

**NORMA
VENEZOLANA**

**COVENIN
909:1996**

**FÓRMULAS ALIMENTICIAS
ADAPTADAS PARA
LACTANTES**

(1^{era} 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 909-79 fue elaborada bajo los lineamientos del Comité Técnico de Normalización CT10 Productos Alimenticios por el Subcomité Técnico SC1 Alimentos para niños, y aprobada por la COVENIN en su reunión No. 143 de fecha 04/12/96 , con carácter obligatorio en todo su contenido.

En la elaboración de esta norma participaron las siguientes entidades: Ministerio de Sanidad y Asistencia Social, Instituto Nacional de Higiene, Instituto Nacional de Nutrición, Bristol-Myers Squibb, S.A., Indulac, Nestlé de Venezuela, Laboratorios Wyeth S.A.

**NORMA VENEZOLANA
FÓRMULAS ALIMENTICIAS
ADAPTADAS PARA LACTANTES**

**COVENIN
909:1996
(1^{era} Revisión)**

1 OBJETO

Esta Norma Venezolana contempla los requisitos que deben cumplir las fórmulas alimenticias adaptadas para lactantes.

2 REFERENCIAS NORMATIVAS

Las siguientes normas contienen disposiciones que al ser citadas en este texto, constituyen requisitos de esta Norma Venezolana. Las ediciones indicadas estaban 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.

2.1 Normas Venezolanas COVENIN

COVENIN 368-82	Leche fluida. Determinación de cenizas.	COVENIN 1013-82	Leche y sus derivados. Determinación de azúcares reductores y no reductores.
COVENIN 369-82	Leche y sus derivados. Determinación de cloruros.	COVENIN 1077-82	Leche en polvo. Determinación de humedad.
COVENIN 370-94	Leche. Determinación de proteínas.	COVENIN 1078-96	Leche en polvo. Determinación de partículas quemadas y sedimentos.
COVENIN 844-78	Alimentos. Determinación de sodio y potasio.	COVENIN 1104-96	Alimentos. Determinación del número más probable de coliformes, de coliformes fecales y de <i>Escherichia coli</i> .
COVENIN 902-87	Alimentos. Método para recuento de colonias de bacterias aerobias en placas de Petri.	COVENIN 1115-96	Leche en polvo. Determinación del índice de insolubilidad.
COVENIN 921-82	Alimentos. Determinación de yodo.	COVENIN 1126-89	Alimentos. Identificación y preparación de muestras para el análisis microbiológico.
COVENIN 931-82	Leche fluida. Determinación de grasa. Método de Roesse Gottlieb.	COVENIN 1157-82	Alimentos. Determinación de vitamina B ₆ . Método microbiológico.
COVENIN 938-83	Leche y productos lácteos. Método para la toma de muestras.	COVENIN 1158-82	Alimentos. Determinación de calcio. Método de referencia.
COVENIN 948-83	Alimentos. Determinación de arsénico.	COVENIN 1170-83	Alimentos. Determinación de hierro
COVENIN 986-82	Alimentos. Determinación de calcio y magnesio. Método complexométrico.	COVENIN 1178-83	Alimentos. Determinación de fósforo
		COVENIN 1184-84	Alimentos. Determinación de vitamina B ₂ (Riboflavina).
		COVENIN 1185-82	Alimentos. Determinación del ácido nicotínico y nicotinamida. Método microbiológico.
		COVENIN 1215-82	Alimentos. Determinación de cobre.
		COVENIN 1216-85	Alimentos. Determinación de la vitamina E (alfa-tocoferol)

- COVENIN 1217-82** Alimentos. Determinación de pantotenato de calcio. Método microbiológico.
- COVENIN 1290-84** Alimentos. Determinación de ácido fólico.
- COVENIN 1291-88** Alimentos. Aislamiento e identificación de Salmonella.
- COVENIN 1292-89** Alimentos. Aislamiento y recuento de Staphylococcus aureus.
- COVENIN 1295-82** Alimentos. Determinación de ácido ascórbico (vitamina C).
- COVENIN 1333-78** Alimentos. Determinación de zinc.
- COVENIN 1335-78** Alimentos. Determinación de plomo.
- COVENIN 1336-78** Alimentos. Determinación de cadmio.
- COVENIN 1337-90** Alimentos. Método para recuento de mohos y levaduras.
- COVENIN 1407-79** Alimentos. Determinación de mercurio.
- COVENIN 1408-79** Alimentos. Determinación de manganeso.
- COVENIN 1409-79** Alimentos. Determinación de hierro por absorción atómica.
- COVENIN 1552-93** Alimentos. Detección y recuento de Clostridium perfringens.
- COVENIN 1603-80** Alimentos. Método de ensayo para determinación de aflatoxinas.
- COVENIN 1644-93** Alimentos. Aislamiento y recuento de Bacillus cereus.
- COVENIN 1949-82** Alimentos. Determinación de cianocobalamina. (Vitamina B₁₂)
- COVENIN 2124-84** Agua potable. Determinación de Aluminio por colorimetría. Método de referencia.
- COVENIN 2278-85** Alimentos comercialmente estériles. Evaluación de la esterilidad comercial.
- COVENIN 2317-85** Agua. Determinación de nitrato.
- COVENIN 2318-85** Alimentos. Determinación de vitamina A.
- COVENIN 2381-86** Alimentos. Determinación de vitamina B₁ (Tiamina).
- COVENIN 2729-90** Productos proteínicos vegetales (PPV). Directrices generales para su utilización en los alimentos de consumo humano.
- COVENIN 2952-92** Norma general para el rotulado de los alimentos envasados.

2.2 Otras Normas

ISO 10560 Milk and milk products. Detección of Listeria monocytogenes

Nota Introductoria: Solamente las fórmulas de inicio y/o preparaciones para lactantes, quedan sujetas con carácter de obligatorio cumplimiento al acuerdo de compromiso por parte de los productores y comercializadores de preparaciones para lactantes, para la promoción, protección y apoyo de la lactancia materna; basado en el Código Internacional de Comercialización de sucedáneos de la leche materna de la Organización Mundial de la Salud.

3 DEFINICIONES

Para los propósitos de esta Norma Venezolana se aplican las siguientes definiciones:

3.1 Fórmulas alimenticias para lactantes: Es el producto en forma líquida sometido a un proceso de esterilidad comercial ó en polvo elaborado de conformidad con esta norma y/o normas internacionales aplicables, destinado a utilizarse cuando sea necesario como sustituto de la leche humana en la satisfacción de los requerimientos nutricionales normales de los lactantes.

3.2 Fórmulas de inicio (Preparaciones para lactantes): Es el producto definido en 3.1, destinado a la alimentación de lactantes sanos hasta la edad de seis (6) meses y adaptado a sus características fisiológicas.

3.3 Fórmula de seguimiento o continuación (Alimento complementario): Es el producto definido en 3.1, diseñado como complemento de la leche materna o de las preparaciones para lactantes, cuando aquélla o éstas resulten insuficientes para satisfacer las necesidades nutricionales del lactante a partir de los seis (6) meses de edad.

3.4 Fórmulas para neonatos de bajo peso: Es el producto definido en 3.1, elaborado a base de leche modificada de vaca, diseñada para garantizar los requerimientos nutricionales especiales de los neonatos con peso inferior a 2,500 Kg, bien sea prematuros, a término o postmaduros.

3.5 Fórmulas de soya: Es el producto definido en 3.1, de base no láctea, preparado exclusivamente a partir de proteína aislada de soya y aceites vegetales, destinado a cubrir las necesidades nutricionales en lactantes, con intolerancia a la lactosa y/o alergia a la proteína de la leche de vaca.

3.6 Fórmulas lácteas sin lactosa: Es el producto definido en 3.1, preparado básicamente a partir de caseína, exenta de lactosa, destinado a la alimentación de los lactantes con intolerancia a la lactosa.

3.7 Fórmulas hipoalérgicas: Es el producto definido en 3.1, preparado a base de hidrolizado de proteína del suero (péptido de cadena corta y aminoácidos), de baja osmolalidad y exenta de lactosa y sacarosa.

3.8 Fórmulas para desórdenes metabólicos: Es el producto definido en 3.1, diseñado especialmente para lactantes con enfermedades metabólicas congénitas.

3.9 Fórmulas acidificadas: Es el producto definido en 3.1, con base láctea sometido a un proceso de acidificación biológica o química, para lactantes con trastornos gastrointestinales.

3.10 Fórmulas elementales y semielementales: Es el producto definido en 3.1, cuyos ingredientes han sido hidrolizados para facilitar su absorción.

3.11 Neonato: Recién nacido. Comprende al niño desde su nacimiento hasta los 28 días.

3.12 Lactante: Que lacta. Niño cuya base de alimentación la constituye la leche. Se considera lactante durante el primer año de vida.

3.13 Caloría: Es una kilocaloría o "Caloría grande" (un kilojulio es equivalente a 0,239 kilocalorías)

3.14 Ingredientes facultativo: Son aquellos ingredientes, además de las vitaminas y minerales, que pueden añadirse para proporcionar los nutrientes que se encuentran

normalmente en la leche materna, y obtener una fórmula adecuada como fuente de nutrición del niño.

4 CLASIFICACIÓN DE LAS FÓRMULAS ADAPTADAS PARA LACTANTES.

4.1 Según su ingrediente primario:

4.1.1 Fórmulas lácteas

4.1.2 Fórmulas no lácteas

Estos dos grupos a su vez comprenden:

- Fórmulas de inicio y/o preparación para lactantes
- Fórmulas de continuación y/o seguimiento (alimento complementario).
- Fórmulas para neonatos de bajo peso
- Fórmulas de soya
- Fórmulas lácteas sin lactosa
- Fórmulas hipoalérgicas
- Fórmulas para desórdenes metabólicos
- Fórmulas acidificadas
- Fórmulas elementales y semielementales

5 REQUISITOS

Las fórmulas alimenticias adaptadas para lactantes deben cumplir con los siguientes requisitos:

5.1 Requisitos generales

5.1.1 La fórmula alimenticia adaptada para lactantes, debe ser un producto a base de leche de vaca y/o de otros componentes de origen animal y vegetal, que se consideren adecuados para la alimentación de los lactantes.

5.1.2 El producto y todos sus componentes no deben haber sido tratados con radiaciones ionizantes.

5.1.3 Los ingredientes deben ser limpios, sanos, inocuos, y de buena calidad.

5.1.4 La utilidad de los nutrientes, considerados ingredientes facultativos, debe estar demostrada científicamente. Cuando se añada alguno de éstos nutrientes, el alimento (fórmula) debe contener las cantidades ajustadas de las necesidades de los lactantes.

5.1.5 Aditivos alimentarios: En la preparación de las fórmulas alimenticias adaptadas para lactantes se permitirá el uso de los aditivos indicados en la tabla 1

5.1.6 Contenido energético: Cuando se prepare de acuerdo a las instrucciones de empleo, 100 ml del producto listo para usar, debe proporcionar las Kilocalorías establecidas en la tabla 2.

5.1.7 La calidad de la proteína no debe ser inferior al 80% de la Lactoalbumina y se determinará utilizando el método de la relación proteínica neta relativa (RPN rel) descrito en la Norma Venezolana COVENIN 2729 u otro método oficial. (Cómputo químico corregido por digestibilidad). Esta determinación no se considera control de rutina.

5.1.8 El producto debe prepararse con especial cuidado, mediante Buenas Prácticas de Manufactura (BPF), a fin de eliminar totalmente los residuos de los plaguicidas que puedan exigir la producción, almacenamiento o elaboración de las materias primas o del producto final.

5.1.9 Pueden añadirse aminoácidos esenciales, para mejorar la calidad de las proteínas, en las cantidades necesarias al efecto, y sólo se pueden utilizar las formas naturales L de los aminoácidos.

5.1.10 El producto no debe contener contaminantes tales como:

5.1.10.1 Residuos de hormonas ni de antibióticos, especialmente de sustancias farmacológicamente activas. Los antibióticos son determinados según el método establecido en el anexo A.9.

5.1.10.2 Se recomienda la investigación de otros contaminantes considerando los límites indicados en la Tabla 3.

NOTA 1: Las determinaciones indicadas en los numerales 5.1.10.1 y 5.1.10.2 no se consideran controles de rutina.

5.2 Requisitos Físicos químicos

5.2.1 La fórmula alimenticia adaptada para lactantes debe contener, por cada 100 Kilocalorías utilizables (ó su equivalente por 100 Kilojulios) ingeridas, las cantidades, mínimas y máximas, de vitaminas y minerales en forma utilizable, tal y como se especifica en las tablas 4 y 5.

5.2.2 Linoleato: El producto debe contener ácido linoléico (en forma de glicéridos) en la cantidad establecida en la tabla 2.

5.2.3 El producto debe cumplir con el contenido de grasa, establecido en la tabla 2 , y será determinada según lo establecido en el anexo A.1.

5.2.4 El contenido de humedad, cenizas y carbohidratos en las fórmulas alimenticias adaptadas para lactantes, debe ajustarse a la composición declarada por el fabricante, determinados según las Normas Venezolanas COVENIN 1077, 368 y 1013 respectivamente.

5.2.5 Una vez reconstituido según las instrucciones de empleo, el producto debe estar exento de grumos o partículas gruesas.

5.2.6 El 100% del producto en polvo, debe pasar a través de un tamiz No. 20 (abertura de 0,850 mm).

5.2.7 No debe haber fragmentos de insectos en 100 g o 100 ml de muestra , determinados según el método establecido en el anexo A.8.

5.2.8 El contenido de partículas quemadas no debe ser mayor de 15,0 mg (Disco B/ADPI) en la muestra del producto reconstituido, determinado según la Norma Venezolana COVENIN 1078.

5.2.9 El índice de insolubilidad, no debe ser mayor de 0,5 ml de sedimento/100 ml del producto reconstituido, determinado según la Norma Venezolana COVENIN 1115.

5.2.10 La estabilidad de la suspensión, en la fórmula acidificada no debe ser mayor de 3 (Floculación) determinada según lo establecido en el anexo A.7.

5.3 Requisitos Microbiológicos

Las fórmulas alimenticias en polvo, deben cumplir con los requisitos microbiológicos establecido en la Tabla 6.

5.4 Evaluación de esterilidad comercial

El producto líquido debe cumplir con los requisitos de esterilidad comercial determinada según lo establecido en la Norma Venezolana COVENIN 2278.

6 INSPECCIÓN Y RECEPCIÓN

Este capítulo está redactado, con el criterio de ofrecer una guía para determinar la calidad de los lotes aislados a ser comercializados.

6.1 Criterios de aceptación y rechazo del lote considerado. Para efecto de control oficial se toma como referencia la tabla 7 para los requisitos fisicoquímicos.

6.1.1 Defectos críticos: Corresponden al no cumplimiento de los requisitos microbiológicos especificados en la tabla 6 para Salmonella, Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes o de la evaluación de esterilidad comercial Norma venezolana COVENIN 2278.

6.1.2 Defectos mayores: Corresponden al no cumplimiento de los requisitos microbiológicos con carácter de recomendación establecidos en la tabla 6, así como la composición en macronutrientes y micronutrientes (vitaminas y minerales), declarados por el fabricante y de conformidad con los requisitos exigidos por la legislación.

6.1.3 Defectos menores: Corresponden al no cumplimiento de los requisitos físicos, como se especifica en 5.2.5, 5.2.9 y 5.2.10

7 MÉTODOS DE ENSAYO

Tanto la toma de muestras, como la realización de los ensayos, se hará según las Normas Venezolanas COVENIN correspondientes, y/o métodos internacionales con sus adaptaciones de ser el caso, debidamente validadas. (Véase anexo A)

8 ENVASES, MARCACIÓN Y ROTULACIÓN

8.1 Envases

8.1.1 El producto se envasará en recipientes herméticamente cerrados al vacío o en atmósfera de gas inerte; de modo tal que se preserven las cualidades higiénicas o de otra índole del alimento.

8.1.2 Los envases, deberán estar constituidos por materiales inocuos, adecuados al uso al que se destinan, autorizados por el organismo sanitario competente.

8.2 Rotulado

El rótulo del producto debe cumplir con lo establecido en la Norma Venezolana COVENIN 2952, y además contener la siguiente información:

8.2.1 Se debe indicar claramente el origen de la proteína que contiene el producto, cuando ésta provenga de una base no láctea.

8.2.2 El producto destinado a lactantes con necesidades especiales de nutrición, deben ser etiquetado de forma que se indique claramente la necesidad especial para la que va a emplearse la fórmula.

8.2.3 Los productos que contengan como mínimo 1 mg de hierro / 100 Kilocalorías utilizables, deben etiquetarse "Fórmula alimenticia con hierro para lactantes".

8.2.4 Se deberán incluir en la etiqueta, instrucciones sobre el modo de empleo adecuado y sobre la reconstitución si este es el caso acompañado con ilustraciones.

8.2.5 Con carácter de recomendación, el orden de declaración de nutrientes debe ser el siguiente:

Proteína

Grasa

Carbohidrato

Energía

Agua

Ácido linoléico

Vitaminas:

Vitamina A

Vitamina D

Vitamina E

Vitamina K

Tiamina (Vitamina B1)

Riboflavina (Vitamina B2)

Vitamina B6

Vitamina B12

Niacina

Ácido fólico (Folacina)

Ácido pantoténico

Biotina

Vitamina C (ácido ascórbico)

Colina

Inositol

Minerales:

Calcio

Fósforo

Magnesio

Hierro

Zinc

Manganeso

Cobre

Yodo

Sodio

Potasio

Cloruro

BIBLIOGRAFÍA

AOAC 1994 (Association of Official Analytical Chemist). 15th Edition.

AOAC 1980 (Association of Official Analytical Chemist). 13th Edition.

ADMI Standards for Grades of Dry Milk. Methods of Analysis. Bulletin 916 American Dry Milk. Institute INC. Chicago, Illinois.

CFR 21 (Code of Federal Regulations). 1993.

CAC/RS Comisión del CODEX ALIMENTARIUS

Compendium of Methods for the Microbiology Examinations of Food. 3rd Edition. APHA 1992.

Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Milk Laboratory Evaluation Form, for FDA 24006 3 (Rev 9- 1980), pag. 11.

Difco Technical Information Rapid Detection of penicillin in Milk, Difco laboratories, Detroit, Michigan, August 1980.

Estimation of nisin in Foods, J. Sci. Fd. Agric., vol. 15, 1994

ICMSF 1986 Microorganism in food. Vol. 2 Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications. 2nd Edition. University of Toronto Press.

ICMSF 1982. Ecología microbiana de los alimentos. Vol. II. Editorial Acribia. España.

Tabla 1 Aditivos

Aditivos	Dosis máxima en 100 ml del producto listo para el consumo
AGENTES ESPESANTES	
Goma guar	0,1 g en todos los tipos de fórmulas alimenticias adaptadas para lactantes.
Goma de algarrobo	"
Fosfato de dialmidón solo o mezclado	0,5 g solamente en las fórmulas alimenticias a base de soya
Fosfato de dialmidón acetilado solo o mezclado	2,5 g solo o en combinación en fórmulas alimenticias a base de proteína hidrolizada y/o aminoácidos solamente.
Fosfato de Dialmidón fosfatado	2,5 g solo o en combinación en fórmulas alimenticias a base de proteína hidrolizada y/o aminoácidos
Hidroxi-propil-almidón	2,5 g solo o en combinación en fórmulas alimenticias a base de proteína hidrolizada y/o aminoácidos.
Carragenina	0,03 g solamente en fórmulas alimenticias lácteas y líquidos a base de soya. 0,1 g solamente en fórmulas alimenticias líquidas a base de proteínas hidrolizadas y/o aminoácidos.
EMULSIONANTES	
Lecitina	0,5 g en todos los tipos de fórmulas alimenticias
Mono y Diglicéridos	0,15 g en todos los tipos de fórmulas
REGULADORES DE pH	
Bicarbonato de sodio	Limitada por las BPF (dentro de los límites para Na y K establecidos en la tabla 5), en todos los tipos de fórmulas alimenticias.
Carbonato de sodio	Limitada por la BPF en todos los tipos de fórmulas alimenticias
Bicarbonato de potasio	"
Carbonato de potasio	"
Citrato de sodio	Limitada por las BPF en todos los tipos de fórmulas alimenticias
Citrato de potasio	"
Ácido L (+) Láctico	"
Cultivos productores de ácido L (+) Láctico	"
Ácido cítrico	"
Hidróxido de sodio	Limitada por la BPF y dentro del límite para Na establecido en la tabla 5, para las fórmulas de seguimiento.
Hidróxido de potasio	Limitada por la BPF, para las fórmulas de seguimiento
Hidróxido de calcio	"
ANTIOXIDANTES	
Concentrados de varios Tocoferoles	1 mg en todos los tipos de fórmulas alimenticias
Palmitato de L-Ascorbilo	1 mg en todos los tipos de fórmulas alimenticias

Tabla 2 Requisitos Básicos

Parámetros	Fórmulas de inicio		Fórmulas de Seguimiento	
	mín	Máx	mín	Máx
Proteína g/100 kilocaloría	1,8	4,0	1,8	5,5
Grasa g/100 kilocaloría	3,3	6,5	3	6,5
Linoleato g/100 kilocaloría	0,3	1,3	0,32	-
Energía kilocaloría	60	85	60	85

Tabla 3 Contaminantes

Contaminante	Límite máximo	Método de ensayo
Nitritos (mg/kg)	5,0	COVENIN 2317
Nitratos (mg/kg)	100	COVENIN 2317
Aluminio (mg/kg) Fórmula en polvo (mg/L) Fórmula líquida	2,1 < 0,3	COVENIN 2124
Plomo (mg/kg)	0,2	COVENIN1335
Mercurio (mg/kg)	0,05	COVENIN 1407
Cadmio (mg/kg)	0,05	COVENIN 1336
Arsénico (mg/kg)	0,1	COVENIN 948
Aflatoxinas M ₁ (µg/kg)	4,0	COVENIN 1603
Radioactividad (Bq/L)	0	

Tabla 4 Vitaminas

Nutriente	Cantidad por kilocalorías utilizables				Método de ensayo
	Fórmula de Inicio		Fórmulas de Seguimiento		
	min.	Máx.	min.	Máx.	
Vitamina A (1)	250 U.I	500 U.I	250 U.I	750 U.I	COVENIN 2318
Vitamina D	40 U.I.	80 U.I.	40 U.I.	120 U.I.	
Vitamina E (compuesto de Alfa-tocoferol)	0,7 U.I/g de ácido linoleico (2) pero en ningún caso menos de 0,7 U.I/100 kilocalorías utilizables		0,7 U.I/g de ácido linoleico pero en ningún caso menos de 0,7 U.I/100 kilocalorías utilizables.		COVENIN 1216
Vitamina K ₁	4 µg	-	4 µg	-	
Tiamina (Vitamina B ₁)	40 µg	50 µg	40 µg	-	COVENIN 2381
Riboflavina (Vitamina B ₂)	60 µg	-	60 µg.	-	COVENIN 1184
Vitamina B ₆ (3)	35 µg	70 µg.	45 µg.	-	COVENIN 1157
Cianocobalamina (Vitamina B ₁₂)	0,15 µg	-	0,15 µg.	-	COVENIN 1949
Niacina	250 µg	-	250 µg	-	COVENIN 1185
Ácido fólico	4 µg	58 µg	4 µg	-	COVENIN 1290
Ácido pantoténico	300 µg	-	300 µg	-	COVENIN 1217
Ácido ascórbico (Vitamina C)	8 mg	50 mg	8 mg	-	COVENIN 1295
Biotina (Vitamina H)	1,5 µg	-	1,5 µg	-	

(1) La vitamina A se podrá declarar como equivalentes de Retinol (E.R; 1 U.I = 0,3 E.R)

(2) O también gramos de ácidos grasos poliinsaturados, expresado en ácido linoleico.

(3) Las fórmulas alimenticias que contengan más de 1,8 g de proteínas por cada 100 Kilocalorías deben contener como mínimo 15 microgramos de vitamina B₆ por gramo de proteína

NOTA: Los valores de esta tabla también podrán expresarse en Kilojulios (1 Kilojulio = 0,239 kcal).

Tabla 5 Minerales

Nutriente	Cantidad por kilocalorías utilizables				Método de ensayo
	Fórmulas de inicio		Fórmulas de seguimiento		
	min	Máx.	min	Máx	
Calcio (Ca)	50 mg (1)	-	90 mg	-	Ver 7.3
Fósforo (P)	25 mg (1)	90 mg	60 mg	-	COVENIN 1178
Magnesio (Mg)	6 mg	-	6 mg	-	Ver 7.4
Hierro (Fe) (2)	0,5 mg	2,0 mg	1,0 mg	2,0 mg	COVENIN 1170 COVENIN 1409
Zinc (Zn)	0,5 mg	-	0,5 mg	-	COVENIN 1333
Manganeso (Mn)	5,0 µg	-	-	-	COVENIN 1408
Cobre (Cu)	60 µg	-	-	-	Ver 7.5
Yodo (I)	5,0 µg	-	5,0 µg	-	COVENIN 921
Sodio (Na)	20 mg	60 mg	20 mg	85 mg	COVENIN 844
Potasio (K)	60 mg	200 mg	80 mg	-	COVENIN 844
Cloruro (Cl.)	50 mg	150 mg	55 mg	-	COVENIN 369

(1) La relación Calcio/Fósforo no será menor de 1,2 ni mayor de 2,0.

(2) Si el nivel de hierro mín es. 1 mg/100 kilocaloría debe etiquetarse "Fórmula con hierro".

Tabla 6. Requisitos Microbiológicos

Microorganismo	n	c	m	M	Método de ensayo
Aerobios mesófilos (ufc/g) (**) (véase nota 1)	5	1	$5,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^4$	COVENIN 902
Coliformes (NMP/g) (**)	5	2	< 3,0 (***)	7,0	COVENIN 1104
<u>Salmonella</u> en 25 g (1)(*)	10	0	0	-	COVENIN 1291
(2)	30	0	0	-	
Mohos (ufc/g) (**)(3)	5	2	$1,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^3$	COVENIN 1337
<u>Staphylococcus aureus</u> (ufc/g)(*)	5	1	10	$1,0 \times 10^2$	COVENIN 1292
<u>Listeria monocytogenes</u> en 25 g(*) (3)	5	0	0	-	APHA 1992 ISO 10560
<u>Clostridium perfringens</u> (**)	5	2	$1,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^3$	COVENIN 1552
<u>Bacillus cereus</u> (**)	5	2	$1,0 \times 10^2$	1×10^3	COVENIN 1644

Donde: n = Número de muestra del lote
c = Número de muestras defectuosas
m = Límite mínimo, o único
M = Límite máximo

(1) Control rutinario
(2) Análisis especial, en caso de que se considere necesario. Por ejemplo, en brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) o cuando se sospeche de fallas de procesamiento.
(3) Este requisito regirá los fines de control oficial por parte de la autoridad sanitaria competente. Dadas las características del producto y los datos suministrados por la industria, no será exigido como control de rutina en planta.

* : Requisitos de carácter obligatorio
** : Requisitos con carácter de recomendación
***: Significa ningún tubo positivo según la técnica del número más probable, serie de tres (3) tubos.

NOTA 1: No se exige este requisito en el caso de fórmulas alimenticias acidificadas por un proceso biológico.

Tabla 7 Criterios de aceptación y rechazo

Tamaño de la muestra	Aceptación	Rechazo
5	3	4
8	5	6

ANEXO A
MÉTODOS DE ENSAYO
(Normativos)

A.1 Determinación de grasa

Se hará según la Norma Venezolana COVENIN 931 teniendo en cuenta las siguientes modificaciones:

No se debe omitir el punto 4.2

Punto 5.1 Se pesa una cantidad de muestra tal que su contenido en grasa sea de 0,25 a 0,30 g aproximadamente, y se transfiere cuantitativamente al tubo especial para la extracción (3.1.1). Se añaden 9 ml de agua destilada a una temperatura no mayor de 60°C y se agita suavemente hasta producir una suspensión de la muestra.

Punto 6.2 El contenido de grasa se obtiene mediante la siguiente expresión:

$$\% \text{ grasa} = M_1/M_2 \times 100$$

Donde:

M_2 = Peso de la muestra en gramos.

M_1 = Peso del residuo en gramos.

A.2 Determinación de proteínas

Se hará según la Norma Venezolana COVENIN 370 teniendo en cuenta las siguientes modificaciones:

Se omite todo el anexo A.

Punto 6.1 Se pesa una cantidad de muestra tal que contenga de 0,10 a 0,15 g de proteína en un pedazo de papel parafinado, se transfiere al balón de Kjeldahl con el papel, se agregan 10 g de sulfato de potasio, etc.

Punto 6.9 Igual, además en el blanco de reactivos debe incluirse el papel parafinado .

NOTA 2: El blanco de reactivos no debe consumir más de 0,3 ml de H₂SO₄ 0,1 N en la titulación (cuando se usa el método 2).

Punto 7.1 El contenido de proteínas en la muestra se expresa en (g/100g) y se obtiene de acuerdo a la fórmula siguiente:

$$\text{Proteína} = \frac{V_0 \times N \times 0,0014 \times 100 \times 6,38}{\text{Peso de la muestra}}$$

A.3 Determinación del calcio

Se hará según la Norma Venezolana COVENIN 1158 o la Norma Venezolana COVENIN 986, con las siguientes observaciones:

La muestra de ensayo debe ser tal que contenga de 40 a 60 mg de calcio, tomada según la Norma Venezolana COVENIN 938.

A.4 Determinación de magnesio

Se hará según la Norma Venezolana COVENIN 986; con las observaciones indicada en el anexo A.3

A.5 Determinación de cobre

Se hará según la Norma Venezolana COVENIN 1215 con la siguiente observación:

La muestra para ensayo será de 5 a 10 g según el contenido de cobre esperado.

A.6 Determinación de riboflavina (vitamina B₂)

Puede hacerse por uno de los siguientes métodos.

A.6.1 Método fluorométrico.

A.6.1.1 Principio del ensayo

Este método se basa en la separación de la Riboflavina de las sustancias interferentes mediante digestión, destrucción oxidativa (con permanganato de potasio en medio ácido) y subsecuente medición de su fluorescencia, la cual es proporcional a la concentración de Riboflavina presente en la muestra.

A.6.1.2 Aparatos

a) Estufa

b) Balanza analítica, en precisión de 0,1 mg.

c) Autoclave

d) Potenciómetro (medidor de pH).

e) Fluorómetro, con longitud de onda ajustable cuyo rango

esté entre 440 mm. (excitación) y 565 mm. (emisión)

f) Centrifugadora.

g) Baño de María.

h) Refrigerador

A.6.1.3 Material auxiliar.

a) Papel de filtro, de retención moderada.

b) Frascos de color ámbar.

c) Erlenmeyer, de 125 ml.

d) Tubos de centrifuga, de 25 ml.

e) Matraces aforados, de 100 ml, 200 ml, 500 ml y 1000 ml.

f) Pipetas volumétricas de 1 ml, 10 ml, 4 ml y 2 ml.

g) Pipetas graduadas, de 2 ml.

h) Embudo de filtración.

A.6.1.4 Reactivos

Todos los reactivos que se indican a continuación son de grado analítico y el agua, a menos que se especifique lo contrario, es destilada.

a) Ácido acético glacial.

b) Ácido clorhídrico, (HCl) 0,1 N. Se prepara diluyendo 8,8 ml de HCl concentrado en 1000 ml de agua.

c) Solución de permanganato de potasio (KMnO_4) 4% . Se prepara disolviendo 8 g de KMnO_4 en agua y diluyendo hasta 200 ml.

d) Solución de peróxido de hidrógeno (H_2O_2), 3 % Se prepara diluyendo 10 ml de H_2O_2 del 30 % hasta 100 ml con agua.

e) Hidrosulfito (ditionito) de sodio cristalizado, ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).

f) Ácido acético (CH_3COOH) 0,02 N. Se prepara diluyen do 1,25 ml de ácido acético glacial con agua hasta 1.000 ml.

g) Acetato de sodio 2,5 M. Se disuelven 340 g de acetato de sodio en H_2O destilada y se llevan a 1.000 ml.

h) Riboflavina USP. Patrón de referencia la cual debe secarse a 60 °C en vacío durante 1 h y guardarse en la oscuridad.

i) Solución patrón (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$). Se prepara disolviendo 50 mg. de Riboflavina (patrón de referencia) en 300 a 400 ml de ácido acético 0,02 N con calentamiento suave en baño de vapor. Se enfría y diluye hasta 500 ml con ácido acético 0,02 N. Se guarda bajo tolueno en el refrigerador.

j) Solución intermedia (2 $\mu\text{g}/\text{ml}$). Se prepara diluyendo 2 ml de la solución patrón hasta 100 ml con ácido acético 0,02N. Se guarda bajo tolueno en el refrigerador.

k) Solución de trabajo (0,2 $\mu\text{g}/\text{ml}$). Se prepara diluyendo 10 ml de solución intermedia hasta 100 ml con ácido acético 0,02 N. La solución se guarda en el refrigerador, protegida de la luz. Esta solución puede conservarse por no más de una semana, siendo preferible prepararla inmediatamente antes de usarla, a partir de la solución patrón.

l) Isopropanol

m) Takadiastasa

n) Solución de takadiastasa. Se disuelven 0,5 g de takadiastasa en 10 ml de solución tampón de pH 4,6 y se somete durante 2 h a la acción de los rayos ultravioleta de una lámpara de cuarzo para destruir la vitamina B_2 presente en la takadiastasa.

A.6.1.5 Condiciones de ensayo

A.6.1.5.1 La oxidación de las sustancias interferentes con permanganato de potasio, debe ser controlada cuidadosamente para evitar la destrucción de parte de la Riboflavina.

A.6.1.5.2 La reducción con peróxido de hidrógeno (H_2O_2) debe ser completa al cabo de pocos segundos, desechando el oxígeno liberado, mediante agitación de la solución ya que interfiere en la lectura

A.6.1.5.3 La determinación del blanco de fluorescencia se hace mediante la adición de hidrosulfito de sodio a la muestras que está en la celda, inmediatamente después de tomar la lectura de fluorescencia: está lectura se debe hacer en lo 10 a 30 seg. siguientes a la adición de hidrosulfito ya que éste se descompone rápidamente en solución, dando una falsa lectura de fluorescencia.

A.6.1.5.4 El material de vidrio utilizado debe ser inactínico.

A.6.1.5.5 Antes de efectuarse las lecturas de la fluorescencia, debe calibrarse al espectrofluorómetro, según las recomendaciones del fabricante.

A.6.1.6 Material a ensayar

El material a ensayar consiste en una muestra de fórmula alimenticia adaptada para lactantes, en polvo o reconstituida tomada según la Norma Venezolana COVENIN 938, de la cual se toma una muestra para ensayo que contenga entre 10 y 20 g de riboflavina.

A.6.1.7 Procedimiento

A.6.1.7.1 Se toma la muestra para ensayo y se sigue el siguiente procedimiento:

a.- Muestra en polvo: La muestra se disuelve en 50 ml de HCl 0,1 N. Se transfiere cuantitativamente a un Erlenmeyer de 125 ml.

b.- Muestra líquida: La muestra se pipetea dentro de un Erlenmeyer de 125 ml y se diluye con 50 ml de HCl 0,1N.

A.6.1.7.2 Se coloca en un autoclave a 121°C por 30 min. Se enfría y se ajusta a pH 4,5 con CH₃COONa 2,5 M (la espuma formada puede disolverse con isopropanol). Si contiene almidón requiere una hidrólisis enzimática después de la hidrólisis ácida, (*) se pasa a un matraz aforado de 100 ml y se lleva a volumen con H₂O destilada.

NOTA 3: Para hacer la hidrólisis enzimática se le agrega solución de takadiastasa (véase 7.6.1.2.3.n) y se coloca en la estufa durante 2 h o durante la noche (42°C)

A.6.1.7.3 Se deja coagular el precipitado de proteínas por 20 min. antes de filtrar a través del papel de filtro. El resto del procedimiento debe efectuarse al abrigo de la luz.

A.6.1.7.4 Se agregan porciones de 4 ml de filtrado a cada uno de cuatro tubos de centrifuga de 25 ml (P₁, P₂, M₁, y M₂). Luego a dos de estos tubos (Tubos P₁ y P₂) se añaden 2 ml de solución de trabajo de Riboflavina (véase 7.6.1.2.3.k) y a los otros dos se le agregan 2 ml de agua destilada.

A.6.1.7.5 A todos los frascos se agregan:

a) 10 ml de agua destilada

b) 1 ml de ácido acético glacial.

c) 1 ml de solución de KMnO₄ al 4 %.

d) Al cabo de 2 min. se agrega 1 ml de H₂O₂ al 3% (el permanganato debe ser destruido 10 seg después de la adición de H₂O₂).

A.6.1.7.6 Se elimina el oxígeno liberado, agitando vigorosamente. Debe usarse isopropanol para evitar la sobreproducción de espuma.

A.6.1.7.7 Se centrifuga aproximadamente 2 minutos para obtener soluciones transparentes.

A.6.1.7.8 Se determina la fluorescencia de cada solución, transfiriendo en cada caso una porción de la misma a una celda para medir su fluorescencia y se hace la lectura, estos valores se registran como P y M respectivamente (valores promedio).

A.6.1.7.9 Se determinan los blancos correspondientes a cada solución añadiendo aproximadamente 20 mg. de hidrosulfito de sodio a la solución contenida en la celda, se mezcla bien y se hace la lectura inmediatamente porque se enturbia la solución, este valor se registra como B.

A.6.1.8 Expresión de los resultados

A.6.1.8.1 Por cada grupo de muestras se determinan valores promedios para P, M y S.

A.6.1.8.2 El contenido de Riboflavina en la muestra se determina de la siguiente manera:

a) Muestra en polvo.

$$\frac{\text{mg Riboflavina}}{\text{g muestra}} = \frac{\overline{M} - \overline{B}}{P - M} \times D \times \frac{\overline{T}}{P}$$

b) Muestra líquida

$$\frac{\text{mg Riboflavina}}{\text{ml muestra}} = D \times \frac{\overline{T}}{V}$$

Donde:

\overline{M} = Lectura promedio de la solución de muestra.

\overline{B} = Lectura promedio del blanco de la solución de muestra.

\overline{P} = Lectura promedio de la solución de trabajo mas de la muestra.

D = Factor de dilución.

T = Contenido de Riboflavina en la solución de trabajo, en miligramos.

$$(\text{Ej } T = 2 \text{ ml} \times 0,2 \text{ ppm} = 0,0004 \text{ mg/ml}).$$

P = Peso de la muestra, en gramos.

V = Volumen de muestra, en mililitros.

NOTA 4: Solo se considerará válido el análisis cuando:

$$0,66 < \frac{M-B}{P-M} < 1,5$$

Si el valor obtenido está fuera de estos límites, debe ajustarse el tamaño de la muestra y repetirse el análisis.

A.7 Determinación de la estabilidad de la suspensión

Fórmulas alimenticias acidificadas adaptadas para lactantes.

A.7.1 Aparatos y materiales

A.7.1.1 Vaso de precipitado de 250 ml.

A.7.1.2 Cilindro graduado de 100 ml.

A.7.1.3 Termómetro.

A.7.1.4 Cuchara, con un mango de 12 cm y 4 cm de diámetro.

A.7.1.5 Balanza semianalítica

A.7.1.6 Mechero o cocinilla

A.7.2 Material a ensayar

El material a ensayar consiste en una muestra de fórmula alimenticia acidificada adaptada para lactantes de la cual se toma una muestra para ensayo de 15 g, el muestreo se realiza según la Norma Venezolana COVENIN 938.

A.7.3 Procedimiento

A.7.3.1 En el vaso de precipitado se pesa la muestra para ensayo de fórmula alimenticia acidificada, se le agregan 100 ml de agua a 45°C (temperatura medida en vaso). Se humedece y se agita con la cuchara hasta obtener una dispersión completa.

A.7.3.2 Para agitar, se toma el mango de la cuchara entre las palmas de la mano y se le da un movimiento de rotación por 15 seg. La mezcla debe ser completamente homogénea. Luego, se retira la cuchara y se deja reposar la solución por 15 min. exactamente.

A.7.3.3 Se observa si ocurre floculación y separación del suero y el resultado se compara con la tabla 9.

Tabla 9. Base comparativa para la relación Floculación-Separación del suero

Nº	Floculación	Separación del suero
1	Sin floculación (SF)	Sin separación de suero (SSS) ó (0 mm).
2	Ligera floculación (LF)	Ligera separación del suero (LSS) máximo (2 mm).
3	Floculación (F)	Separación de suero (SS) ó (≥ 2 mm. y \leq menor de 10 mm)
4	Floculación Gruesa (FG)	Fuerte separación de suero (FSS) ó (> de 10 mm.)
5	Floculación Total (FT)	Separación total de suero en la masa (FT).

A.7.4 Expresión de los resultados

Los resultados se expresan según lo indicado en la Tabla, en la siguiente forma: N°, descripción.

A.8 Determinación de fragmento de insectos

A.8.1 Aparatos

A.8.1.1. Aparatos de filtración y discos filtrantes: Son los mismos que se indican en la Norma Venezolana COVENIN 1078.

A.8.1.2 Material a ensayar.

El material a ensayar consiste en una muestra de fórmula alimenticia adaptada para lactantes.

A.8.1.3 Procedimiento

A.8.1.3.1 Se pesan 100 g de la muestra en polvo, o se miden 100 ml de la muestra líquida, y se diluyen en 500 ml de agua a 40 °C.

A.8.1.3.2 Se filtra la solución a través de un disco de filtración, debidamente colocado en el aparato de filtración, se enjuaga el recipiente 50 ml de agua destilada a 40°C y ésta también se filtra .

A.8.1.3.3 Se desarma el aparato de filtración y se retira cuidadosamente el disco, colocándolo luego en un portadisco protegido del polvo y se seca a una temperatura entre 30 y 40°C.

A.8.1.3.4 Se observa el disco al microscopio para ver si hay o no fragmentos de insectos.

A.8.1.4 Expresión de los resultados

Se reportan como presencia de fragmentos de insectos en 100 g o 100 ml de muestra .

A.9 Determinación de sustancias inhibidoras

Los antibióticos y drogas son ampliamente usados para controlar las enfermedades en el ganado vacuno. Los antibióticos y drogas son administrados por infusión, inyección y oralmente. Estas pueden detectarse en la leche de vaca por muchos días posteriores al tratamiento. Debe tenerse cuidado de separar y desechar la leche de vacas tratadas que puedan contaminar grandes cantidades de leche en buenas condiciones. La leche que contiene antibióticos y residuos de drogas no debe usarse sola o como ingrediente para consumo humano.

A.9.1 Aparatos

- a) Incubador 65 ± 1 °C.
- b) Baño de María para temperar el agua, 55 ± 1 °C.
- c) Agitador mecánico Mod. 4000 o equivalente.
- d) Baño de maría, 82 °C.

A.9.2 Reactivos

- a) Indicador agar* PM, equivalente.
- b) Suspensión de Termosporas PM* o equivalente
- c) Control positivo PM (Penicilina G)* o equivalente
- d) Control negativo PM* o equivalente
- e) Discos de concentración, penicilinas 1/2"* o equivalente.
- f) Discos de concentración, blancos estériles 1/2", o equivalente.
- g) EM Quant** ensayo de peróxido, o equivalente.

* Difco laboratories, Detroit, MI, AM

** EM Science, Gibbtown, NJ 08027.

A.9.3 Preparación de la muestra (Polvos)

A.9.3.1 Asépticamente pesar 11 g de muestra en una cesta de agitador mecánico o un envase equivalente.

A.9.3.2 Agregar 99 ml de agua destilada estéril, fría destilada o deionizada y agitar por 2 min.

A.9.3.3 Asépticamente transferir 10 ml de muestra homogénea a cada uno de los dos tubos de ensayos limpios.

A.9.3.4 Calentar uno de los duplicados de las 10 muestras a 82 °C por 2 min y enfriar para usar como una muestra de control calentada.

A.9.4 Preparación de la muestra (Líquidos, leche descremada, suero, y productos derivados de suero).

A.9.4.1 Las muestras deben ser chequeadas por presencia de actividad de peróxido de hidrógeno. El análisis de peróxido del EM-Quant es suficiente y debe ser realizado de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

A.9.4.2 Si la muestra es positiva para peróxido de hidrógeno, agregar una gota de catalasa a la muestra, mezclar y reensayar.

A.9.4.3 Seguido la inactivación del peróxido de hidrógeno, la muestra está lista para el análisis de la sustancia inhibitoria.

A.9.5 Preparación del control

Rehidratar los controles Bacto-PM Negativo y Bacto -PM positivo, con 20 ml y 15 ml de agua fría destilada o deionizada respectivamente. Estos pueden mantenerse por una hora cuando se congela a 15 °C - 30 °C.

A.9.6 Procedimiento

A.9.6.1 Preparación de placas de agar PM indicador

A.9.6.1.1 Para rehidratar el medio, suspenda 3,2 g de indicador Bacto PM en 100 ml de agua destilada o deionizada. Calentar hasta hervir para disolver el medio completamente.

A.9.6.1.2 Enfriar el medio a 55 °C y agregar 1 ampolla de Bacto-Termospora Suspensión PM a cada 100 ml del indicador agar.

A.9.6.1.3 Mover el medio para obtener una suspensión uniforme. Dispensar cantidades de 6 ml en placas de petri de 100 mm, fondo plano.

A.9.6.1.4 Inmediatamente mover las placas para obtener una capa uniforme del medio suficiente para cubrir el fondo de la placa. Dejar secar el medio durante 15 minutos con la cubierta de agar en una superficie plana

A.9.6.2 Ensayo de Penicilina.

A.9.6.2.1 Utilizar pinzas limpias, flameadas, remover in disco del vial de los discos blancos estériles de 1/2" de Bacto-concentración.

A.9.6.2.2 Tocar el disco en la superficie de la muestra preparada y dejar que el mismo se sature por acción capilar.

A.9.6.2.3 Tocar el disco en el borde del frasco para remover el exceso de leche.

A.9.6.2.4 Colocar todos los discos en la superficie de agar alrededor de 9 mm de la salida del borde de la placa y por lo menos 10 mm aparte. Presionar el disco suavemente para asegurar el contacto con la superficie del agar.

A.9.6.2.5 Flamear las pinzas y dejarlas enfriar entre cada muestra.

A.9.6.2.6 Repetir los pasos desde el A.9.6.2.1 al A.9.6.2.5 utilizando un disco blanco estéril y un disco de penicilinas para cada muestra. Realizar esta operación para las muestras de control calentadas y no calentadas.

A.9.6.2.7 Repetir los pasos A.9.6.2.1 al A.9.6.2.5 utilizando un blanco estéril y un disco de penicilinas para el control negativo reconstituido.

A.9.6.2.8 Repetir los pasos A.9.6.2.1 al A.9.6.2.5 utilizando un disco como blanco estéril y un disco de penicilinas para el control positivo reconstituido. Realizar este muestreo al final.

A.9.2.6.9 Incubar las placas invertidas por 2 horas y 40 min a 2 horas y 50 min a $65\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

A.9.7 Interpretación de resultados

A.9.7.1 Observar las placas por zonas de inhibición.

A.9.7.2 Si no aparecen zonas, entonces no hay penicilina presente.

A.9.7.3 Las zonas aparecen si la penicilina está presente a un nivel de 0,004 - 0,005 Unidades/ml o superior.

A.9.7.4 Si los resultados obtenidos se deben a penicilina, ninguna zona aparecerá alrededor de los discos penicilinas.

A.9.7.5 Si aparecen una zona alrededor del disco de penicilinas y alrededor de la muestra del disco tomado como blanco, la muestra contiene alguna otra sustancia inhibitoria.

Otras sustancias inhibitorias pueden encontrarse en leche y productos derivados de la leche, tales como Nisin. Nisin, es estable al calentarse a pH bajo e inestable para calentarse a pH alto. También, Nisin pierde su actividad después del tratamiento con trypsin. El procedimiento para el aná-

lisis de una sustancia inhibitoria desconocida bajo estas condiciones se describe como sigue.

A.9.8 Estabilidad del calor:

A.9.8.1 En un tubo de ensayo de 13 x 100 mm, 4 ml de la muestra es ajustada a pH con ácido clorhídrico concentrado ó pH 10 con 50 % de hidróxido de sodio. Calentar por 20 min a $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ en un baño de aceite, enfriar y ajustar a pH 7 con hidróxido de sodio o ácido clorhídrico concentrado.

A.9.8.2 El análisis del disco se realiza sobre esas tres muestras como en el punto A.9.6.2.

A.9.9 Estabilidad de trypsin

A.9.9.1 En un tubo de ensayo de 13 x 100 mm, mezclar 2 ml de muestra y 2 ml de solución de trypsin 2.5. También, realizar un control de 2 ml de muestras mezcladas con 2 ml de agua.

A.9.9.2 Incubar la mezcla por 60 min a $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ en un baño de agua o aceite.

A.9.9.3 Realizar el análisis de estabilidad del calor como se describe en el punto A.9.8 (pH 2 solamente).

A.9.10 Interpretación de resultados

A.9.10.1 si la sustancia inhibitoria es Nisin, se encontrará una zona inhibitoria alrededor del pH 2, calentar el disco como blanco.

A.9.10.2 Si la sustancia inhibitoria es Nisin, no se encontrará una zona inhibitoria al alrededor del pH 10, calentar el disco como blanco. Sin embargo, algunas muestras tratadas de esta manera pueden producir una zona debido a la formación de sustancias inhibitorias durante el calentamiento a pH 10.

A.9.10.3 Nisin, tampoco mostrará una zona alrededor de la muestra de disco como blanco tratada como trypsin.

A.10 Determinación de cenizas

Se hará según la Norma Venezolana COVENIN 368 con las siguientes modificaciones:

Punto 5.1 El material a ensayar consiste en una muestra de formula alimenticia adaptada para lactantes para niños de pecho, en polvo y la muestra se tomará según la Norma Venezolana COVENIN 938.

Punto 5.2. Colocar la cápsula con la muestra en una coccinilla eléctrica y someter a calentamiento.

Puntos 5.3 y 5.4 se omiten.

Punto 6.2 Se pesan 4 g de muestra en cápsula tarada elevando progresivamente la temperatura hasta que no haya desprendimiento de humos.

Punto 6.3 se omite.

Punto 6.4 Igual

NOTA 6: Realizar el calentamiento de la cápsula con el mechero o cocinilla hay que procurar que la muestra no se inflame.

Punto 6.6. Igual hasta que la diferencia de peso entre dos pesadas consecutivas no sea mayor de 0,1 mg.

Punto 7 El contenido de cenizas se expresa en porcentaje (p/p) y se determina mediante la siguiente fórmula:

$$C = \frac{M_1 - M}{M_2 - M} \times 100$$

Donde:

M = Peso de la cápsula vacía, en gramos.

M₁ = Peso de la cápsula con las cenizas, en gramos.

M₂ = Peso de la cápsula con la muestra en gramos.

COVENIN
909:1996
(1^{era} Revisión)

CATEGORIA
C

COMISION VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES
MINISTERIO DE FOMENTO
Av. Andrés Bello Edif. Torre Fondo Común Pisos 11 y 12
Telf. 575. 41. 11 Fax: 574. 13. 12
CARACAS

publicación de:



ICS: 67.100.10

ISBN: 980-06-1720-5

RESERVADOS TODOS LOS DERECHOS

Prohibida la reproducción total o parcial, por cualquier medio.

Descriptores: Fórmula láctea, alimento para lactantes.