

## INTRODUCCIÓN

La leche es un líquido complejo que contiene muchos componentes en diferentes estados (solución, emulsión y coloidal); comprender sus propiedades y los cambios que le acontecen implica un profundo conocimiento de cada uno de sus compuestos y de las relaciones entre ellos. La medición del pH y de la acidez de la leche, con el objeto de estimar la acidez desarrollada debida a la proliferación bacteriana, es de uso corriente. A pesar de ser técnicas de relativa simpleza hay consideraciones en las mediciones y en la interpretación de los resultados que deben tenerse en cuenta a la hora de clasificar leches. En este trabajo se presenta un enfoque general teórico del pH y la acidez de la leche y algunos resultados obtenidos de tanque de tambos, cisternas y silos ubicados en la Cuenca Lechera Central Argentina.

### 1- ACIDEZ TITULABLE

#### 1.1- DEFINICIÓN DE ACIDEZ TITULABLE

Lo que habitualmente se denomina acidez de la leche involucra la acidez actual y la potencial. La acidez actual representa a los grupos  $H^+$  libres, mientras que la acidez potencial incluye todos aquellos componentes de la leche que por medio de la titulación liberan grupos  $H^+$  al medio. Para su determinación se agrega a la leche el volumen necesario de una solución alcalina valorada hasta alcanzar el pH donde cambia el color de un indicador, generalmente fenolftaleína, que cambia de incoloro a rosado a pH 8,3 (Singh et al., 1997).

La acidez titulable incluye a la acidez *natural* de la leche y también a la *desarrollada*. La acidez titulable o de valoración es la suma de cuatro reacciones (Figura 1). Las tres primeras representan la acidez *natural* de la leche:

- acidez debida a la caseína: representa 2/5 de la acidez natural
- acidez debida a sustancias minerales y a los indicios de ácidos orgánicos: también 2/5 de la acidez natural
- reacciones secundarias debidas a los fosfatos "over run": 1/5 de la acidez natural

La acidez *desarrollada* es debida al ácido láctico y a otros ácidos procedentes de la degradación microbiana de la lactosa, y eventualmente de los lípidos, en leches en vías de alteración.

Como se ha descripto, la acidez titulable constituye, fundamentalmente, una medida de la concentración de proteínas y de fosfatos en leches de buena calidad higiénica-sanitaria. Por consiguiente, para caracterizar la acidez de la leche, el pH de la misma es el parámetro ideal (Walstra y Jenness, 1987).

#### 1.3- FACTORES QUE AFECTAN LA ACIDEZ TITULABLE

La acidez titulable de la leche fresca disminuye conforme avanza el período de lactación y suele ser baja en la leche mastética.

#### 1.4- MEDICIÓN DE ACIDEZ TITULABLE

La acidez se mide por titulación y corresponde a la cantidad de hidróxido de sodio utilizado para neutralizar los grupos ácidos. Este valor puede expresarse de diversas maneras:

- en "grados Dornic" (°D) que corresponde al volumen de solución de hidróxido de sodio N/9 utilizada para titular 10 ml de leche en presencia de fenolftaleína. Este resultado expresa el contenido en ácido láctico. Un grado Dornic equivale a 0,1 g/l de ácido láctico ó 0,01%

---

<sup>1</sup> Profesional de la EEA Rafaela

- en gramos de ácido láctico por litro o por kilogramo. Si se utiliza hidróxido de sodio N/9 con 10 ml de leche, el volumen de reactivo en ml da directamente el resultado

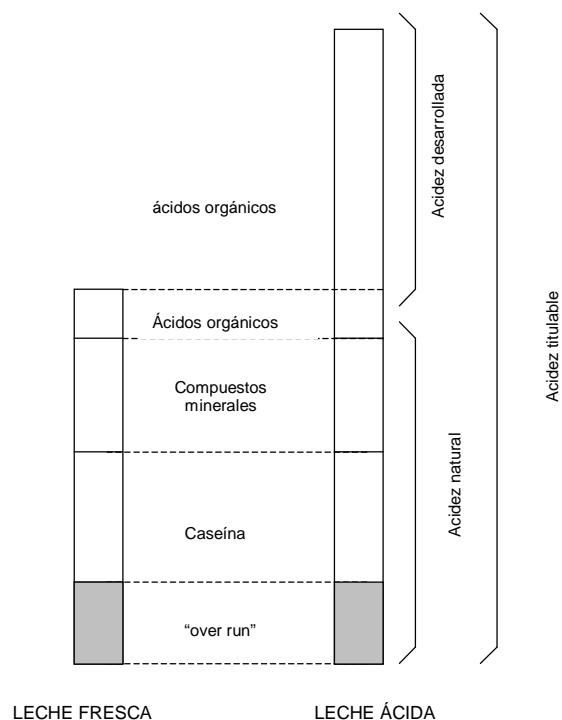


Figura 1. Acidez de titulación (extraído de Ch. Alais, 1985).

- en “grado Soxhlet-Henkel” (S.H.), no tiene al ácido láctico como referencia. Equivale a 1 ml de hidróxido de sodio N/4 utilizado para titular 100 ml de leche; se comprueba que 1°SH = 2,25°D. Este concepto es más lógico que el anterior ya que la leche fresca no contiene ácido láctico (Alais, 1985).

Si bien la medición de la acidez de la leche es muy sencilla puede haber cierta imprecisión debida a:

- la cantidad de indicador utilizado: debe utilizarse siempre 4 gotas
- el punto final de la titulación: no es claro porque depende de la agudeza visual del operador, debe hacerse una comparación con leche sin indicador o bien introducir un electrodo de pH y titular hasta pH 8,3 - 8,4
- la coloración rosa desaparece progresivamente

## 2- pH

### 2.1- DEFINICIÓN DE pH

El pH (Ecuación 1) representa la *acidez actual* (concentración de H<sup>+</sup> libres) de la leche [2],

$$\text{pH} = - \log aH^+ \quad (1)$$

donde  $aH^+$  es la actividad de H<sup>+</sup>. Para soluciones diluidas es posible utilizar concentración de H<sup>+</sup> en lugar de actividad (Singh et al., 1997). Este es el caso de la leche, donde las concentraciones de H<sup>+</sup> oscilan entre 0,16 y 0,32 μmol/l.

La leche de vaca recién ordeñada y sana, es ligeramente ácida, con un pH comprendido entre 6,5 y 6,8 como consecuencia de la presencia de caseínas, aniones fosfórico y cítrico, principalmente (Alais, 1985; Fox y McSweeney, 1998). Estos valores se aplican solamente a temperaturas cercanas a 25°C.

## 2.2- FACTORES QUE MODIFICAN EL pH

El pH de la leche no es un valor constante, puede variar en el curso de la lactación. El pH del calostro es más bajo que el de la leche, por ej. pH 6,0 es explicado por un elevado contenido en proteínas (Alais, 1985). El estado de lactancia también modifica el pH observándose valores muy altos (mayores a 7,4) en leche de vacas individuales de fin de lactancia.

Por otro lado, valores de pH 6,9 a 7,5 son medidos en leches mastíticas debido a un aumento de la permeabilidad de las membranas de la glándula mamaria originando una mayor concentración de iones Na y Cl y una reducción del contenido de lactosa y de P inorgánico soluble (Alais, 1985).

El pH es altamente dependiente de la temperatura. Las variaciones de la temperatura causan muchos cambios en el sistema buffer de la leche, principalmente se ve afectada la solubilidad del fosfato de calcio (Fox y McSweeney, 1998). El pH disminuye en promedio 0,01 unidades por cada °C que aumenta, fundamentalmente a causa de la insolubilización del fosfato de calcio. Esta variación es muy importante considerando el estrecho rango de variación del pH de la leche.

El pH también puede ser diferente entre muestras de leche fresca de vacas individuales reflejando ésto variaciones en la composición (Singh et al., 1997). A pesar de todos estos cambios, el pH varía en un rango muy reducido y valores de pH inferiores a 6,5 o superiores a 6,9 ponen en evidencia leche anormal.

El equilibrio ácido-base en la leche es influenciado por las operaciones de procesamiento. De esta manera, la pasteurización causa algunos cambios en el pH debido a la pérdida de CO<sub>2</sub> y a la precipitación de fosfato de calcio. Tratamientos térmicos severos (superiores a 100°C) resultan en una disminución del pH debido a la degradación de la lactosa a varios ácidos orgánicos, especialmente a ácido fórmico. La concentración de la leche por evaporación de agua causa una disminución en el pH cuando la solubilidad del fosfato de calcio es excedida, resultando en una mayor formación de fosfato de calcio coloidal (Fox y McSweeney, 1998).

## 2.3- MEDICIÓN DE pH

La medición potenciométrica del pH con un "pH-metro" es la única medida precisa. La regulación de estos aparatos se hace con soluciones buffer de pH conocido, en general se usan dos soluciones: una de pH 7 para la zona neutra y otra de pH 4 para la zona ácida. La determinación del pH tiene un inconveniente para su utilización en las plantas lácteas: si en la superficie de la leche existe una película grasa, ésta forma una lámina sobre los electrodos que los aísla del medio y hace que no se registre respuesta en el equipo. En ese caso se debe lavar los electrodos con una solución detergente (Alais, 1985).

Otro método para medir pH es el uso de papeles o cintas indicadoras embebidas en soluciones colorantes que cambian de color según el pH de la leche. Estos resultados son muy aproximados (Alais, 1985).

## 3- INTERPRETACIÓN DEL pH Y DE LA ACIDEZ TITULABLE

Para identificar leches acidificadas se suele emplear la determinación de acidez titulable pero para tal situación se debería poder medir la acidez desarrollada o sea medir ácido láctico pero no existe una técnica rápida y precisa para ello. Como la acidez desarrollada es consecuencia de la acción de bacterias fermentadoras de la lactosa (bacterias lácticas) que producen un aumento de la concentración de ácido láctico, puede utilizarse la medición conjunta de pH y acidez titulable para estimar la acidez desarrollada. Valores de acidez titulable por encima de 22° D y pH inferiores a 6,5 ponen en evidencia leche en vías de alteración por acción de

microorganismos. Este resultado debería corroborarse con la determinación del recuento total de bacterias, que aunque no sea una medición directa del número de bacterias lácticas, tiene una correlación alta con ese grupo de bacterias (ver capítulo "Contaminación bacteriológica de la leche: causa y control").

El pH y la acidez por titulación son dos medidas no estrictamente asociadas. El pH al ser una medida de la acidez actual de la leche se relaciona mejor que la acidez titulable con la estabilidad de la leche frente a tratamientos térmicos en la industria .

A un mismo pH y, consecuentemente a la misma estabilidad frente a tratamientos industriales, dos leches pueden presentar valores de acidez diferentes. De esta manera, ciertas leches con acidez natural elevada pero pH normal podrían ser eliminadas si sólo se considera la acidez por titulación (Figura 2). Estas leches pueden presentar una mejor aptitud y calidad que leches con menor acidez, especialmente en relación a su estabilidad térmica (Alais, 1985). Inversamente leches con una misma acidez pueden tener pH diferente. En la Figura 2 puede verse que si una industria realiza una clasificación rigurosa sólo en función de la acidez, las leches 1 y 2 serían eliminadas; en el caso de la n° 1 su eliminación sería acertada ya que realmente tiene acidez desarrollada pero en el caso de la n° 2 sería un error porque se trata de una leche con alto contenido de extracto seco, la cual por contener alta concentración de sales fosfato, está fuertemente tamponada evitando variaciones del pH debido a la fermentación de la lactosa, lo que retrasa su alteración. En relación a ello, leches de elevada acidez natural se conservan más tiempo que leches de la misma calidad higiénica, pero de débil acidez.

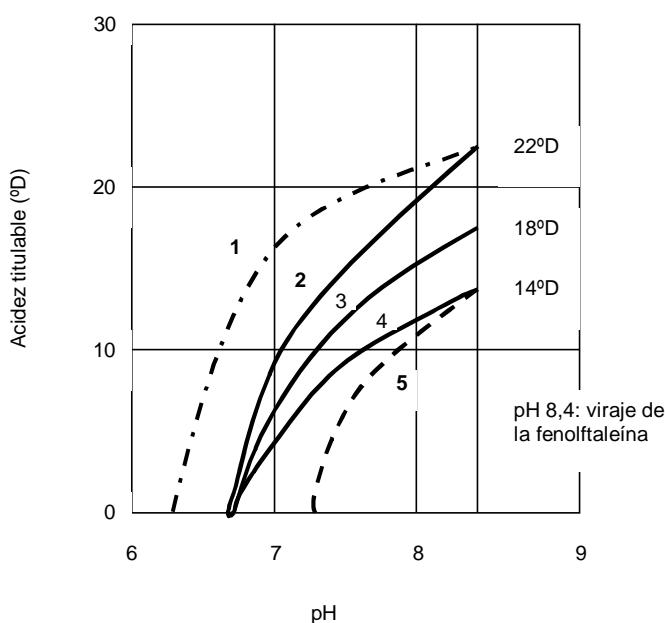


Figura 2. Significado del pH y de la acidez (extraído de Ch. Alais, 1985)

- 1) Leche en vías de alteración, con acidez desarrollada: pH 6,3 acidez 22°D
- 2) Leche rica, sin acidez desarrollada: pH 6,7 acidez 22°D
- 3) Leche de tipo medio, sin acidez desarrollada: pH 6,7 acidez 18°D
- 4) Leche pobre, sin acidez desarrollada: pH 6,7 acidez 14°D
- 5) Leche alcalina (mastitis): pH 7,2 acidez 14°D.

Hay pruebas muy sencillas y rápidas que se han utilizado para clasificar leches de acuerdo a la acidez:

- a) Prueba de alcohol: existe buena correspondencia entre el resultado de esta prueba y leches con acidez desarrollada. A pesar de ello, resultados de la prueba de alcohol positivos en leches sin acidez desarrollada han aparecido y leche de buena calidad ha sido rechazada (Chavez et al., 2004; Negri et al., 2001) (ver capítulo "Factores que afectan la estabilidad térmica y su relación con la prueba de alcohol"). Esta situación establece una limitante muy

importante en el uso de la prueba haciendo necesaria la medición de pH en las muestras.

- b) La prueba de ebullición: se colocan 2 ml de leche en un tubo de ensayo y se calienta a baño maría durante 5 minutos. Si se observa la coagulación de la leche el resultado de la prueba es positivo. De la misma manera que en el caso anterior, existe buena relación entre esta prueba y leches ácidas pero no es la única situación en que puede presentarse resultado positivo de la prueba.

Estas pruebas tienen la ventaja de ser sencillas y rápidas e implican menor complejidad que las determinaciones de pH, acidez y de calidad bacteriológica, lo cual posibilita su uso en tambos. El resultado es orientativo y los casos positivos deben ser confirmados con determinaciones de pH y acidez en la industria.

#### 4- ESTADÍSTICAS DESCRIPTIVAS DEL pH Y DE LA ACIDEZ DE LECHE DE LA CUENCA LECHERA CENTRAL ARGENTINA

Los resultados que se presentan en este trabajo corresponden a muestras obtenidas a tres niveles de la cadena de procesamiento de la leche: tambo, cisterna y silo.

Los resultados a nivel de tambo obedecen a un período de toma de muestra desde mayo de 1999 a julio de 2000. Las muestras se obtuvieron del tanque de acopio de 62 tambos en el momento de su entrega al transporte. El tamaño promedio de los tambos fue 2.111 l/tambo/día y el desvío estándar (DE) fue  $\pm 1.200$  l, la temperatura promedio de la leche fue 4,5°C y el DE:  $\pm 3,8^\circ\text{C}$  y estuvieron repartidos uniformemente en la Cuenca Central Argentina. En total se estudiaron 1352 muestras.

Las muestras de cisternas se obtuvieron en el período desde julio de 1997 a junio de 1998. Se tomaron muestras mensuales de la leche contenida en 37 cisternas de recolección en el recibo de cinco industrias lácteas ubicadas en la cuenca. En promedio, cada cisterna recogía leche de 15 tambos, el volumen de las mismas fue de 7.600 l, la temperatura de la leche fue de 8°C y se analizaron 384 muestras. Las cisternas seleccionadas recogían leche con menos de 24 hs de almacenamiento en tambo y lograron representatividad del área sin superposición de recorridos.

Las muestras de leche de silo fueron provistas por dos industrias locales y fueron colectadas dos veces por mes desde abril de 2000 hasta abril de 2002 de los silos de recepción de leche. El volumen promedio de la leche contenida en cada silo fue de 250.000 l. Se procesaron 77 muestras.

Los promedios geométricos del recuento de bacterias totales (RBT) fue 74.100 y 74.000 ufc/ml para tambos y cisternas, respectivamente (Taverna et al., 2001). En silos el promedio geométrico del recuento de bacterias coliformes fue 8.356 ufc/ml. Estos resultados evidencian una buena calidad bacteriológica de la leche.

Las estadísticas descriptivas de pH y acidez en tambo, cisterna y silo se presentan en la Tabla 1. Puede observarse que la mayor variabilidad en las determinaciones de pH se registró a nivel de tambos y la menor a nivel de silos. Lo cual resulta razonable teniendo en cuenta el efecto mezcla de leche que puede presentarse en silos. En relación a lo cual es llamativo el valor elevado obtenido para acidez en silo. Debe considerarse en este caso que la determinación de acidez está sujeta a la apreciación visual del punto final por cada operador, lo cual introduce mayor error a la medición.

Tabla 1. Estadísticas descriptivas de pH y acidez en leche de tambo, cisterna y silo de la Cuenca Central Argentina

Parámetro estadístico	tambo		cisterna		silo	
	pH	Acidez	pH	Acidez	pH	Acidez
N	557	1293	384	387	72	74
Media	6,68	14,71	6,77	14,66	6,69	16,15

DS	0,15	1,08	0,10	1,03	0,04	1,37
IC 95%	0,01	0,06	0,01	0,10	0,01	0,32
Máx.	7,09	20,0	7,00	22,74	6,83	21,0
Mín.	5,30	11,61	6,40	12,33	6,57	13,5

En base a lo detallado anteriormente, el análisis de los comportamientos estacionales de pH y acidez se realizó sólo a nivel de tambos. El pH en leche de tambo presentó cambios estacionales (Figura 3). En invierno se obtuvieron valores de pH significativamente mayores que en la primavera y en el otoño ( $p < 0,05$ ).

Los valores de acidez de leche de tambos correspondientes al verano fueron significativamente mayores a los de otoño y primavera ( $p < 0,05$ ) (Figura 4).

Como se detalló anteriormente, pH y acidez no miden lo mismo. Lo cual fue corroborado a través de los bajos valores de los coeficientes de correlación entre ambas variables obtenidos en leche de tambo ( $r = 0,22$ ), cisterna ( $r = -0,12$ ) y silo ( $r = -0,24$ ) y la falta de correlación en los cambios estacionales observados.

En las muestras de leche de tambo con pH menor que el normal ( $< 6,6$ ) y acidez mayor a la normal ( $> 18^{\circ}D$ ) se pudo determinar que la causa de ambos comportamientos era un RTB superior a la media (valor promedio del grupo,  $n = 6$ , 600.000 ufc/ml).

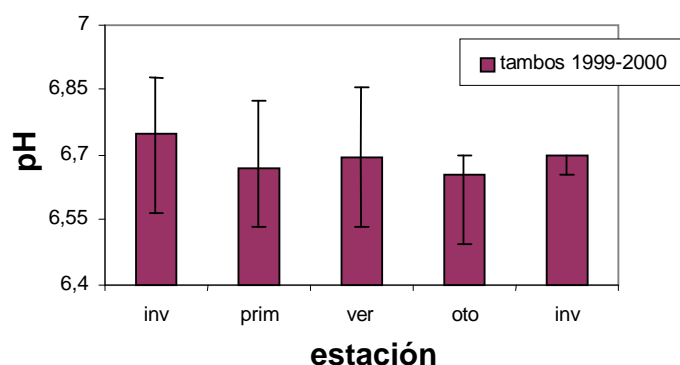


Figura 3. pH en leche de tambos por estaciones

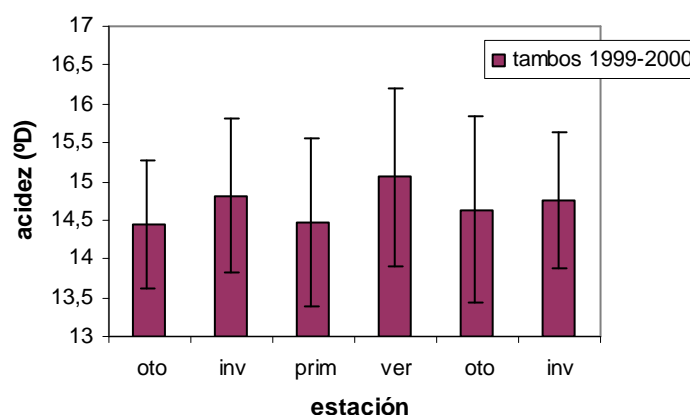


Figura 4. Acidez en leche de tambos por estación.

## CONCLUSIONES

La acidez *natural* de la leche, principal componente de la acidez titulable, es explicada por las proteínas (principalmente caseínas), los fosfatos y los citratos. Por lo tanto, para definir la acidez de la leche sería más apropiado el uso del pH en lugar de la acidez titulable con el objeto de caracterizar la leche según la resistencia a tratamientos térmicos en la industrialización.

Los valores de pH no presentaron correlación significativa con los de acidez en leche de tambo, cisterna y silo.

En tambos, los valores de pH más bajos se registraron en otoño y la mayor acidez titulable se observó en verano.

Sólo en el caso de leches con elevado recuento de bacterias totales, elevada acidez y bajo pH éstas dos últimas variables presentaron cierto grado de asociación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alais Ch. (1985). Ciencia de la leche. Reverté, Barcelona, 873 pp.
- Chavez M.S., Negri L.M., Taverna M.A. y Cuatrín A.L. (2004). Bovine milk composition parameters affecting the ethanol stability. *J Dairy Res* 71: 201-206.
- Fox P.F. y McSweeney P.L.H. (1998). Dairy chemistry and biochemistry. Blackie Academic & Professional, Londres, 478 pp.
- Negri L.M., Chavez M.S., Taverna M.A., Roberts L. y Speranza J. (2001). Factores que afectan la estabilidad térmica y la prueba del alcohol en leche cruda de calidad higiénica adecuada. Informe técnico final de proyecto, EEA-Rafaela INTA.
- Singh H., McCarthy O.J. y Lucey J.A. (1997). Physico-chemical properties of milk. En: *Advanced dairy chemistry*. 3. Lactose, water, salts and vitamins. Fox P.F., ed. Chapman & Hall, Londres, pp 470-518.
- Taverna M.A., Calvino L.F., Canavesio V.R., Negri L.M., Paéz R.B., Charlón V. y Cuatrín A.L. (2001). Caracterización de la calidad higiénico-sanitaria de la leche producida en la Cuenca Lechera Central de la Argentina. *Revista Argentina de Producción Animal* 21: 270.
- Walstra P. y Jenness R. (1987). Química y física lactológica. Acribia, Zaragoza, 423 pp.