



Analizado con el analizador de Nitrógeno DUMAS NDA 702  
de VELP Scientifica (Ref. F30800070)

# Determinación de NPN y NCN en leche

NPN: Nitrógeno No Protéico  
NCN: Nitrógeno No Caseínico

## Método Dumas

Referencia: ISO 14891:2002 [IDF 185:2002] – Leche y sus derivados — Determinación contenido de Nitrógeno  
Método de rutina que utiliza la combustión de acuerdo con el principio de Dumas

F&F-D-001-2020/A1

SENCILLO

AUTOMÁTICO

MUESTRA DIRECTA

INDEPENDIENTE  
OPERADOR

RESPECTUOSO CON  
EL MEDIO  
AMBIENTE

TRAZABLE Y  
MULTIFUNCIÓN

Nuestro departamento de aplicaciones está a su servicio. Consúltenos para demostraciones, cursos de formación y webinars

**Palex**  
Constant Improvement

## INTRODUCCIÓN

La leche es una fuente de proteína animal de gran riqueza. Los compuestos nitrogenados en la leche pueden dividirse en: proteínas de caseína y Nitrógeno no caseína (NCN). Entre ellos, hay proteínas de suero solubles (WP), enzimas y sustancias nitrogenadas no proteicas (NPN), compuestas de urea, aminoácidos, ácido úrico, creatina, creatinina y amoníaco.

La caseína está compuesta por diferentes proteínas individuales, que se unen entre sí con otras sustancias, como el agua, las enzimas, el calcio y el fósforo, y adquieren una forma esférica, llamada micela, que tienen importantes funciones digestivas y también industriales, especialmente en el sector lácteo.

El suero de leche contiene proteínas lácteas llamadas alfa-lactoalbúmina y beta-lactoglobulinas, que aportan un gran aporte en cuanto a aminoácidos de cadena ramificada, mucho más altos que en caseína. Son fácilmente digeribles por el cuerpo y entran en la circulación mucho más rápido.

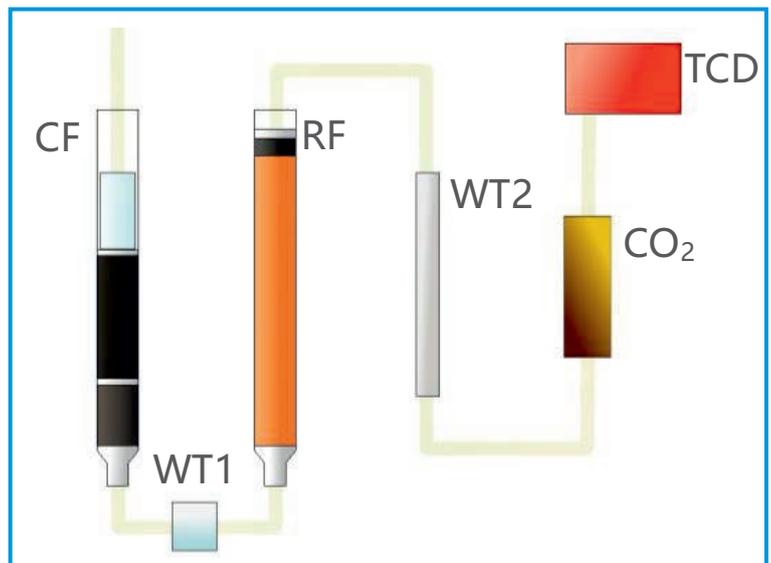
Además, los adulterantes como NPN se agregan en la leche para aumentar el contenido de proteínas, aumentando así la calidad de la leche de manera fraudulenta. Se agregó urea comercial (Sharma et al. 2012) o melamina a la leche para aumentar falsamente el contenido de proteínas (Liu et al. 2012). Por lo tanto, la determinación de NPN es importante para discriminar el "verdadero contenido de proteína" del "contenido de proteína cruda".

Usando NDA 702, como se describe a continuación, es posible determinar fácil y rápidamente el contenido de Nitrógeno de todas las fracciones de N obtenibles con el método de referencia citado y de acuerdo con la literatura citada.

## DETERMINACIÓN EN LECHE SEGÚN MÉTODO DUMAS DE NPN Y NCN

Aunque Kjeldahl es hoy en día el método más común para determinar el contenido de Nitrógeno y proteínas en alimentos y piensos, el método Dumas muestra un alto nivel de precisión y reproducibilidad en comparación con el método Kjeldahl. El análisis de combustión de Dumas comienza con una combustión (CF) para quemar la muestra, obteniendo compuestos elementales.

El agua se elimina mediante una primera trampa física (WT1 - DriStep™), colocado después de la combustión, y un segundo químico (WT2). Entre las dos trampas, las sustancias elementales pasan a través de un horno de reducción (RF). Los absorbentes de CO<sub>2</sub> (CO<sub>2</sub>) auto-regenerativos dejan pasar el Nitrógeno elemental que es detectado por el innovador Detector de Conductividad Térmica (TCD) de LoGas™ sin necesidad de un gas de referencia.



## MUESTRA

Leche líquida bovina entera alta calidad, pasteurizada:

- Valor proteína etiquetado: 3.35 g/100 ml
- NCN contenido desde literatura: 0.105 %
- NPN contenido desde literatura: 0.025 %

## PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

La determinación del Nitrógeno no caseína (NCN) y del Nitrógeno no proteico (NPN) es necesaria para calcular el contenido de Nitrógeno en las fracciones individuales de leche. NCN y NPN se obtienen separando y filtrando la leche.

## PRODUCTOS QUÍMICOS Y MATERIALES PARA SEPARAR Y FILTRAR

- Disolución de ácido tricloroacético 20% - 20 gr diluidos a 100 ml con agua desionizada.
- Disolución ácido acético 10% - 10 ml diluidos a 100 ml con agua desionizada.
- Disolución de acetato sódico 1M - 8,2 gr de acetato sódico a 100 ml con agua desionizada.
- Papel de filtro libre de Nitrógeno.

## PROCEDIMIENTO

La determinación NCN en leche incluye los siguientes pasos:

- Revolver la leche en vaso de precipitados con agitador magnético VELP durante 60 segundos a 700 rpm.
- Precipitación de caseína (NCN) o precipitación de proteínas (NPN) y filtración.
- Combustión del filtrado mediante analizadores elementales NDA.
- Cálculo (ver fórmulas).

### 1 PROCEDIMIENTO PARA NITRÓGENO NO CASEÍNICO

Disponer 20 mls de leche, mantenida a 20 °C, en un recipiente volumétrico de 50 mls con 20 mls de agua desionizada. Disponer el recipiente un baño circulador abierto (VELP OCB Ref. F40300240) a 37 °C durante 30 minutos. Tras esto añadir 2 mls de disolución e ácido acético (10%), agitar para la mezcla y dejar reposar 10 minutos. Añadir 2 ml de disolución de ácido acético 1M, dejar la mezcla enfriar a 20 °C y enrasar con agua destilada. Filtrar a través de papel de filtro y recoger el filtrado completo.

### 2 PROCEDIMIENTO PARA NITRÓGENO NO PROTEICO

Colocar 20 ml de leche, previamente termostatzada a 20 °C, en un matraz aforado de 50 ml y rellenar con solución de ácido tricloroacético (20%) hasta la marca de calibración. Deja reposar la mezcla durante 30 min. Filtrar con un papel de filtro y recoger el filtrado.

## MÉTODO DUMAS

El analizador de Nitrógeno Dumas NDA 702 ejecuta el análisis cualitativo de nitrógeno mediante combustión utilizando Helio como portador. Los filtrados se pesan directamente en una lámina de Plata (Ref. A00000371) en la balanza usando una pipeta Pasteur con polvo superabsorbente.

Las capsulas de lámina de Plata se hacen mediante el molde para láminas de estaño (Ref. A00000262). Las cápsulas conteniendo las muestras se han dejado abiertas para secarse en el Kit para TOC /preparación de muestra (Ref. TA00000378) 30 minutos a 105 °C. Las láminas de Plata se cierran con la mano obtenido una pequeña capsula que se introduce en el automuestreador.

Todos los parámetros de Dumas se muestran en la tabla inferior.

## RESULTADOS

El instrumento ha sido acondicionado con 2 patrones EDTA y 3 a 5 láminas de Estaño como check-up. Para la calibración del instrumento una disolución patrón de glicina (0,075 N%) disolviendo 1gr de glicina (18,66 %N) en 250 ml de agua desionizada.

ID Muestra	Cantidad filtrada (mg)	Media fracciones de N % ± SD% (*)	RSD% (**)
D148 - Nitrógeno no proteico	300	0,1363 ± 0,0003	0,227
D147 - Nitrógeno no caseínico	300	0,0494 ± 0,0001	0,259

(\*) Media 3 combustiones ± desviación estándar del porcentaje de nitrógeno (gr/100 gr)

(\*\*) Desviación estándar relativa = (SD/media)\*100

NOTA: Resultados únicamente del producto recibido y analizado.

Los resultados de Nitrógeno no caseína (NCN) y Nitrógeno no proteína (NPN) se calculan como % de Nitrógeno, usando mg N, obtenido de la curva de calibrado, dividido por el volumen filtrado (V filtrate), por 1000 (conversión gr a mgr) y por el factor de dilución (G milk/V sol = 20 gr / 50 ml = 0.4).

Están basados en la formula:

$$\%NCN = \text{mg N} / [(\text{G milk}/\text{V sol}) \times 1000 \times \text{V filtrate}] \times 100$$

G milk = peso de leche (20 gr)

V filtrate\* = volumen usado para ejecutar cada análisis (ml)

V sol = Disolución de leche conteniendo todo lo necesario para la separación, enrasado con agua (50 ml)

$$\%NPN = \text{mg N} / [(\text{G milk}/\text{V sol}) \times 1000 \times \text{V filtrate}] \times 100$$

G milk = Peso de leche (20 gr)

V filtrate\* = volumen usado para ejecutar cada análisis (ml)

V sol = Disolución de leche conteniendo todo lo necesario para la separación, enrasado con agua (50 ml)

\*Para obtener V filtrate (ml), el peso de muestra de cada ensayo (alrededor 300 mg) ha sido convertido a ml, considerando la densidad del filtrado (NCN densidad del filtrado: 1056.2 mg/ml; NPN densidad del filtrado: 1065.3 mg/ml).

## CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos son fiables y reproducibles de acuerdo con los valores esperados, con una baja desviación estándar relativa (RSD < 1%), lo que significa una alta repetibilidad de los resultados.

VELP NDA 702 garantiza resultados fiables de una manera fácil y rápida. A pesar de los bajos pesos de la muestra, se logra una excelente reproducibilidad y los datos confirman la combustión completa de la muestra sin que se observe ningún efecto memoria.

Los principales ventajas del analizador de combustión DUMAS son:

- Análisis rápido 3-4 minutos por muestra.
- Fácil mantenimiento.
- Software intuitivo.
- Precisión y reproducibilidad garantizadas por el LOD más bajo de 0.001 mgN con Helio y el RSD inferior al 0.5% (EDTA).
- Una muy rápida puesta operativa del instrumento.
- Bajo coste por análisis gracias a tecnología innovadora y consumibles genuinos.
- Seguridad para el laboratorio ya que la serie NDA no requiere ningún producto químico agresivo.
- Conectividad a **VELP Ermes Cloud Platform** para soporte remoto de aplicaciones y servicios, acceso remoto a los instrumentos, alertas y notificaciones y mucho más.

