

# *Análisis de algunas constantes y adulteraciones de la leche*

Mario GOÑI GARCÍA \*

## **Presentación**

Debo, en principio, manifestar que la redacción de este trabajo viene a estar condicionada por tres hechos que de algún modo, estimo, pueden justificar su publicación.

1. Que normalmente son pocas en realidad las experiencias de este tipo analítico que los alumnos realizan en el laboratorio, dado que, en general, el profesorado de la asignatura se preocupa preferentemente de explicar los temas del programa con vistas a que los discentes, como sólo necesitan la teoría para superar la prueba de suficiencia universitaria, se hallen en mejores condiciones de superarla.

2. El curso académico 80-81 tuve la oportunidad de asistir a un cursillo de «Prácticas de bioquímica para COU», organizado por el ICE y en el programa figuraban una serie de experiencias para este nivel educativo, relacionadas con los alimentos, pero, por diversos motivos no fáciles de comentar aquí, nos fueron solamente anunciadas. El poco tiempo del cursillo, la falta de medios de laboratorio y quizá el número elevado de cursillistas en relación al local donde trabajamos, fueron algunos de esos motivos.

3. Personalmente recogimos, de todos modos, la idea de aquel programa y hemos experimentado y puesto a punto en el propio I. B. donde ejercemos, algunas técnicas analíticas de fácil realización, relacionadas con la leche como producto alimenticio para el hombre.

4. Señalamos también que pueden analizarse los productos lácteos logrados a partir de la leche natural: un queso, el yogur o kéfir, la leche en polvo, la mantequilla, un helado o el requesón, son alimentos cuyas técnicas de análisis se basan en los mismos principios científicos, objetivos, material auxiliar de laboratorio y técnicas, si bien, como es lógico suponer, cada producto de éstos requiere tener en cuenta detalles *sui generis* que no representan complejidad o incremento de tiempo, de duración o de presupuesto económico en la mecánica de las experiencias.

---

\* Catedrático de ciencias naturales. I.B. Carballo (La Coruña).

## **Valor didáctico de la experiencia**

Los alumnos consiguen, junto a los objetivos específicos de la práctica, perfeccionarse y familiarizarse con el manejo simultáneo de un material de laboratorio que alcanza al de tipo fungible, las sustancias químicas, la preparación de reactivos y determinados aparatos auxiliares como la centrifugadora, la estufa o el butirómetro, que quizá no hayan utilizado con anterioridad.

Y, por supuesto, la experiencia favorece notablemente el desarrollo en los alumnos de una actitud investigadora por llegar a conseguir sus propias conclusiones y demás considerandos referidos en la misma redacción del programa oficial de la asignatura («BOE» de 17 de marzo de 1978).

## **Introducción teórica para el profesor**

La leche, desde el punto de vista biológico, es el producto natural y temporal elaborado por las glándulas mamarias de las hembras de los animales mamíferos, con el fin de alimentar a sus hijos durante los primeros días o meses de la vida. Físicamente, se trata al mismo tiempo de una mezcla en la que los azúcares están disueltos, en emulsión las grasas y las proteínas en estado coloidal; además de encontrarse en ella fermentos, vitaminas y hormonas, gases, iones del agua y sales, que nos interesa nominar, porque las experiencias tienen su base científica en todos estos considerandos que lógicamente serán comentados cuando al final de la práctica se proceda al coloquio y discusión de los resultados.

Un cuadro general de su composición elemental en algunas hembras es el siguiente, expresado en tantos por ciento de peso para muestras frescas; excepto la de vaca, que la anotamos pasterizada y con algún dato más, por ser ésta la que utilizamos para la experiencia.

Hembra	Agua	Proteína	Grasa	Lactosa	Densidad	Cenizas
Mujer	88-90	1,2- 1,7	3,5- 3,8	6,2-6,5	1.029-328	0,2 -0,3
Yegua	90-92	1,7- 2,5	0,8- 1	7-8	1.028-031	0,35-0,4
Burra	90-93	1,7- 2,2	1,2- 1,5	6 -6,6	1.029-031	0,3 -0,4
Cabra	87-90	3,5- 3,9	3,9- 4,1	4,2-4,8	1.030-034	0,8 -0,1
Oveja	82-86	5,4- 5,8	6,5-10	4,3-4,7	1.036-040	0,9 -1,2
Camella	87-88	3,3- 3,5	2,5- 3,4	4,8-5	—	0,6 -0,7
Llama	86	3,8- 3,9	3,1- 3,2	5,5-5,6	—	0,75-0,8
Ballena	62-65	11-12	21-22	1,6-1,8	—	0,6 -0,8
Orangutana	88-90	1,3- 1,4	3,3- 3,5	5,5-6	—	0,2 -0,3

## **Vaca**

Agua: 86-90; proteínas: 3-3,8; grasa: 3,1-3,3; lactosa: 3,7-5; densidad: 1.030-032; cenizas: 0,7-0,9; cloruros: 1,6-2; pH: 6,2-6,5; calorías: 625-650 por litro; extracto seco magro (ESM, es decir, deshidratado y sin grasa): 8,1-8,5.

## Constantes y adulteraciones de la leche

Vitaminas: Excepto la C, que se destruye con la pasterización, las A, D, E, K y el complejo B existen en la leche.

Fermentos: La fosfatasa alcalina se halla en la nata sobre todo y se destruye en las leches pasterizadas (a 65-70° C). La peroxidasa no se destruye en las leches pasterizadas porque precisa para ello más de 70° C. La reductasa está en razón inversa de la buena calidad higiénica de una leche, de tal modo que sirve para apreciar este índice por medio de la prueba del azul de metileno o del aldehído fórmico en el método de Schandinger. La lipasa se destruye por pasterización. La catalasa tiene valor en las leches frescas sospechosas de contaminación bacteriana aerógena (Mamitis).

En cuanto a los otros tipos de leche de vaca que se hallan hoy día en el mercado, son de consignar la condensada, la descremada, la leche en polvo y la maternizada; no figurando en cambio la leche natural, como hasta hace diez o quince años, por razones sanitarias ligadas a enfermedades que originaba su flora bacteriana. Hoy día todos los tipos precitados y los demás deben ser pasterizados o esterilizados como medida profiláctica y sobre la base de una homogeneización previa, para conseguir mejor el equilibrio físico de todos los componentes, pues ha de considerarse que la «bolsa de leche» es una mezcla de todas las que llegan a la central lechera.

Por lo que se refiere a las alteraciones normales de este producto alimentario, tan completo aun estando pasterizado, señalamos en primer lugar a la producida por la flora microbiana sobre la lactosa, que la transforma en ácido láctico y con ello se acidifica y coagula ( $2C_6H_{12}O_6 \rightarrow 4CH_3CHOH-COOH$ ); seguidamente este ácido se descompone para originar anhídrido carbónico y ácido butírico, que es el responsable del olor y sabor desagradables.



Finalmente, la concomitancia de otra flora específica de las proteínas da lugar a fermentaciones pútridas.

Y entre los factores físico-químicos que producen los sabores denominados corrientemente «a jabón», «a pescado», «a cartón», «metálico», etc., figuran los que oxidan la materia grasa, como, por ejemplo, la luz con su efecto fotoquímico, debido a las radiaciones ultravioleta; el pH procedente de una lipólisis; el oxígeno del aire disuelto y el procedente de la actividad microbiana normal, que se fija sobre un doble enlace de los ácidos grasos insaturados y luego al liberarse los escinde en moléculas de aldehídos y cetonas, como por ejemplo el aldehído malónico ( $CHO-CH_2-CHO$ ).

Concluyendo esta introducción teórica, se puede citar que la picaresca comercial de quienes hoy día intervienen en la cadena de producción y venta de la leche es extraordinaria. Los organismos oficiales detectan casi a diario alteraciones y adulteraciones de la misma hechas intencionadamente: nitritos, carbonatos, sulfitos, antibióticos, formol, orina, agua oxigenada, aguado, desnatado, leche calostrual, margarina, suero, almidón y ácido bórico, figuran entre esos fraudes.

Nosotros entre las experiencias que describimos aquí, desarrollamos unas técnicas relacionadas con los siguientes factores, sobre la base de cinco equipos de trabajo y en el tiempo de una hora y media. Densidad, acidez, grasa, proteína, fosfatasa, peroxidasa, cloruros, formol. Todas ellas a partir

de un litro de leche comercial, pasterizada y en bolsa de plástico adquirida en el mercado. Para el formol tomamos del litro dos muestras de 50 cm<sup>3</sup>, añadiendo a una de ellas de dos a cuatro gotas de formaldehído al 40 % y la otra nos servirá para testigo <sup>1</sup>.

## **Objetivos**

1. Investigar todas las sustancias y datos que se proponen en el análisis general, sobre la base de trabajar los alumnos distribuidos en cinco equipos de cuatro discentes cada uno y teniendo en cuenta los resultados parciales, por lo que de interrelación tienen todas las experiencias entre sí, al valorar globalmente la práctica.

2. Comprobar la efectividad de algunos cálculos hechos a partir de fórmulas preestablecidas.

3. Valorar el límite de la acción enzimática de la peroxidasa y fosfatasa.

4. Perfeccionarse los alumnos en el manejo del material de laboratorio en cuanto a mediciones exactas con las pipetas, balanza de precisión, bureta, etc.

5. Evidenciar que tanto el material problema como el de laboratorio necesitan ser manejados con conocimiento de causa; por ejemplo, que una pipeta, aunque esté seca, que antes haya sido bien lavada, para evitar tomar muestras o cantidades que se contaminen por ella, o que el ácido sulfúrico es un enérgico corrosivo.

6. Estimar los resultados parciales y globales de todos los grupos, para sacar conclusiones que culminen con la valoración final de la práctica mediante un ejercicio escrito por cada equipo de alumnos, que deberán tener redactado en la semana siguiente, para entregar al profesor.

## **Material**

Pipetas de 1,5 y 10 c.c.

Vasos de precipitado de 50, 100 y 250 c.c.

Buretas de 50 c.c.

Erlenmeyer de 50 y 250 c.c.

Gradillas de tubos de ensayo de diverso diámetro.

Probetas graduadas de 100 y 250 c.c.

Centrifugadora manual o eléctrica.

Lactodensímetro de Quevenne.

Butirómetro de Gerber.

Pera de vacío y succión.

Balanza de precisión.

Baño maría (puede habilitarse un vaso de precipitado de 1 litro).

---

<sup>1</sup> Si bien pudiera estimarse de primera intención que son demasiados datos para ensayar en una sola sesión de laboratorio, la práctica puede reducirse a una sola experiencia por grupo, de acuerdo con los factores que concurran, tanto en el profesor como en los alumnos; mas resaltamos que pueden hacerse todas sin premura, en el tiempo previsto de una hora y media.

### Sustancias químicas y reactivos

Agua destilada.  
Agua oxigenada al 2 %.  
Ácido sulfúrico de densidad 1,82.  
Formol al 40 %.  
Alcohol amílico de densidad 0,815.  
Hidróxido sódico al 0,1/N y 0,25/N y al 10 %.  
Fenolftaleína al 2 %.  
Nitrato de plata en solución acuosa al 0,1/N.  
Cromato potásico al 10 % en solución acuosa.  
Parafenilendiamina al 2 % (es un clorhidrato de la serie del benceno).  
Reactivo «Lactogmost».  
Floroglucina al 0,2 %.

### Problema

Un litro de leche pasteurizada, en bolsa de plástico.

### Desarrollo de las técnicas analíticas

Para que los alumnos sepan previamente lo que van hacer, las características normales que debe tener el producto a analizar, las técnicas a seguir y la relación de unos datos con otros, se les habrá proporcionado uno o dos días antes un guión en fotocopia, redactado por el profesor, con las oportunas explicaciones y sugerencias. Por su parte, el profesor debe haber previsto la preparación de los reactivos o su adquisición en el mercado y haber distribuido el material de acuerdo con los cinco equipos de cuatro alumnos cada uno, según el plan general que estimamos en esta ocasión así:

Equipo 1.º Cloruros y fosfatasa.  
Equipo 2.º Densidad y proteínas.  
Equipo 3.º Grasa y acidez.  
Equipo 4.º Peroxidasa y formol.  
Equipo 5.º Densidad y cloruros.

### Determinación de la densidad. Método del lactodensímetro de Quevenne

Se basa este procedimiento en que la densidad de la leche a 15° C es de 1.030.

En una probeta de 250 c.c. se colocan 200 c.c. del problema, evitando hacer espuma para facilitar la lectura luego. Seguidamente se introduce el lactodensímetro y se espera a que flote en equilibrio sin tocar las paredes de la probeta. La densidad será la cifra que figura en el enrase del líquido con la escala numérica. Mas, como el aparato nos da también la temperatura, si ésta es de 15° C, la D ya es la que figura en el enrase; de no ser así, se suman al resultado 0,2 por cada grado que pase o bien se resta por cada grado que falte; este 0,2 es un factor de corrección.

Ejemplo: Lectura directa ..... 29,8 y temperatura 17° C  
Corrección ..... 29,8 + 0,4 = 30,2 (1.0302)

**Método por aplicación directa de la fórmula física**

$$D = \frac{P(\text{peso})}{V(\text{volumen})}$$

Se pesa un tubo de ensayo corto o una pequeña cápsula y se toma nota de ello; luego se le añade un volumen conocido de leche problema, 5-10 c.c. y se lleva de nuevo a la balanza de precisión para nueva pesada. La diferencia de peso entre ambas lecturas nos da el peso de la leche; aplicando ahora la fórmula precitada se halla la densidad.

**Determinación de la acidez. Método Dornic**

Se basa este procedimiento en el contenido de ácido láctico presente en el problema y en que 1º Dornic equivale en la prueba a 0,1 c.c. de KOH 0,1/N.

Se colocan 10 c.c. de leche exactamente medidos con pipeta o bureta, en un Erlenmeyer o vaso de precipitado de 50 c.c.; se añaden luego otros 10-20 c.c. de agua destilada para aumentar el volumen y poder así observar el viraje posterior mejor (el agua destilada añadida no altera el resultado); se mezcla bien y se agregan una-dos gotas de fenoltaleína para valorar finalmente con KOH 0,1/N, bien con pipeta o con bureta.

Cuando el medio problema viere a rosa persistente, la titulación se da por terminada; para observar bien este momento, con la mano izquierda se agita continuamente el Erlen de forma suave.

*Resultado:* KOH 0,1/N gastado  $\times$  0,09 (que es el factor de aplicación) = acidez en ácido láctico por %.

**Determinación de la grasa. Método Gerber (figura 1)**

*Fundamento de la prueba:* El ácido sulfúrico de densidad 1,82 ataca todas las sustancias de la leche menos la grasa, por lo que ésta persiste al final de las reacciones que se originan en el butirómetro.

1. Se colocan 10 c.c. de ácido sulfúrico en el tubo graduado de Gerber. Para ello nos serviremos de una pipeta prevista de «pera de succión».

2. Se añaden luego, dejándolos resbalar por la pared del tubo, 11 cc. de leche y 1 c.c. de alcohol amílico.

3. Se coloca el tapón de goma, se cubre el tubo con un trapo y se agita fuertemente durante un minuto. Como la reacción es exotérmica, de ahí que se maneje el butirómetro envuelto en un trapo.

4. Finalmente, se lleva a la centrifugadora, colocándolo en posición invertida para que la grasa se acumule en la parte graduada del tubo. Para equilibrar la fuerza centrífuga, se coloca otro butirómetro con agua o bien con otra muestra del problema, en el anillo opuesto. A los cinco-seis minutos se para la rotación, se retira el tubo y se enrasa la grasa al 0 de la escala con el prensor. La lectura de la altura de la grasa en la columna da directamente el porcentaje de ella en la leche que se experimenta.

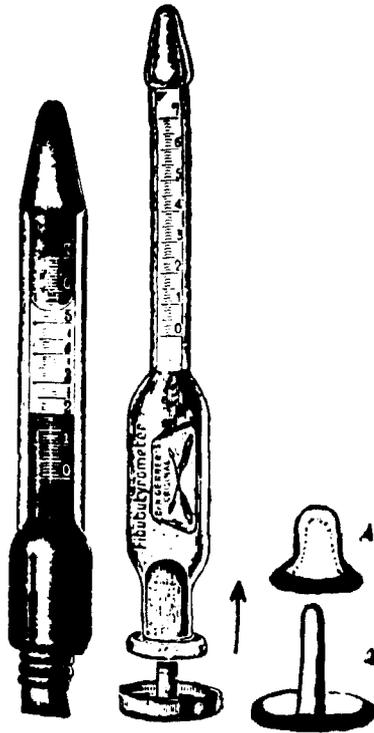


Figura 1.—Utilización del butirómetro.

### **Determinación de las proteínas. Método Sorensen-Pool**

Se fundamenta en el comportamiento de neutralización de la fenolftaleína frente al formol y su posterior función como indicadora, al titular la mezcla con NaOH 0,25/N.

La técnica comienza colocando en un Erlen, de 250 c.c., 100 c.c. de leche más dos-tres gotas de fenolftaleína al 2 % y neutralizando con NaOH 0,25/N hasta obtener un rosa claro persistente. En otro Erlen de 50 c.c. se ponen 20 c.c. de formol bien medidos más dos-tres gotas de fenolftaleína y se neutraliza igualmente que en el caso anterior. Logrados esos dos medios, se mezclan ambos y desaparece la coloración, procediéndose ahora a la titulación de la mezcla con el mismo NaOH en bureta. Agitando suavemente, como en el caso de la acidez, se detecta bien el momento final del viraje.

### **Resultado**

Proteínas  $\times$  100 c.c. de leche (%) = c.c. de NaOH gastados  $\times$  0,495 (que es el factor de aplicación); los gastados en esta última titulación.

### **Determinación de cloruros. Método de Rosell**

Se basa esta prueba en la propiedad que tiene la solución acuosa de Nitrato de plata ( $\text{NO}_3\text{Ag}$ ) como reactivo de iones, originando en nuestro caso un intercambio de cationes entre las dos sales que intervienen:  $\text{NO}_3\text{Ag} + \text{ClNa} \rightarrow \text{ClAg} + \text{NO}_3\text{Na}$ ; ( $\text{NO}_3^- \text{Ag}^+ + \text{Cl}^- \text{Na}^+$ ).

*Técnica.* Es un vaso de precipitado o Erlen de 50 c.c. se colocan 10 c.c. de leche exactamente medidos y se añaden seguidamente 30 c.c. de agua destilada, para aumentar volumen con el mismo fin que se propone para la determinación de la acidez.

Tras mezclar bien, se añaden 10 gotas de cromato potásico al 10 % y se agita de nuevo; el medio ahora será de tono amarillento y la valoración se lleva a cabo dejando caer de la pipeta o bureta el nitrato de plata decinormal gota a gota. La titulación se da por terminada cuando el medio vire a rojo-naranja; como el cambio es muy sensible, se hace necesario actuar con precisión, siendo oportuno también trabajar con un testigo conocido de agua destilada con cloruro sódico al 1 %.

### **Resultado**

Cloruros en gramos por litro = c.c. de nitrato de plata 0,1/N gastados por 0,585 (que es el factor de aplicación).

### **Prueba de la enzima fosfatasa. Método «Lactognost»**

*Fundamento:* En la leche pasterizada la enzima fosfatasa se encuentra inactivada, es decir, se destruye, por lo que el éster fenílico del ácido fosfórico que constituye la base de los reactivos Lactognost I y II no se hidroliza y consecuentemente no aparece el fenol libre, que es la sustancia que se evidencia por la coloración azul que toma la muestra en presencia del reactivo III, cuando la leche tiene fosfatasa, que es el caso de las crudas o mal pasterizadas.

*Técnica:* Se disuelven en un tubo de ensayo con 10 c.c. de agua destilada y templada, primero una tableta del reactivo I y luego otra del reactivo II; a continuación se agrega 1 c.c. de leche y se mezcla bien, para finalmente añadir 0,1-0,3 grs. del reactivo III (la cantidad a utilizar es similar a un volumen así).

Se lleva el tubo al baño maría o estufa de 35-40°C., durante quince minutos y se observa el resultado, que será, en el caso de la leche problema, que es pasterizada, negativo, es decir, que no aparece el color azul; un testigo de leche cruda será positivo y consecuentemente de color azul.

## Prueba de la enzima peroxidasa. Método de Storch

Tiene su fundamento en el hecho de que este fermento láctico se inactiva por el calor a  $80^{\circ}\text{C}$  y, por tanto, no puede actuar sobre sustancias oxigenadas, como el  $\text{H}_2\text{O}_2$ , para que se produzca oxígeno naciente, que es quien en el experimento oxida a la amina aromática parafenilendiamina y vira el medio a coloración azul, por tratarse de una leche que no tiene peroxidasa. En resumen, la muestra será positiva y un testigo de leche hervida o esterilizada, negativo (no colorea de azul).

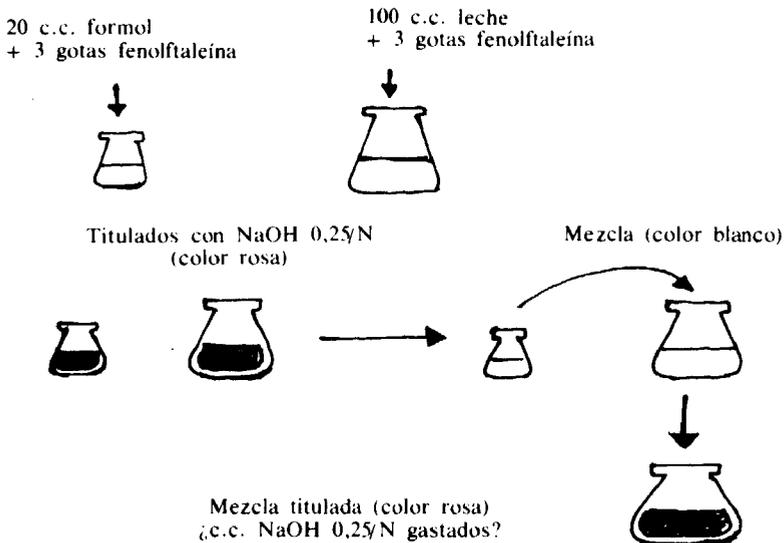
*Técnica:* Como la reacción tiene lugar en medio alcalino, conviene saber antes el pH; si es menos de 6,2 se neutraliza con  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  al 10 %. A un tubo de ensayo con 10 c.c. de leche problema se le añaden 1-3 gotas de agua oxigenada diluida al 3 %; se mezcla bien y se le agregan dos gotas de parafilendiamina al 2 %; el color azul aparece a los uno-dos minutos.

## Determinación del formol. Método de Jorissen

Es una prueba muy sencilla y eficiente basada en evidenciar esta sustancia por el reactivo fenólico floroglucina ( $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_3$ ) que es un trialcohol de la serie del benceno.

Del Erlen de 100 c.c. que habremos preparado con 50 c.c. de leche y dos-cuatro gotas de formol, se toman 5 c.c. en un tubo y se le agregan una-dos gotas de floroglucina al 0,2 % más 2 c.c. de KOH al 10 %; se mezcla, y como la muestra es positiva, la leche tomará un color salmón. La muestra testigo, sin formol, sigue blanca.

Gráfica representando las fases seguidas para calcular las proteínas.



## **Valoración de la práctica**

Desde el punto de vista didáctico, la experiencia tiene un valor positivo muy alto, por cuanto el propio alumnado se interesa por conseguir los objetivos propuestos y en una noble competencia, cada equipo desea hacer sus prácticas mejor que las realizadas por los demás.

Y teniendo en cuenta el profesor que debe evaluar el grado de aprendizaje conseguido por cada alumno, considerará las siguientes observaciones:

a) El nivel de participación de cada alumno en los análisis de su propio equipo.

b) Las consultas que le hacen.

c) La capacidad que tienen para sacar conclusiones lógicas, relacionadas con los productos lácteos y otros alimentos, con los reactivos y el valor de un trabajo metódico en el laboratorio.

d) La ordenación particular que evidencian en el desarrollo de sus experiencias.

e) La forma de manejar el material y las sustancias químicas en cuanto a limpieza, cuidado y precauciones que deben tenerse.

f) Los resultados reales conseguidos por cada equipo en sus pruebas.

g) Las observaciones o sugerencias hechas a nivel personal por algún alumno y el carácter de las mismas, es decir, la originalidad.

h) La «calificación» dada a cada alumno sobre un cuestionario tipo «test» de 10-15 preguntas consultadas.

i) La adjudicada al trabajo redactado por cada equipo, y para la cual se habrá tenido en cuenta, entre los demás considerandos, el relativo al empleo correcto del glosario de palabras utilizadas en la terminología científica.

## **Bibliografía**

GODET y MUR: *Técnicas modernas aplicadas al análisis de la leche*, Dossat, Madrid, 1966.

ALAIS, Ch.: *Ciencia de la leche*, Cecsa, Barcelona, 1971.

WINTON, A. L.: *Análisis de alimentos*, Reverté, Barcelona, 1958.

BURRIEL-LUCENA: *Química analítica cualitativa*, Paraninfo, Madrid, 1979.

VILLAR PALASÍ: *Tratado de bioquímica* (tomo I), Augusta, Barcelona, 1970.

KARLSON, P.: *Manual de bioquímica*, Omega, Barcelona, 1973.

RENZO TITONE: *Metodología didáctica*, Rialp, Madrid, 1979.

Varios autores: *Los objetivos en la práctica educativa*, Anaya, Madrid, 1980.