

**NORMA  
VENEZOLANA**

---

**COVENIN  
370:1997**

**LECHE Y SUS DERIVADOS.  
DETERMINACIÓN  
DE PROTEÍNAS**

**(2<sup>da</sup> Revisión)**



## PROLOGO

La Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN), creada en 1958, es el organismo encargado de programar y coordinar las actividades de Normalización y Calidad en el país. Para llevar a cabo el trabajo de elaboración de normas, la COVENIN constituye Comités y Comisiones Técnicas de Normalización, donde participan organizaciones gubernamentales y no gubernamentales relacionadas con un área específica.

La presente norma sustituye totalmente a la Norma Venezolana COVENIN 370-94 fue elaborada bajo los lineamientos del Comité Técnico de Normalización **CT10 Productos alimenticios** por el Subcomité Técnico **SC4 Productos lácteos y derivados**, y aprobada por la COVENIN en su reunión No. 148 de fecha 1997/09/10.

En la elaboración de esta Norma participaron las siguientes entidades: Ministerio de Sanidad y Asistencia Social, Instituto Nacional de Higiene, Universidad Simón Bolívar, Instituto Nacional de Nutrición, Cadipros Milk Products, Nestlé de Venezuela, S.A, PARMALAT.



**NORMA VENEZOLANA  
LECHE Y SUS DERIVADOS.  
DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS**

**COVENIN  
370:1997  
(2<sup>da</sup> Revisión)**

## 1 OBJETO

Esta Norma Venezolana establece el método de ensayo para determinar el contenido de proteínas en leche y sus derivados.

## 2 REFERENCIAS NORMATIVAS

La siguiente norma contiene disposiciones que al ser citadas en este texto, constituyen requisitos de esta Norma Venezolana. La edición indicada estaba en vigencia en el momento de esta publicación. Como toda norma está sujeta a revisión se recomienda, a aquéllos que realicen acuerdos en base a ellas, que analicen la conveniencia de usar las ediciones más recientes de las normas citadas seguidamente.

**COVENIN 938-83** Leche y sus derivados. Método para la toma de muestras de leche y productos lácteos.

## 3 PRINCIPIO

El método consiste en la mineralización de la materia orgánica por digestión con ácido sulfúrico concentrado y catalizadores, para lograr transformar el nitrógeno en amoníaco, el cual se destila y se recolecta en una solución ácida y se valora posteriormente.

## 4 APARATOS

- 4.1 Balanza analítica con apreciación de 0,1 mg.
- 4.2 Aparato de digestión y destilación de Kjeldahl.
- 4.3 Matraces de Kjeldahl de 300 - 500 ml.
- 4.4 Baño de María.

## 5 REACTIVOS

**5.1 Ácido clorhídrico 0,1 N:** Diluir 8,5 ml de ácido clorhídrico de pureza 37 % con agua hasta 1000 ml, estandarizar contra carbonato de sodio previamente desecado a 270 °C por una hora.

**5.1.1 Estandarización:** Pesar 0,15 g del carbonato de sodio anhidro y disolver en 100 ml de agua, añadir dos gotas de solución indicadora de rojo de metilo, titular con la solución de HCl 0,1 N.

Un (1) ml equivale a 5,299 mg. de carbonato de sodio.

**5.2 Sulfato de potasio para análisis.**

**5.3 Sulfato cúprico pentahidratado.**

**5.4 Ácido sulfúrico concentrado.**

**5.5 Ácido sulfúrico 0,1 N:** Añadir lentamente y con agitación 3 ml de ácido sulfúrico a 1000 ml de agua, enfriar a 25 °C y determinar la normalidad contra carbonato de sodio anhidro como se indicó en el punto 5.1.1.

**5.6 Hidróxido de sodio p.a.**

**5.6.1 Solución de hidróxido de sodio al 50 %**

**5.6.2 Hidróxido de sodio 0,1 N:** Disolver 16,2 g de hidróxido de sodio en 150 ml de agua libre de dióxido de carbono, enfriar a temperatura ambiente, filtrar y transferir 40 ml a un recipiente plástico y diluir con agua hasta 1000 ml, estandarizar contra biftalato de potasio, previamente pulverizado y desecado a 120 °C por dos horas.

**5.6.2.1 Estandarización:** Pesar exactamente alrededor de 0,5 g de biftalato, disolver en 75 ml de agua libre de CO<sub>2</sub>, añadir dos gotas de fenolftaleína y titular con la solución de Na OH 0,1 N.

Un (1) ml de la solución equivale a 20,42 mg. de biftalato de potasio.

**5.7 Rojo de metilo**

**5.7.1 Solución indicadora de rojo de metilo:** Disolver 1 g de rojo de metilo en 200 ml de alcohol etílico al 95 %.

**5.8 Solución indicadora rojo de metilo - azul de metileno:** Disolver 100 mg. de Rojo de Metilo y 50 mg. de azul de metileno en 100 ml de alcohol etílico al 95 %. Guardar en frasco ámbar.

**5.9 Ácido bórico:** Disolver 40 g de ácido bórico en agua, cantidad suficiente para un litro.

## 6 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

**6.1** El material a ensayar es leche fluida, leche en polvo, leche evaporada o condensada, bebidas lácteas saborizadas, mantequilla, quesos, crema, yogurt, etc.

**6.2 Leches fluidas o productos lácteos líquidos no homogeneizados.**

**6.2.1** Llevar la muestra a una temperatura de aproximadamente 20 °C, mezclar hasta que esté

homogénea vertiéndola repetidas veces de un recipiente a otro.

**6.2.2** Si se forman grumos de crema y éstos no se dispersan, calentar la muestra en baño de María a 38 °C aproximadamente y mezclar hasta que esté homogénea; si es necesario, usar un policía para reincorporar cualquier partícula de crema adherida al recipiente o al tapón.

**6.2.3** Enfriar la muestra y dejar en reposo durante 30 min. en un ambiente a 20 °C, a fin de permitir el desprendimiento de las burbujas de aire y la estabilización de la temperatura; agitar suavemente para evitar reincorporación de aire en la leche.

### **6.3 Leche en polvo**

Antes de abrir la muestra para el análisis, homogeneizar bien por agitación o por inversión y giro del recipiente. Evite la humedad y la temperatura excesiva cuando abra el recipiente.

### **6.4 Leche condensada o evaporada**

Llevar el recipiente sin abrir a un baño de agua a 60 °C, sacar y agitar vigorosamente cada 15 minutos. Después de dos horas sacar la lata y dejar enfriar a temperatura ambiente, abrir la lata e incorporar el producto adherido a la tapa y mezclar con una espátula o con una cucharilla. Si la grasa se separa la muestra no está convenientemente preparada.

### **6.5 Leche condensada azucarada**

**6.5.1** Llevar el recipiente sin abrir a un baño de agua de 30 °C a 35 °C, sacar y agitar vigorosamente cada 15 minutos. Después de dos horas sacar la lata y dejar enfriar a temperatura ambiente, abrir la lata e incorporar el producto adherido a la tapa y mezclar con una espátula o con una cucharilla. Si la grasa se separa la muestra no está convenientemente preparada.

**6.5.2** Pesar 40 g de la muestra preparada, transferir a un matraz aforado de 200 ml y llevar a volumen con agua destilada y homogeneizar.

### **6.6 Mantequilla**

Ablandar la muestra completa en el recipiente o envase original, colocándolo en un baño de agua a una temperatura menor de 39 °C, evitar el sobrecalentamiento que ocasiona separación visible de la cuajada, agitar vigorosamente con una espátula para incorporar la grasa separada, continuar agitando hasta que la muestra tenga una consistencia cremosa.

### **6.7 Queso**

**6.7.1** Quesos duros o semiduros: Cortar la muestra en trozos y moler en un procesador de alimentos o rallar finamente y mezclar. Conservar en envases herméticos.

**6.7.2** Quesos blandos: colocar de 300 a 600 g en un envase de licuadora de 1 litro previamente enfriado a una temperatura < 15 °C y licuar por 2-5 minutos, hasta obtener una pasta homogénea. Conservar en envases herméticos.

### **6.8 Yogurt**

Mezclar la muestra con una espátula hasta homogeneidad.

### **6.9 Crema**

Antes de tomar la porción de ensayo, homogeneizar la muestra por agitación utilizando un agitador manual hasta obtener una emulsión uniforme. Si la muestra es muy espesa calentar a 30-35 °C y mezclar. Si se observan separaciones de grasa calentar a 38 °C en un baño de maría y agitar vigorosamente. Evitar el sobrecalentamiento. Pesar la muestra inmediatamente. El material a ensayar consiste en una muestra de leche fluida, leche en polvo o leche condensada, tomadas según la Norma Venezolana COVENIN 938.

## **7 PROCEDIMIENTO**

### **7.1 Digestión**

**7.1.1** Medir 1 - 2 ml de la muestra preparada o pesar de 0.1 a 3 g, dependiendo del contenido de nitrógeno. Ej: En el caso de la leche condensada azucarada pesar alrededor de 3 g de la muestra preparada. Medir 2 ml de la solución trabajo.

**7.1.2** Agregar 10 g de sulfato de potasio, 0,5 g de sulfato de cobre y 25 ml de ácido sulfúrico concentrado y algunas perlas de vidrio.

**7.1.3** Proceder a la digestión calentando primero suavemente hasta que no haya formación de espuma, elevar gradualmente la temperatura hasta ebullición, continuar hirviendo hasta obtener una solución transparente libre de partículas de carbón.

**7.1.4** Enfriar, añadir unos 20 ml de agua destilada por las paredes y observar la ausencia de partículas de carbón, si todavía están presentes continuar la digestión.

### **7.2 Destilación**

**7.2.1** Enfriar, añadir 200 ml de agua destilada, inclinar el matraz y añadir con precaución 50 ml o más de la solución de NaOH al 50 % para alcalinizar fuertemente

el medio, verter cuidadosamente por las paredes sin agitación para que se formen dos capas.

**7.2.2** Inmediatamente conectar el balón de Kjeldahl al condensador y recoger el destilado por cualquiera de los siguientes métodos:

### 7.2.2.1 Método 1

**7.2.2.1.1** Sumergir el extremo de salida del condensador en 50 ml de la solución de ácido bórico, al cual se le ha agregado 3 gotas del indicador rojo de metilo - azul de metileno.

**7.2.2.1.2** Destilar hasta que todo el amoníaco haya pasado a la solución ácida, generalmente se logra al destilar 150 ml y se reconoce porque el indicador cambia de morado intenso (en medio ácido) a verde en medio alcalino.

**7.2.2.1.3** Titular el borato de amonio formado con solución de ácido clorhídrico 0,1 N, hasta la aparición de un color gris verdoso - gris metálico sin visos de rosado.

### 7.2.2.2 Método 2

**7.2.2.2.1** Sumergir el extremo de salida del condensador en 50 ml de ácido sulfúrico 0,1 N, al cual se le ha agregado 5 a 7 gotas de la solución indicadora de rojo de metilo.

**7.2.2.2.2** Destilar hasta que el amoníaco haya pasado a la solución ácida, lo cual se logra con la destilación de 150 ml aproximadamente, la solución debe permanecer de color rojo.

**7.2.2.2.3** Titular el exceso de ácido sulfúrico con solución 0,1 N de hidróxido de sodio hasta cambio de color del indicador del rojo al anaranjado.

**7.2.2.2.4** Se debe realizar un ensayo en blanco, siguiendo el mismo procedimiento que corresponda e indicado en los puntos 7.2.2.1 ó 7.4.2.2.

## 8 CÁLCULOS

### 8.1 Método 1.

$$\text{Proteínas} = \frac{V_0 \times 0,014 \times 100 \times 6,38 \times N}{V_6 m}$$

Donde:

$V_0$  = Volumen de HCl 0,1 N gastado en la titulación

$N$  = Normalidad del Ácido Clorhídrico

0,014 = g / miliequivalente de Nitrógeno.

$V$  = Volumen de la muestra en mililitro

$m$  = Peso directo de la muestra o a partir de la dilución en gramos.

### 8.2 Método 2

$$\% \text{ Proteínas} = \frac{(V_1 N_1 - V_2 N_2) \times 0,014 \times 100 \times 6,38}{V_6 m}$$

Donde:

$V_1$  = Volumen de la solución de  $H_2SO_4$  0,1 N.

$N_1$  = Normalidad de la solución de  $H_2SO_4$

$V_2$  = Volumen de la solución de NaOH 0,1 N utilizada para titular el exceso de ácido.

$N_2$  = Normalidad de la solución del NaOH.

0,014 = g / equivalente de nitrógeno.

$V$  = Volumen de la muestra en mililitro.

$m$  = Peso directo de la muestra o peso a partir de la dilución en gramos.

## 9 REPETIBILIDAD

La diferencia entre dos resultados de dos determinaciones efectuadas por el mismo analista en las mismas condiciones, no debe ser mayor de 0,1 %.

## 10 INFORME

En el informe debe contener lo siguiente:

10.1 Fecha de realización del ensayo

10.2 Identificación completa de la muestra

10.3 Resultado del análisis realizado. Expresar el resultado en p/v ó p/p.

10.4 Ensayo realizado según la Norma Venezolana COVENIN 370.

10.5 Nombre del analista

10.6 Observaciones.

## BIBLIOGRAFÍA

AOAC Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist XV Ed - 1990.

Participaron en la elaboración de la primera revisión de esta norma: Cira García, Gladys Méndez, Irma Herrera, Leonida Escalona, Malín Alcalá, Márjorie Guiñán, María Cristina Polanco, Wagner Añez.

Participaron en esta revisión: Cira García, Deynny Noguera, Gladys Méndez, Luis Blanco, María Cristina Polanco, Zenia Monsalve.

**COVENIN  
370:1997**

**CATEGORÍA  
B**

---

**COMISION VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES  
Av. Andrés Bello Edif. Torre Fondo Común Pisos 11 y 12  
Telf. 575.41.11 Fax: 574.13.12  
CARACAS**

**publicación de:**



**I.C.S: 67.100.01**

**ISBN: 980-06-1413-5**

**RESERVADOS TODOS LOS DERECHOS**  
Prohibida la reproducción total o parcial, por cualquier medio.

---

**Descriptoros:** Leche, determinación de proteína, producto lácteo, proteína.