

**Leche Humana Extraída -  
Determinación de la Acidez  
Titulable: Método Dornic**



## Origen

Red Brasileña de Bancos de Leche Humana - Instituto Nacional de Salud de la Mujer, del Niño y del Adolescente Fernandes Figueira / Fundación Oswaldo Cruz / Ministerio de Salud

## Autores

João Aprígio Guerra de Almeida  
Franz Reis Novak  
Vander Guimarães

## Revisores

Andreia Fernandes Spinola  
Danielle Aparecida da Silva  
Jonas Borges da Silva  
Maíra Domingues Bernardes Silva  
Mariana Simões Barros  
Miriam Oliveira dos Santos  
Mônica Barros de Pontes

## Diseño Gráfico

Chester Robison Pereira Martins

1ª Publicación: BLH-IFF/NT 29.05:  
Leche Humana Extraída - Determinación de la Acidez Titulable: Método Dornic

1ª Revisión: BLH-IFF/NT 29.11

2ª Revisión: BLH-IFF/NT 29.21

## Palabras clave

Banco de Leche Humana. Leche Humana Extraída Cruda. Acidez Dornic. Análisis Físico-Químicos. Selección. Clasificación

Red Brasileña de Bancos de Leche Humana  
Programa de Certificación Fiocruz para Bancos de Leche Humana  
Sede: IFF/Fiocruz/Centro Nacional de Referencia de Bancos de Leche Humana.  
Avenida Rui Barbosa 716, 1º piso, Flamengo, Rio de Janeiro - RJ, CP: 22250-020  
Contactos:  
+55 (21) 2554-1703 - Banco de Leche Humana  
+55 (21) 2554-1889 - Secretaría Ejecutiva rBLH  
Correo Electrónico: [rblh@fiocruz.br](mailto:rblh@fiocruz.br) / Portal: [www.rblh.fiocruz.br](http://www.rblh.fiocruz.br)



## SUMARIO

1. *Objetivo*
2. *Documentos complementarios*
3. *Definiciones*
4. *Fundamentos*
5. *Condiciones generales*
6. *Condiciones específicas*
7. *Marco Teórico*
8. *Anexos*



## 1. Objetivo

Esta Norma Técnica tiene por objetivo establecer el procedimiento y los criterios para la determinación de la acidez titulable por el método Dornic en la leche humana extraída cruda, con el fin de garantizar la calidad en los Bancos de Leche Humana y su certificación.

## 2. Documentos Complementarios

Para la elaboración de esta Norma Técnica se han consultado:

RED BRASILEÑA DE BANCOS DE LECHE HUMANA. BLH-IFF/NT 50.21: Ambientación- Manejo de Residuos y Material de Descarte en Bancos de Leche Humana y Centros de Recolección de Leche Humana. Río de Janeiro, 2021.

RED BRASILEÑA DE BANCOS DE LECHE HUMANA. BLH-IFF/NT 11.21: Higiene y Conducta: Empleados. Río de Janeiro, 2021.

RED BRASILEÑA DE BANCOS DE LECHE HUMANA. BLH-IFF/NT 51.21: Bioseguridad en los Bancos de Leche Humana y en los Centros de Recolección de Leche Humana. Río de Janeiro, 2021.

RED BRASILEÑA DE BANCOS DE LECHE HUMANA. BLH-IFF/NT 21.21: Recepción de Leche Humana Extraída Cruda. Río de Janeiro, 2021.

RED BRASILEÑA DE BANCOS DE LECHE HUMANA. BLH-IFF/NT 23.21: Selección y Clasificación de la Leche Humana Extraída Cruda. Río de Janeiro, 2021.

RED BRASILEÑA DE BANCOS DE LECHE HUMANA. BLH-IFF/NT 24.21: Descongelación de la Leche Humana Extraída Cruda. Río de Janeiro, 2021.

BRASIL. Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria. Resolución RDC nº 171 del 04 de septiembre de 2006. Dispone sobre el Reglamento Técnico para el Funcionamiento de los Bancos de Leche Humana. Boletín Oficial de la Unión, Brasilia, DF, 04 de septiembre de 2006.

### 3. Definiciones

A los efectos de esta Norma Técnica, se aplican las siguientes definiciones:

3.1. **Acidímetro:** equipo calibrado en fracciones de 0,01mL, utilizado para la titulación de la leche humana extraída.

3.2. **Grado Dornic (°D):** es la unidad de valor del índice de acidez, cuando la solución de hidróxido de sodio utilizada tiene una normalidad igual a N/9 factorizada.

3.3. **Índice de Acidez:** es el número de mililitros de hidróxido de sodio necesarios para neutralizar el ácido láctico presente en 1mL de muestra.

3.4. **Microbiota Primaria:** la que resulta de la contaminación natural del interior de los senos.

3.5. **Microbiota Secundaria:** microbiota que se origina en agentes externos, como utensilios, equipamientos y manipulación inadecuada.

3.6. **Solución Indicadora:** solución hidroalcohólica de fenolftaleína al 1% p/v neutralizada, utilizada para indicar el punto final en la determinación de la acidez.

### 4. Fundamentos

Debido a su composición, la leche humana tiene una acidez original. Las micelas de caseína, las sales minerales (incluidos los fosfatos y los citratos) y las proteínas del suero son los principales factores responsables de esta propiedad química.

En términos didácticos, la acidez de la leche humana puede clasificarse como original o desarrollada. La acidez original es el resultado de la presencia de sus componentes, y la acidez desarrollada es el resultado del ácido láctico, producido por el crecimiento bacteriano.

Las bacterias, que forman parte de la microbiota primaria y secundaria, fermentan la lactosa de la leche humana, produciendo ácido láctico.

Cada molécula de lactosa metabolizada produce 4 moléculas de ácido láctico, lo que, además de aumentar la acidez del producto, contribuye a un aumento de la osmolaridad y a una reducción de la biodisponibilidad del calcio y del fósforo presentes.

Esta reducción se debe al ataque químico del ácido láctico a las micelas de caseína, lo que provoca la precipitación y la consiguiente insolubilización del calcio, que, aunque esté presente en la leche y pueda ser detectado cuantitativamente por las técnicas habituales de laboratorio, ve reducida su biodisponibilidad. La acidificación desestabiliza las proteínas solubles y las micelas de caseína, favorece la coagulación, aumenta la osmolaridad, altera el *flavor* (sabor y olor) y reduce el valor inmunológico.

Cuanto mayor sea la cantidad de ácido láctico producida, menor será la biodisponibilidad del calcio y del fósforo en la leche humana extraída. En términos prácticos, la distinción entre la acidez original y la acidez desarrollada no es importante en el momento de la medición, lo único que importa es el conocimiento de la acidez total, que combina las dos.



Dependiendo de la técnica utilizada para determinar la acidez, puede llamarse acidez actual o titulable.

La acidez actual se determina con la ayuda de potenciómetros o medidores de pH, así como mediante indicadores de potencial de hidrógeno. Los valores se expresan siempre en pH.

En condiciones normales, la leche humana tiende a tener un pH ligeramente ácido y cercano al neutro, entre 6,5 y 6,9. Debido al sistema tampón, resultante de la composición de la leche humana, son necesarias elevaciones considerables de la acidez desarrollada para cambios en los valores de pH del orden de 0,1 unidades. Este hecho descalifica al pH como un indicador eficaz para detectar la acidez en la leche humana, debido a su baja sensibilidad.

La acidez titulable se determina siempre con la ayuda de una solución estándar que contiene un titulante alcalino, más concretamente una base, que en la mayoría de los casos es hidróxido de sodio - NaOH.

La técnica se basa en una reacción estequiométrica entre el titulante alcalino estándar y los componentes ácidos presentes en la leche humana hasta que se produce la neutralización completa.

El punto final de la reacción se determina con la ayuda de un pHmetro o se revela mediante soluciones indicadoras, preparadas con sustancias que tienen grupos cromóforos en su composición. Por ello, se produce un cambio de color en función del cambio del pH.

Dependiendo de la solución básica utilizada como titulante en el proceso de determinación de la acidez, recibe diferentes nombres. Cuando la solución titulante es hidróxido de sodio N/9 factorizado, también conocido como solución Dornic, cada 0,01mL gastado para neutralizar 1mL de leche humana extraída corresponde a 1 grado Dornic (1,0°D).

La leche humana recién extraída, si se titula inmediatamente después de la extracción, está prácticamente libre de ácido láctico, y su acidez total puede considerarse original, con valores que oscilan entre 1,0°D y 4,0°D.

A medida que su microbiota encuentra condiciones favorables para el crecimiento, se produce la producción de ácido láctico y el consiguiente aumento de la acidez. Una acidez superior a 8,0°D descalifica el producto para su consumo. Incluso con valores inferiores a este límite, la biodisponibilidad del calcio y la osmolaridad varían de forma inversamente proporcional al índice de acidez.



## 5. Condiciones Generales

5.1. La determinación de la acidez Dornic en la leche humana extraída es un análisis que forma parte del proceso de selección, ya que cualquier valor dentro del rango de 1,0°D a 8,0°D, inclusive, se considera conforme; los valores superiores a 8,0°D se consideran no conformes y se descartan de acuerdo con la Norma Técnica BLH-IFF/ NT 50.21: Ambientación: Manejo de Residuos y Material de Descarte en Bancos de Leche Humana y Centros de Recolección de Leche Humana.

5.1.1. Los valores de 1,0°D a 8,0°D, inclusive, obtenidos de la titulación de las muestras, se consideran en el proceso de clasificación, ya que pueden orientar los criterios de distribución de la leche humana pasteurizada a los recién nacidos hospitalizados de mediano y alto riesgo, ya que indican que la biodisponibilidad de calcio y fósforo y la osmolaridad del producto varían inversamente con la acidez, es decir, cuanto menor es el valor de la acidez Dornic, mayor es la biodisponibilidad de calcio y fósforo.

5.2. El profesional debe estar paramentado, desde el inicio del proceso, de acuerdo con lo establecido en la Norma Técnica BLH-IFF/NT 11.21: Higiene y Conducta: Empleados.

5.3. Antes del análisis, el profesional comprobará la validez e integridad de los reactivos a utilizar, así como las condiciones de la cristalería, asegurándose de que no hay residuos de agua y jabón que puedan interferir en el análisis.

## 6. Condiciones Específicas

6.1. La determinación de la acidez Dornic debe realizarse inmediatamente después de los análisis sensoriales de la leche humana extraída.

6.2. En la determinación de la acidez Dornic se utilizan los siguientes materiales y reactivos:

6.2.1. Solución estándar de hidróxido de sodio N/9 factorizada, que debe conservarse en un frasco ámbar;

6.2.2. Solución indicadora de fenolftaleína hidroalcohólica al 1% p/v en alcohol de 95°GL neutralizada, que deberá conservarse en un frasco ámbar y bajo refrigeración.

6.3. Se utilizarán los siguientes equipamientos y utensilios para el análisis:

6.3.1. Pipeteador manual o automática para el análisis cuantitativo;

6.3.2. Pipetas volumétricas de 1mL;

6.3.3. Estante para soporte, revestido de PVC para 24 o 72 tubos;

6.3.4. Microbureta graduada a la centésima o Acidímetro con frasco ámbar y escala de 0,01mL;

6.3.5. Cajas isotérmicas revestidas de PVC o cajas de plástico para el baño de agua y hielo;

6.3.6. Hielo reciclable;



6.3.7. Agitador tipo Vortex;

6.3.8. Frasco cuentagotas para solución hidroalcohólica de fenolftaleína al 1% p/v;

6.3.9. Tubos de ensayo (10 x 100 mm).

#### 6.4. Determinación de la Acidez Dornic

6.4.1. Recoger muestras para la determinación de la acidez Dornic y la posterior determinación del valor energético de todos los frascos que contengan leche humana extraída cruda que se presenten conformes de acuerdo con las normas de análisis sensorial.

6.4.1.1. Los frascos que contienen leche humana, mientras se recolectan las muestras, deberán permanecer en la cadena de frío.

6.4.2. El frasco de leche humana extraída cruda antes de la colecta de muestras, debe tener su volumen uniformizado manualmente, y tras la uniformización, pipetear 5mL de leche humana, en campo de llama o en una campana de flujo laminar (ambiente controlado), con auxilio de pipeteador manual o automático y transferir este volumen para un tubo de ensayo de 10x100mm:

6.4.2.1. Proceda de la misma manera con cada frasco de leche descongelada.

6.4.3. Los tubos de ensayo con las muestras de cada frasco de leche humana deben mantenerse en cadena de frío (baño de agua y hielo), hasta el inicio del análisis;

6.4.4. La primera alícuota de 1mL se utilizará únicamente para enjuagar la pipeta, y este volumen se desechará en un frasco con agua y detergente neutro;

6.4.5. Después de enjuagar la pipeta, pipetear cuantitativamente tres alícuotas de 1mL de la muestra recolectada en 6.4.2. en tubos de ensayo de 5mL. Antes de pipetear cada alícuota, igualar cuidadosamente el tubo que contiene la muestra de leche humana extraída que se va a analizar en un agitador Vortex. El muestreo de la leche humana para la determinación del valor de la acidez Dornic debe realizarse por triplicado;


6.4.6. El 1mL restante en el tubo de ensayo se utilizará para la determinación del contenido energético de la leche humana extraída, mientras se espera el momento del análisis mantenerlo en un estante revestido de PVC, en un baño-maría a 40°C durante 15 minutos;

6.4.7. Los tubos de ensayo con las alícuotas de 1 ml para la determinación de la acidez Dornic deben conservarse en cadena de frío. Añadir 1 gota de solución de fenolftaleína, sin dejarla correr por la pared del tubo de ensayo;

6.4.8. Después de añadir la solución de fenolftaleína, proceda a titular la alícuota de leche humana extraída con NaOH N/9 factorizado gota a gota. Durante toda la titulación, el tubo de ensayo que contiene la leche y la solución de fenolftaleína debe agitarse constantemente con la mano, con movimientos ligeros, para evitar la incorporación de aire al producto. Evite que la solución de NAOH N/9 factorizada corra por la pared del frasco;

6.4.9. Interrumpir el procedimiento de goteo de la solución de NaOH N/9 factorizada cuando el indicador se vuelva rosado claro, es decir, hasta que aparezca un color rosa persistente;





6.4.10. Tomar la lectura en este punto, comprobando cuántos mililitros de solución de hidróxido de sodio N/9 factorizada se han utilizado durante la titulación (nunca el número de gotas). Atención, realice las lecturas de Acidez Dornic en un lugar con buena iluminación, y en una mesa que permita que su campo visual esté a la misma altura que la bureta, esto facilitará la observación de la posición real de la base del menisco de la solución:

6.4.10.1. Cada 0,01mL de hidróxido de sodio N/9 factorizada gastado corresponde a 1,0°D. Por ejemplo: si se utilizan 0,04mL de solución en un ensayo, esa muestra tiene una acidez titulable igual a 4,0°D;

6.4.10.2. El valor final de la acidez Dornic corresponde a la media aritmética de los tres valores obtenidos en la prueba individual de cada muestra;

6.4.10.3. Cuando el titulante (NaOH) no tenga una concentración N/9 exacta, tener en cuenta el valor del factor de corrección, multiplicando la media aritmética de las tres alícuotas por el valor del factor de corrección determinado al preparar la solución de NaOH N/9;

6.4.11. Las muestras de leche humana cruda que den cualquier valor dentro del rango de 1,0 a 8,0°D, inclusive, se considerarán conformes.

6.5. Precauciones en la Determinación de la Acidez Dornic:

6.5.1. Al final del análisis, la solución factorizada de NaOH N/9 que queda en el frasco y la que está en la bureta del acidímetro deben desecharse. Después de desechar la solución, el profesional debe enjuagar la microbureta con agua destilada o desionizada, evitando así la formación de cristales y atascos en la misma;

6.5.2. Todos los residuos a desechar, el frasco con agua y jabón neutro y la solución Dornic deben seguir la Norma Técnica BLH-IFF/NT 50.21: Ambientación: Manejo de Residuos y Material de Decarte en los Bancos de Leche Humana y Centros de Recolección de Leche Humana;

6.5.3. Las muestras que presenten una lectura superior a 8,0°D se consideran no conformes, y todo volumen de leche humana extraída no conforme debe ser descartado de acuerdo con la Norma Técnica BLH-IFF/NT 50.21: Ambientación: Manejo de Residuos y Material de Decarte en Bancos de Leche Humana y Centros de Recolección de Leche Humana;

6.5.4. Los resultados obtenidos en los análisis para la determinación de la acidez Dornic de la leche humana extraída deben ser registrados en instrumentos adecuados para este fin (ver Anexo de esta Norma), de manera que sea posible realizar la trazabilidad de las interurrencias y consecuentemente mejorar los procesos.



## 7. Marco Teórico

Pereira, C.I.V; Dametto, J.F.S e Oliveira, J.C.C Evaluation of human milk titrable acidity before and after addition of a nutritional supplement for preterm newborns. *J Pediatr (Rio J)*. 2016; 92 (5): 499-504.

Borges, M.S.; Oliveira, A.M de M.; Hattori, W.T e Abdallah. Quality of human milk expressed in a human milk bank and at home. *J Pediatr (Rio J)*. 2018; 94 (4): 339-403.

Toffanin, V.; DeMarchi, M; Lopez-Villalobos, N e Cassandro, M. Effectiveness of mid-infrared spectroscopy for prediction of the contents of calcium and phosphorus, and titratable acidity of milk and their relationship with milk quality and coagulation properties. *International Dairy Journal*, vol 41, feb, 2015, pages 68-73.

## 8. Anexos



**Programa de Certificação Fiocruz em Bancos de Leite Humana para el Sistema Único de Salud (PCFioBLH-  
BLH-IFF/PCFioBLH 0003  
Formulário para Seleção y Clasificación de la Leche Humana Extraída Cruda**

Nº Frasco	Matrícula Donante	Edad de LHE	Volumen Estimado	Análise Sensorial				Análisis Físico-Químicas															
				Envase	Suciedad	Color	Flavor	Acidez Dornic				Crematocrito											
								AC1	AC2	AC3	Factor Dornic	°D	CT1	CT2	CT3	CC1	CC2	CC3	Kcal/L				

Donde:

Análisis sensorial deberá ser identificada como conforme (C) y no conforme (NC)

Análisis Físico-químicas:

Acidez Dornic (AC) será completado con los mililitros gastados en cada titulación

Factor Dornic: es el valor a ser multiplicado por el promedio de los valores obtenidos en la solución Dornic

Crematocrito: donde CT es la columna total expresada en mm y CC es la columna de crema expresada en milímetros.

**Programa de Certificação Fiocruz em Bancos de Leche Humana  
 para el Sistema Único de Salud(PCFioBLH-SUS)**

**BLH-IFF/PCFioBLH 0004  
 Formulario para registro de la frecuencia diaria de no  
 conformidades**

Mes: \_\_\_\_\_

Año: \_\_\_\_\_

Fecha	Muestras testadas (Total)	Muestras Rechazadas					Muestras Rechazadas (Total)	Resp.
		Envase	Suciedad	Color	Flavor	Acidez		
01								
02								
03								
04								
05								
06								
07								
08								
09								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
16								
17								
18								
19								
20								
21								
22								
23								
24								
25								
26								
27								
28								
29								
30								
31								
Total								



Ministério de Saúde  
FIOCRUZ  
Fundação Oswaldo Cruz



**Programa de Certificação Fiocruz em Bancos de Leche Humana para el Sistema Único de Salud (PCFioBLH-SUS)**

**BLH-IFF/PCFioBLH 0005**

**Formulario para Registro Mensual de No Conformidades en la Selección y Clasificación de la Leche Humana Extraída Cruda**

Mes: \_\_\_\_\_

Año: \_\_\_\_\_

Atributo	Muestras Rechazadas	
	total de muestras testadas	Porcentaje (%)
Envase		
Suciedad		
Color		
Flavor		
Acidez		
Total		

Responsable: \_\_\_\_\_





Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz