



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

---

---

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

VALORACION DE DOS PRUEBAS PARA LA DETERMINACION  
DE LA ACIDEZ TITULABLE DE LA LECHE

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
**MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**  
P R E S E N T A :  
**GUILLERMO GARRIDO FLORES**

ASESORES: MVZ.MCV. JORGE FRANCISCO MONROY LOPEZ  
MVZ. MSP. MARCO ANTONIO CASILLAS FABILA



MEXICO, D. F.

2004



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA

## DEDICATORIA

**A mi mamá Dolores** por ser primer beso y abrazo, ser seguridad, aprendizaje, regaño, compañía y apoyo, entre muchas cosas más... sin ella esto no sería. Te quiero mucho.

**A mi padre Federico** por ser pieza clave en mi formación, por su tiempo a mi lado y esa seguridad que siempre me ha transmitido.

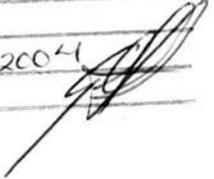
### **A mi hermana Dol.**

**A mis abuelos** Guillermo (don Eus), Ignacia y Celia, por estar cerca y enseñarme muchas cosas, por su cariño sin igual y el ejemplo de vida. Gracias por todo.

**A la familia GARRIDO y FLORES**, en especial a mis tíos Miguel y Maru por convertirse en segundos padres. A mis tíos Sabino y Martha Elena, por estar muy cerca mientras crecía. A mi comadre Blues, por permitirme conocer otro tipo de tía. Y a Maricela, por ser amiga y una excelente tía voluntaria.

**A todos mis primos**, en especial al Ogro, Patita y Gulú.

A my dear JAN, Fabis Zarape, Josefo B, Gina Ono, Paco GM, Maria Antonieta, MariX, Irene Fabila, Carolina y Valeria, Chabela Uriarte, Arturo Sámano y Víctor Gámez, **por ser mis mejores amigos en la vida.**

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.  
NOMBRE: Garrido Flores Guillermo  
FECHA: 14 Mayo 2004  
FIRMA: 

## AGRADECIMIENTOS

A mis padres **Dolores y Federico**, por acompañarme y apoyarme durante este proceso.

A la **Universidad Nacional Autónoma de México** por permitirme ser parte de ella.  
A la **Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia** por ser mi segunda casa a lo largo de cinco años, permitiéndome crecer, formarme y aprender en sus instalaciones y con sus profesores.

Al **MVZ Paco Monroy** por ser asesor, guía y apoyo en mi formación profesional, por su valioso tiempo y enseñanza, pero sobre todo por ser un gran amigo.

Al **MVZ Marco A Casillas**, por ser asesor y ayudarme a lo largo de éste proceso.

Al **QFB José Hernández Salazar** del Laboratorio Nacional de Salud Pública, por el tiempo y asesoría brindada.

A los miembros del jurado: Dr. Arturo Olguín, Dr. Miguel Quiroz, Dr. José Juan Martínez, Dr. Ricardo Bernal y el Dr. Francisco Monroy.

**A mis amigos y hermanos de profesión** por acompañarme durante la carrera: Jan Ramírez, José Becerra, PP-Toño, Héctor y Carlitos, Jony y Andrés, Alecita, Lulú, Tere y Artur, Iván y Mike, Paco Guzmán, Lalo -Piercing-, Marcos Molina, Carlos -Dr. Cuervo-, Alan Hdz y a Rodrigo, Yuliett y Esmeralda -del inventario Monroy-.

**A mis amigos de la última etapa dentro de la FMVZ: Gina, Allan, Juan y Rodrigo.**

A profesores cuya enseñanza y tiempo traspasaron las horas de su materia, considerados amigos y ejemplos a seguir: Dr. José Manuel Berruecos, Dr. Salvador Ávila, Dr. Arturo Olguín, Dra. Ma. Elena Trujillo, Dra. Magdalena Escorcía, Dr. Alberto Balcázar, Dr. Carlos Esquivel, Dr. José Luis Payro (padrino de generación) y por supuesto el Dr. Paco Monroy.

A Cuquita y Tere de la Secretaría de Comunicación de la FMVZ, por su amistad y apoyo.  
Al personal departamento de **Medicina Preventiva y Salud pública de la FMVZ**, por todas las facilidades brindadas en el momento de llevar a cabo la fase experimental.

Y al **H. Consejo Técnico de la FMVZ**, del cual forme parte (2001-2003). En especial al Dr. Luis Alberto Zarco, por su amistad brindada.

## CONTENIDO

<b>Resumen.....</b>	<b>1</b>
<b>Introducción.....</b>	<b>2</b>
<b>Hipótesis.....</b>	<b>5</b>
<b>Objetivos.....</b>	<b>6</b>
<b>Material y Método.....</b>	<b>7</b>
<b>Resultados.....</b>	<b>11</b>
<b>Discusión.....</b>	<b>12</b>
<b>Literatura citada.....</b>	<b>20</b>
<b>Anexos.....</b>	<b>23</b>

## Resumen

GARRIDO FLORES GUILLERMO. Valoración de dos pruebas para la determinación de la acidez titulable de la leche (bajo la asesoría del MVZ. MCV. Jorge Francisco Monroy López y del MVZ. MSP. Marco Antonio Casillas Fabila).

Con la finalidad de evidenciar la diferencia entre dos pruebas para la determinación de la acidez titulable de la leche, se realizó el presente trabajo, en el cual se determinó la acidez real o titulable mediante la técnica señalada en el Manual de Técnicas y Procedimientos para Análisis Físico-Químico de Leche Pasteurizada, publicado por el Laboratorio Nacional de Salud Pública de la Secretaría de Salud y la descrita en el Manual de Prácticas de Inocuidad de Productos de Origen Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, ambas técnicas establecen métodos diferentes entre sí y fueron aplicadas en 5 tipos de leches, con diferentes estados de frescura y durante 72 horas o en el momento que rebasaron el límite permisible de acidez, expresado en gramos de ácido láctico por litro. Las muestras fueron evaluadas cada ocho horas, y se utilizó un potenciómetro para determinar los valores correspondientes de pH. La leche entera sin pasteurizar presentó acidez fuera de los límites permisibles a las 16 horas, la leche entera pasteurizada hasta las 34 horas, la leche semidescremada pasteurizada hasta las 32 horas (tiempo en que presentó signos de descomposición) y las leches entera ultrapasteurizada y semidescremada ultrapasteurizada hasta las 72 horas, momento final del experimento. Con el estudio se hizo evidente que el proceso de conservación de la leche, favorece la condición de calidad del mismo, así como, a la acidez dentro del parámetro establecido como normal. Se demostró que los resultados de las dos técnicas difieren entre sí, por lo cual se hace necesaria la unificación de criterios, para hacer los ajustes necesarios y de esta forma realizar una sola técnica, que sería la descrita por el manual del Laboratorio Nacional de Salud Pública, misma que aparece en la NOM-155-SCFI-2003, Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado-denominación, especificaciones fisicoquímicas, información general y métodos de prueba, ya que los resultados se asemejan a los obtenidos con el potenciómetro. Es recomendable hacer de manera simultánea un conteo de microorganismos, para analizar una posible relación entre el aumento de acidez láctea y la presencia de estos agentes.

## I. INTRODUCCIÓN

La leche de vaca para consumo humano es la secreción natural de las glándulas mamarias de las vacas sanas, excluyendo el producto obtenido 15 días antes del parto y 5 días después de éste o cuando tenga calostro. 1

La leche es una mezcla compleja que consiste en una emulsión de grasa y una dispersión coloidal de proteínas, junto con el azúcar en disolución perfecta, así, la leche está compuesta por agua, grasa, lactosa, proteínas y minerales, siendo estos los constituyentes principales del producto, pero también están presentes otras sustancias en menores cantidades, tales como vitaminas, pigmentos, enzimas y otros compuestos (entre ellos los nitrogenados). Todos estos constituyentes y las diferentes fases (emulsión, suspensión y solución) determinan las propiedades físicas de la leche, las cuales son: sabor, olor, color, densidad específica, punto de ebullición, punto de congelación, pH, índice de refracción, calor específico y viscosidad, entre otras. 2

La leche entera considerada como el producto no alterado o adulterado, del ordeño higiénico de vacas sanas, que no contenga calostro y exento de color, olor, sabor y consistencia anormales 3, para ser considerada apta para consumo, deberá cumplir con los requisitos establecidos en el Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios:

- No contener materia extraña, conservadores ni sustitutos neutralizantes,
- Tener un color, olor y sabor característicos que correspondan al ordeño higiénico,
- No coagular por ebullición,
- No contener pus ni sangre,
- Ser negativa a las pruebas de alcohol al 68%, y a inhibidores bacterianos, acidez con un límite no menor de 1.3, ni mayor a 1.7g/litro (expresada como ácido láctico)4 y presentar cloruros con un límite no mayor de 1.2g/litro (expresado en cloruro).5

Ya que de no reunir con las características descritas, significarían pérdidas económicas y de la leche en el momento de su industrialización y por consiguiente de su producción.6 De ahí la importancia

de evaluar la calidad higiénico sanitaria y organoléptica de la leche, mediante la aplicación de diferentes determinaciones analíticas. 7

En el reconocimiento de las alteraciones de la leche, que permite conocer las condiciones de aptitud del producto, es de utilidad la determinación de su acidez, cuyo parámetro normal se debe principalmente a su contenido de caseína (0,05 - 0,08%) y de fosfatos, pero también contribuyen a la acidez, el dióxido de carbono (0,01 - 0,02%), los citratos (0,01%) y la albúmina (menos del 0,001%). 1

Al referirse a la acidez de la leche deberá diferenciarse entre la acidez aparente o actual y la real o titulable. La leche recién ordeñada posee una reacción iónica ligeramente ácida (con un pH entre 6.4 y 6.8), siendo ésta la acidez aparente o actual y es causada por la presencia de caseína, fosfatos, citratos, anhídridos carbónicos y lactoalbúmina, disueltos en la leche. La acidez real o titulable se origina primordialmente a partir de la fermentación de la leche por acción de las bacterias ácido lácticas (*Streptococcus agalactiae*, *S. lactis* y *S. cremoris*) 6, como consecuencia de la formación de ácidos (principalmente ácido láctico y otros como el acético y el butírico). 2

La leche recién ordeñada prácticamente no contiene ácido láctico libre (apenas un 0.002%), y si no es manejada y conservada en forma adecuada las bacterias ácido lácticas procedentes de la ubre o del ambiente, luego de proliferar, inician el desdoblamiento de la lactosa con la subsecuente formación de los ácidos orgánicos. 7 La aptitud de las bacterias ácido lácticas para producir en la leche mayor o menor ácido láctico está relacionada con su resistencia a los valores del pH. 8

El ácido láctico producto de la fermentación de la lactosa (principal constituyente sólido de la leche) es responsable del sabor fresco y ácido de los quesos sin madurar y es de gran importancia en la formación y características texturales de la cuajada, pero en altas concentraciones también puede ocasionar problemas en la apariencia del producto, ya que lo hace higroscópico y pegajoso. 9

En el caso de la acidez real se recurre a métodos que permiten valorar la concentración de ácido láctico mediante la titulación directa con NaOH, el porcentaje de ácido láctico, el método de grados Dornic (°D) y el de grados Soxhlet – Henkel (°S.H.). La acidez se mide con base a una titulación

alcalimétrica con hidróxido de sodio en solución 0.1 Normal (N), utilizando fenolftaleína como indicador.

Siendo la cantidad de NaOH al 0.1N necesarios para lograr la neutralización de 100 ml de leche diluida con 200ml de agua, es un método preciso. 10

El Manual de Técnicas y Procedimientos para Análisis Físico-Químico de Leche Pasteurizada, publicado por el Laboratorio Nacional de Salud Pública de la Secretaría de Salud (LNSP), establece la metodología para determinar la acidez real o titulable, en forma diferente a la establecida en el Manual de Prácticas de Inspección de Productos de Origen Animal (IPOA). En éste último el método es, aparentemente más sencillo, sin embargo, se desconoce si los resultados obtenidos son similares o difieren, tanto en condiciones de frescura del producto, como cuando el producto comienza a mostrar signos de alteración. Por esta razón, es importante conocer si existen diferencias entre ambas técnicas en condiciones variables de frescura de la leche.

## **II. HIPÓTESIS**

Las pruebas de determinación de acidez de la leche descritas en el Manual de Técnicas y Procedimientos para Análisis Físico-Químico de Leche Pasteurizada, publicado por el Laboratorio Nacional de Salud Pública de la Secretaría de Salud y en el Manual de Prácticas de IPOA utilizado en la asignatura de Aseguramiento de la Calidad de Productos y Subproductos Pecuarios de la FMVZ, presentan resultados diferentes entre sí.

Los resultados obtenidos mediante los dos métodos mencionados presentan diferencias entre sí cuando las condiciones de frescura del producto cambian.

### **III. OBJETIVOS**

#### **Objetivo general**

Evaluar dos procedimientos orientados a la prueba de determinación de acidez de la leche con base en el valor en gramos de ácido láctico por litro y las cantidades de reactivos y tiempo utilizados y establecer su relación con los valores de pH en la leche.

#### **Objetivos específicos**

Desarrollar la técnica de determinación de la acidez titulable de la leche, según lo establecido en el Manual de Técnicas y Procedimientos para Análisis Físico-Químico de Leche Pasteurizada, publicado por el Laboratorio Nacional de Salud Pública de la Secretaría de Salud y en el Manual de IPOA de la FMVZ.

Evaluar las técnicas arriba mencionadas en diferentes tipos de leche (entera no pasteurizada, entera pasteurizada, semidescremada pasteurizada, entera ultrapasteurizada y semidescremada ultrapasteurizada) y en diferentes estados de frescura y en comparación con los valores de pH.

Comparar y analizar los resultados obtenidos para poder establecer una concordancia estadística entre ambas pruebas y una asociación estadística entre el estado de frescura y los resultados.

Establecer con base en los resultados obtenidos, cuál es el mejor método de evaluación y en dado caso, hacer los ajustes pertinentes al manual de IPOA de la FMVZ.

#### IV. MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó la comparación en cinco tipos de leche (entera no pasteurizada, entera pasteurizada, semidescremada pasteurizada, entera ultrapasteurizada y semidescremada ultrapasteurizada), a las muestras se les aplicó la técnica de determinación de acidez descrita en el Manual de Técnicas y Procedimientos para Análisis Físico-Químico de Leche Pasteurizada, del LNSP y la descrita en el Manual de IPOA de la FMVZ, durante 72 horas o en el momento que se rebasó el límite permisible de acidez (1.3 –1.7 g/l de ácido láctico), expresado en gramos de ácido láctico por litro. Las muestras se evaluaron cada ocho horas (a las 0, 8, 16, 24, 32, 40, 48, 56, 64, y 72 horas) por medio de ambas técnicas, y como control, la determinación de los valores de gramos de ácido láctico cuando la leche alcanza un pH de 8.3, evaluado por medio de un potenciómetro, tal como se describe más adelante. Cabe señalar que el producto se mantuvo dentro de su empaque comercial, pero abierto y a temperatura ambiente.

Las pruebas se realizaron en el laboratorio de alimentos del Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública de la FMVZ de la UNAM.

La leche utilizada se obtuvo de la siguiente forma:

La leche entera sin pasteurizar se obtuvo de las vacas presentes en el Centro de Enseñanza, Práctica e Investigación en producción y Salud Animal (CEPIPSA) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, ubicado en el kilómetro 28 carretera Federal México-Cuernavaca Topilejo y fue extraída directamente de la glándula mamaria, posterior al lavado y secado de las ubres, cuyo propósito es el eliminar la suciedad acumulada en dicha área, así como eliminar los posibles microorganismos presentes. El material utilizado para esta tarea, es el que comúnmente usan en el CEPIPSA.

El recipiente empleado para la toma del producto, se abrió únicamente en el momento de introducir la muestra y se cerró de inmediato. No se tomó la muestra en condiciones atmosféricas que pudieran dar lugar a la contaminación de la muestra. <sup>11</sup> La calidad química y organoléptica de la leche varía a medida que transcurre el tiempo desde su ordeño y el cuidado con que se maneje.<sup>12</sup>

Se utilizó un recipiente seco y limpio, impermeable al agua y a la grasa, con cierre hermético, y se

envió al laboratorio refrigerada. Durante el transporte de la muestra, la temperatura osciló entre los 3 y 4° centígrados, sin que esta excediera los 10°C. De esta forma se confió en que no existieron cambios en aroma, pH o composición del producto. 13 11 7

Los otros tipos de leches, se adquirieron en supermercado, seleccionando una sola marca comercial y fueron transportadas en refrigeración al laboratorio de alimentos del Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública en donde se llevó a cabo la determinación de la acidez láctea con base a lo siguiente:

### **DETERMINACIÓN DE ACIDEZ**

#### **a) Según el Manual de Técnicas y Procedimientos para Análisis Físico-Químico de Leche Pasteurizada:**

- Todo el material utilizado debe estar estéril.

Pipeta graduada de 10 ml

Pipeta volumétrica de 20 ml

Matraz de 125 ml

Bureta de 50 ml graduada en 0.1 ml

- Reactivos

Hidróxido de sodio 0.1 N (valorado) NaOH

Solución indicadora al 1% de fenolftaleína (C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>OH) 2COC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CO

Alcohol etílico (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH)

Solución indicadora al 0.12% de cloruro o acetato de rosanilina.

- Preparación de soluciones

Pesar 1.0 g de fenolftaleína en 100 ml de alcohol etílico.

Pesar 0.12 de cloruro o acetato de rosanilina y disolverlo con alcohol etílico al 95% (v/v), adicionar

0.5 ml de ácido acético glacial y llevar a un volumen de 100 ml.

Diluir 1 ml de esta solución con 500 ml de alcohol etílico al 95%.

Almacenar ambas soluciones en frasco ámbar.

- Procedimiento

Medir 20 ml de muestra en un matraz y diluirlo con dos veces su volumen con agua libre de CO<sub>2</sub>. Añadir 2 ml de fenolftaleína y titular con hidróxido de sodio 0,1 N hasta la aparición de un color rosado persistente cuando menos un minuto, empleando como guía de color una muestra de control de acetato o cloruro de rosanilina preparada de la siguiente manera:

Medir 20 ml de muestra en un matraz. Añadir 2 ml de la solución de acetato o cloruro de rosanilina; agitar con una varilla de vidrio.

Cálculo de la acidez

$$V \times N \times 90$$

Acidez (g/l) = -----

$$M$$

Donde:

V = ml de solución de NaOH 0.1 N, gastados en la titulación

N = normalidad de la solución de NaOH

M = volumen de la muestra en ml

**b) Según el Manual de IPOA:**

Pipeta volumétrica de 10 ml

Matraz Erlenmayer de 50 ml o cápsula de porcelana blanca

Bureta de 25 ml graduada en 0.1 ml

- Reactivos

Hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 N

Solución alcohólica de fenolftaleína al 1% (1.0g de fenolftaleína en 100ml de alcohol etílico)

- Procedimiento

Mezclar muy bien la leche, medir 9 ml con la pipeta y depositarlos en el matraz o en la cápsula. Se considera que es más preciso pesar 9g.

Agregar 3 a 5 gotas de la solución de fenolftaleína.

Una vez depositado en la bureta, dejar caer el NaOH sobre la leche y titularla hasta que aparezca un color rosa pálido, el cual debe persistir durante 10 a 15 segundos.

La cantidad total de ml de NaOH 0.1N gastados se interpreta en forma directa como la cantidad de ácido láctico presente en la leche y se expresa en términos de g/l (gramos de ácido láctico por litro de leche). Si se requiere expresar en %, deberá dividirse el resultado entre 1000 y multiplicarse por 100, lo que equivale a dividir el resultado original entre 10.

Si la cantidad de leche titulada no fuera de 9 ml (o 9g), para realizar el cálculo de la acidez se deberá aplicar la siguiente formula:

$$\% \text{ Ácido láctico (g/l)} = \frac{V \times N \times 0.09}{M} \times 100$$

Donde:

V = ml de solución de NaOH 0.1 N, gastados en la titulación

N = normalidad de la solución de NaOH

M = volumen de la muestra en ml

### c) Mediante el uso del potenciómetro.

Para el caso del potenciómetro se siguieron las indicaciones de la NOM-155-SCFI-2003, que señala, medir 20ml de muestra, adicionar 40ml de agua libre de CO<sub>2</sub> y titular con hidróxido de sodio 0.1 N hasta alcanzar un pH de 8.3, medido con potenciómetro.

Los resultados obtenidos fueron analizados y evaluados estadísticamente utilizando el paquete estadístico SPSS 10.0 para Windows, para determinar la asociación existente entre el tiempo y los gramos de ácido láctico. Se realizó un análisis de varianza con el fin de establecer una diferencia estadísticamente significativa entre ambas técnicas y, cuando la hubo (p<0.05), se aplicó la prueba

Tukey B. 14

## V. RESULTADOS

Los valores obtenidos de acidez expresada como ácido láctico por litro, tras realizar las tres técnicas de determinación de acidez láctea, son presentados en el cuadro 1, así como en las figuras 1, 2 y 3.

De los que cabe resaltar lo siguiente:

En el cuadro 1 se muestran los valores obtenidos en la determinación de acidez, que en el caso de la leche cruda, a las 16 horas, se elevaron casi al doble. Los valores de la leche entera pasteurizada, a las 32 horas, muestran que el producto dejó de ser apto con las tres técnicas. Los valores de la leche semidescremada pasteurizada, a las 32 horas, con la técnica del LNSP y el potenciómetro, la leche aun se encontraba en condiciones optimas de acuerdo a su acidez, pero no en sus características sensoriales. Los valores de la leche entera ultrapasteurizada, a las 72 horas, reflejan que con las técnicas del LNSP y el potenciómetro, la leche aun se encontraba en condiciones óptimas de acuerdo a su acidez, así como en sus características sensoriales. No así, en el caso de la técnica de la FMVZ, ya que los valores se mantuvieron fuera del límite permisible establecido como normal. Y por último, los valores la leche semidescremada ultrapasteurizada, a las 72 horas, y con las tres técnicas, la leche se encontraba en condiciones optimas de acuerdo a su acidez, así como en sus características sensoriales.

Los resultados del análisis estadístico, obtenido con el programa SPSS 10.0 para Windows, se presentan en el cuadro 2.

## VI. DISCUSIÓN.

Tras obtener los resultados al determinar la acidez láctea por medio de las tres técnicas descritas en esta tesis, se pudo observar que sí existe una diferencia entre las técnicas de la FMVZ (T1) y la que se realiza en el LNSP (T2), ésta última también referida en la Norma Oficial Mexicana NOM-155-SCFI-2003, Leche, Formula láctea y producto lácteo combinado-denominación, especificaciones fisicoquímicas, información general y métodos de prueba.

Esta diferencia encontrada, en el gasto de NaOH 0.1 N, se confirma en los resultados finales y tras aplicar la formula señalada por el LNSP y la NOM. El gasto registrado de NaOH llega a elevarse hasta el doble. En los resultados finales se demostró, que al utilizar la T1, éstos se elevan de un 0.3 a 0.4 g/l, a diferencia que con las otras técnicas.

La temperatura de almacenamiento tiene una influencia sobre la acidez y la proliferación bacteriana y por consiguiente en su vida de anaquel, interviniendo también aquí factores como la contaminación post-pasteurización, calidad de leche cruda y la cantidad y tipo de bacterias presentes. A una temperatura de 10°C el producto pasteurizado puede durar de 4 a 5 días. 15

La relación entre el desarrollo de bacterias en la leche y la temperatura en leche limpia y colectada con procedimientos higiénicos, se puede ver en el siguiente cuadro: 16

T C	Horas			
	12	24	48	72
	<b>Unidades formadoras de colonias/g (UFC/g)</b>			
4.4°C	4100	4200	4600	8500
<b>10°C</b>	<b>4200</b>	<b>14000</b>	<b>128000</b>	<b>6000000</b>
15°C	4200	1,600,000	33,000,000	326,000,000

TC: Temperatura de conservación.

La leche pasteurizada no es estéril, pero es estable durante aproximadamente una semana en refrigeración, si el producto se almacena a diferentes temperaturas, la pérdida de calidad total acumulada será la suma de la pérdida de calidad ocurrida a cada temperatura. En otras palabras, los alimentos al ser almacenados a diferentes temperaturas se deterioran. 17 La leche debe ser mantenida a temperaturas inferiores a los 6°C, esto previene la proliferación de bacterias que causan

enfermedades en el ser humano. Algunas bacterias que causan descomposición pueden multiplicarse a estas temperaturas pero su tasa de crecimiento es muy lento.<sup>16</sup> La pasteurización es un tratamiento térmico moderado que destruye microorganismos patógenos y extiende la vida en anaquel, por ello es importante que los productos pasteurizados se emplean usualmente en combinación con otros métodos de conservación, tales como la refrigeración.<sup>18</sup>

La leche de vaca tiene enorme importancia en la dieta y el bienestar humano y sus propiedades físicas, como son el color y la viscosidad, son factores que el consumidor inmediatamente puede evaluar y, con base en esto, rechazar o aceptar el producto.<sup>19</sup> Así la observación de los caracteres organolépticos de la leche, constituye una prueba de plataforma que permite la segregación de la leche de peor calidad.<sup>20</sup> No así la acidez.

La calidad de la leche comercial depende directamente de la calidad del producto original y de las condiciones de transporte, conservación y manipulación en general y las pruebas del alcohol, de determinación de acidez, pH y las basadas en la reducción de colorantes, son realizadas en un laboratorio con el objeto de determinar la calidad de leche sospechosa o como técnicas de rutina de control.<sup>20</sup> La calidad se refiere a la totalidad de las características de una entidad que le confieren la aptitud para satisfacer las necesidades establecidas y las implícitas (las necesidades del cliente) acumulativo, sin importar a qué intervalo de temperaturas se almacenen y entre ellas se encuentran las características sensoriales (sabor, aroma, textura, aspecto), de salud (patógenos, sustancias extrañas, tóxicos), de la vida en anaquel (duración de un alimento después de producido) y otras tales como la calidad nutritiva (contenido de nutrientes presentes en el producto) y empaque y etiqueta (atractivo para llamar la atención, útil y adecuado para el tipo de producto).<sup>17</sup>

La acidez normal de la leche aumenta por la transformación de lactosa en ácido láctico, lo cual se debe principalmente a *Streptococcus lactis*, el cual prolifera rápidamente a temperaturas mayores a 10°C, siendo factor en el deterioro del producto, favoreciendo el aumento de organismos mesófilos aerobios y coliformes presentes en el alimento.<sup>21</sup>

Es importante señalar que los procesos a los cuales se sometió el producto comercial (pasteurización y ultra pasteurización) permitieron realizar mayor número de lecturas de la técnica de determinación de acidez, siendo lo contrario en la leche bronca. En el caso de la leche ultra pasteurizada el producto duró en condiciones óptimas las 72 horas que duró el experimento, por su parte, el producto pasteurizado permitió la realización de la técnica hasta las 56 horas. Esto pese a que la leche pasteurizada ha sido sometida a un tratamiento térmico específico y por un tiempo determinado que asegura la total destrucción de los organismos patógenos que pueda contener y casi la totalidad de los organismos no patógenos, sin alterar en forma considerable su composición, sabor ni valor nutritivo. <sup>3</sup> Por último, la leche bronca solo permitió lectura hasta las 24 horas. El punto final de la valoración no es un momento preciso, porque depende de la agudeza visual <sup>22</sup> ante el cambio de coloración que se presenta, pero pudo ser controlado por lo establecido como guía de color en la NOM-155-SCFI-2003.

A temperaturas medias de 20 a 40°C es en general la flora láctica mesófila la que invade la leche y provoca su coagulación por acidificación. Por consiguiente la variación de la acidez, se debe a la proliferación bacteriana (fermentadora de lactosa) por una deficiente refrigeración. <sup>22</sup>

Cabe señalar que bacterias termófilas presentes en la leche cruda pueden sobrevivir el proceso de pasteurización, al igual que las bacterias psicrótróficas. <sup>23</sup>

El producto ultra pasteurizado fue el primero en someterse a la prueba, mostrando resultados semejantes sin que influyera el hecho de ser leche entera o semidescremada. En promedio los resultados variaron 0.1 g/l de ácido láctico.

En el caso del producto pasteurizado, los resultados se mantuvieron con cierta estabilidad hasta las 24 horas, y posterior a este tiempo se encontró una variación que llegó a elevarse con valores mayores a 1.5 (este valor registrado en el caso de la T1) y de 0.1 y 0.2 en las otras técnicas.

Por lo establecido en el protocolo, detuve la fase experimental de los productos pasteurizados, ya que habían rebasado los límites permisibles establecidos de una acidez normal entre 1.3 a 1.7g/l expresada en ácido láctico (o de 1.4 a 1.7g/l, De la Vega, 1990) según la T1. Además de que el

producto ya presentaba signos de descomposición, lo que impedía la realización de la técnica analizada. La leche pasteurizada todavía tiene una determinada cuenta microbiana, principalmente de bacterias lácticas (no patógenas pero sí fermentativas), y requiere de refrigeración, ya que su vida de anaquel es tan solo de algunos días. <sup>19</sup>

La leche entera sin pasteurizar presentó cambios en sus resultados hasta las 16 horas, elevándose al doble. A las 24 horas se volvió a presentar dicho fenómeno en las tres técnicas analizadas, suspendiéndose el experimento por que el producto presentó signos de descomposición, rebasándose el límite permitido de acidez desde las 16 horas. Como la leche es el alimento mas completo de la naturaleza, porque contiene proteínas, grasas, azúcar en forma de lactosa, minerales y casi todas la vitaminas, los miles de tipos de bacterias que existen pueden multiplicarse en este alimento, tan rápidamente, que duplican su número cada 15 minutos cuando la leche está entre 30 y 37 °C. <sup>24</sup>

El origen de la contaminación microbiana en la leche puede ser dentro de la ubre, en la superficie de ésta o en las manos del ordeñador o por el medio ambiente. Los organismos de desecho, especialmente las bacterias psicrotróficas, son la principal causa del alto conteo bacteriano en la leche cruda. <sup>23</sup>

Para multiplicarse las bacterias usan como sustrato a los componentes de la leche y excretan sustancias indeseables como ácido láctico, ácido propiónico y ácido acético, provenientes del metabolismo de la lactosa. Son muchos los cambios que va sufriendo la leche hasta llegar a la acidificación y, en ese momento, hay varios millones de bacterias por ml, generalmente más de 7 millones. <sup>24</sup>

Lo anterior demuestra que al comenzar el proceso de descomposición de la leche, no hay vuelta atrás, ya que las bacterias se multiplican rápidamente y aceleran el proceso, de ahí la importancia de que el producto sea procesado por medio de pasteurización o ultrapasteurización y, así mismo, sea mantenido en refrigeración.

Cuando la leche se acidifica suele considerarse alterada. La formación de ácido se manifiesta inicialmente por el olor agrio y la coagulación de la leche, que produce una cuajada de consistencia gelatinosa o más débil, que libera un suero claro. La fermentación ácido láctica tiene lugar en general cuando se abandona la leche cruda durante algún tiempo a temperatura ambiente. Los gérmenes lácticos causantes de esta fermentación pueden ser homofermentativos que producen casi exclusivamente ácido láctico y cantidades mínimas de otras sustancias, o heterofermentativos, que producen además de ácido láctico, cantidades apreciables de productos volátiles. El agriado de la leche cruda a temperaturas entre 10 y 37 °C es generalmente causado por el *Streptococcus lactis*, ayudado quizá por coliformes, micrococos, lactobacilos y enterococos. 25

Los productos pasteurizados y la leche bronca, al descomponerse, presentaron diversas características en el proceso. En un examen sensorial, los productos pasteurizados oían ácidos a medida que el experimento avanzaba, a diferencia de la leche entera, que al final del análisis arrojó un aroma agradable y dulce, esto pese a tener un aspecto de leche cortada.

Otra condición encontrada en los productos pasteurizados fue que en las últimas lecturas, se volvió más pegajoso, viéndose esta condición reflejada en el momento de lavar el material. A diferencia de la leche bronca, que fue fácilmente eliminada del material una vez que se terminaba de realizar la técnica.

En los productos ultra pasteurizados, la T1 se mantuvo en el valor alto establecido como normal, y posteriormente elevarse 0.1 g/l, lo que significaría que el producto dejó de estar apto para su consumo. En cambio, con la T2 y con el potenciómetro, se registraron valores que se mantuvieron dentro del rango menor establecido y sin salirse del parámetro normal, calificando al producto como apto.

En los productos pasteurizados, los resultados obtenidos con la T1 se mantuvieron en el rango mayor del límite hasta las 16 horas en el caso de la leche entera y hasta las 24 horas en la leche semidescremada, para después elevarse y salirse del parámetro. Pero con la T2 y el potenciómetro, se mantuvieron los resultados hasta las 32 horas en la leche entera pasteurizada y hasta las 48 horas

en la leche semidescremada pasteurizada, momento en el que ya no fue posible seguir trabajando con el producto, por condiciones de descomposición.

Los productos pasteurizados y ultrapasteurizados contaban con una ventaja sobre la leche entera, ya que su envase mantuvo por más tiempo las propiedades sensoriales del mismo, protegiéndolo de la descomposición, al mantener su higiene y sanidad, permitiendo mayores lecturas del experimento. El producto se mantuvo en su envase original, pero abierto, y fue evidente que los efectos del medio ambiente, el lugar y tiempo de almacenamiento, tuvieron como consecuencia la descomposición. 26 En la última fase del experimento, la leche entera se mantuvo fuera del parámetro establecido con la T1, pero se mantuvo dentro del mismo y hasta las 8 horas, al medir la acidez con la T2 y el potenciómetro.

La leche cruda parece estar protegida contra el desarrollo masivo de gérmenes. Este fenómeno se debe a la presencia de sustancias antibacterianas, como La lecitina L1, L2 y L3, las cuales actúan sobre *Streptococcus pyogenes*, *S. cremoris*, *S. lactis* y *S. agalactiae*. 21

A las 16 horas se elevaron los valores y con las tres técnicas se demostró que el producto había dejado de ser apto para su consumo. La leche se considera alterada cuando por acción de causas naturales ha sufrido modificaciones en su composición intrínseca que modifique sus características físicas, químicas u organolépticas fuera de los límites previstos en los reglamentos y en las Normas Oficiales Mexicanas correspondientes. 21

El trabajo permite hacer una serie de reflexiones a considerar, entre ellas, la importancia de que la prueba de determinación de acidez, puede presentar problemas en el momento de analizar un producto. Por el tipo de información que se obtiene, la prueba nos puede arrojar falsos positivos en el momento de evaluar el producto. En la fase experimental se pudo constatar, que en ocasiones el producto puede presentar características de descomposición, sin que sea necesario que el ácido láctico esté en niveles elevados.

Así mismo, la prueba de la FMVZ arroja datos elevados, de esta forma el producto no sería apto dentro de su evaluación, siendo un dato que puede estar en duda usando la técnica presentada en el manual del Laboratorio Nacional de Salud Pública o el potenciómetro.

Otro dato importante es el hecho de que el parámetro de color se convierte en algo subjetivo, ya que se basa en un aspecto de percepción del que realice la prueba, así para algunos el punto final de lectura puede ser en un momento específico, sin que éste sea el mismo para otra persona. Tratando de subsanar esta falla, la norma oficial establece un parámetro de color mediante el colorante rosanilina, pero el tono de rosa que presenta es muy encendido y no corresponde con el que se maneja como punto final en ambas metodologías.

Sería recomendable hacer de manera simultánea un conteo de microorganismos, para analizar una probable relación entre el aumento de acidez láctea y la presencia de estos agentes, lo cual arrojaría mayor información acerca de la veracidad de los resultados obtenidos al evaluar la acidez.

Por otro lado, se demostró que la leche entera y sin ningún método de conservación presenta un rápido incremento en la acidez, lo cual nos habla de las condiciones de almacenamiento del producto. Las leches que se sometieron a un proceso de conservación, como lo es la pasteurización, se mantuvieron estables por un lapso de tiempo mayor y este tiempo hubiera aumentado, si el producto se conservara en refrigeración. Así mismo el producto ultrapasteurizado se mantuvo sin grandes cambios en los resultados obtenidos, lo cual nos habla de que el proceso alarga la vida del producto y sin que éste sea refrigerado, aunque no es lo recomendable.

Es importante establecer de una sola técnica para determinar la acidez, es decir, que en el laboratorio de análisis de los alimentos de la FMVZ se realice la técnica descrita en el Manual del Laboratorio Nacional de Salud Pública, misma que aparece en la NOM, ya que es la que equipara sus resultados a los obtenidos con el potenciómetro, los cuales se consideran como valores reales, por que su proceso es más exacto. La importancia de que se realice un solo tipo de técnica, radica en el hecho de unificar criterios de evaluación y de apegarse a lo descrito en la Norma Oficial.

Ambas técnicas tienen la ventaja de ser realizadas y preparadas en corto tiempo y en cuanto al gasto de los reactivos, varían en cantidades, sin que esto signifique una inversión económica considerable. Por ello no es difícil la realización de una sola técnica en ambas instituciones.

## VII. LITERATURA CITADA

1. Warner J. Principios de la tecnología de lácteos. México. AGT Editor SA. 1989.
2. Jaramillo AC, Vargas GR, Martínez MJJ. Manual de Prácticas de Inspección de productos de Origen Animal. 2ª edición. México. UNAM FMVZ. 1994.
3. Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense 03 034-99 Leche Entera Pasteurizada. Esta norma fue aprobada por el Grupo de Trabajo en su última sesión de trabajo el día 17 de Octubre de 2000.
4. NOM-155-SCFI-2003, Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado-denominación, especificaciones fisicoquímicas, información general y métodos de prueba.
5. NOM-091-SSA1-1994, Bienes y servicios. Leche pasteurizada de vaca. Disposiciones y especificaciones sanitarias.
6. Ávila TS. Fisiología de la glándula mamaria y ordeño. México. UNAM FMVZ. 2001.
7. González AS, Castellanos PL, Gonzalvez G, Perdomo M, Grillo RM, Romero A, Quevedo R, Jatai CN. Guía para el Establecimiento de sistemas de Vigilancia Epidemiológica de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (VETA) y la Investigación de Brotes de Toxi – infecciones Alimentarias. INPPAZ OPS OMS. 1993.
8. Alais Ch. Ciencia de la leche. Principios de técnica lechera. México. CIA Editorial Continental. 1988.
9. Svoboda J. Trabajos prácticos en la higiene de los alimentos. Cuba. Editorial Universitaria. 1965.
10. Revilla A. Tecnología de la leche, procedimiento, manufactura y análisis. Costa Rica. Instituto Interamericano de cooperación para la Agricultura. 1985.

11. Flores LJJ, Rodríguez MR, Tovar OF, Coyote EN, Hernández VB, Hernández SJL, Morales CHJ, Darío TR, Treviño GC, Trujillo SJL, Albuérne PA, Escutia SI. Guía para el Verificador de Bienes y Servicios. México. SSA. 1996
12. Varnam A, Sutherland J. Leche y productos lácteos. Zaragoza, España. Acribia. 1994.
13. Barradas SH, Leonidez LP, Schulze CE, Pérez PJ. Control físico – químico de la leche pasteurizada. México. SSA. 1989.
14. Daniel WW. Biostatistics: a foundation for analysis in the health science. 6a edición Canada. John Wiley & Sun Lic. 1995
15. Clavijo AM, Arispe I, Clavijo MLJ, Demey J, Santander J. Efecto de las condiciones de procesamiento en la supervivencia de los microorganismos, su resistencia a los antimicrobianos y su influencia en la calidad sanitaria y la vida útil de la leche pasteurizada. [www.ceniap.gov.vc/bdigital/congresos/jornadas/web/aclavijo3.htm](http://www.ceniap.gov.vc/bdigital/congresos/jornadas/web/aclavijo3.htm)
16. Martínez LL. La calidad paga: producción de leche de calidad sanitaria. III Congreso Nacional de Control de Mastitis y Calidad de la Leche. León, Gto México. 21 al 23 de junio de 2001.
17. García R. Universidad del Valle de Guatemala. Facultad de Ciencias y Humanidades, Depto. de Ingeniería y Ciencia de Alimentos. <http://www.uvg.edu.gt/~rgarcia/Ptermico.htm> 4/10/00.
18. García R. Universidad del Valle de Guatemala. Facultad de Ciencias y Humanidades, Depto. de Ingeniería y Ciencia de Alimentos. <http://www.uvg.edu.gt/~rgarcia/Notasclase.htm> 20/09/00.
19. Badui DS. Química de los alimentos. 2da edición, Alhambra Mexicana, México 1990.
20. Introducción al control de calidad de la leche cruda. Ciencia y tecnología de la leche. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad del Zulia. Maracaibo, Zulia. Venezuela. 26/01/2004

21. Vega, J. Estudio retrospectivo de la calidad sanitaria de la leche fluida pasteurizada, consumida en el DF y el área metropolitana.(Tesis de licenciatura) México, D.F. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1990.
22. Verrey CC. Evaluación de la fabricación de queso tipo Oaxaca a partir de leche pasteurizada y de leche cruda. (Tesis de licenciatura) México, DF. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1982.
23. Hubbert W, Hagstad H, Spangler E, Hinton M, Hughes K. Food Safety and Quality Assurance, Second edition, Iowa State University Press/Ames. USA, 1996.
24. Cotrino V, Gaviria BC. Cómo se Determina la Calidad Microbiológica de la Leche Cruda. Laboratorio Médico Veterinario Ltda. <http://www.lmvltada.com/lab/> 2001, 2002, 2003
25. Frazier WC. Microbiología de los alimentos. Director Responsable Lic. Daniel Pottí. Todos los derechos reservados, <http://www.MundoHelado.com> 2000-2003
26. Instituto Nacional de Ecología. SEMARNAT. Consideraciones generales sobre los envases y embalajes. México DF <http://www.inc.gob.mx> 17/01/2003.

## VIII. ANEXOS

**Cuadro 1**

Valores obtenidos y expresados en gramos de ácido láctico, al determinar la acidez láctea, por medio de las técnicas señaladas por el manual de la FMVZ, del LNSP y el potenciómetro, manteniendo el producto en temperatura ambiente.

Tiempos	Técnicas	Leche ESP	Leche EP	Leche SDP	Leche EUP	Leche SDUP
0	FMVZ	1.80	1.70	1.60	1.76	1.74
	LNSP	1.45	1.26	1.26	1.37	1.35
	Potenciómetro	1.44	1.26	1.26	1.35	1.35
8	FMVZ	1.90	1.70	1.70	2.00	1.80
	LNSP	1.52	1.31	1.26	1.48	1.31
	Potenciómetro	1.46	1.26	1.26	1.37	1.26
16	FMVZ	3.20	1.70	1.70	2.00	1.80
	LNSP	2.93	1.31	1.26	1.42	1.31
	Potenciómetro	2.92	1.26	1.26	1.38	1.31
24	FMVZ	7.56	1.80	1.70	1.94	1.78
	LNSP	6.93	1.31	1.26	1.41	1.30
	Potenciómetro	6.84	1.31	1.27	1.40	1.31
32	FMVZ		2.70	4.30	1.90	1.72
	LNSP		2.16	1.49	1.40	1.22
	Potenciómetro		2.16	1.44	1.38	1.37
40	FMVZ				1.90	1.80
	LNSP			1.44	1.35	1.31
	Potenciómetro			1.43	1.35	1.35
48	FMVZ				1.90	1.80
	LNSP			1.58	1.37	1.35
	Potenciómetro			1.58	1.37	1.35
56	FMVZ				1.90	1.80
	LNSP				1.44	1.33
	Potenciómetro				1.44	1.35
64	FMVZ				1.94	1.80
	LNSP				1.45	1.31
	Potenciómetro				1.44	1.35
72	FMVZ				1.90	1.80
	LNSP				1.47	1.31
	Potenciómetro				1.45	1.31

Límite de acidez láctea 1.3 –1.7 g/l de ácido láctico

Leche ESP: Entera sin pasteurizar

Leche SDP: Semidescremada pasteurizada

Leche SDUP: Semidescremada ultrapasteurizada

FMVZ: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

LNSP: Laboratorio Nacional de Salud Pública

Leche EP: Entera pasteurizada

Leche EUP: Entera ultrapasteurizada

**Cuadro 2**

Análisis de varianza de los diferentes tipos de leche, usando los métodos de la FMVZ, el LNSP y el potenciómetro.

Tipos de Leche	FMVZ	LNSP	POTENCIÓMETRO
ESP	3.16±1.27 <b>a</b>	3.206±1.28 <b>a</b>	3.163±1.35 <b>a</b>
EP	1.92±0.178 <b>b</b>	1.467±0.173 <b>b</b>	1.449±0.196 <b>b</b>
SDP	2.2±0.0477 <b>ab</b>	1.415±0.0508 <b>b</b>	1.391±0.525 <b>b</b>
EUP	1.914±0.0201 <b>b</b>	1.362±0.0138 <b>b</b>	1.356±0.0213 <b>b</b>
SDUP	1.784±0.0102 <b>b</b>	1.308±0.012 <b>b</b>	1.331±0.0933 <b>b</b>
<b>TOTAL</b>	<b>2.157±0.185 a</b>	<b>1.611±0.159 b</b>	<b>1.589±0.157 c</b>

FMVZ: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

LNSP: Laboratorio Nacional de Salud Pública

Leche ESP: Entera sin pasteurizar

Leche EP: Entera pasteurizada

Leche SDP: Semidescremada pasteurizada

Leche EUP: Entera ultrapasteurizada

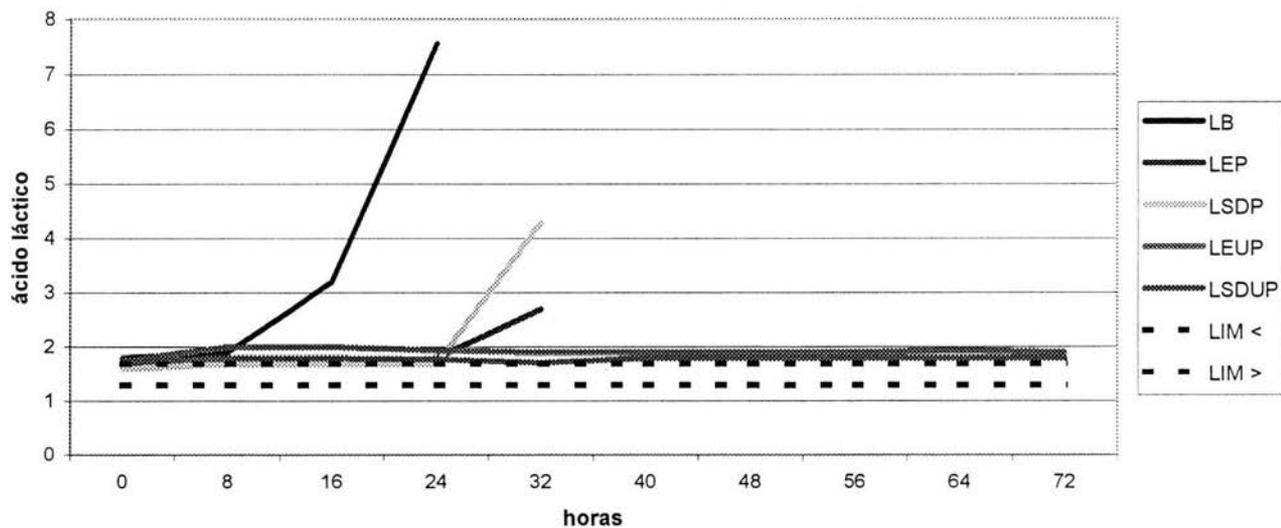
Leche SDUP: Semidescremada ultrapasteurizada

En literales iguales no hay diferencia estadística significativa ( $p>0.05$ ). Tukey B

En literales distintos hay diferencia estadística significativa ( $p>0.05$ ). Tukey B

Figura 1

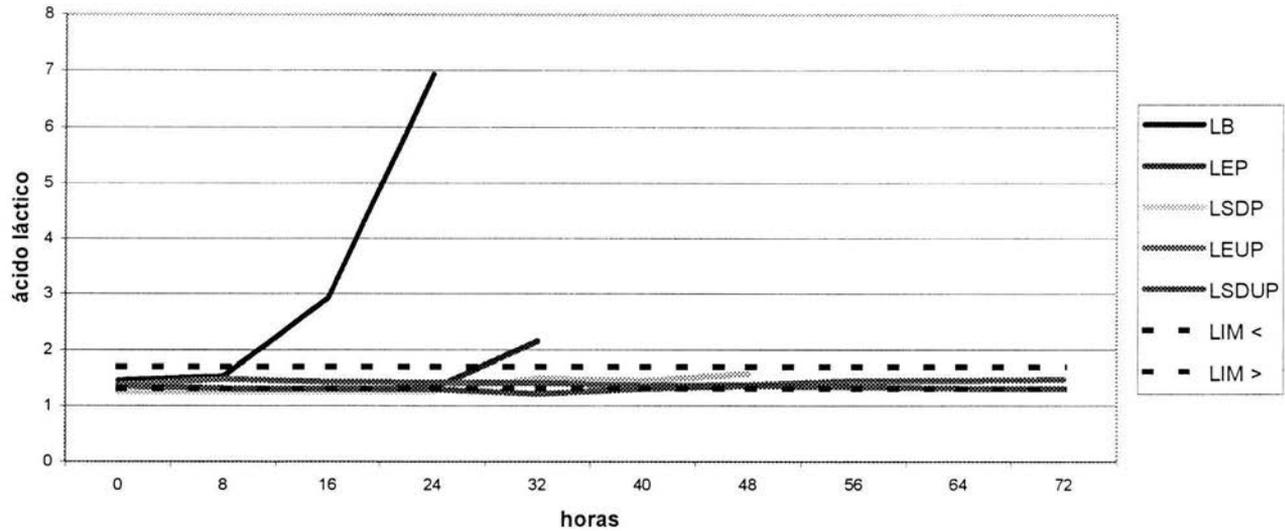
## Determinación de acidez con técnica del IPOA



LB: leche bronca, LEP: leche entera pasteurizada, LSDP: leche semidescremada pasteurizada, LEUP: leche entera ultrapasteurizada, LSDUP: leche semidescremada ultrapasteurizada. LIM < y LIM >: límite permisible de ácido láctico (1.3-1.8 g/litro)

Figura 2

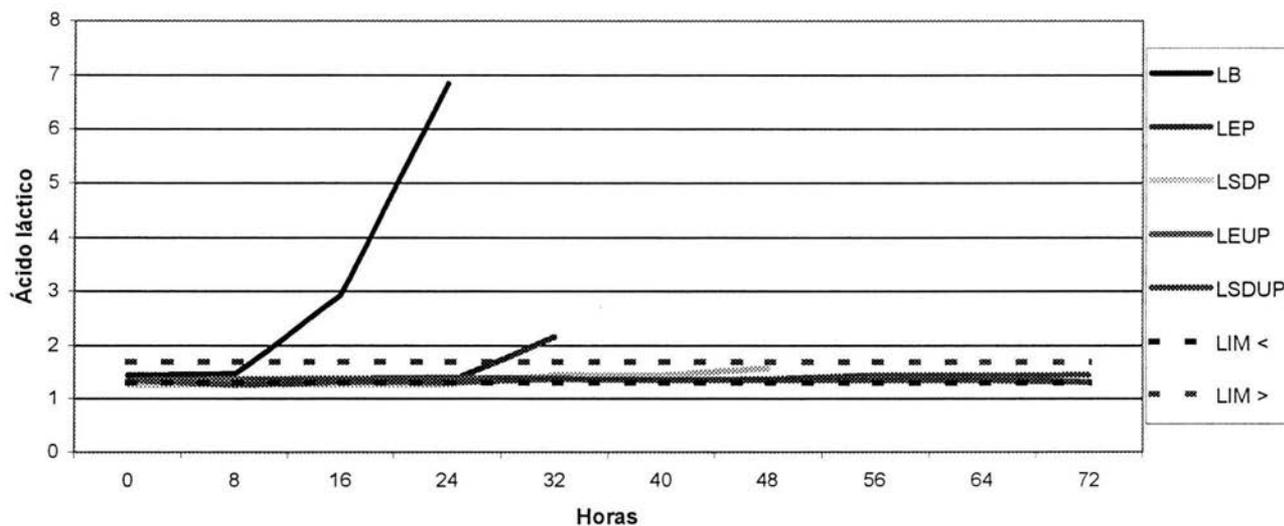
Determinación de acidez con técnica del LNSP



LB: leche bronca, LEP: leche entera pasteurizada, LSDP: leche semidescremada pasteurizada, LEUP: leche entera ultrapasteurizada, LSDUP: leche semidescremada ultrapasteurizada. LIM < y LIM >: limite permisible de ácido láctico (1.3-1.8 g/litro)

Figura 3

## Determinación de acidez por medio del potenciómetro



LB: leche bronca, LEP: leche entera pasteurizada, LSDP: leche semidescremada pasteurizada, LEUP: leche entera ultrapasteurizada, LSDUP: leche semidescremada ultrapasteurizada. LIM < y LIM >: límite permisible de ácido láctico (1.3-1.8 g/litro)