con 10 cc de agua destilada empleando los mismos reactivos y el procedimiento completo en igual forma que para la muestra. Si la materia extraída excede a 0.0005g, deberán purificarse los reactivos o desecharse.

7. OBTENCION DE LOS RESULTADOS

El contenido de materia grasa en la leche fresca, leche pasteurizada, leche evaporada, leche condensada, leche en polvo y leche malteada, se expresa en porcentaje en masa y se determina mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Grasa, en porcentaje} = \frac{(m_1 - m_2) - (m_3 - m_4)}{m} * 100$$

en la que:

m = masa de la muestra, en gramos.

m₁ = masa del erlenmeyer más el residuo extraído, en gramos.

m₂ = masa del erlenmeyer vacío, o del erlenmeyer con el extracto insoluble en eter de petroleo, en gramos.

m₃ = masa del erlenmeyer con el extracto resultante en la prueba en blanco, en gramos.

m₄ = masa del erlenmeyer vacío empleado en la prueba en blanco, o del erlenmeyer con el extracto insoluble en eter de petroleo, en gramos.

Observación. El análisis se hace en duplicado y se promedian los resultados. Entre dos determinaciones efectuadas simultaneamente

por un mismo operador, no debe haber una diferencia mayor de la indicada a continuación.

Producto	g/100 g de producto
Leche fresca	0.03
Leche pasteurizada	0.03
Leche evaporada	0.05
Leche condensada	0.05
Leche integral en polvo	0.02
Leche en polvo descremada total o parcialmente	0.01
Leche malteada	0.01

8. OBSERVACIONES

El motor de la centrifugadora debe ser a prueba de explosión ya que se trabaja con solventes orgánicos muy volátiles e inflamables. Al hacer el informe sobre los resultados obtenidos, deberá mencionarse cualquier condición no especificada en esta norma, o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre los resultados.

9. CORRESPONDENCIA

Para la redacción de esta norma se ha tenido en cuenta la Norma Centroamericana ICAITI 34 046 h2, Leche y Productos Lácteos.

Métodos de ensayo y análisis. Determinación de la materia grasa, por el método de Rose-Gottlieb.

ANEXO No.3

LECHE Y PRODUCTOS LACTEOS

Determinación del contenido de grasa en la leche por el método de Babcock

1. OBJETO

Esta norma tiene por objeto establecer el método para determinar el contenido de grasa en la leche fresca o en la pasteurizada, por el método de Babcock.

2. APARATOS NECESARIOS

2.1 Botella normalizada de Babcock para análisis de leche. La botella que se utiliza para este análisis es un recipiente de vidrio de fondo plano, el cual tiene un cuello vertical cuando está colocado sobre una superficie horizontal. La altura total de la botella es de 150 a 165 mm. La cantidad de leche que se emplea en este método es de 18 g.

2.1.1 Bulbo. La capacidad del bulbo hasta la unión con el cuello no debe ser menor de 45 cc. La forma del bulbo puede ser cilíndrica o cónica, si es cilíndrica, el diámetro externo debe ser entre 34 y 36 cc; si es cónico, el diámetro externo de la base debe ser entre 31 y 33 mm y el diámetro máximo entre 35 y 37 mm.

2.1.2 Cuello. El cuello tiene forma cilíndrica y un diámetro uniforme desde por lo menos 5 mm por debajo de la marca de graduación inferior hasta 5 mm por encima de la marca más alta. La parte superior del cuello esta ensanchada a un diámetro de no menos de 10 mm. La porción graduada del cuello tiene una longitud no menor de 63.5 mm y está graduada en porcentajes desde 0.0 a 8.0% en números enteros, y en subdivisiones de 0.5% y 0.1%. La longitud de las líneas de graduación que indican los porcentajes en decimas no debe ser menor de 3 mm; las líneas de graduación que indican fracciones de 0.5% no deben ser menores de 4 mm de longitud y se deben proyectar 1 mm a la izquierda de las graduaciones que representan las decimas de porcentaje; las líneas de las graduaciones que representan porcentajes en numeros enteros, se extienden por lo menos hasta la mitad del cuello hacia la derecha y no menos de 2 mm hacia la izquierda de las graduaciones de décimas de porcentaje. Cada graduación que representa porcentaje en número entero esta numerada con un numero colocado al lado izquierdo de la escala. La capacidad del cuello para cada espacio de los numeros enteros de la escala es

de 0.20 cc. El error máximo de la graduación total de la escala, o de cualquier parte de ella, no debe exceder el volumen de la unidad mas pequeña de graduación. Cada botella debe estar construida de tal manera que resista los esfuerzos de tensión a los que será sometida durante la centrifugación.

2.2 Pipeta. La pipeta normalizada para tomar la muestra de leche debe satisfacer la siguiente requisitos:

	mm
Longitud total, máximo	330
Diámetro exterior del tubo de succión	6-8
Longitud del tubo de succión	130
Diámetro exterior del tubo de salida	4.5-5.5
Longitud del tubo de salida	100-120
Distancia de la marca de graduación encima del bulbo	15-45

En la punta de salida, la pipeta posee una ligera constricción para que se descargue en 5 a 8 segundos cuando se la llena con agua hasta la graduación. La marca de graduación de la pipeta sobre el tubo de succión corresponde a 17.6 cc de agua a 20°C, cuando la parte inferior del menisco coincide con dicha marca. El máximo error en la graduación no debe exceder de 0.05 cc. La pipeta debe llevar la expresión 17.6 CC.

2.2.1 Verificación del volumen de la pipeta. Para verificar el volumen de la pipeta, se llena esta con agua destilada, hasta la marca y luego se vacía en una bureta de 25 cc, de capacidad, a la cual se le ha puesto agua destilada, hasta la marca inferior de 25 cc. El volumen de la pipeta se obtiene restando de 25 el volumen al cual llegó el agua después de vaciada la pipeta.

2.3 Medidor de ácido. El aparato que se usa para medir el ácido sulfúrico, consiste de una probeta o de una pipeta graduada para descargar 17.5 cc conectada a una botella para ácido. Dicha botella debe estar provista de una perilla de hule para insuflar aire a presión y cargar así la probeta o pipeta.

2.4 Centrifugadora. La centrifugadora debe estar construida y montada en su totalidad de modo tal que sea capaz, una vez llena a su capacidad total, de girar a la velocidad necesaria con una vibración mínima y sin ningún riesgo de causar accidentes. Durante la centrifugación, se debe calentar eléctricamente, o de cualquier otro modo apropiado, a una temperatura de por lo menos 55°C. Si es posible debe contar con un indicador de velocidad. La velocidad de rotación apropiada para diferentes tamaños de centrifugadora se expresa a continuación, entendiéndose en la misma por diámetro de giro la distancia total entre los fondos

internos de dos tazas opuestas de la centrifugadora, en posición de giro, medida a través del eje de rotación.

2.5 Divisores o calibradores. para medir la columna de grasa.

2.6 Baño maría para las botellas de Babcock. Provisto de un termometro y un mecanismo para mantener la temperatura de 55 a 60°C.

3: REACTIVOS NECESARIOS

3.1 Acido Sulfúrico concentrado, cuya densidad relativa esté comprendida entre 1.82 y 1.83 a 20°C.

4.1 CONSERVACION DE LAS MUESTRAS PARA EL ANALISIS

Cuando el análisis no se lleve a cabo de inmediato, las muestras se deben enfriar a una temperatura por encima de la de congelación y guardarlas a dicha temperatura.

Cuando las muestras deben ser transportadas a lugares distantes, se llenan por completo los recipientes y se tapan herméticamente. Pueden emplearse sustancias conservadoras, tales como: tabletas conteniendo por lo menos 0.5 g de uno de los siguientes ingredientes activos: bicloruro de mercurio, dicromato de potasio u otra sustancia apropiada, sin que el peso total de cada tableta exceda de 1 g; la dosificación deberá ser de una tableta por cada

240 cc de leche. También se puede emplear 0.1 cc de solución al 36% de formaldehído por cada 30cc de leche.

5. PREPARACION DE LA MUESTRA

Se calienta la muestra en baño maría hasta aproximadamente 38°C , mezclar hasta homogeneizar la muestra, usar una varilla, si fuera necesario, para reincorporar cualquier porción de la crema que se adhiriera al recipiente o a su tapa. Si la grasa permanece dispersa después de este tratamiento, se enfría la muestra a 20°C aproximadamente, antes de tomar la porción para el análisis, lo cual se hace de inmediato.

6. PROCEDIMIENTO OPERATORIO

- a) Con la pipeta se transfieren 18g de la muestra previamente preparada a la botella de Babcock.
- b) Después de aproximadamente 10 s de haberse vaciado libremente la pipeta, se sopla la misma para que caiga la leche adherida a la punta.
- c) Se agregan poco a poco, aproximadamente 17.5 cc del ácido sulfúrico concentrado, llevado previamente a una temperatura de 15 a 20°C, arrastrar hacia el bulgo las trazas de leche adheridas al cuello de la botella. Se agita hasta que hayan desaparecido todos los coagulos, se coloca la botella en la

centrifugadora calentada previamente, se equilibra mediante un peso similar colocado en la taza opuesta, y después de alcanzar la velocidad apropiada, se deja girar durante 5 min.

- d) Se agrega agua a una temperatura de 60°C o mayor, hasta que esté lleno el bulbo de la botella y se pone en marcha nuevamente la centrifugadora; después de alcanzar la velocidad apropiada se deja girar durante 2 min.
- e) Se agrega agua caliente hasta que el líquido se acerque a la graduación superior de la escala.
- f) Se centrifuga durante 1 minuto más a una temperatura comprendida entre 55 y 60°C y se transfiere la botella a un baño de agua caliente mantenido a la misma temperatura anterior, se sumerge hasta el nivel de la parte superior de la columna de grasa y se deja hasta que la columna esté en equilibrio y hasta que la superficie inferior de la grasa adquiera su forma final, lo cual toma no menos de 3 minutos.
- g) Se retira la botella del baño maria, se saca y con la ayuda de los divisores se mide la columna de grasa, en porcentaje en peso, desde la superficie inferior hasta el punto mas alto del menisco superior. En el momento en que se hace la medida, la

columna de grasa debe estar translúcida, de color amarillo oro o ambar, y libre de partículas suspendidas visibles.

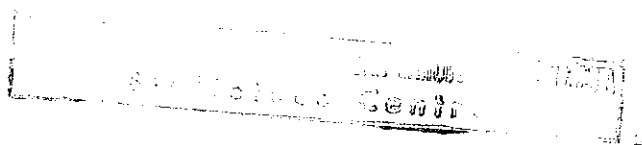
Observación. Se deben rechazar todas las pruebas en los que la columna de grasa tenga apariencia lechosa o demuestre la presencia de coágulos o materias carbonizadas, o en las cuales la lectura no se haya podido hacer clara o exactamente, se repita la prueba ajustando la cantidad de ácido sulfúrico agregado.

7. OBTENCION DE LOS RESULTADOS

El contenido de grasa en la leche se expresa como porcentaje en masa, y se obtiene de la lectura directa sobre la escala del cuello de la botella de Babcock.

8. CORRESPONDENCIA

Para la redacción de esta norma se debe considerar la norma ICAITI 34 046 h3.



Anexo No.4

TITULACION CON FORMOL MODIFICADA

1. Medir con una Probeta 20 ml de leche, previamente agitada, y trasvasar a un Erlenmeyer de 250 ml.
2. Adicionar 20 gotas de Fenolftaleína.
3. Adicionar 16 gotas de solución de Oxalato de Potasio saturada.
4. Mezclar, dejar en reposo por 5 minutos.
5. Neutralizar la solución con NaOH 0.1M hasta obtener un color rosa. (el color rosa aparecerá luego de adicionar de 10 a 15 gotas de NaOH 0.1M)
6. Adicionar 2 ml (40 gotas) de Formalina y mezclar. Dejar en reposo por 5 minutos.
7. Titular la nueva acidez con NaOH 0.1M hasta el mismo color rosa (titulación a ml). La titulación se puede hacer con un gotero calibrado de 18 gotas por mililitro de agua, y así realizar la titulación gota a gota, y luego pasar el número total de gotas a mililitros.
8. Titular separadamente 2 ml de Formalina + 10 ml de agua como blanco (b ml).

CALCULOS: (1)

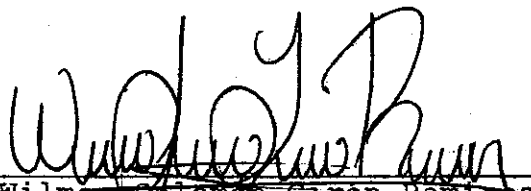
$$1.7 (a-b)0.8319 = \text{Porcentaje de proteínas}$$

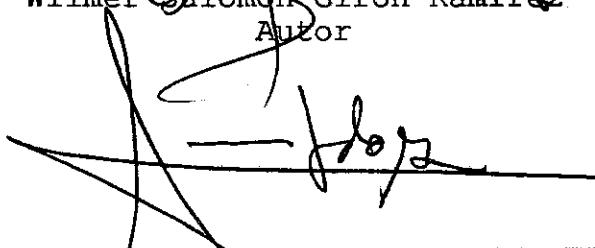
a = mililitros de NaOH 0.1M usado en la muestra

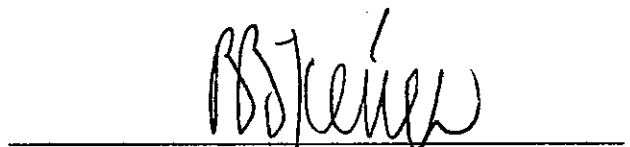
b = mililitros de NaOH 0.1M usado con el blanco

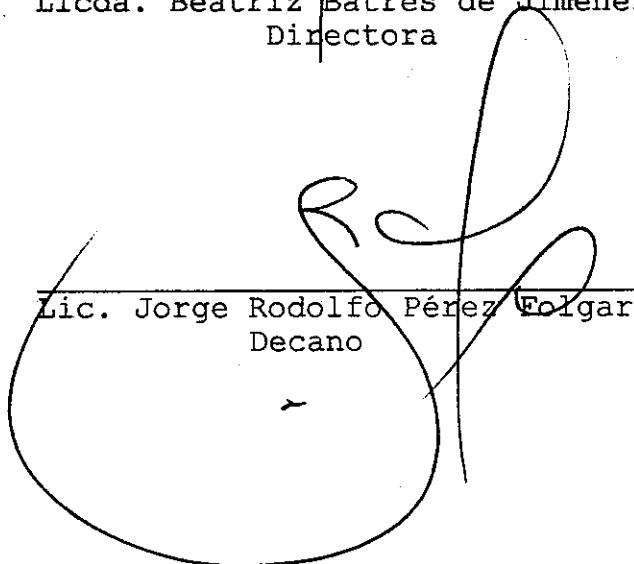
0.8319 = factor de corrección experimental

(1) Referencia método de titulación con formol modificada.


Wilmer Salomón Girón Ramírez
Autor


Lic. Luis Fernando Girón Rodas
Asesor


Licda. Beatriz Batres de Jiménez
Directora


Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar
Decano