



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química

---

CUANTIFICACIÓN DE COLESTEROL EN LAS LECHEs QUE MÁS  
SE CONSUMEN EN EL DISTRITO FEDERAL POR HPLC.

T E S I S

Que para obtener el título de:

Química de Alimentos

Presenta:

RAQUEL APARICIO GONZÁLEZ



MÉXICO, D.F.

2009



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.

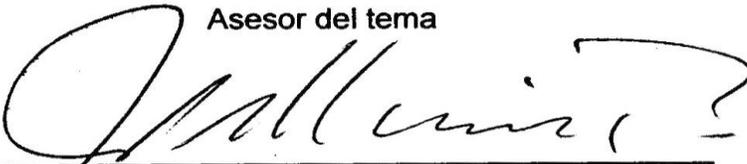
Jurado Asignado:

Presidente      Prof. Francisca Aída Iturbe Chiñas  
Vocal            Prof. Maria Elena Cañizo Suarez  
Secretario      Prof. José Luíz Silencio Barrita  
1er. suplente   Prof. Luz Sandra Sánchez Del Ángel  
2do. suplente   Prof. Aleida Mina Cetina

Sitio donde se desarrolló el tema:

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán  
Vasco de Quiroga 15. Delegación Tlalpan. C.P. 14000 México, DF.

Asesor del tema



---

M. C. JOSÉ LUÍZ SILENCIO BARRITA

Sustentante



---

RAQUEL APARICIO GONZÁLEZ

## *AGRADECIMIENTOS*

*A todo el personal del Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos en especial.*

*A la Dra. Josefina Morales*

*A la Ing. Adelina Baeza*

*A la Q.B.P. Claudia Gutiérrez*

*Y*

*A la Q.F.B. Sara Montaña del Departamento de Nutrición Animal.*

*Del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.*

*Por el apoyo brindado*

*Agradezco:*

*A Dios por haberme dado dos grandes pilares que son mi papá y mi mamá y por que me permitió terminar este trabajo.*

*A mi mamá Enedina, ya que por ella logré llegar a la meta que me fijé en mi vida, siempre me incitó para seguir adelante. Y me enseñó que en la vida no hay obstáculos más bien oportunidades.*

*A mi papá Genaro quien en todos momentos ha estado a mi lado, en los buenos y malos momentos de mi vida.*

*A mis hermanos*

*Tomasa, Javier, Nabor y Maribel por su apoyo incondicional tanto económico como moral para que pudiera terminar este trabajo.*

*A*

*José Luis Silencio, Francisca Iturbe, Maria Elena Cañizo, Luz Sandra Sánchez, Juan Guzmán y demás profesores que me dieron un poco de su conocimiento.*

*A mis amigos*

*Germán López, Sergio Cardona, Marco Antonio García, Fátima Cervantes, Enrique Martínez, Ignacio López, Lourdes Hernández, Ricardo Caballero, Beatriz Duran, Guadalupe, Mauricio Gutiérrez, Magdalena Alcaraz, Norma Fuentes, Aída (q.e.p.d), Vicente Rosas, Gladis Rojas, Martín Villanueva, Silvia, Carmen, Luis Palmer, Oscar Jaimes, Isaac, Olga, Marisol, Julio Martínez, Jaime, Sergio Guerrero, Flor y a todos ellos que en este momento no recuerdo su nombre pero que dejaron huellas en mi corazón, por su apoyo y amistad.*

*Y en especial a Ernesto Laguna por su gran apoyo, tiempo, disponibilidad y paciencia.*

**GRACIAS**

*Raquel Aparicio González*

## ÍNDICE

|  |    |
|--|----|
| Introducción .....   | 6  |
| CAPITULO 1.....  | 7  |
| Antecedentes .....   | 8  |
| Colesterol.....  | 10 |
| Química del colesterol.....                                  | 11 |
| Funciones.....   | 11 |
| Biosíntesis .....  | 12 |
| La vía digestiva y metabólica .....                          | 13 |
| Las lipoproteínas plasmáticas.....                           | 14 |
| Excreción.....   | 14 |
| Aspectos clínicos .....                                      | 15 |
| Requerimiento .....  | 16 |
| Leche de vaca .....  | 17 |
| Propiedades Químico-Físicas .....                            | 18 |
| Agua .....   | 19 |
| Proteínas.....   | 19 |
| Minerales.....   | 21 |
| Carbohidratos .....  | 22 |
| Enzimas.....   | 23 |
| Vitaminas.....   | 23 |
| Lípidos.....   | 25 |
| El glóbulo graso.....  | 25 |
| Tratamientos de la leche.....                                | 28 |
| Consumo de leche en la Ciudad de México.....                 | 29 |
| La situación del consumo y producción lechera en México..... | 30 |
| CAPITULO 2.....  | 32 |
| Objetivo general .....                                       | 33 |
| Objetivos particulares.....                                  | 33 |
| Diseño del estudio.....                                      | 33 |
| Criterios para la selección de las muestras.....             | 34 |
| CAPITULO 3.....  | 35 |
| Muestra .....  | 36 |
| Reactivos .....  | 36 |
| Equipos.....   | 37 |
| Metodología utilizada .....                                  | 37 |
| Condiciones Cromatográficas.....                             | 37 |
| Metodología para la extracción de Lípidos .....              | 38 |
| Método para la Derivatización .....                          | 39 |
| Análisis Cromatográfico.....                                 | 40 |

|   |    |
|---|----|
| CAPITULO 4.....                                 | 41 |
| Elaboración de la Curva Patrón .....            | 42 |
| Repetibilidad.....                              | 43 |
| Recuperación .....                              | 44 |
| Resultado de la selección de muestra .....      | 45 |
| Resultados del contenido de lípidos.....        | 48 |
| Resultado sobre el contenido de colesterol..... | 56 |
| Conclusiones .....                              | 66 |
| Capitulo 5 .....                                | 68 |
| Bibliografía.....                               | 69 |
| Anexos.....                                     | 74 |

## INDICE DE CUADROS

|  |    |
|--|----|
| Cuadro 1.- Concentraciones deseables de lípidos en el adulto .....                                 | 15 |
| Cuadro 2 - Recomendaciones en el consumo de grasa .....  | 16 |
| Cuadro 3 - <i>Contenido promedio</i> de colesterol en algunos alimentos.....                       | 17 |
| Cuadro 4 - Composición química aproximada de la leche de vaca .....                                | 19 |
| Cuadro 5.- Concentración de los principales minerales y de lactosa en la leche.....                | 22 |
| Cuadro 6.- Lista de algunas enzimas de la leche .....  | 23 |
| Cuadro 7 - Composición de las vitaminas de la leche entera .....                                   | 24 |
| Cuadro 8 - Composición lipídica de la leche .....  | 25 |
| Cuadro 9.- Composición lipídica de la <i>membrana</i> del glóbulo graso de la leche .....          | 26 |
| Cuadro 10 - Ácidos Grasos que componen la <i>grasa</i> de la leche .....                           | 26 |
| Cuadro 11- Concentraciones de colesterol y sus diferentes áreas .....                              | 42 |
| Cuadro 12.- Repetibilidad en la inyección de colesterol .....                                      | 43 |
| Cuadro 13.- Resultados de la recuperación del colesterol .....                                     | 44 |
| Cuadro 14.- Resultados de la mezcla .....  | 45 |
| Cuadro 15 - Resultados de la encuesta que se realizó .....   | 46 |
| Cuadro 16 - Lista de las Leches analizadas con sus diferentes clasificaciones.....                 | 47 |
| Cuadro 17.- Contenido de Lípidos en las leches enteras .....                                       | 49 |
| Cuadro 18 - Contenido de lípidos de las leches parcialmente descremadas.....                       | 51 |
| Cuadro 19.- Contenido de lípidos en las leches descremadas.....                                    | 52 |
| Cuadro 20 - Contenido de lípidos en las leches en polvo .....                                      | 53 |
| Cuadro 21.- Contenido de lípidos en las leches adicionadas con grasa vegetal.....                  | 55 |
| Cuadro 22 - Resultados del colesterol obtenido en las leches enteras .....                         | 56 |
| Cuadro 23 - Resultados del colesterol obtenido en las leches parcialmente<br>descremadas .....     | 59 |
| Cuadro 24 - Resultados del colesterol obtenido en las leches descremadas .....                     | 60 |
| Cuadro 25 - Resultados del colesterol obtenido en las leches en polvo .....                        | 61 |
| Cuadro 26 - Resultados del colesterol obtenido en las leches adicionadas con grasa<br>Vegetal..... | 63 |
| Cuadro 27 - Resumen del contenido de colesterol por denominación y clasificación.....              | 64 |

|   |    |
|---|----|
| Cuadro 28 - Resultado de la preferencia de marcas comerciales por número de preferencia y frecuencia.....                                 | 76 |
| Cuadro 29 - Resultados de la preferencia de la clasificación de la leche por número de preferencia y frecuencia.....                      | 77 |
| Cuadro 30 - Resultados de la Preferencia del Tratamiento térmico de las leches por el número de preferencia y frecuencia de consumo ..... | 78 |
| Cuadro 31.- Preferencia de la leche líquida o en polvo .....  | 79 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| Figura 1.- Estructura del Colesterol.....   | 10 |
| Figura 2 - EXTRACCIÓN DE LÍPIDOS: Método de Folch AOAC 1981. (ver anexo 3).....               | 38 |
| Figura 3 - DERIVATIZACIÓN: Método de Newkirk y Shepard AOAC 1981. (Ver anexo 4).....          | 39 |
| Figura 4 - Preparación del estándar de colesterol. (NEWKIRK DR, SHEPARD, AJ, AOAC 1981) ..... | 40 |
| Figura 5.- Curva Patrón de colesterol.....  | 42 |
| Figura 6.- Cromatograma del estándar de colesterol .....                                      | 43 |
| Figura 7.- Concentración de colesterol en leches en relación de lípidos totales....           | 64 |
| Figura 8.- Preferencia por las diferentes marcas de leche .....                               | 77 |
| Figura 9.- Preferencia por la clasificación de la leche .....                                 | 78 |
| Figura 10.- Preferencia por el tratamiento térmico .....                                      | 79 |
| Figura 11 - Preferencia por leche líquida o en polvo .....                                    | 79 |

## Introducción

Existen evidencias que consideran al colesterol como uno de los principales factores de riesgo en las enfermedades cardiovasculares, (Bourges 1990) por lo que es necesario conocer el contenido de colesterol de los alimentos que más se consumen en la Ciudad de México. Al respecto existen pocas tablas que incluyan el contenido de colesterol de alimentos mexicanos, solo se tienen referencias de otros países como España y Estados Unidos (CODEX, USDA) que no se pueden extrapolar y usar como tal en México.

Debido a la relación que hay del colesterol del plasma sanguíneo y las enfermedades del corazón, la población ha incrementado su interés por saber la cantidad de colesterol presente en los alimentos de origen animal.

Entre los alimentos especialmente ricos en colesterol están los huevos, los productos lácteos, como la leche, la mantequilla, el queso, la nata y la mayoría de las carnes. (Montgomery 1999)

La leche se encuentra entre los cuatro alimentos más consumidos en el Distrito Federal, según datos de “La encuesta urbana de alimentación y nutrición en la zona Metropolitana de la ciudad de México 2002”.

El consumo nacional de leche ha registrado un alto crecimiento desde 1989 y en el año 2004 la cifra fue de 13, 228 millones, entre uno de tantos puntos de esta situación, es a que la población a incrementado el consumo de este producto.

Esta investigación se realizó con la finalidad de proporcionar los valores de colesterol de las leches más consumidas por la población en la Ciudad de México.

# **CAPITULO 1**

## **Marco teórico**

## **Antecedentes**

El aumento en la esperanza de vida y el consecuente envejecimiento de la población favorecen el incremento de las enfermedades crónicas propias del adulto y del anciano, entre las cuales predominan las cardiovasculares, que se han extendido por todo el mundo a grado que se les denomina la pandemia del siglo, son la primera causa de muerte en México desde 1986. Entre ellas la mayor amenaza es el infarto al miocardio. (Casanueva 2001)

Según estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2002, 16.7 millones de personas mueren cada año en el mundo por enfermedades cardiovasculares. Esta cifra equivale a la tercera parte de las muertes a escala mundial. Las cardiopatías y los accidentes cerebrovasculares representan 35 a 55% de las 800,000 defunciones anuales que se registran en América Latina y el Caribe. (Paho.org 2000)

Se prevé que en el año 2020 las enfermedades cardiovasculares en América Latina y el Caribe serán causa de muerte tres veces más frecuentemente que las enfermedades infecciosas. Además, la carga de las enfermedades cardiovasculares, expresada en años de vida ajustados en función de la discapacidad, excederá la carga de las enfermedades infecciosas y parasitarias en todas las regiones del mundo, excepto en África subsahariana. (Paho.org 2000)

En el periodo de 1990–2001 INEGI registró el total de defunciones en la población mexicana, las enfermedades derivadas del corazón ocupó la primera causa con el 15.9%, seguida por los tumores malignos con 12.7% y diabetes mellitus con 11.3% ocupando la segunda y tercera causa respectivamente. (INEGI 2001)

En el año 2004 hay registros que el 30% de la población mexicana tenía colesterol por arriba de 200 mg por decilitro de sangre, y ocho de cada diez no lo sabía, situación que los convirtió en candidatos a padecer aterosclerosis obstrucción de las arterias y por lo tanto a sufrir un infarto cardíaco o cerebral. (ssa 2004)

Para el año 2005 en México las principales causas de mortalidad general fueron las enfermedades del corazón, la diabetes mellitus, los tumores malignos, los accidentes, además de los padecimientos hepáticos y cerebrovasculares. En conjunto causaron 6 de cada 10 defunciones. (INEGI 2006)

La secretaria de salud en un comunicado en mayo de 2006 informa que los altos niveles de colesterol en sangre, se habían convertido en un factor de riesgo para padecer enfermedades cardiovasculares y recomienda que la población se realice una prueba de sangre a partir de los 35 años de edad y a los 20 para los fumadores, a los que presentan obesidad, diabetes y antecedentes de familiares de padecimiento del corazón, en la nota se resume la importancia de cambiar de hábitos alimenticios, tanto para prevenir y disminuir los altos niveles de colesterol y para ello es necesario disminuir los alimentos ricos en grasas. (SSA 2006)

Tanto la ingestión de colesterol y de triglicéridos en la dieta se ha asociado con niveles elevados de colesterol en sangre y por lo tanto se considera como un factor de riesgo de enfermedades cardiovasculares.

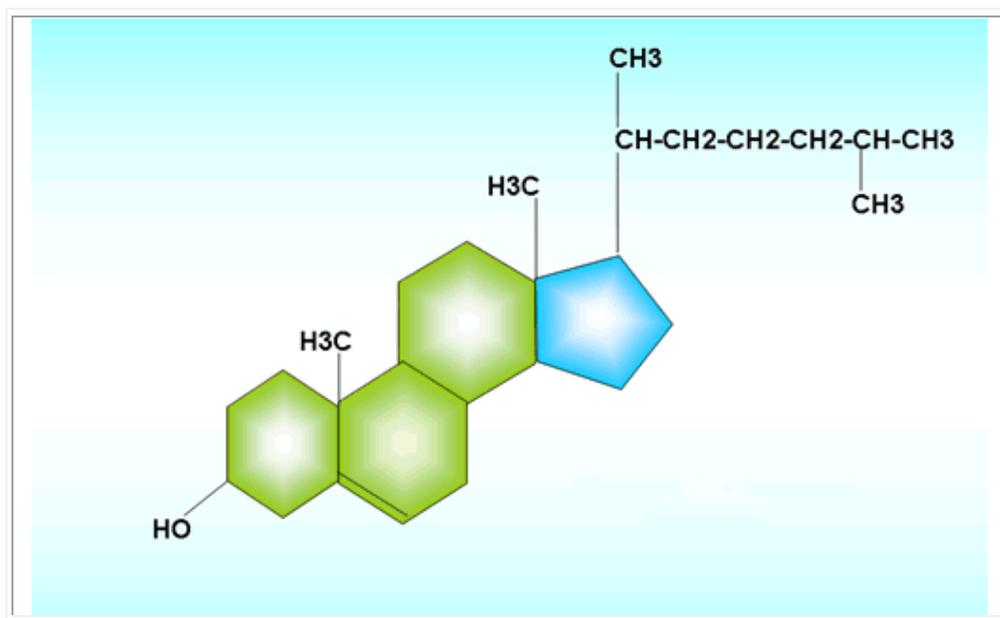
El colesterol esta asociado con la aterosclerosis, que es la forma más común de la arteriosclerosis (endurecimiento de las arterias). La aterosclerosis es una enfermedad progresiva, que inicia en forma de depósitos de lípidos intracelular en las células del músculo liso de la pared interior de la arteria, estas lesiones acaban transformándose en placas fibrosas calcificadas, que estrechan e incluso bloquean las arterias. (Devlin T. 1999).

Entre los alimentos especialmente ricos en colesterol están los huevos, los productos lácteos, como la leche, la mantequilla, el queso, la nata y la mayoría de las carnes. (Montgomery 1999)

## Colesterol

El colesterol se encuentra dentro del grupo de los esteroides y son sustancias integradas por un grupo químico llamado *ciclopentano perhidrofenantreno* una cadena hidrocarbonada y un alcohol. Se encuentran en el reino vegetal, como en el animal, en el primer caso reciben el nombre genérico de fitoesteroides, entre los que destacan el sitoesterol, estigmasterol, (Belitz 2001) y ergosterol este último se encuentran en los hongos y levaduras, (Casimir 2002) en el caso de los esteroides animales, el colesterol es el más abundante e importante. Esta formado por 27 átomos de carbono, 46 de hidrógeno y 1 de oxígeno, dispuestos en tres ciclos hexagonales, 1 pentagonal y 1 cadena ramificada cuya fórmula se muestra en la figura 1, es una molécula anfifílica, tiene un grupo hidrofóbico, y un grupo polar. (Pucadyil 2006)

Figura 1.- Estructura del Colesterol



## Química del colesterol

El peso molecular del colesterol es de 386.64 g/mol está constituido por 83.87% C, 11.99% de H y 4.145% de O el nombre sistemático del colesterol es colest-5-en-3 $\beta$ -ol. (Merk 1968)

Son cristales de color blanco brillante, insaponificable, es soluble en solventes orgánicos relativamente polares como: benceno, hexano, éter de petróleo etc., también en aceites, grasas y soluciones de sales biliares y aumenta su solubilidad al aumentar la temperatura. (Down's 1993)

Esta molécula contiene 8 centros asimétricos y puede tener aproximadamente 256 estereoisómeros (128 pares de enantiómeros), aunque muchos están demasiado tensionados para existir. Sin embargo, solamente uno existe en la naturaleza. (MacMurry 1992)

Las reacciones químicas del colesterol como la formación de ésteres, oxidación, halogenación y otras reacciones típicas se deben principalmente al grupo OH que se ubica en el carbono 3 y al doble enlace situado entre los carbonos 5 y 6. (Montgomery 1999, Casimir 2002)

Debido al doble enlace es susceptible a sufrir oxidación y dar origen a una serie de productos oxidados, de diferente estructura, aún no del todo definidos químicamente, que se identifican colectivamente con el nombre de oxisteroles, (Valenzuela 2002) y algunos son 7 $\alpha$  - y 7 $\beta$ -hidroxicolesterol, 7-ketolesterol (7-ketocol), 5 $\alpha$ , 6 $\alpha$ - y 5 $\beta$ , 6 $\beta$ -epoxicolesterol, y colestane-3 $\beta$ , 5, 6 $\beta$ -triol. (Apprich 2004)

## Funciones

El colesterol es uno de los componentes más importantes de las membranas celulares, se estima que por cada dos o tres moléculas de fosfolípidos que forman la matriz lipídica de las membranas, existe una molécula de colesterol que regula la fluidez y la elasticidad de la membrana celular. (Valenzuela 2002)

El 80 % del colesterol absorbido en el tubo digestivo termina transformándose en ácido cólico, el cual se combina con otras sustancias para dar origen a las sales biliares que facilitan la digestión y la absorción de grasas y vitaminas liposolubles de la dieta. (Bourges 1984)

El crecimiento natural y desarrollo del cerebro y el sistema nervioso central requieren del colesterol, es particularmente abundante en las estructuras mielinizadas del cerebro y del sistema nervioso central. (Devlin 1999)

Es también el precursor de los esteroides hormonales como la progesterona (necesaria durante el embarazo y el ciclo menstrual), testosterona, estradiol, y cortisol, incluyen también las hormonas suprarrenales como la aldosterona que ayuda regular la tensión arterial e hidrocortisona el esteroide natural del cuerpo. (Casimir 2002)

Del colesterol se forma la vitamina D, que en su forma activa es más bien una hormona la cual tiene a su cargo la regulación de la absorción intestinal del calcio y de varios aspectos de su metabolismo. (Bourges 1990)

## **Biosíntesis**

El colesterol presente en el organismo tiene dos orígenes. Exógeno y endógeno. Aunque la biosíntesis del colesterol tiene lugar en todas las células, esta capacidad es mayor en el hígado, intestino, corteza suprarrenal y tejidos reproductores, entre los que incluyen ovarios, testículos y placenta. De la inspección de su estructura es evidente que la biosíntesis del colesterol requiere una fuente de átomos de carbono y un alto poder reductor para generar los numerosos enlaces carbono-hidrógeno y carbono-carbono. (Devlin 1999)

La biosíntesis del colesterol puede dividirse en **tres etapas**:

1. La conversión de un fragmento  $C_2$  (acetato) en un precursor isoprenoide  $C_6$  (mevalonato).

2. Conversión del mevalonato  $C_6$ , a través de intermediarios  $C_5$  activados, en el escualeno  $C_{30}$ .

3. Ciclización del escualeno y su transformación en colesterol  $C_{27}$ . (Mathews 1998)

**Primera etapa:** Se inicia con la condensación de dos moléculas de acetyl-CoA para dar acetoacetyl-CoA, este reacciona otra vez para dar 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA (HMG-CoA) después se transforma en mevalonato.

**Segunda etapa:** En primer lugar se activa el mevalonato mediante tres fosforilaciones formándose isopentenil pirofosfato y se llevan a cabo varias reacciones y ordenamientos de las moléculas para dar lugar al escualeno.

**Tercer etapa:** En esta etapa el escualeno se ciclica para dar lanosterol, después se producen una serie de reacciones para transformarse en 7- deshidrocolesterol el penúltimo producto y este sufre una reducción final para dar colesterol. (Mathews 1998, Lehniger 1995)

## La vía digestiva y metabólica

Los procesos de digestión, absorción y transporte del colesterol son bien conocidos, básicamente el colesterol o sus ésteres previamente hidrolizados, que constituyen la principal forma en que el colesterol está presente en nuestra dieta, se absorben por las células intestinales en conjunto con los ácidos grasos y los monoacilglicéridos formados por la acción de las lipasas intestinales. En estas células el colesterol es reesterificado y transportado, primero a través de la linfa (vasos linfáticos) y posteriormente en la sangre, hacia el resto de las células del organismo. (Valenzuela 2002)

## **Las lipoproteínas plasmáticas.**

El colesterol y sus ésteres, al igual que los triacilgliceroles y fosfolípidos son prácticamente insolubles en agua, no obstante, estos lípidos se han de transportar desde el tejido de origen (hígado en donde se sintetizan o intestino en donde se absorben), hasta los tejidos en donde son almacenados o consumidos. Y se sintetizan en el plasma sanguíneo desde un tejido a otro en forma de lipoproteínas plasmáticas, son agregados moleculares de proteínas, fosfolípidos, colesterol, ésteres de colesterol y triacilgliceroles. (Lehninger 1995)

Existen cinco tipos de lipoproteínas: los quilomicrones, las de muy baja densidad (LMBD o VLDL por su nombre en ingles), las de densidad intermedia (LDI o IDL), las de baja densidad (LBD o LDL) y las de alta densidad (LAD o HDL). La densidad de las lipoproteínas depende de la cantidad de proteínas, así las lipoproteínas de alta densidad contienen mayor cantidad de proteínas que las de baja densidad. La aterogenicidad de cada una depende de su composición y su función metabólica, las lipoproteínas de alta densidad no conducen a la aterosclerosis, en cambio las de baja densidad tienen un alto índice aterogénico. (Casanueva 1994)

## **Excreción**

El colesterol y los ácidos biliares no absorbidos sufren en el intestino la acción de las bacterias de la flora normal y por la reducción de la doble ligadura del ciclo el colesterol se convierte en coprostanol y colestanol, compuestos isómeros que representan los principales esteroides en materias fecales. Los ácidos biliares eliminados con las heces alcanzan unos 500 mg por día, es decir, existe equilibrio entre las cantidades sintetizadas y excretadas, lo cual indica que ambas deben estar reguladas. (Blanco 2001)

## Aspectos clínicos

Un valor elevado de colesterol plasmático total y un incremento de la principal lipoproteína portadora de colesterol la LDL (baja densidad) están asociados con un riesgo más elevado de sufrir enfermedades cardiovasculares. Por otro lado al parecer, las altas concentraciones de lipoproteínas de alta densidad (HLD) disminuyen el riesgo de enfermedades cardiacas.

Los niveles altos de colesterol y de las lipoproteínas de baja densidad en el suero sanguíneo aumentan el riesgo de tener arterosclerosis y enfermedades coronarias del corazón. (Asumar 2005) Además de sufrir de angina de pecho, infarto en el corazón, derrame cerebral o problemas circulatorios en las piernas, que le conducirán a diversos grados de invalidez y en muchos casos a la muerte, suceso que puede presentarse en forma repentina.

En el cuadro 1 se presentan el perfil de colesterol y de las lipoproteínas en donde se determina si las concentraciones de éstos en la sangre son deseables, elevadas o llegan a niveles de riesgo, (Bourges. 1984) en base a este cuadro, un valor deseable de colesterol en sangre debe ser menor a 200 mg/dL.

Cuadro 1.- Concentraciones deseables de lípidos en el adulto

| Indicador                           | Deseable | Límite alto | Riesgo    |
|-------------------------------------|----------|-------------|-----------|
| Colesterol mg/dL                    | < 200    | 240         | > 240     |
| Lipoproteína de baja densidad mg/dL | < 130    | 159         | 160 y más |
| Lipoproteína de alta densidad mg/dL | > 45     | -           | < 35      |
| Triglicéridos                       | < 40     | 150         | > 150     |
| Ácidos grasos totales               | < 190    | 240         | > 240     |
| Lípidos totales                     | < 450    | 1000        | > 1000    |

(Esther Casanueva 2001)

## Requerimiento

En las recientes guías que han elaborado los americanos, han sido consistentes en las recomendaciones para el consumo de grasa total, grasa saturada y colesterol, tal es el caso de la guía de “El National Cholesterol Education Program”, en la cual recomienda dos tipos de dietas (ver cuadro 2), la dieta I es para personas saludables, en ella indica consumir 30% o menos de energía provenientes de la ingestión de la grasa total, menos de 10% de las grasas saturadas, grasa monoinsaturada y grasa poliinsaturada al día, en la dieta II es para los individuos que padecen aterosclerosis y recomienda consumir diariamente menos de 200 mg del colesterol, además de reducir la ingestión de grasas saturadas. (AHA Dietary Guidelines 2000, Bruch 1991)

Cuadro 2.- Recomendaciones en el consumo de grasa.

| Tipo de grasa                       | Dieta I      | Dieta II    |
|-------------------------------------|--------------|-------------|
| Grasa total (% de energía)          | 30 % o menos | 30% o menos |
| Grasa saturada (% de energía)       | 8 – 10 %     | 7% o menos  |
| Grasa monoinsaturada (% de energía) | <10%         | <10%        |
| Grasa poliinsaturada (% de energía) | <10%         | <10%        |
| Colesterol (mg por día)             | <300         | <200        |

(National cholesterol Education Program, 1993) Burns Welch

Para que una dieta pueda calificarse como “pobre en colesterol” no deberá aportar más de 300 mg diarios de dicha sustancia. No es fácil limitarse a ésta cifra, considerando que tan sólo un huevo contiene 275 mg de colesterol ver cuadro 3, y se deben restringir el consumo de ácidos grasos saturados (AGS) a no más de 1g AGS/100 Kcal.

En una dieta correcta los lípidos nunca deben aportar más de 25% de energía total. (Bourges. 1984)

Cuadro 3.- Contenido promedio de colesterol en algunos alimentos

| Alimento          | Contenido de colesterol (mg/100 g) |
|-------------------|------------------------------------|
| Sesos             | 2000                               |
| Huevo(yema)       | 500                                |
| Mantequilla       | 230                                |
| Queso doble crema | 190                                |
| Queso crema       | 139                                |
| Queso gruyere     | 91-98                              |
| Queso fresco      | 91                                 |
| Queso Oaxaca      | 73                                 |
| Pollo con piel    | 78                                 |
| Bistec de res     | 68                                 |
| Ostiones          | 59                                 |
| Helado de crema   | 44                                 |
| Leche entera      | 13(una taza 250mL)                 |
| Queso Cottage     | 10                                 |
| Requesón          | 6                                  |
| Leche descremada  | 3                                  |

(Bourges 1990)

Como ya se menciono el colesterol se encuentra solamente en alimentos de origen animal, como los lácteos, la carne de todos los animales y la yema de huevo, en particular se trabajo con la leche de vaca para fin de este estudio.

### **Leche de vaca**

#### Definición

Leche de vaca para consumo humano, producto proveniente de la secreción natural de las glándulas mamarias de las vacas sanas. Se excluye el producto obtenido 15 días antes del parto y 5 días después de éste o cuando tenga calostro. (NOM-155-SCF-2003)

## Propiedades Químico-Físicas

La leche es un líquido opaco de color blanco a blanco amarillento, color que está determinado por la dispersión y absorción de la luz por los glóbulos de grasa y las micelas de proteína. El sabor es ligeramente dulce y el olor es característicamente inespecífico.

La grasa se encuentra en forma de glóbulos, rodeados de una membrana y se encuentran emulsionados en el suero lácteo.

La masa específica de la leche disminuye al aumentar el contenido en grasa y al hacerlo aumenta el contenido en proteína, lactosa y sales, para leche de vaca es de 1.029 y 1.034 g/mL a 15°C.

El punto de congelación de la leche es de -0.53 °C hasta -0.55 °C. Debido a su gran consistencia, este parámetro se utiliza para determinar el aguado de la leche.

El valor del pH de la leche fresca es 6.5-6.75, el grado de acidez según Soxhlet-Henkel (°SH) es de 6.5-7.5. (Asuman 2005)

La leche fresca presenta una acidez de valoración global que oscila entre 14 mol/L y 21 mol /L, con una media de 17 mol/L. (Walstra 2001)

En el cuadro 4 se presenta, una recopilación de los componentes de la leche entera de diferentes autores y la FAO, en el cual cada uno informa la composición química de la leche y todos coinciden en que los componentes que se encuentran en mayor concentración son el agua, la grasa, las proteínas y la lactosa.

Cabe señalar que la composición varía en función de la especie, el origen, la raza, la alimentación, la época del año, el estado de salud del animal, el clima, las condiciones higiénicas, etc.

Cuadro 4.- Composición química aproximada de la leche de vaca.

|                           | Fenema <sup>a</sup><br>% | Belitz<br>% | Rene<br>Riel % | Walstra <sup>b</sup><br>% | Varnam <sup>c</sup><br>% | FAO<br>% |
|---------------------------|--------------------------|-------------|----------------|---------------------------|--------------------------|----------|
| Agua                      | 86.60                    | 63-87       | 86.90          | 87.10                     |                          | 87.40    |
| Grasa                     | 4.10                     |             | 3.90           | 4.00                      | 3.95                     | 3.90     |
| Proteína                  | 3.60                     | 3.20        | 3.20           | 3.25                      | 3.21                     | 3.30     |
| Lactosa                   | 5.00                     | 3.90        |                | 4.60                      | 4.55                     | 4.50     |
| Ceniza                    | 0.70                     | 0.70        |                |                           |                          |          |
| Caseína                   |                          | 2.60        |                | 2.60                      |                          |          |
| Prot. suero               |                          | 0.60        |                |                           |                          |          |
| Carbohidratos             |                          |             | 5.10           |                           |                          |          |
| Sales                     |                          |             | 0.90           |                           |                          |          |
| Sólidos no grasos         |                          |             |                | 8.90                      |                          |          |
| Grasa sobre extracto seco |                          |             |                | 3.10                      |                          |          |
| Sust. minerales           |                          |             |                | 0.70                      |                          | 0.90     |
| Ácidos orgánicos          |                          |             |                | 0.17                      |                          |          |
| varios                    |                          |             |                | 0.15                      |                          |          |

<sup>a</sup> composición de leche de vaca de razas occidentales que incluyen la Guernsey, Jersey, Ayshire, Parda Suiza, Shorthorn y Holstein.

<sup>b</sup> composición de las razas de las tierras bajas Holanda y Dinamarca

<sup>c</sup> composición de la leche de Inglaterra y Gales

## Agua

El agua es el nutriente requerido en mayor cantidad y la leche suministra una gran cantidad de agua, conteniendo aproximadamente 87% de la misma ver cuadro 4.

## Proteínas.

Las proteínas de la leche son de dos tipos, proteínas del lactosuero y caseínas. Las caseínas constituyen más del 80% de las proteínas totales de la leche, aunque la proporción relativa de proteínas del lactosuero frente a caseínas varía según el estado de lactación.

La leche producida en los primeros días después del parto y hacia el final de la lactación tienen un contenido de proteínas del suero mucho mayor que la leche a la mitad de la lactación. Este incremento está acompañado de niveles elevados de proteínas del suero sanguíneo. (Fenema 1993)

## Caseínas

Las caseínas se dividen en cuatro tipos, caseínas  $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$ ,  $\beta$ , y  $\kappa$ . Son similares en su composición, ricas en ácido glutámico, leucina, serina, lisina y prolina, todas ellas son fosfoproteínas conformadas de 150-200 aminoácidos. (Michalsk 2006)

Las caseínas  $\alpha_{s1}$  contienen de siete a nueve residuos de fosfoserina por mol, la  $\alpha_{s2}$  10 a 13 y la  $\beta$  5. Los residuos de fosfoserina se concentran en grupos y son responsables de la existencia de áreas hidrofílicas de fuerte carga negativa.

La caseína  $\beta$  contiene la mayoría de los componentes hidrofóbicos.

Las caseínas  $\alpha_s$  son sensibles al calcio debido a la presencia de grupos fosfato y precipitan en presencia de iones  $\text{Ca}^{+2}$  a pH 7.0.

La caseína  $\kappa$  difiere de las caseínas  $\alpha$  y  $\beta$  porque contiene sólo un grupo de fosfoserina y una fracción glucídica, es una estructura relativamente estable con un puente disulfuro.

El carácter anfifílico de las caseínas y su fosforilación facilita las interacciones entre ellas y con el fosfato cálcico forman complejos esféricos altamente hidratados conocidos como micelas. (Varnam 1995)

## Proteínas del lactosuero

Las proteínas del lactosuero se encuentran en mayor proporción la  $\beta$ -lactoglobulinas y  $\alpha$ -lactoalbúminas, además de pequeñas cantidades de proteínas de origen sanguíneo como la seroalbúmina e inmunoglobulinas.

Las proteínas del lactosuero tienen una estructura típica de proteínas globulares compactas, las proteínas sufren un plegamiento intramolecular como resultado de la formación de puentes disulfuro entre los grupos sulfhidrilo de las cisteínas, quedando la mayor parte de los grupos hidrofóbicos encerrados en el interior de la

molécula. Por esta razón, las proteínas del lactosuero no se agregan fuertemente, ni interactúan con otras proteínas, en estado nativo.

La proteína mayoritaria es la  $\beta$ -lactoglobulina representa el 22% de las proteínas del suero de la leche, sufre una limitada autoasociación a los valores de pH normales de la leche, para formar un dímero con una forma geométrica que recuerda a dos esferas superpuestas. (Michalsk 2006)

### **Minerales.**

Los minerales de la leche constan principalmente de cloruros, fosfatos, citratos y bicarbonatos de sodio, calcio y magnesio (ver cuadro 5). Las sales, componentes inorgánicos de la leche, no deben confundirse con la ceniza, que está constituida por los óxidos de los minerales resultantes de la combustión, la distribución de los minerales entre las fases solubles y coloidal y sus interacciones con las proteínas de la leche son factores importantes en la estabilidad de los productos lácteos. (Fenema 1993)

El cuadro 5 se elaboró con la información de los siguientes autores Fenema, Belitz y Walstra como se puede observar, cada uno difiere en su concentración de minerales y los reportan en unidades diferentes.

Cuadro 5.- Concentración de los principales minerales y de lactosa en la leche.

| Componente         | Fenema<br>(mg/100g) | Belitz<br>(mg/L) | Walstra<br>(mg/kg) |
|--------------------|---------------------|------------------|--------------------|
| Calcio total       | 117.7               | 1200             | 300                |
| Calcio ionizado    | 11.4                |                  | 90                 |
| Magnesio           | 12.1                | 120              | 70                 |
| Sodio              | 58                  | 500              | 450                |
| Potasio            | 140                 | 1500             | 1,500              |
| Citrato            | 176                 |                  |                    |
| Fósforo total      | 95.1                | 3000             | 1,100              |
| Fósforo inorgánico | 62.9                | 46               |                    |
| Cloruro            | 104.5               | 1000             | 1,100              |
| Lactosa            | 4,800               |                  | 4,800              |
| Sulfatos           |                     | 100              | 100                |
| Zinc               |                     | 4000             | 3                  |
| Aluminio           |                     | 500              |                    |
| Hierro             |                     | 400              | 0.12               |
| Cobre              |                     | 120              | 0.020              |
| Molibdeno          |                     | 60               |                    |
| Manganeso          |                     | 30               |                    |
| Níquel             |                     | 25               |                    |
| Silicio            |                     | 1500             |                    |
| Bromo              |                     | 1000             |                    |
| Boro               |                     | 200              |                    |
| Flúor              |                     | 150              |                    |
| Yodo               |                     | 60               |                    |
| Bicarbonato        |                     |                  | 100                |

### **Carbohidratos.**

La lactosa es el carbohidrato mayoritario en la leche ver cuadro 4, se encuentra en la leche de casi todos los mamíferos y es característico de este alimento. La leche contiene trazas de otros carbohidratos, y se encuentran algunos compuestos glucósidos como las hexosaminas y el ácido N-acetilneuramínico y cerebrósidos.

(Walstra 2001)

## Enzimas.

Las enzimas pueden estar presentes en la leche como resultado del crecimiento microbiano y como propias de la leche ver cuadro 6, como las proteasas y lipasas que son particularmente importantes por sus efectos sobre el aroma y la estabilidad de las proteínas, las oxidorreductasas también pueden tener efectos sobre la estabilidad del aroma debido a su influencia sobre el estado oxidativo particularmente en la fracción lipídica. (Varnam 1995, Fenema 1993)

Cuadro 6.- Lista de algunas enzimas de la leche.

|                                |
|--------------------------------|
| <b><i>Oxidorreductasas</i></b> |
| Xantina oxidasa                |
| Sulfidril oxidasa              |
| Lactoperoxidasa                |
| Catalasa                       |
| <b><i>Tranferasas</i></b>      |
| UDP-Galactosiltransferasa      |
| Ribonucleasa                   |
| $\gamma$ -Glutamilttransferasa |
| <b><i>Hidrolasas</i></b>       |
| Proteasa                       |
| Lipasa                         |
| Lisozima                       |
| Fosfoproteína                  |
| Colinesterasa                  |
| <b><i>Liasas</i></b>           |
| Aldosa                         |
| Carbónico anhidrasa            |

Química de los Alimentos Fenema 1998).

## Vitaminas.

La composición en vitaminas de la leche (cuadro 7) indica que es un alimento completo, la composición se aplica a la leche cruda fresca y leche entera pasteurizada.

El cuadro 7 se elaboró recopilando información de algunos autores a cerca de las vitaminas presentes en la leche, por lo tanto se encuentran en diferentes proporciones y se expresan en unidades diferentes.

Cuadro 7.- Composición de las vitaminas de la leche entera.

| Vitamina <sup>b</sup> | Fenema Cantidad en 100g (3.3 % de grasa) <sup>a</sup> | Fenema % de la ADR <sup>c</sup> en 250 MI (3.3 % de grasa) <sup>a</sup> | Belitz (mg/l) | Réne Riel mg/100 mL         |
|-----------------------|---|---|---------------|-----------------------------|
| A                     | 31 ER <sup>d</sup>                                    | 8.9   | 0.4           | 27(invierno)<br>60 (verano) |
| C                     | 0.34 mg   | 4.2   | 20            | 1.7                         |
| Tiamina               | 0.038 mg  | 8.2   | 0.4           | 40                          |
| Riboflavina           | 0.162 mg  | 30.0  | 1.7           | 163                         |
| Niacina               | 0.85 EN <sup>e</sup>                                  | 13.9  |               | 76                          |
| B <sub>6</sub>        | 0.042 mg  | 5.4   | 0.6           | 35                          |
| Folacina              | 5 µg  | 3.2   |               |                             |
| B <sub>12</sub>       | 0.357 mg  | 30.7  | 0.005         | 0.42                        |
| D                     |   |   | 0.001         | 0.1 invierno<br>1.4 verano  |
| E                     |   |   | 1.0           | 120                         |
| Nicotinamida          |   |   | 1             | 1                           |
| Ác. Pantoténico       |   |   | 3.5           | 350                         |
| Biotina               |   |   | 0.03          | 2.6                         |
| Ác. fólico            |   |   | 0.05          | 0.7                         |
| K                     |   |   |               | 200 u. dam-<br>glavind      |

<sup>a</sup> Calculada a partir de las Ingestión Diaria Recomena (IDR) dadas por la Nacional Academy of Sciences y de la composición dada en el USDA Handbook No. 8-1(1)

<sup>b</sup> Incluye datos de las vitaminas de los que se dispone de IDR, con la excepción de la vitamina D, vitamina E, cuyos datos composicionales no vienen dados en el USDA Handbook N.8-1

<sup>c</sup> IDR media para todos los varones y hembras con más de 11 años. Un volumen de 250 mL es ligeramente superior al de una taza.

<sup>d</sup> Equivalentes Retinol: 1 µg de retinol o 6 µg de β-caroteno.

<sup>e</sup> Equivalentes Niacina: 1 mg de niacina o 60 mg de triptofano dietético. Solamente el 10 % de los EN de la leche corresponden a la niacina.

## Lípidos

La grasa se encuentra en un promedio aproximadamente del 3.9% ver cuadro 4, de los lípidos los que se encuentran en mayor proporción son los triglicéridos con el 97-98%.(Fagan 2004, Fenema 1993)

En el cuadro 8 se recopilaron informes de la composición lipídica de la leche de diferentes autores como Fenema, Walstra Varnam y Belitz.

Cuadro 8.- Composición lipídica de la leche.

| Lípido                              | Fenema %  | Walstra % | Varnam %  | Belitz %  |
|-------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Triacilgliceroles (triglicéridos)   | 97-98     | 98.30     | 97-98     | 95-96     |
| Diacilgliceroles (diglicéridos)     | 0.30-0.60 | 0.30      | 0.30-0.60 | 1.30-1.60 |
| Monoacilgliceroles (monoglicéridos) | 0.02-0.04 | 0.03      | 0.02-0.04 | 0.02-0.04 |
| Ácidos grasos libres                | 0.10-0.40 | 0.10      | 0.10-0.40 | 0.10-0.40 |
| Esteros libres                      | 0.20-0.40 | 0.32      | 0.20-0.40 | 0.20-0.40 |
| Fosfolípidos                        | 0.20-1    | 0.80      | 0.20-1    | 0.80-1    |
| Hidrocarburos                       | Trazas    |           | Trazas    |           |
| Esteres del esteroles               | Trazas    |           |           |           |
| Carotenoides + vitamina A           |           | 0.002     |           |           |
| Cetoacidogliceroles                 |           |           |           | 0.90-1.30 |
| Hidroxiacidogliceroles              |           |           |           | 0.60-0.80 |
| Esfingolípidos                      |           |           |           | 0.06      |

## El glóbulo graso

La composición lipídica de la membrana del glóbulo graso (cuadro 9) es similar a la membrana plasmática, aunque la composición se modifica con el envejecimiento de la leche. (Varnam 1995)

Aproximadamente el 60% de los fosfolípidos y el 85% del colesterol de la leche se localizan en la membrana del glóbulo graso.

Cuadro 9.- Composición lipídica de la membrana del glóbulo graso de la leche.

| Componente                     | Lípidos de la membrana (%) |
|--------------------------------|----------------------------|
| Carotenoides                   | 0.45                       |
| Escualeno                      | 0.61                       |
| Esteres del colesterol         | 0.79                       |
| Triacilgliceroles <sup>a</sup> | 53.41                      |
| Ácidos grasos libres           | 6.30                       |
| Diacilgliceroles               | 8.14                       |
| Monoacilgliceroles             | 4.70                       |
| Fosfolípidos                   | 20.40                      |

<sup>a</sup>Contienen una gran porción de glicéridos de alta fusión (punto de fusión 52-53 °C)  
Fuente: Química de los Alimentos Fenema).

En los lípidos de la leche de vaca se han identificado más de 400 ácidos grasos diferentes, el mas abundante del ácido graso saturado es el ácido palmítico (16:0), el que se encuentra en mayor cantidad de los ácidos grasos insaturados es el ácido oleico (18:1) y el ácido graso de cadena corta que se encuentra en mayor proporción es el butírico (Burns 1997) ver siguiente cuadro.

Cuadro 10.- Ácidos Grasos que componen la grasa de la leche.

| Acido graso | Fenema<br>Porcentaje en peso | Belitz<br>Porcentaje en peso | Burns<br>Porcentaje en peso |
|-------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| 4:0         | 3.6                          | 2.79                         | 3.4                         |
| 6:0         | 2.2                          | 2.34                         | 2.1                         |
| 8:0         | 1.1                          | 1.06                         | 1.2                         |
| 10:0        | 1.9                          | 3.04                         | 2.6                         |
| 12:0        | 3.0                          | 2.87                         | 3.0                         |
| 14:0        | 11.2                         | 8.94                         | 10.6                        |
| 15:0        | 1.5                          | 0.79                         |                             |
| 16:0        | 25.2                         | 23.80                        | 27.7                        |
| 18:0        | 11.9                         |                              | 12.8                        |
| 16:1        | 1.8                          |                              |                             |
| 18:1        | 25.5                         |                              | 26.6                        |
| 18:2        | 2.1                          |                              | 2.3                         |
| 18:3        |                              |                              | 1.6                         |
| Colesterol  |                              |                              | 33 <sup>a</sup>             |

(a) mg dl<sup>-1</sup>

En el cuadro 10 se recopila la información de 3 autores, cada uno reporta en diferentes cantidades los ácidos grasos que componen la grasa de la leche.

### Fosfolípidos o lípidos compuestos

Los fosfolípidos son un grupo de lípidos complejos que además de un alcohol y ácido grasos, contienen ácido fosfórico y una base nitrogenada. La leche contiene lecitinas, cefalinas y esfingomielinas. (Amiot 1992)

Los fosfolípidos se encuentran fundamentalmente en la membrana de los glóbulos grasos. Los ácidos grasos de los fosfolípidos tienen un origen diferente que las otras grasas lácteas, suelen tener una mayor proporción de ácidos insaturados y son de cadena más larga. (Varnam 1995)

### Di- y monoglicéridos.

Algunos de estos glicéridos se encuentran presentes de forma natural en la grasa de la leche fresca, pero su cantidad aumenta notablemente a consecuencia de la lipólisis. Los diglicéridos son apolares y sus propiedades son similares a las de los triglicéridos. Los monoglicéridos, que se encuentran menor cantidad, son bastante apolares; tienen actividad tensóactiva y por lo tanto, se acumulan en la interfase grasa-agua. (Walstra 2001)

### Lípidos insaponificables

Entre los lípidos insaponificables de la leche, el mayoritario es el colesterol, que es bastante apolar y se asocia fácilmente con los fosfolípidos, por lo tanto, parte del colesterol está en la membrana del glóbulo graso. Otros lípidos insaponificables de menor concentración son los carotenos, pigmentos responsables del color amarillo. (Walstra 2001)

## **Tratamientos de la leche**

La leche cruda no sería apta para su comercialización y consumo sin ser sometida a ciertos procesos industriales que asegurarán que la carga microbiológica está dentro de unos límites seguros. Por lo que una leche con garantías de salubridad debe haber sido ordeñada, con métodos modernos e higiénicos de succión en los cuales no hay contacto físico con la leche. Después de su ordeño ha de enfriarse y almacenarse en tanques de leche con agitación, para después ser transportada en cisternas isoterma hasta las plantas de procesado, en dichas plantas, se procesa la leche para que esta cumpla con las características óptimas para su consumo.

Los principales procesos son:

### **Limpieza**

La leche transportada en su mayoría en camiones cisternas, es conducida para su limpieza a través de un desgasificador hasta un clarificador (separador de platos autolimpiable).

### **Clarificación.**

La clarificación consiste en aplicar sobre la leche una fuerza centrífuga para eliminar las partículas más densas, como restos celulares, leucocitos y sustancias extrañas. (Belitz 1992)

### **Tratamiento Térmico.**

El objetivo del calentamiento es la prolongación de la vida útil y la eliminación de microorganismos patógenos. Los tratamientos térmicos se llevan a cabo por los procedimientos siguientes:

- Pasteurización: calentamiento alto (85 °C, de 2 a 3 s), calentamiento corto en cambiadores de placas (72 hasta 75 °C, 15 a 30 s), así como calentamiento largo (62-65 °C, 30 a 32 minutos).
- Calentamiento ultra alto (UHT) calentamiento indirecto (136-138 °C, de 5 a 8 s) en cambiadores de calor tubulares o de placas y el calentamiento

directo (140-145 °C de 2 a 4 s) por inyección de vapor, seguido de envasado aséptico.(Belitz 1992)

### **Descremado**

Es el proceso que se le da a la leche para separar parte o toda la materia grasa que contiene, se efectúa por centrifugación y el aparato que se usa es la descremadora.

### **Homogeneización.**

La homogeneización de la leche de consumo es una práctica generalizada porque presenta la ventaja de estabilizar la emulsión grasa-líquido y mantenerla uniforme. Por otra parte, este tratamiento confiere a la leche un sabor más dulce y una textura más suave y untuosa para el mismo contenido en materia grasa. (Brochu 1991).

### **Consumo de leche en la Ciudad de México**

El consumo de leche en la Ciudad de México de acuerdo con la información de *“La encuesta urbana de alimentación y nutrición en la zona Metropolitana de la ciudad de México 2002”*, que se llevó a cabo en áreas con las peores condiciones socioeconómicas, en una proporción de alrededor del 50% de todas las familias que habitan en el área urbana de en la zona metropolitana de la Ciudad de México perteneciente al Distrito Federal.

La unidad de muestreo fue la familia, el marco muestral de la encuesta se estimó en 1,600 encuestas, de aquí se obtuvo que:

El 77.0% de las familias encuestadas consume leche de vaca diariamente, el 11.3% de 3 a 5 veces por semana, el 9.3% de 1 a 2 días y el 2.5% no la consumen. El consumo per cápita diario fue de  $267 \pm 175$  mL y de  $8,094 \pm 5227$  mL semanal.

Con respecto al estado fisiológico de la población.

Las mujeres en periodo de lactancia son las que más consumen leche con el 91.2%, seguidas de las que se encuentran en periodo de embarazo con un 88.8% y por último los individuos con alguna discapacidad con el 77.6%.

Los resultados por grupo de edades.

En la población de 18 a 60 años el consumo de leche es de 55.4%; para los grupos de menos de 18 años el consumo es de 36.4% y para el grupo mayor de 60 años es de 8.2%.

La forma en que habitualmente consume la leche la población.

El 31.5% la prefiere sola, el 17.1% en café o té, el 16.1% en forma de licuados y el 20.2% en otras formas.

Con esta información se concluye que una gran parte de la población que vive en el Distrito Federal consume diariamente leche, las personas de entre edades de 18 a 60 años son quien más la consume y por lo general la prefieren sola.

Otros datos que se encuentran en la encuesta son los principales alimentos que más consume la población encuestada y son: tortilla, leche, azúcar y aceite.  
(ENURBAL 2002)

### **La situación del consumo y producción lechera en México**

La creciente demanda por este producto alimenticio ya sea en su forma fluida como a través de diferentes alimentos industrializados, ha dado origen a una creciente industria.

El consumo nacional de leche ha registrado un alto crecimiento desde 1989, debido a los procesos de desregulación y apertura comercial.(campomexicano.gob.mx 2003)

En base en la información preliminar de la producción nacional de este producto determina que el CNA (Consumo Nacional Aparente) en el año 2004 la cifra fue de 13, 228 millones de litros.

Este incremento obedeció en mayor medida al crecimiento de la oferta nacional de leche y en menor medida a las importaciones.

Según cifras de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). La producción nacional de leche de vaca en 2004 fue de 9,873.8 millones de litros, lo que marcó una moderada diferencia 0.9% con respecto a la producción del año 2003. Con base en este dato, la Tasa Media de Crecimiento Anual (TMCA) en los últimos 10 años es de 3.0%. (sagarpa 2005)

# **CAPITULO 2**

## **Diseño del estudio**

## **Objetivo general**

Determinar el contenido de colesterol de diferentes denominaciones y marcas de leches que constituyen una parte de los alimentos que se consumen en la Ciudad de México (D. F.) por HPLC.

## **Objetivos particulares**

1. Establecer el valor correspondiente a la cantidad de colesterol en las leches mexicanas en mg/100mL o mg/100g.
2. Determinar si existe diferencia entre las marcas y denominaciones existentes en las leches analizadas.

## **Diseño del estudio**

El estudio fue transversal, observacional y descriptivo.

Para el análisis de las leches:

1. Se realizó una estandarización en el método de extracción de lípidos totales.
2. Para saber que clasificaciones y marcas de leche a analizar se realizó una encuesta a 200 sujetos, escogidos al azar, que asistían a los diferentes lugares de abasto como son mercados, tianguis, supermercados y tiendas (ver anexo 1).
3. Se efectuó la extracción de los lípidos que de la leche por el método de Folch.
4. Después la derivatización.
5. Y por último el análisis cromatográfico.

## **Criterios para la selección de las muestras**

- Criterios de inclusión: Se incluyeron dentro del análisis todas aquellas muestras que presentaron las características sensoriales propias de la leche tales como color, sabor, olor, etc., esto se realizó sin un panel entrenado. Y se incluyeron las leches que se venden en tiendas y supermercados.
- Criterios de Exclusión: se excluyeron las leches que se encuentren fuera de la fecha de caducidad, y los que no presenten características sensoriales propias de la leche, esto se efectuó sin tener un panel especializado.

### **VARIABLE PRINCIPAL A MEDIR**

La concentración de colesterol.

### **VARIABLE SECUNDARIA A MEDIR**

Contenido de lípidos.

### **FRECUENCIA DE MEDICIONES**

Se realiza una sola medición (que consistirá en triplicados de cada muestra con el propósito de obtener el coeficiente de variación y la desviación estándar).

### **ESTRATEGIA DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

- Encuesta "Para consumidores de leche de vaca".- Los resultados de 200 encuestas (ANEXO2) aplicadas al azar se presentaron con promedio y frecuencia.
- Los resultados de colesterol se presentan como promedio,  $\pm$  desviación estándar y las posibles diferencias estadísticas significativas se realizan por análisis de varianza (ANOVA) en bloques por marca de leche y denominación de la leche.

# **CAPITULO 3**

## **Materiales y Métodos**

## **Muestra**

Muestras: Se analizaron diferentes marcas, denominaciones comerciales y clasificaciones de leches, provenientes de una encuesta de preferencia que se realizó a la población del Distrito Federal (ver anexo 2). Se tomaron las muestras en 3 puntos diferentes de venta.

## **Reactivos**

Hexano. Grado reactivo analítico (OMNI SOLV, EMD Chemicals No. Cat. HX 0298-6).

Ácido clorhídrico. Grado reactivo 0.1N (PQF, Químicos Finos S.A. de C.V. No. Cat 6181-1).

Cloruro de benzoílo. Grado reactivo (METRIX No. Cat.1066-01).

Ácido nítrico. Grado reactivo al 30%. (J.T BAKER No. Cat. 9621-05).

Piridina. Aprox. 99% grado reactivo analítico (Reproquifin. No. Cat. 9786-C).

Colesterol. Grado I aprox. 99%, peso molecular 386.7g/mol proveniente de hígado de cerdo, (SIGMA CHEMICAL No. Cat. 57-88-5).

NIST 1544. Fatty acids in Diet composite. La Concentración del contenido de colesterol es 0.1483mg/g (Standard Referencia Material, U.S. Department of commerce National Institute of standards and technology Gaithersburg Md 20899).

Nitrógeno. Grado cromatografico extraseco INFRA. (Vía Gustavo Baz # 56 Barrientos Estado de México).

Metanol grado HPLC (J.T BAKER No. Cat. 9093-03).

Cloroformo grado HPLC (FERMONT productos químicos Monterrey No. Cat. H6202).

Sulfato de sodio anhidro. Grado reactivo (J.T BAKER No. Cat. 3898-01).

Agua desionizada obtenida de un equipo Millipore con una resistividad de 18.2 M $\Omega$ -cm a 25°C (MILLIPORE No. Cat. ZD3011574).

## **Equipos**

Cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC) que consta de:

- Detector de absorbancia UV-Visible Marca Waters, Modelo 486 (No. Cat. C2047033, HARBOR BLVD. CALIFORNIA. USA).
- 2 bombas peristálticas marca Waters, Modelo 510 (Pharmacia® LKB Sweden).
- Registrador Software Millennium version 2010 (Waters Associates 34 Maple Street Milford, MA 01757 USA).
- Columna HPLC SUPELCO LC<sub>18</sub> Supelcosil 15cmX4mm. (Bellefonte, Pennsylvania USA. No. Cat. 58970C30).
- Jeringa de aguja fija Hamilton serie 700 para válvulas de inyección Rheodyne. (No. Cat. 80065).

## **Metodología utilizada**

Se utilizó el método de Folch (AOAC 1981) para la extracción total de lípidos ver figura 3.

En este estudio se realizó la extracción de lípidos, la derivatización del colesterol y el análisis cromatográfico lo cual se presentan en las figuras 2, 3 y 4 respectivamente.

## **Condiciones Cromatográficas**

Jeringa de aguja Fija Hamilton serie 700.

Fase estacionaria: Columna HPLC SUPELCO LC<sub>18</sub>.

Fase móvil metanol HPLC 100%.

Temperatura Ambiente.

Volumen de inyección de 10 µL.

Flujo de 2 mL/min.

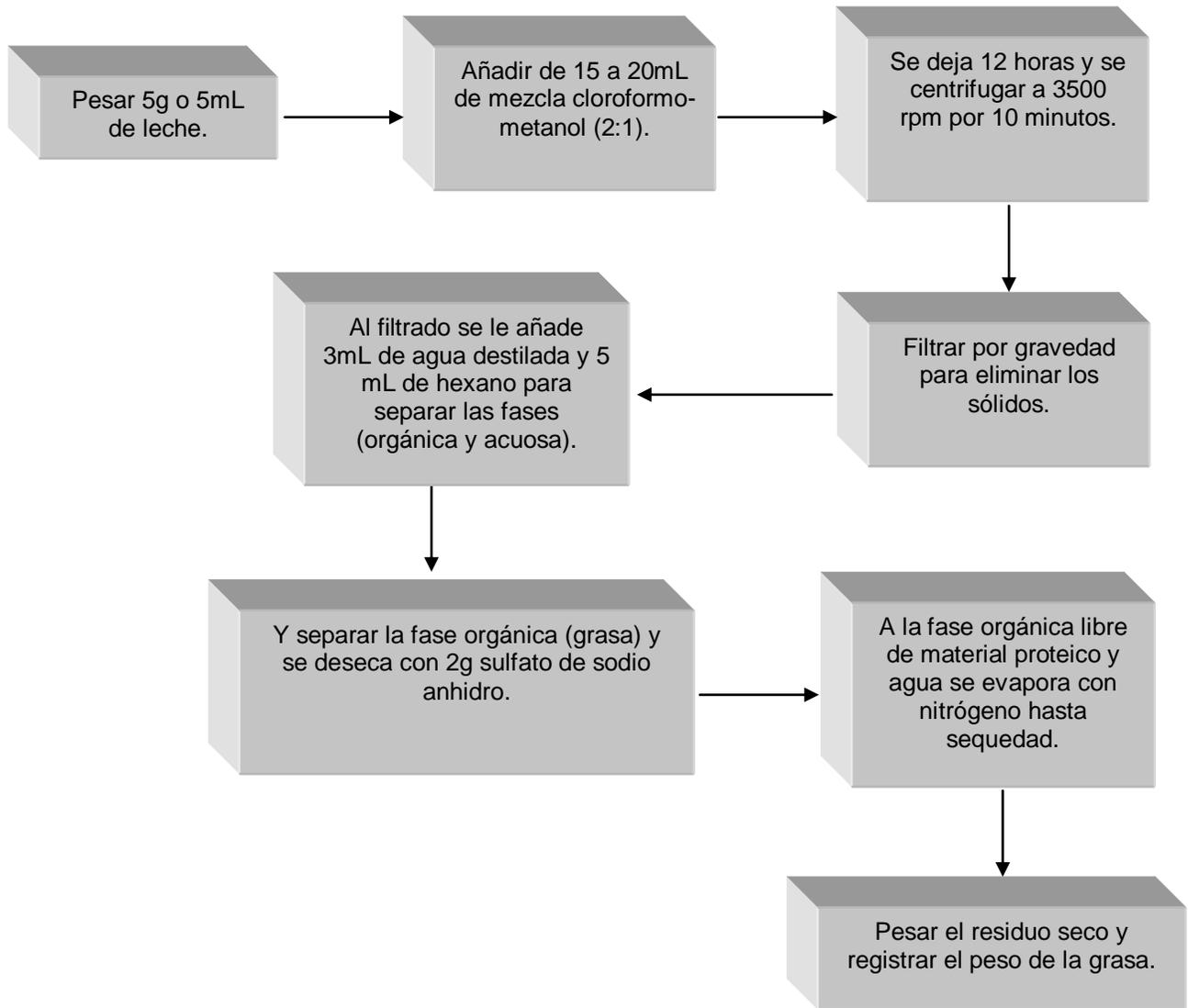
Tiempo de análisis 20 min.

Tipo de cromatografía HPLC inversa.

Longitud de onda de 230nm.

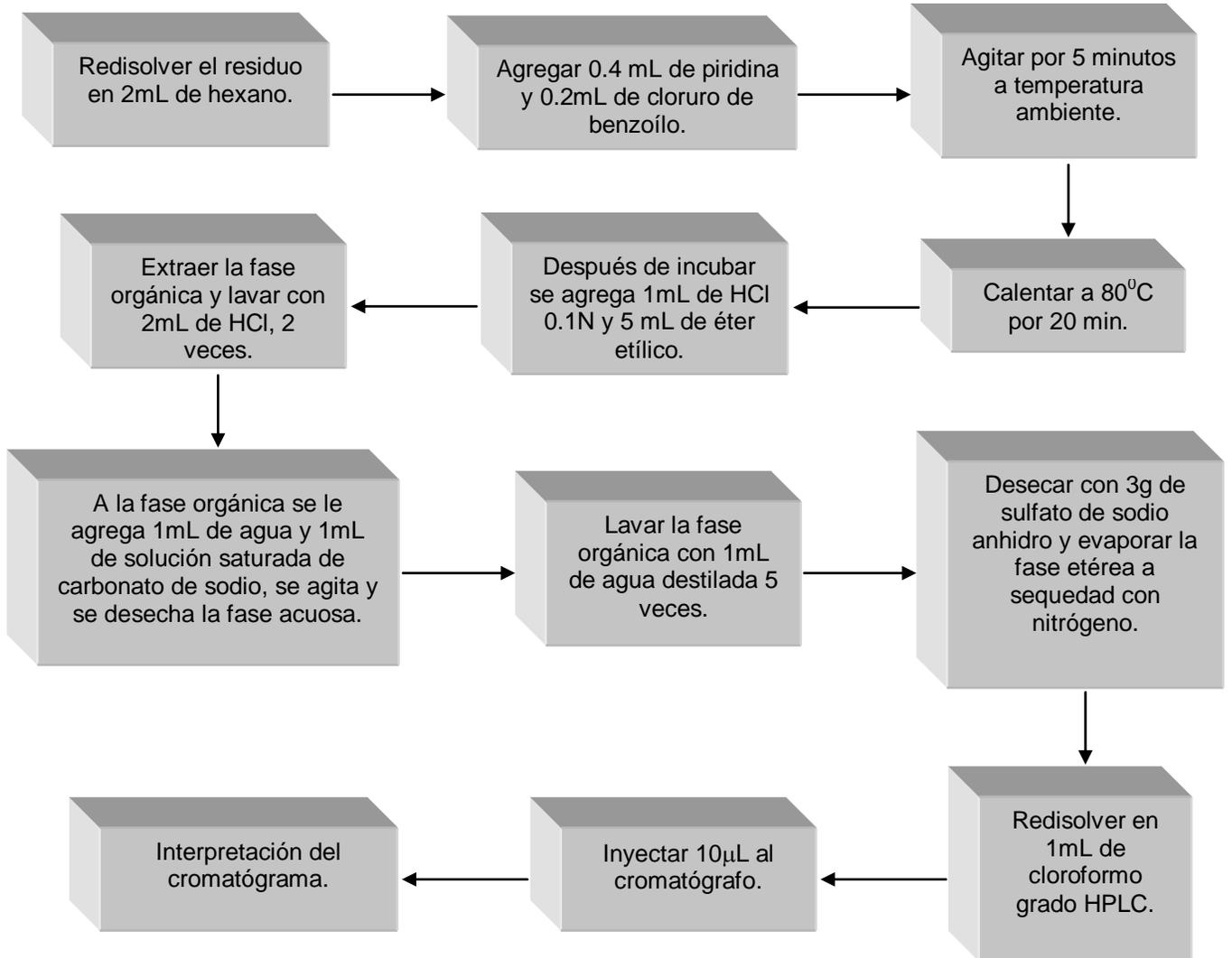
## Metodología para la extracción de Lípidos

Figura 2.- EXTRACCIÓN DE LÍPIDOS: Método de Folch AOAC 1981. (ver anexo 3)



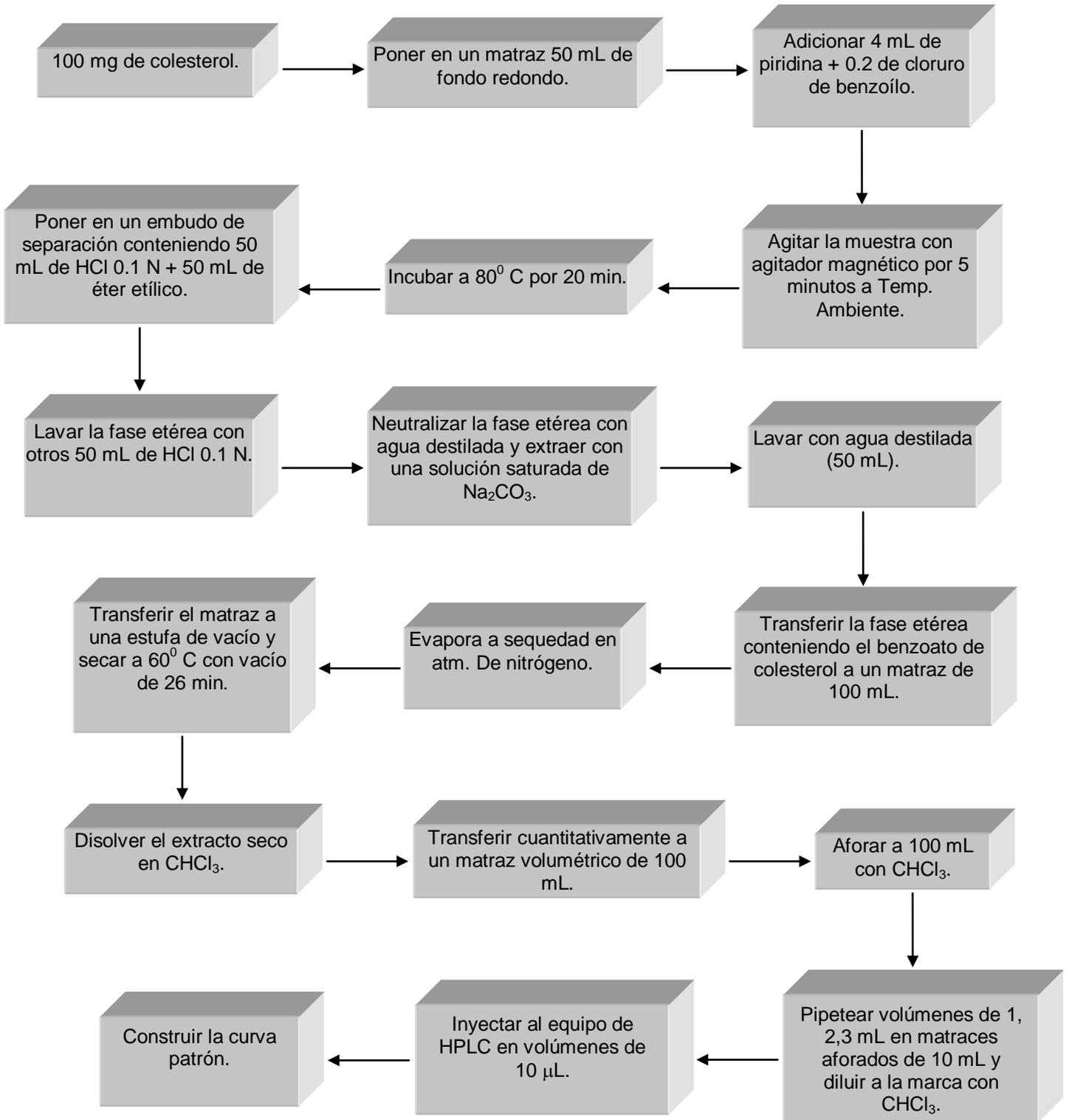
## Método para la Derivatización

Figura 3.- DERIVATIZACIÓN: Método de Newkirk y Shepard AOAC 1981. (ver anexo 4)



## Análisis Cromatográfico

Figura 4.- Preparación del estándar de colesterol. (NEWKIRK DR, SHEPARD, AJ, AOAC 1981)



# **CAPITULO 4**

## **Resultados y Conclusión**

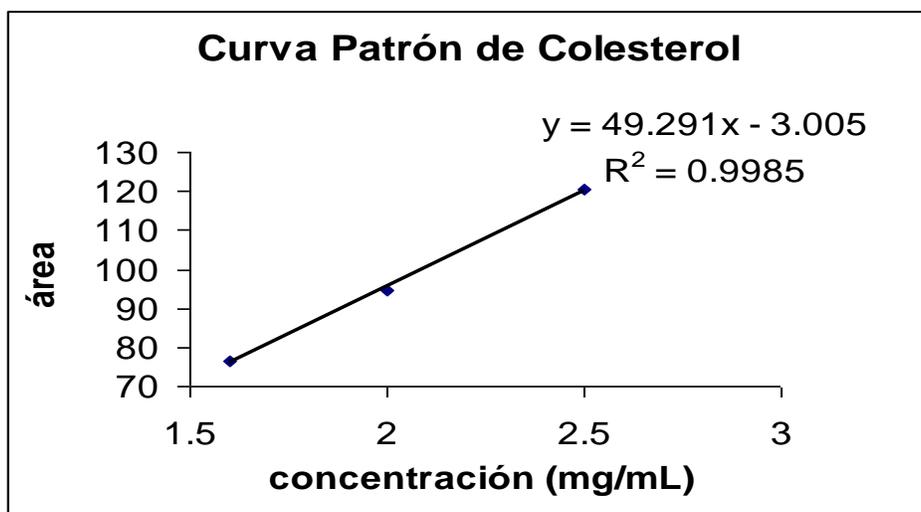
## Elaboración de la Curva Patrón

En 3 días consecutivos se inyectaron una serie de concentraciones de colesterol, con los resultados obtenidos se elaboró el cuadro 11, donde se tiene el área promedio y  $\pm$  su desviación estándar de cada una de las concentraciones descritas y con estos datos se construyó la curva patrón mostrada en la figura 5, el valor de la correlación que se obtiene es de 0.998.

Cuadro 11.- Concentraciones de colesterol y sus diferentes áreas

| Colesterol (mg/mL) | Área promedio en: $\pm$ desviación estándar | Coefficiente de variación |
|--------------------|---|---------------------------|
| 1.6                | 76.42 $\pm$ 1.20                            | 1.57                      |
| 2                  | 94.57 $\pm$ 1.35                            | 1.43                      |
| 2.5                | 120.67 $\pm$ 3.91                           | 3.24                      |

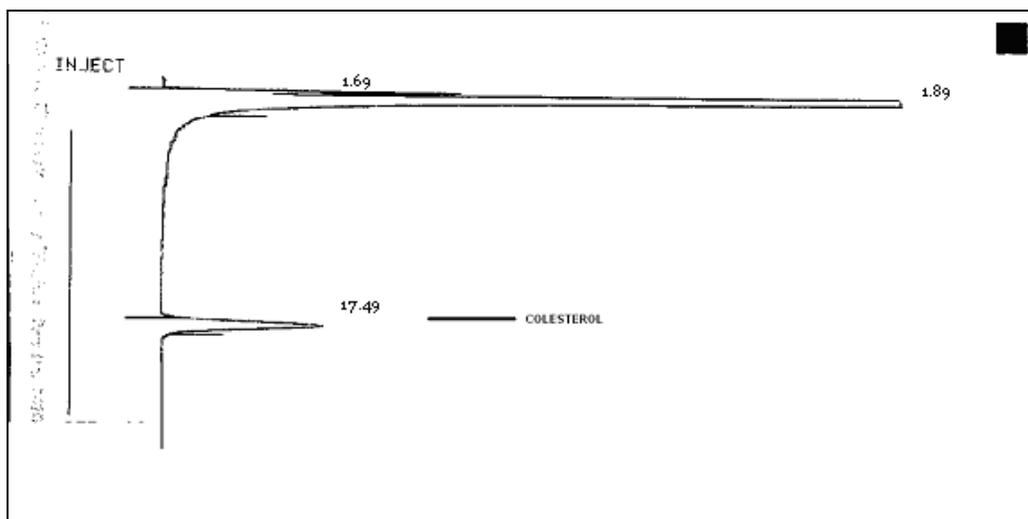
Figura 5.- Curva Patrón de colesterol



El criterio para que se acepte un coeficiente de correlación es cuando este se acerca a 1, (Gary 1997) en el ensayo se obtuvo una correlación de 0.998, por lo tanto se acepta la ecuación de la recta obtenida experimentalmente.

En la figura 6 se muestra exclusivamente el estándar de colesterol (cholesterol SIGMA LOT. 118 F7065 GRADO F APROX. 99% FROM PORCINE LIVER)

Figura 6.- Cromatograma del estándar de colesterol



### Repetibilidad

Para realizar este ensayo se inyectó colesterol con una concentración de 2 mg/mL, seis veces en el cromatógrafo, obteniéndose los siguientes tiempos de retención con sus respectivas áreas ver cuadro siguiente.

Cuadro 12.- Repetibilidad en la inyección de colesterol.

| N° de inyección       | Tiempo de retención | Área            |
|-----------------------|---------------------|-----------------|
| 1                     | 16.14               | 96.6059         |
| 2                     | 17.42               | 100.527         |
| 3                     | 16.68               | 100.8944        |
| 4                     | 16.93               | 97.1122         |
| 5                     | 17.18               | 95.1136         |
| 6                     | 17.50               | 94.1907         |
| <b>Promedio</b>       | <b>16.97</b>        | <b>97.40730</b> |
| <b>Desv. estándar</b> | <b>0.51</b>         | <b>2.76</b>     |
| <b>C.V.</b>           | <b>3.02</b>         | <b>2.84</b>     |

La repetibilidad refleja la precisión de un método, cuando se desarrolla bajo las mismas condiciones, utilizando la misma muestra, analizada por el mismo analista, en el mismo laboratorio, con los mismos equipos y reactivos y durante una misma sesión de trabajo en un corto período.

El parámetro estadístico que caracteriza a este estudio es la desviación estándar o preferiblemente el coeficiente de variación (desviación estándar relativa). Este parámetro permite evaluar la incertidumbre en la estimación de la media, es decir, el error aleatorio que se corresponde con la dispersión de los datos alrededor de la media. (Machuca 2000)

El coeficiente de variación de el área es de 2.84 y del tiempo de retención es de 3.02, estos datos indican que la distribución de los mismos no se encuentran muy dispersos entre si, por lo tanto hay precisión en los resultados.

## Recuperación

Para verificar si el área que reportaba el cromatógrafo era la correcta para calcular la concentración en las muestras inyectadas, se realizó lo siguiente: se pesaron dos cantidades del NIST 1544 Fatty Acids in Diet composite (0.1483 mg/1g), se inyectaron al cromatógrafo, de esta operación se obtuvieron las áreas y los tiempos de retención y con la concentración del NIST se obtuvo la recuperación.

Cuadro 13.- Resultados de la recuperación del colesterol

| Nº de inyecciones | Pi de la muestra en g | Concentración del NIST en mg | Tr.   | Área | Concentración obtenida mg | Recuperación en % |
|-------------------|-----------------------|------------------------------|-------|------|---------------------------|-------------------|
| 1                 | 1,01                  | 0,1483                       | 17,55 | 5,21 | 0.13                      | 88,73             |
| 2                 | 1,01                  | 0,1483                       | 17,32 | 5,19 | 0.13                      | 88,54             |

Pi= peso inicial de la muestra.

Debido a que la concentración del colesterol obtenida en el paso de recuperación fue del 88 % se realizaron otras inyecciones. Se mezcló una cantidad de 0.74 mg

de de colesterol proveniente del estándar del NIST y 1 mg de colesterol provenientes del estándar usado para la curva patrón. Los resultados de esta inyección se muestran en el cuadro 14, con este dato se obtiene una recuperación mayor del 94.82 %. Y se procedió al análisis en las muestras de las leche seleccionadas.

Cuadro 14.- Resultados de la mezcla.

| Muestra                        | Conc. esperada (mg/mL) | Tr.   | Área  | Área prom. | Coefficiente de variación | Conc. en mg/mL | Recuperación en % |
|--------------------------------|------------------------|-------|-------|------------|---------------------------|----------------|-------------------|
| Colesterol (1 mg) + (NIST 5 g) | 1.74                   | 17.38 | 80.86 |            |                           |                |                   |
|                                |                        | 17.49 | 84.23 | 82.54±2.38 | 2.88                      | 1.65           | 94.82             |

### Resultado de la selección de muestra

De los resultados obtenidos en la encuesta (ver anexo 2), se elaboró el cuadro 15 El cual está estructurado de la siguiente manera: en la primera columna se ubican las marcas de las leches, en la segunda la preferencia de estas en %, en la tercera se presenta la denominación comercial, seguida de por su preferencia en % y en quinta el tratamiento térmico, seguida de su preferencia en %.

Cuadro 15.- Resultados de la encuesta que se realizó.

| Marcas              | Preferencia en % | Denominación comercial de la leche | Preferencia en % | Tratamiento Térmico        | Preferencia en % |
|---------------------|------------------|------------------------------------|------------------|----------------------------|------------------|
| Alpura              | 36.14            | Entera                             | 49.29            | Pasteurizada               | 78.68            |
| Lala                | 21.40            | Semidescremada                     | 15.02            | Ultrapasteurizada          | 17.25            |
| Liconsa (Conasupo)  | 15.09            | Descremada                         | 13.61            | Sin tratamiento (bronca) * | 4.07             |
| Svelty              | 3.86             | Light                              | 7.51             |                            |                  |
| Carnational Clavel  | 3.51             | Con grasa vegetal                  | 5.16             |                            |                  |
| Nido                | 3.16             | Condensada                         | 4.69             |                            |                  |
| Parmalat            | 2.46             | Deslactosada                       | 2.35             |                            |                  |
| Nutrilache          | 2.10             | Evaporada                          | 0.94             |                            |                  |
| Suiza               | 2.10             |                                    |                  |                            |                  |
| San Marcos          | 1.75             |                                    |                  |                            |                  |
| Otra cual (Nan 2)   | 1.75             |                                    |                  |                            |                  |
| La lechera          | 1.40             |                                    |                  |                            |                  |
| Mi leche            | 1.40             |                                    |                  |                            |                  |
| Al Día              | 1.05             |                                    |                  |                            |                  |
| Boreal              | 0.70             |                                    |                  |                            |                  |
| Aguascalientes      | 0.70             |                                    |                  |                            |                  |
| Orgánica del rancho | 0.70             |                                    |                  |                            |                  |
| Forti leche         | 0.70             |                                    |                  |                            |                  |

\* Esta clasificación se incluye en la encuesta.

En base a los datos del cuadro 15, se decidió al análisis de las muestras que están reportadas en el cuadro 16, en el se representan todas las leches, el cual está estructurado de la siguiente forma: en la primera columna se sitúan las marcas, en la segunda el tipo de grasa con su proceso primario y secundario y en la tercera fila la denominación comercial, es decir, primero se analizó la leche Alpura entera pasteurizada, seguida de la misma marca y del mismo contenido de grasa pero ultrapasteurizada y así sucesivamente.

Cuadro 16.- Lista de las Leches analizadas con sus diferentes clasificaciones.

| Marcas                   | Tipo de grasa, proceso primario y secundario | Denominación comercial (Tratamiento Térmico) |
|--------------------------|--|--|
| Alpura                   | Entera                                       | Pasteurizada                                 |
| Alpura                   | Entera                                       | Ultrapasteurizada                            |
| Alpura                   | Semidescremada                               | Pasteurizada                                 |
| Alpura                   | Semidescremada                               | Ultrapasteurizada                            |
| Alpura                   | Descremada                                   | Pasteurizada                                 |
| Alpura                   | Descremada                                   | Ultrapasteurizada                            |
| Alpura                   | Light  | Pasteurizada                                 |
| Alpura                   | Light  | Ultrapasteurizada                            |
| Lala                     | Entera                                       | Pasteurizada                                 |
| Lala                     | Entera                                       | Ultrapasteurizada                            |
| Lala                     | Parcialmente descremada                      | Pasteurizada                                 |
| Lala                     | Parcialmente descremada                      | Ultrapasteurizada                            |
| Lala                     | Descremada                                   | Pasteurizada                                 |
| Lala                     | Descremada                                   | Ultrapasteurizada                            |
| Lala                     | Deslactosada parcialmente descremada         | Pasteurizada                                 |
| Liconsa (Conasupo)       | Grasa vegetal                                | Pasteurizada                                 |
| Svelty                   | Descremada                                   | Ultrapasteurizada                            |
| Carnation Clavel         | Entera                                       | Polvo  |
| Carnation Clavel         | Parcialmente descremada                      | Evaporada                                    |
| Nido                     | Entera                                       | Polvo  |
| Nido Kinder              | Descremada                                   | Polvo  |
| Parmalat                 | Entera                                       | Ultrapasteurizada                            |
| parmalat                 | Deslactosada entera                          | Ultrapasteurizada                            |
| Nutrileche               | Grasa vegetal                                | Ultrapasteurizada                            |
| Suiza                    | Entera                                       | Pasteurizada                                 |
| San Marcos               | Entera                                       | Ultrapasteurizada                            |
| Otra cual (Nan 2)        | Descremada                                   | Polvo  |
| La lechera               | Parcialmente descremada                      | Condensada                                   |
| Mi Leche                 | Grasa vegetal                                | Ultrapasteurizada                            |
| Al Día                   | Entera                                       | Pasteurizada                                 |
| Al Día                   | Entera                                       | Ultrapasteurizada                            |
| Boreal *                 | Entera                                       | Pasteurizada                                 |
| Aguascalientes           | Entera                                       | Ultrapasteurizada                            |
| Orgánica del Rancho      | Entera                                       | Ultrapasteurizada                            |
| Forti Leche              | Grasa vegetal                                | Ultrapasteurizada                            |
| Chipilo                  | Entera                                       | Ultrapasteurizada                            |
| Desly leche deslactosada | Entera                                       | Ultrapasteurizada                            |
| Great Valué              | Entera                                       | Ultrapasteurizada                            |
| Leche Monarca            | Entera                                       | Ultrapasteurizada                            |
| Leche Real de Tizayuca   | Entera                                       | Ultrapasteurizada                            |
| Leche Sello Rojo         | Entera                                       | Ultrapasteurizada                            |
| Santa Clara              | Entera                                       | Ultrapasteurizada                            |
| Leche <sup>a</sup>       | Entera                                       | Sin pasteurizar (bronca)                     |

\* Boreal no se analizó por que sale del mercado durante el estudio.

a) la leche bronca del Rancho Los Vaqueros ubicado en la colonia Torres de Potrero calle Amapola s/n.

Para el propósito de este trabajo, se agrupan las leches tomando en cuenta el contenido de grasa butírica de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-155-SCFI-2003, se dividen en cinco grupos que son las leches enteras, las parcialmente descremadas, las descremadas, las adicionadas con grasa vegetal y las de polvo, esta ultimo se agrupa sin tomar en cuenta la grasa butírica ya que contienen un alto contenido de sólidos.

## **DETERMINACIÓN DE EXTRACTO LÍPIDICO Y COLESTEROL**

### **Resultados del contenido de lípidos**

#### Lípidos en las leches enteras

Se analizaron 19 muestras de leches de diferentes marcas con sus respectivas denominaciones, ver cuadro 17, en el se muestran los datos informados en las etiquetas, los que se obtuvieron experimentalmente y los que se encontraron en la Tabla de composición de alimentos mexicanos del INCMNSZ.

No se encontró información de las marcas analizadas en otras tablas.

En este grupo hay 3 leches pasteurizadas, 15 leches ultrapasteurizadas y 1 sin pasteurizar (bronca).

Acerca de los datos experimentalmente, se encontró que en 6 marcas los valores son bajos y en otras 11 son altos, con relación a lo que se informan en las etiquetas respectivas.

Y los informados en la Tabla de composición de alimentos mexicanos del INCMNSZ, son altos con respecto a los valores obtenidos experimentalmente ver cuadro17.

Cuadro 17.- Contenido de Lípidos en las leches enteras.

| Marca                            | Tratamiento Térmico | Lípidos informados en la Tabla del INCMNSZ en (g/100mL) | Lípidos informados en la etiqueta (g/100 mL) | Lípidos obtenidos. Experimentalmente (g/100mL) |
|----------------------------------|---------------------|---|--|--|
| Alpura clásica                   | Pasteurizada        | 3.50  | 3.40   | 2.99±0.14                                      |
| Al Día                           | Pasteurizada        | NI  | 3.00   | 2.62±0.04                                      |
| Lala Premium                     | Pasteurizada        | 3.30 - 4.30   | 3.30   | 2.98±0.08                                      |
| leche sin pasteurizar (bronca)   | Sin pasteurizar     | NI  |  | 4.12±0.07                                      |
| Parmalat deslactosada            | Ultrapasteurizada   | 3.60  | 3.12   | 2.74±0.10                                      |
| Parmalat entera                  | Ultrapasteurizada   | 3.40  | 3.00   | 3.23±0.08                                      |
| San Marcos                       | Ultrapasteurizada   | 3.00  | 3.00   | 3.33±0.08                                      |
| Alpura LAC DEL                   | Ultrapasteurizada   | NI  | 3.00   | 2.98±0.03                                      |
| Lala Premium                     | Ultrapasteurizada   | 3.80  | 3.00   | 2.36±0.08                                      |
| Al Día                           | Ultrapasteurizada   | NI  | 3.00   | 3.37±0.05                                      |
| Aguascalientes entera            | Ultrapasteurizada   | 4.10  | 3.00   | 3.18±0.04                                      |
| Chipilo                          | Ultrapasteurizada   | NI  | 3.00   | 3.24±0.008                                     |
| Del Rancho Orgánica              | Ultrapasteurizada   | NI  | 3.30   | 3.24±0.06                                      |
| Desly leche deslactosada         | Ultrapasteurizada   | NI  | 3.00   | 2.65±0.09                                      |
| Great Valué                      | Ultrapasteurizada   | NI  | 3.00   | 3.32±0.12                                      |
| Leche Monarca MR                 | Ultrapasteurizada   | NI  | 3.00   | 3.24±0.09                                      |
| Leche Real de Tizayuca           | Ultrapasteurizada   | 4.20  | 3.00   | 3.23±0.08                                      |
| Leche Sello Rojo                 | Ultrapasteurizada   | NI  | 3.00   | 3.20±0.02                                      |
| Santa Clara leche                | Ultrapasteurizada   | NI  | 3.00   | 3.40±0.004                                     |
| <b>Promedio</b>                  |                     | <b>3.69</b>   | <b>3.06</b>                                  | <b>3.09</b>                                    |
| <b>Desviación estándar</b>       |                     | <b>0.44</b>   | <b>0.13</b>                                  | <b>0.38</b>                                    |
| <b>Coefficiente de variación</b> |                     | <b>12.00</b>  | <b>4.23</b>                                  | <b>12.25</b>                                   |

NI: no informado

Con referente a los lípidos en las leches enteras, hay informes en la Norma Oficial Mexicana NOM 155-SCFI-2003 que especifica que deben de contener como mínimo 30 g/L lo que es igual a 3 g en 100 mL, en SAGARPA se informa que contiene 3.2 g en 100 mL y en la Tabla de composición de alimentos de la FAO que la leche pasteurizada o cruda entera tiene 3.3 g en 100mL.

Los valores de los lípidos obtenidos experimentalmente en las muestras analizadas, la mayoría cumplen con las especificaciones de la Norma Oficial Mexicana, con lo que informa la SAGARPA y se encuentran en el límite con lo que informa la FAO.

Lípidos de las leches parcialmente descremadas.

En este grupo se incluyen a las leches: semidescremadas, a las que se denominan Light, evaporada y condensada ya que en las especificaciones de las etiquetas las ubican en esta denominación.

En el cuadro 18 se presentan los valores de los datos obtenidos experimentalmente, los que se informan en las etiquetas y los que se reportan en la Tabla de composición de alimentos mexicanos del INCMNSZ. Y no hay información en otras tablas acerca de estas marcas.

De las 20 leches analizadas, solo se encontró informes de cuatro marcas en la Tabla de composición de alimentos mexicanos del INCMNSZ estos valores son altos con relación a los obtenidos experimentalmente.

Y la cantidad de lípidos informados en las etiquetas con referencia a los obtenidos experimentalmente son muy similares.

En este grupo hay 5 leches que se autodenominan Light, en ellas también se les determinó grasa ver cuadro 18.

Cuadro 18.- Contenido de lípidos de las leches parcialmente descremadas

| Marca                                   | Tratamiento Térmico | Lípidos informados en la tabla del INCMNSZ en (g/100mL) | Lípidos informados en la etiqueta (g/100mL) | Lípidos obtenidos experimentalmente (g/100mL) |
|---|---------------------|---|---|---|
| Alpura Semi                             | Pasteurizada        | NI  | 2.00  | 2.01±0.04                                     |
| Lala Rica en calcio                     | Pasteurizada        | NI  | 1.60  | 1.80±0.08                                     |
| Lala Light                              | Pasteurizada        | 0.70  | 1.00  | 1.05±0.02                                     |
| Lala fácil digestión deslactosada       | Pasteurizada        | NI  | 1.60  | 1.51±0.04                                     |
| Alpura 2000 light                       | Ultrapasteurizada   | NI  | 1.00  | 1.11±0.005                                    |
| Alpura 2000 extra light                 | Ultrapasteurizada   | NI  | 1.00  | 1.07±0.02                                     |
| Alpura 2000 deslactosada                | Ultrapasteurizada   | 2.60  | 2.00  | 1.82±0.06                                     |
| LALA Desarrollo 1 a 4 años leche        | Ultrapasteurizada   | NI  | 2.54  | 2.54±0.04                                     |
| Lala Light baja en grasa                | Ultrapasteurizada   | NI  | 1.00  | 0.58±0.01                                     |
| Lala Semi Adicionada con vit A y D      | Ultrapasteurizada   | NI  | 1.60  | 1.61±0.05                                     |
| Lalal facil Digestión Deslactosada      | Ultrapasteurizada   | NI  | 1.60  | 1.75±0.03                                     |
| Lala Yomi chocolate                     | Ultrapasteurizada   | NI  | 1.58  | 1.54±0.04                                     |
| Lala Yomi fresa                         | Ultrapasteurizada   | NI  | 1.58  | 1.42±0.03                                     |
| Lala Yomi vainilla                      | Ultrapasteurizada   | NI  | 1.58  | 1.64±0.03                                     |
| Alpura fresa                            | Ultrapasteurizada   | NI  | 1.60  | 1.41±0.01                                     |
| Alpura vainilla                         | Ultrapasteurizada   | NI  | 1.60  | 2.84±0.11                                     |
| Alpura chocolate                        | Ultrapasteurizada   | NI  | 1.60  | 1.68±0.04                                     |
| Alpura 2000 light                       | Ultrapasteurizada   | 1.60  | 1.00  | 0.93±0.03                                     |
| Nestlé Carnation Clavel leche evaporada | Evaporada           | 4.10  | 4.80  | 5.75±0.13                                     |
| Nestlé la lechera                       | Condensada          | NI  | 4.00  | 3.21±0.08                                     |
| <b>Promedio</b>                         |                     | <b>2.25</b>   | <b>1.81</b>                                 | <b>1.84</b>                                   |
| <b>Desviación estándar</b>              |                     | <b>1.46</b>   | <b>0.97</b>                                 | <b>1.02</b>                                   |
| <b>Coficiente de variación</b>          |                     | <b>64.76</b>  | <b>53.74</b>                                | <b>55.63</b>                                  |

Hay informes sobre los lípidos de las leches parcialmente descremadas, en la Norma Oficial Mexicana NOM 155-SCFI-2003 específica contener de ente 0.6 g y 2.8 g en 100 mL y en la Tabla de composición de alimentos de la FAO informa que contienen el 1.9 g de lípidos en 100 mL de leche.

Los datos obtenidos experimentalmente entran en las especificaciones de la Norma Oficial Mexicana y lo que informa la FAO.

Lípidos de las leches descremadas.

En este grupo solo se encuentran dos leches que son Lala Silvette Plus y la Nestlé Svelty, como se puede ver en el cuadro 19.

Cuadro 19.- Contenido de lípidos en las leches descremadas.

| No | Marca                            | Tratamiento Térmico | Lípidos informados en la etiqueta (g/100mL) | Lípidos obtenidos experimentalmente (g/100mL) | se |
|----|----------------------------------|---------------------|---|---|----|
|    | Lala Silvette Plus               | Ultrapasteurizada   | 0.50  | 0.59±0.01                                     |    |
|    | Nestlé Svelty                    | Ultrapasteurizada   | 0.50  | 0.51±0.02                                     |    |
|    | <b>Promedio</b>                  |                     | <b>0.50</b>                                 | <b>0.55</b>                                   |    |
|    | <b>Desviación estándar</b>       |                     |   | <b>0.06</b>                                   |    |
|    | <b>Coefficiente de variación</b> |                     |   | <b>10.28</b>                                  |    |

entró informes de estas leches en otras tablas.

Los resultados experimentales y los resultados reportados en las etiquetas son muy parecidos.

Solo en la Norma Oficial Mexicana 155-SCFI-2003 se informa sobre los lípidos de las leches descremadas, se especifica que debe contener 5 g/L o bien 0.50 g en 100 mL.

Las leches que se analizaron tienen el valor promedio de 0.55 g lo cual cumplen con las especificaciones de la norma.

Lípidos de las leches en polvo.

Se agruparon estas leches, ya que por tener una baja cantidad de agua por lo tanto contienen un alto contenido de grasa ver cuadro 20.

En este cuadro se reportan solamente los lípidos obtenidos experimentalmente y los que se informan en las etiquetas, ya que no hay tablas que tenga valores sobre estas leches.

Cuadro 20.- Contenido de lípidos en la las leches en polvo

| Marca               | Tipo de grasa           | Lípidos informados en la etiqueta (g/100g) | Lípidos obtenidos experimentalmente (g/100g) |
|---------------------|-------------------------|--|--|
| Carnation Clavel    | Parcialmente descremada | 18.00                                      | 17.55±0.64                                   |
| NAN 2               | Formula láctea          | 27.70                                      | 14.60±0.33                                   |
| Nido Kinder         | Parcialmente descremada | 20.20                                      | 16.02±0.40                                   |
| Alpura leche        | Entera                  | 26.00                                      | 24.00±0.50                                   |
| Lala                | Entera                  | 26.00                                      | 21.01±0.80                                   |
| Nestlé Nido         | Entera                  | 26.20                                      | 27.13±0.14                                   |
| <b>Promedio</b>     |                         |  | <b>20.05</b>                                 |
| <b>Des estándar</b> |                         |  | <b>4.87</b>                                  |
| <b>C. V.</b>        |                         |  | <b>24.31</b>                                 |

En este grupo solo hay tres leches enteras, los resultados obtenidos experimentalmente y los de las etiquetas no se parecen.

Hay dos muestras de las leches parcialmente descremadas, al comparar los valores informados en las etiquetas se encontró que en uno es muy similar y en el otro es muy bajo con respecto a los obtenidos experimentalmente.

Y hay solo una muestra de formula Láctea y el valor obtenido experimentalmente es bajo en comparación a lo que se informa en la etiqueta ver cuadro 20.

Sobre la leche entera en polvo en la Norma Oficial Mexicana 155-SCFI-2003 especifica que debe contener de lípidos el 26 % (m/m) y en la Tabla de composición de alimentos de la FAO reporta que contienen 26.7 g en 100 g.

Los valores experimentales que son tres se encuentran bajos con respecto a lo especulado anteriormente.

De las leches parcialmente descremadas la Norma Oficial Mexicana 155-SCFI-2003 especifica contener entre 1.5 % (m/m) minino e inferior a 26 % (m/m) de lípidos y en la FAO informa que contienen el 0.7 g en 100 g.

Los valores experimentales cumplen con las especificaciones de la Norma Oficial Mexicana y son altos en comparación con lo que informa la FAO.

Lípidos de las leches adicionadas con grasa vegetal.

En el cuadro 21 se agrupan los datos que informan las etiquetas, los que se encuentran en la Tabla de composición de los alimentos mexicanos del INCMNSZ y los que se obtuvieron experimentalmente.

En este grupo se analizaron 6 leches, solo hay informe de una de ellas en las Tabla de composición de los alimentos mexicanos del INCMNSZ y no hay información en alguna otra tabla acerca de estas marcas de leches.

Solo hay información sobre los lípidos de las leches adicionadas con grasa vegetal, en la Norma Oficial Mexicana 155-SCFI-2003 donde especifica que el contenido de grasa debe de ser la misma que se informa en la etiqueta.

Y como los datos obtenidos experimentalmente con los datos informados en las etiquetas son muy parecidos (ver cuadro 21), por lo tanto, cumple con lo que la Norma especifica.

Cuadro 21.- Contenido de lípidos en las leches adicionadas con grasa vegetal.

| Marca   | Tipo de grasa | Tratamiento Térmico | Lípidos info. en la Tabla de INCMNSZ | Lípidos info. en la etiqueta (g/100mL) | Lípidos obtenidos experimentalmente (g/100 mL) |
|---|---------------|---------------------|--------------------------------------|--|--|
| MILECHE formula Láctea                                  | Grasa vegetal | ultrapasteurizada   | NI                                   | 3.00                                   | 2.68±0.010                                     |
| Alpura KIDS   | Grasa vegetal | ultrapasteurizada   | NI                                   | 2.94                                   | 2.71±0.08                                      |
| Forti Leche   | Grasa vegetal | ultrapasteurizada   | NI                                   | 3.00                                   | 3.26±0.14                                      |
| Liconsas Red de Abasto Alimentación y nutrición contigo | Grasa vegetal | pasteurizada        | NI                                   | 3.00                                   | 3.12±0.04                                      |
| Nutrileche formula láctea ad. Con vit y hierro          | Grasa vegetal | ultrapasteurizada   | 3.80                                 | 3.12                                   | 2.89±0.04                                      |
| Alpura 2000 sin colesterol con omega 3                  | Grasa vegetal | ultrapasteurizada   | NI                                   | 2.10                                   | 2.24±0.08                                      |
| <b>Promedio</b>   |               |                     |                                      | <b>2.83</b>                            | <b>2.82</b>                                    |
| <b>Desviación estándar</b>                              |               |                     |                                      | <b>0.37</b>                            | <b>0.36</b>                                    |
| <b>Coefficiente de variación</b>                        |               |                     |                                      | <b>13.09</b>                           | <b>12.86</b>                                   |

NI: no informado.

Se realizó la determinación del contenido de lípidos en cada muestra por triplicado es por lo cual en cada tabla de cada grupo, se presentan los resultado de lípidos con sus desviación estándar y en todos, los valores son bajos, lo cual indica que los resultados son confiables.

No se ahondó más en esta parte del estudio, ya que el objetivo es la determinación de colesterol.

## Resultado sobre el contenido de colesterol

### Contenido de colesterol de las leches enteras

En el cuadro 22 se registraron los resultados experimentales de colesterol y el de lípidos de las leches enteras, el análisis se realizó por triplicado a cada una de las muestras por lo consiguiente se les determinó promedio,  $\pm$  desviación estándar y coeficiente de variación.

Cuadro 22.- Resultados del colesterol obtenido en las leches enteras.

| Marca                           | Tratamiento Térmico | Lípidos obtenidos experimentalmente (g/100mL) | Colesterol obtenido experimentalmente (mg/100mL) | C.V. |
|---------------------------------|---------------------|---|--|------|
| Alpura clásica                  | Pasteurizada        | 2.99  | 3.92 $\pm$ 0.003                                 | 0.09 |
| Al Día                          | Pasteurizada        | 2.62  | 5.08 $\pm$ 0.005                                 | 0.11 |
| Lala Premium                    | Pasteurizada        | 2.98  | 5.92 $\pm$ 0.19                                  | 3.27 |
| San Marcos                      | Ultrapasteurizada   | 2.79  | 8.03 $\pm$ 0.15                                  | 1.84 |
| Al Día                          | Ultrapasteurizada   | 3.37  | 6.29 $\pm$ 0.03                                  | 0.57 |
| Aguascalientes entera           | Ultrapasteurizada   | 3.18  | 6.16 $\pm$ 0.06                                  | 0.95 |
| Chipilo                         | Ultrapasteurizada   | 3.24  | 6.32 $\pm$ 0.13                                  | 2.00 |
| Del Rancho Orgánica             | Ultrapasteurizada   | 3.24  | 5.27 $\pm$ 0.05                                  | 0.94 |
| Desly leche deslactosada        | Ultrapasteurizada   | 2.65  | 3.27 $\pm$ 0.06                                  | 1.69 |
| Great Valué                     | Ultrapasteurizada   | 3.32  | 6.18 $\pm$ 0.32                                  | 5.16 |
| Leche Monarca MR                | Ultrapasteurizada   | 3.24  | 5.23 $\pm$ 0.13                                  | 2.60 |
| Leche Real de Tizayuca          | Ultrapasteurizada   | 3.23  | 16.96 $\pm$ 0.34                                 | 2.00 |
| Leche Sello Rojo                | ultrapasteurizada   | 3.20  | 17.19 $\pm$ 0.69                                 | 4.02 |
| Santa Clara leche               | ultrapasteurizada   | 3.40  | 3.20 $\pm$ 0.02                                  | 0.81 |
| Alpura LAC DEL                  | ultrapasteurizada   | 2.98  | 6.91 $\pm$ 0.03                                  | 0.44 |
| Lala Premium                    | ultrapasteurizada   | 2.36  | 8.55 $\pm$ 0.01                                  | 0.09 |
| Parmalat deslactosada           | Ultrapasteurizada   | 2.74  | 6.37 $\pm$ 0.27                                  | 4.33 |
| Parmalat entera                 | Ultrapasteurizada   | 3.17  | 6.63 $\pm$ 0.19                                  | 2.83 |
| leche bronca                    | Sin pasteurizar     | 4.12  | 14.49 $\pm$ 0.35                                 | 2.39 |
| <b>Promedio</b>                 |                     | <b>3.09</b>                                   | <b>7.10</b>                                      |      |
| <b>Desv. estándar</b>           |                     | <b>0.38</b>                                   | <b>4.37</b>                                      |      |
| <b>Coeficiente de variación</b> |                     | <b>12.25</b>                                  | <b>61.53</b>                                     |      |

Para saber si hay diferencias significativas entre las diferentes marcas se realizaron pruebas estadísticas como análisis de varianza (ANOVA). La prueba de Dunn que consistió en hacer múltiples comparaciones contra un grupo control. La prueba de Tukey que consistió en realizar comparaciones ya sea múltiple o por intervalos, ésta declara si dos medias son significativamente diferentes. (Montgomery, Douglas 1991)

En todas las marcas analizadas se detectó colesterol.

Las marcas que registraron mayor cantidad fueron la leche Real de Tizayuca, Sello Rojo y leche bronca ver cuadro 22.

De acuerdo con la prueba de ANOVA, se encontró que hay diferencia significativa lo cual indicó que la cantidad de colesterol varió de una muestra a otra.

Se analizaron nuevamente los resultados con el método de Dunn y se determinó que hay diferencias significativa ( $p < 0.05$ ), ya que existen valores de colesterol muy bajos y altos. Y por lo tanto la cantidad de colesterol en las muestras es diferente.

A las medias de leches pasteurizadas y ultrapasteurizadas se les comparó con la prueba de Tukey, encontrándose que no hay diferencia significativa ( $p = 0.15$ ), esto se traduce a que los promedios de estas denominaciones son muy parecidos.

La Norma Oficial Mexicana NOM-155-SCFI-2003 no especifica la cantidad de colesterol que debe de contener las leches.

En la Tabla de composición de los alimentos de la FAO hay datos de composición de colesterol de la leche de vaca de diferentes países. En el caso de México informa que en la leche hervida y la leche pasteurizada o cruda, el contenido de colesterol es de 14 mg en una muestra de 100 mL, este valor es alto en comparación con la mayoría de todos los valores obtenidos experimentalmente, de entre todas las leches se obtuvo la media de 7.10 mg en 100 mL y este valor no se acerca al mencionado, el único parecido es el de la leche bronca, ver cuadro 22.

Contenido de colesterol de las leches parcialmente descremadas.

De las 20 leches analizadas de este grupo se estructuró el cuadro 23 donde se registró el contenido de lípidos y el contenido de colesterol que se obtuvieron experimentalmente.

De igual manera a todas las muestras, se analizaron por triplicado por lo que se registró el promedio,  $\pm$  desviación estándar y coeficiente de variación en dicho cuadro.

En 17 muestras se les detectó colesterol y en 3 muestras de las denominadas Light no.

Las que presentaron mayor cantidad de colesterol fueron la Carnation Clavel evaporada, Lala Rica en calcio pasteurizada y Lala fácil digestión deslactosada ultrapasteurizada ver cuadro 23.

Para evaluar las posibles diferencias estadísticas entre los resultados obtenidos, se realizó la prueba de ANOVA y Dunn se obtuvo lo siguiente:

- 1) Hay un grupo de leches cuyo resultado no muestran diferencia estadísticamente significativa y muestran valores ( $2.90 \pm 0.05$ ) bajos de colesterol estos son: Alpura 2000 extra Light (ultrapasteurizada), Alpura 2000 Light deslactosada (ultrapasteurizada), Lala Yomi vainilla, y Lala Yomi fresa.
- 2) Hay otro grupo de leches con valores ( $4.73 \pm 0.04$ ) altos de colesterol y son Lala fácil digestión deslactosada (pasteurizada), Lala Semi Adicionada con vit. A y D (ultrapasteurizada) y Nestlé La Lechera que tampoco muestra diferencias estadísticas entre ellas.
- 3) Existe diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.001$ ) entre el grupo de leches con valores altos y el grupo de leches con valores bajos y.
- 4) En las demás marcas los resultados difieren entre sí, siendo el más bajo en Lala desarrollo de 1 a 4 años.

Cuadro 23.- Resultados del colesterol obtenido en las leches parcialmente descremadas.

| Marca                                   | Tratamiento Térmico | Lípidos obtenidos experimentalmente (g/100mL de leche) | Colesterol obtenido experimentalmente (mg/100mL) | C.V. |
|---|---------------------|--|--|------|
| Alpura Semi                             | Pasteurizada        | 2.01   | 4.31±0.13  | 3.03 |
| Lala Light baja en grasa                | Pasteurizada        | 1.05   | ND   |      |
| Lala fácil digestión Deslactosada       | Pasteurizada        | 1.51   | 4.69±0.08  | 1.68 |
| Lala Rica en calcio                     | Pasteurizada        | 1.80   | 5.09±0.10  | 1.89 |
| Alpura 2000 extra Light                 | Ultrapasteurizada   | 1.07   | 2.93±0.09  | 3.27 |
| Alpura 2000 Light                       | Ultrapasteurizada   | 0.93   | ND   |      |
| Alpura 2000 Light deslactosada          | Ultrapasteurizada   | 1.11   | 2.83±0.05  | 1.84 |
| Alpura 2000 deslactosada                | Ultrapasteurizada   | 1.82   | 2.36±0.15  | 6.48 |
| LALA Desarrollo 1 a 4 años leche        | Ultrapasteurizada   | 2.54   | 0.02±0.01  | 5.21 |
| Lala Light baja en grasa                | Ultrapasteurizada   | 0.58   | ND   |      |
| Lala fácil digestión Deslactosada       | Ultrapasteurizada   | 1.75   | 5.05±0.10  | 1.98 |
| Lala Yomi chocolate                     | Ultrapasteurizada   | 1.54   | 3.07±0.15  | 4.94 |
| Lala Yomi fresa                         | Ultrapasteurizada   | 1.42   | 2.95±0.03  | 1.11 |
| Lala Yomi vainilla                      | ultrapasteurizada   | 1.64   | 2.89±0.04  | 1.38 |
| Alpura fresa                            | Ultrapasteurizada   | 1.41   | 3.13±0.02  | 0.57 |
| Alpura vainilla                         | Ultrapasteurizada   | 2.84   | 3.56±0.08  | 2.38 |
| Alpura chocolate                        | Ultrapasteurizada   | 1.68   | 4.30±0.07  | 1.70 |
| Lala Semi Adicionada con vit A y D      | Ultrapasteurizada   | 1.61   | 4.72±0.13  | 2.87 |
| Nestlé Carnation clavel leche evaporada | Evaporada           | 5.75   | 6.76±0.32  | 4.74 |
| Nestlé La Lechera                       | Condensada          | 3.21   | 4.78±0.02  | 0.47 |
| <b>Promedio</b>                         |                     | <b>1.84</b>  | <b>3.55</b>                                      |      |
| <b>Desv. estándar</b>                   |                     | <b>1.02</b>  | <b>1.50</b>                                      |      |
| <b>Coefficiente de variación</b>        |                     | <b>55.63</b>   | <b>42.18</b>                                     |      |

ND= no detectable

No hay especificaciones sobre el colesterol en la Norma Oficial Mexicana NOM-155-SCFI-2003 y en la Tabla de composición de alimentos de la FAO informa que la leche parcialmente descremada contiene 8 mg en 100 mL de muestra. Del total de las muestras analizadas el promedio fue de 3.55 mg/100 mL, lo cual es bajo con respecto a lo se informa en la FAO.

Se analizaron estadísticamente las leches enteras y las parcialmente descremadas por el método de Dunn y se determinó diferencias significativa con una ( $p < 0.05$ ), ya que en general presentaron mayor cantidad de colesterol en las enteras que en las parcialmente descremadas.

Contenido de colesterol en las leches descremadas.

En el cuadro 24 se muestran los valores de contenido de lípidos y colesterol que se obtuvieron experimentalmente.

Cuadro 24.- Resultados del colesterol obtenido en las leches descremadas.

| Marca                          | Tratamiento Térmico | Lípidos obtenidos experimentalmente (g/100mL) | Colesterol (mg /100mL) |
|--------------------------------|---------------------|---|------------------------|
| Lala Silvette Plus             | Ultrapasteurizada   | 0.59  | ND                     |
| Nestlé Svelty                  | Ultrapasteurizada   | 0.51  | ND                     |
| <b>Promedio</b>                |                     | <b>0.55</b>                                   |                        |
| <b>Desviación estándar</b>     |                     | <b>0.06</b>                                   |                        |
| <b>Coficiente de variación</b> |                     | <b>10.28</b>                                  |                        |

ND= no detectable

En este grupo se tiene solo 2 leches de las cuales no se les detectó colesterol y tienen un bajo contenido de lípidos.

Contenido de colesterol en las leches en polvo.

En el cuadro 25 se agrupan las leches en polvo ya que por tener una baja humedad tienen un alto contenido de sólidos.

En este cuadro se reportan los lípidos y colesterol obtenidos experimentalmente, las muestras se analizaron por triplicado y por lo tanto se obtuvo el coeficiente de variación y  $\pm$  desviación estándar en cada marca.

Cuadro 25.- Resultados del colesterol obtenido en las leches en polvo.

| Marca                      | Clasificación de la leche | Lípidos obtenidos experimentalmente. (g/100mL) | Colesterol obtenido experimentalmente (mg/100g) | C.V. |
|----------------------------|---------------------------|--|---|------|
| Carnation Clavel           | Descremada                | 17.55  | 10.98 $\pm$ 0.005                               | 0.91 |
| Nido Kinder                | Descremada                | 16.02  | 29.96 $\pm$ 0.017                               | 1.13 |
| Alpura leche               | Entera                    | 24   | 105.62 $\pm$ 0.008                              | 0.76 |
| Lala                       | Entera                    | 21.01  | 15.29 $\pm$ 0.0243                              | 4.11 |
| Nestlé Nido                | Entera                    | 27.13  | 72.89 $\pm$ 0.035                               | 4.90 |
| NAN 2                      | Formula Láctea            | 14.6   | 10.04 $\pm$ 0.0005                              | 0.11 |
| <b>Promedio</b>            |                           | <b>20.05</b>                                   | <b>40.80</b>                                    |      |
| <b>Desviación estándar</b> |                           | <b>4.87</b>                                    | <b>39.58</b>                                    |      |
| <b>Coef. de Variación</b>  |                           | <b>24.31</b>                                   | <b>97.03</b>                                    |      |

En todas las leches se les determinó colesterol en las marcas que presentaron mayor cantidad son el la Alpura leche y Nestlé Nido.

Se realizaron las pruebas estadísticas de ANOVA y Dunn entre las marcas.

Los resultados de la prueba de ANOVA indicó que existen diferencias significativas, es decir que la cantidad de colesterol fue variable entre una marca y otra. Con respecto a la prueba de comparación múltiple de Dunn se observó que entre todas las marcas hay diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), excepto para Carnation clavel y NAN 2 ya que no existieron diferencias significativas lo cual indicó que el contenido de colesterol en estas marcas son similares.

En La Norma Oficial Mexicana NOM-155-SCFI-2003 no hay especificaciones sobre colesterol y en las Tablas de composición de alimentos de la FAO se informa que la leche entera en polvo contiene 97mg en 100g, de las leches enteras analizadas se obtuvo un promedio de 64.58 mg en 100 g este es bajo con lo que se refiere al informado.

En las tablas de composición de alimentos de la FAO para el caso de las leches descremadas en polvo se reporta 20 mg en 100 g, de las 2 leches analizadas ninguna es parecida a este valor.

Colesterol de las leches con grasa vegetal.

En el cuadro 26 se agrupa a las leches que se le adicionó grasa vegetal, se reportan los lípidos y colesterol obtenidos experimentalmente.

De este grupo solo a una se le detectó colesterol esta es Alpura Kids que tiene un valor de 3.33 mg y en las demás leches no se les detectó colesterol.

No se realizaron las pruebas estadísticas respectivas debido a que solo en una marca presentó colesterol.

En la Norma Oficial Mexicana NOM-155-SCFI-2003 y en la Tabla de composición de alimentos de la FAO no hay información sobre el contenido de colesterol en las leches con grasa vegetal.

Cuadro 26.-Resultado del colesterol obtenido en las leches adicionadas con grasa vegetal.

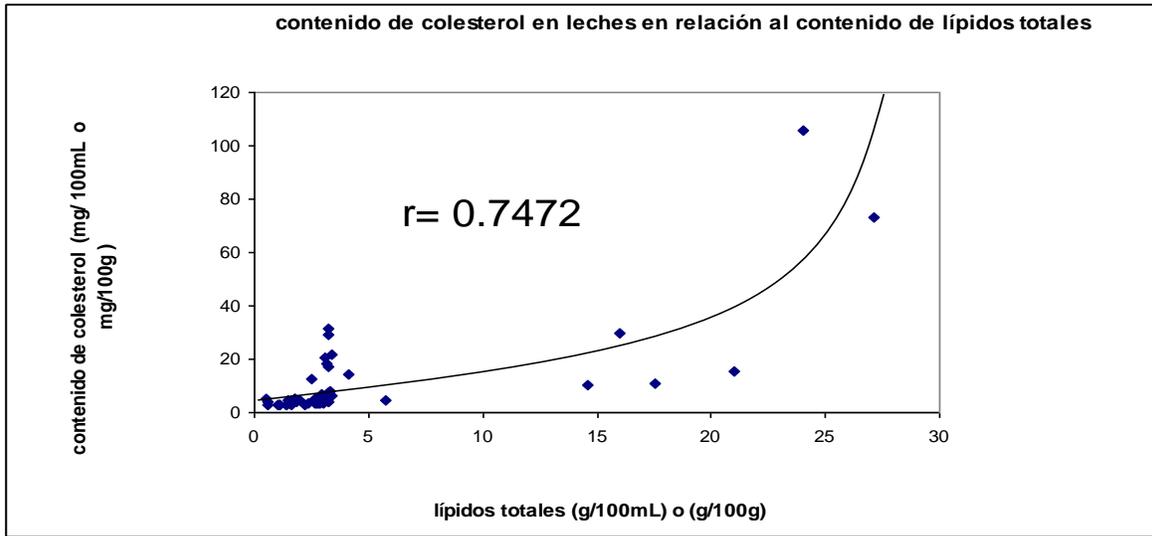
| Marca  | Clasificación de la leche | Tratamiento térmico | Lípidos obtenidos Exp. (g/100mL) | Colesterol obtenidos Exp. (mg/100mL) | C.V. |
|--|---------------------------|---------------------|----------------------------------|--------------------------------------|------|
| Liconsa Red de Abasto Alimentación y nutrición contigo | Descremada                | Pasteurizada        | 3.12                             | ND                                   |      |
| Alpura KIDS  | Parcialmente descremada   | Ultrapasteurizada   | 2.71                             | 3.33±0.0005                          | 0.03 |
| Nutrileche formula láctea ad. Con vit y hierro         | Descremada                | Ultrapasteurizada   | 2.89                             | ND                                   |      |
| Forti Leche  | Descremada                | Ultrapasteurizada   | 3.26                             | ND                                   |      |
| Alpura 2000 sin colesterol con omega 3                 | Descremada                | Ultrapasteurizada   | 2.24                             | ND                                   |      |
| MILECHE formula Láctea                                 | Descremada                | Ultrapasteurizada   | 2.68                             | ND                                   |      |

ND no detectable

Para comparar los resultados obtenidos de colesterol y lípidos obtenidos experimentalmente, se realizó una grafica. (Figura 7)

De esta grafica se deduce que entre menos contenido de lípidos menos contenido de colesterol y entre más contenido de lípidos más contenido de colesterol ver figura 7.

Figura 7.- Concentración de colesterol en leches en relación de lípidos totales



En el cuadro siguiente se resumen el contenido de colesterol por denominación y clasificación.

Cuadro 27.- Resumen del contenido de colesterol por denominación y clasificación.

| Leche                             | N  | (mg colesterol/100mL)<br>(mg colesterol/100 g) |
|-----------------------------------|----|--|
| Entera pasteurizada               | 3  | 5.21±1.12                                      |
| Entera UHT                        | 15 | 7.50±4.14                                      |
| Entera polvo                      | 2  | 64.60±45.73                                    |
| Entera sin pasteurizar (bronca)   | 1  | 14.49  |
| Parcial-descremada pasteurizada   | 4  | 4.69±0.39                                      |
| Parcialmente descremada UHT       | 14 | 3.23±1.30                                      |
| Parcialmente descremada evaporada | 1  | 6.76   |
| Parcial descremada condensada     | 1  | 4.78   |
| Descremada polvo                  | 2  | 20.47±13.42                                    |
| Descremada UHT                    | 2  | ND   |
| Adicionadas con grasa vegetal     | 6  | 3.33 *   |

\*solo hay datos de una sola leche

Se utilizaron las pruebas de ANOVA y de Tukey para saber si existieron diferencias significativas entre las denominaciones analizadas.

Se encontró que hay diferencia estadísticamente significativa en:

- a) Entera en polvo Vs parcialmente descremada ultrapasteurizada ( $p < 0.05$ ).
- b) Entera ultrapasteurizada Vs parcialmente descremada ultrapasteurizada ( $p < 0.001$ ).
- c) Parcialmente descremada pasteurizada Vs parcialmente descremada ultrapasteurizada ( $p = 0.05$ ).

Y no hay diferencia estadísticamente significativa en:

1. Entera pasteurizada Vs entera ultrapasteurizada ( $p = 0.15$ ).
2. Entera pasteurizada Vs parcialmente descremada pasteurizada ( $p = 0.49$ ).

## Conclusiones

Los resultados obtenidos para la cuantificación de colesterol sobre la linealidad, recuperación y repetibilidad son confiables ya que en cada caso se obtuvo lo siguiente:

En la curva patrón el valor de correlación fue de 0.998, lo cual indica la linealidad de la curva.

En la repetibilidad, en el área se tiene un coeficiente de variación de 2.84 y desviación estándar de 2.76, por lo tanto estos datos son aceptados.

Se obtuvo además una recuperación del 94.82%.

En cada muestra de las leches, se determinó el contenido de lípidos y al realizar la comparación con la información impresa de las etiquetas de cada producto, en la mayoría son similares.

Se analizaron 53 muestras de leches con diferente contenido de grasa estas fueron:

- Leches enteras, se analizaron 19 muestras, en todas se detectaron colesterol y las muestras en donde se registró mayor cantidad fueron: en la leche Real de Tizayuca, en la Sello Rojo y en la leche bronca Rancho Los Vaqueros, Las pruebas de comparación múltiple de Dunn y ANOVA indicaron que entre todas las marcas existieron diferencias significativas.
- Leches parcialmente descremadas de un total de 20 muestras analizadas en 17 se detectó colesterol y en 3 no, de las que presentaron colesterol hay dos grupos uno de valores altos con un promedio de  $4.73 \pm 0.04$  y otro de valores bajos con promedio de  $2.9 \pm 0.05$ , existe una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.001$ ) entre el grupo de leches con valores altos y el grupo de leches con valores bajos.
- Leches descremadas se analizaron de este grupo 2 muestras y en ellas no se detectó colesterol.
- Leches en polvo se analizaron 6 muestras, en todas se detectó colesterol, este grupo tienen un alto contenido de sólidos totales por la baja humedad (de  $\leq 4\%$ ), al realizar el análisis estadístico, se utilizaron

las pruebas de ANOVA y Dunn las cuales indicaron que entre todas las marcas hay diferencias significativas.

- De las leches adicionadas con grasa vegetal se analizaron 6 muestras y solo en la marca Alpura Kids se detectó colesterol.

Las muestras de las leches de las marcas Alpura y Lala de tipo enteras contienen más colesterol que en las leches parcialmente descremadas, esto se debe a que en los lípidos se encuentran glóbulos grasos y el colesterol se encuentra presente en la membrana de éstos, por lo tanto al haber una mayor cantidad de lípidos hay una mayor cantidad de colesterol.

# **Capítulo 5**

Bibliografía

## Bibliografía

1. AHA Dietary Guidelines, Revision 2000: A Statement for Healthcare Professionals from the Nutrition Committee of the American Heart Association
2. Amiot J. Ciencia y Tecnología de la Leche. Editorial Acribia S. A. Zaragoza España; 1992. p. 1-19.
3. Apprich S., Ulberth F. Gas chromatographic properties of common cholesterol and phytosterol oxidation products. J. Chromat. A. 2004;1055(1-2):171.
4. Ausman L.M., Rong N., Nicolosi R.J. Hypocholesterolemic effect of physically refined rice bran oil: Studies of cholesterol metabolism and early atherosclerosis in hypercholesterolemic hamsters. Nutri. Biochem. 2005;16(9):523.
5. Ávila C. A., Shamah L. T., Chávez V. A., Galindo G. C. La Encuesta Urbana de Alimentación y Nutrición en la Zona Metropolitana de la Ciudad de México 2002 (ENURBAL 2002). Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Subirán, México; 2003. p.78-81.
6. Belitz H.D., Grosch W. Química de los alimentos. Segunda edición. Editorial Acribia S. A. Zaragoza España; 1992. p. 248–253.
7. Blanco A. Química Biológica. Séptima Edición. Editorial El Ateneo. Buenos Aires; 2001. p. 272-276.
8. Bourges H. Aterosclerosis, colesterol y dieta. Cuadernos de nutrición. 1984;7(6): 32-17.

9. Bourges H, Ateroesclerosis, colesterol y dieta, Cuadernos de nutrición. 1990;7(6):32-13.
10. Brochu É., Dumas R., Riel R. Ciencia y Tecnología de la leche Principios y Aplicaciones, editorial Acribia S. A. Zaragoza España; 1991. p. 196-198.
11. Burns W. Milk composition Production and Biotechnology. Edited CAB International Wallingford Oxon. Nueva Zeeland; 1997. p.13-37.
12. Casanueva E., Kaufer M. Nutriología Médica. Editorial Panamericana. México; 1994. p. 234-244.
13. Casanueva E., Kaufer M., Nutriología Médica. Editorial Panamericana, México; 2001. p. 312-325.
14. Casimir C. Food lipids, Chemistry Nutrition and biotechnology. Second Edition. Ed. Marcel Dekker. New York; 2002. p. 110-127.
15. Devlin T. Bioquímica. Tercera Edición. Editorial Reverte S. A. Barcelona España; 1999. p. 409-440.
16. Down's- C. Encyclopedía de ciencia y tecnología de alimentos y Nutrición vol.2. Syndrome Academic Press Harcout Brace Jovanovich, publisher. London San Diego New Cork; 1993. p.925-935.
17. Fagan P., Wijesundera C., Watkins P. Determination of mono- and diacylglycerols in milk lipids. J. Chrom. A. 2004;10549(1-2):253.
18. Fenema O.R. Química de los Alimentos. Editorial Acribia S. A. Zaragoza España; 1993. p.889-926.

19. Folch J., Lees M., and Stanley G. H. S., J. Biol. Chem. 1957;226(497):509.
20. Gary C., Química Analítica, Segunda Edición Editorial Limusa. México; 1997. p.77.
21. Hubbard, W.D., Comparison of various methods for the extraction of total lipids, fatty acids, Cholesterol and other sterols from Food products. J. Amer Oil Chem. 1977 Soc. 54, p.81–83.
22. Lehninger A.L. Principios de Bioquímica. Décima octava reimpression. Editorial Ediciones Omega S. A. Barcelona; 1995. p. 669-682.
23. Machuca M.A., De Gregori I. y Pinochet H., Determinación Amperometrica Indirecta de Se (IV) con Preconcentración en línea por Análisis de Inyección en flujo. Bol.Soc. Chil. Quím., 2000;45(1):100.
24. MacMurry J. Química Orgánica. Grupo Editorial Iberoamericana S. A. de C. V. México; 1992. p. 289.
25. Mathews C. K. Bioquímica, segunda edición editorial McGraw-Hill Interamericana, Oregon; 1998. p. 750-756.
26. Michalsk M., Januel C. Does homogenization effect the human health properties of cow's milk? Trends in foods Sci. & Tech. 2006;7(8):425.
27. Montgomery R., Conway T., Spector A. Bioquímica. Editorial Harcourt Brace. Madrid España; 1999. p. 333-349.
28. Montgomery D. C., Estadística para Ingenieros. Editorial. Mc. Graw. Hill. México; 2000. p. 350-370.

29. Morales de León J., Babinsky V., Bourges R. H., Tablas de Composición de alimentos mexicanos, dirección de Nutrición, Departamento de ciencia y tecnología de los alimentos, Instituto Nacional de Ciencias médicas y Nutrición Salvador Subirán, México; 2007. p. 132-141.
30. NewKirk, D. Sheppard, A., Oils and Fats. Assoc Of Anal. Chem. 1981;64(1):54.
31. Norma Oficial Mexicana NOM-155-SCFI-2003, Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado, Denominaciones, especificaciones Fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba.
32. Norma Oficial Mexicana NOM-091-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Leche pasteurizada de vaca. Disposiciones y especificaciones sanitarias.
33. Pucadyil T., Chattopadhyay A., Role of cholesterol in the function and organization of G-protein coupled receptors, Progress in Lipid Research. 2006;45(4):295.
34. The Merk Index and Encyclopedia of Chemicals and Drugs. Eighth Edition. Published by Merck & CO., Rahway, N.J., U.S.A. 1968.
35. Valenzuela B. A., Sanhueza C. J. y Nieto K. S. Óxidos del colesterol (oxisteroles): factores que condicionan su formación, efectos biológicos, y esencia en los alimentos. Rev. Chil. de Nutr. 2002;29(2):2.
36. Varnam H.A. Leche y Productos Lácteos Tecnología Química y Microbiología. Editorial Acribia S. A. Zaragoza España; 1995. p. 4-29.
37. Walstra P., Geurts T.J. Ciencia de la Leche y Tecnología de los Productos Lácteos, Editorial Acribia S. A. Zaragoza España; 2001. p. 3-81.

38. Datos de la Organización Panamericana de la Salud y Organización Mundial de la Salud Washington, D. C., del 25 al 29 de septiembre del 2000. <http://www.paho.org/spanish/AD/DPC/rimsa14-26-s.pdf>.
39. Estadística sobre defunciones en México. <http://www.inegi.gob.mx/2001-05-5>.
40. FAO/LATINFOODS. 2003. "Tabla de composición de alimentos de América Latina. <http://www.rlc.fao.org/es/bases/alimento/>
41. Datos sobre INEGI.  
<http://www.inegi.gob.mx/contenidos/espanol/prensa/Contenidos/estadisticas/2006/muertos06.pdf>.
42. Noticias sobre colesterol en la secretaria de salud.  
[http://www.salud.gob.mx/ssa\\_app/noticias/datos/2004-04-27\\_089.html](http://www.salud.gob.mx/ssa_app/noticias/datos/2004-04-27_089.html).
43. Noticias sobre colesterol en la secretaria de salud.  
[http://www.salud.gob.mx/ssa\\_app/noticias/datos/2006-05-18-210.html](http://www.salud.gob.mx/ssa_app/noticias/datos/2006-05-18-210.html)
44. La Producción y el Mercado de Productos Lácteos en México, Sector Agroalimentario y Pesquero, SIAP, Sagarpa, Mayo 2003  
[http://www.campomexicano.gob.mx/portal\\_siap/ForoSeminario/ForoIII/7RTA\\_PRO LAC.pdf](http://www.campomexicano.gob.mx/portal_siap/ForoSeminario/ForoIII/7RTA_PRO LAC.pdf)
45. Situación actual y perspectiva de la producción de leche bovino en México 2005. <http://www.sagarpa.gob.mx>.

## **Anexos**

## Anexo 1

### ENCUESTA PARA CONSUMIDORES DE LECHE DE VACA

SEXO: (M) (F) edad\_\_\_\_\_

1. ¿Consume usted leche? (Si) (No) (pasar a la pregunta 7)
2. La leche que consume es ( ) pasteurizada ( ) ultrapasteurizada ( ) sin pasteurizar
3. ¿Qué tipos de leche consume? ( ) entera ( ) semidescremada ( ) descremada ( ) Light ( ) evaporada ( ) condensada ( ) con grasa vegetal ( ) bronca ( ) otra cual? \_\_\_\_\_
4. La leche que usted consume es en ( ) polvo ( ) líquida
5. ¿Qué marcas de leche es la que usualmente compra? ( ) Alpura ( ) Lala ( ) Great Valué ( ) Forti Leche ( ) Suiza ( ) Vita Leche ( ) Carnation Clavel ( ) Nido ( ) San Marcos ( ) Parmalat ( ) La Lechera ( ) Svelty ( ) Mi Leche ( ) Leche Monarca ( ) Nutrileche ( ) Boreal ( ) Baden life ( ) orgánica ( ) Del Rancho ( ) León ( ) Aguascalientes ( ) Al Día ( ) Conasupo (Iliconsa) ( ) Fórmula Lactéa
6. ¿Consumes leches de sabor? ( ) Si ( ) No Cuál? \_\_\_\_\_
7. ¿Con qué frecuencia se consume leche en su casa? ( ) Diario ( ) 1-2 veces por semana ( ) 3-4 veces a la semana ( ) Ninguna (terminar la encuesta)
8. La leche que usted compra. ¿Quién la consume en su casa?
9. ( ) Hijos ( ) esposa ( ) padres ( ) todos ( ) otros
10. ¿Aproximadamente cuánto gasta usted en la semana en la compra de leche?
11. ( ) 10-50 pesos ( ) 50-100 pesos ( ) 100-200 pesos ( ) más de 200 pesos
12. ¿Dónde compra su leche?
13. ( ) Tienda ( ) centro comercial ( ) mercado ( ) tianguis ( ) no sabe

## Anexo 2

### Resultados de la preferencia del consumo de leche

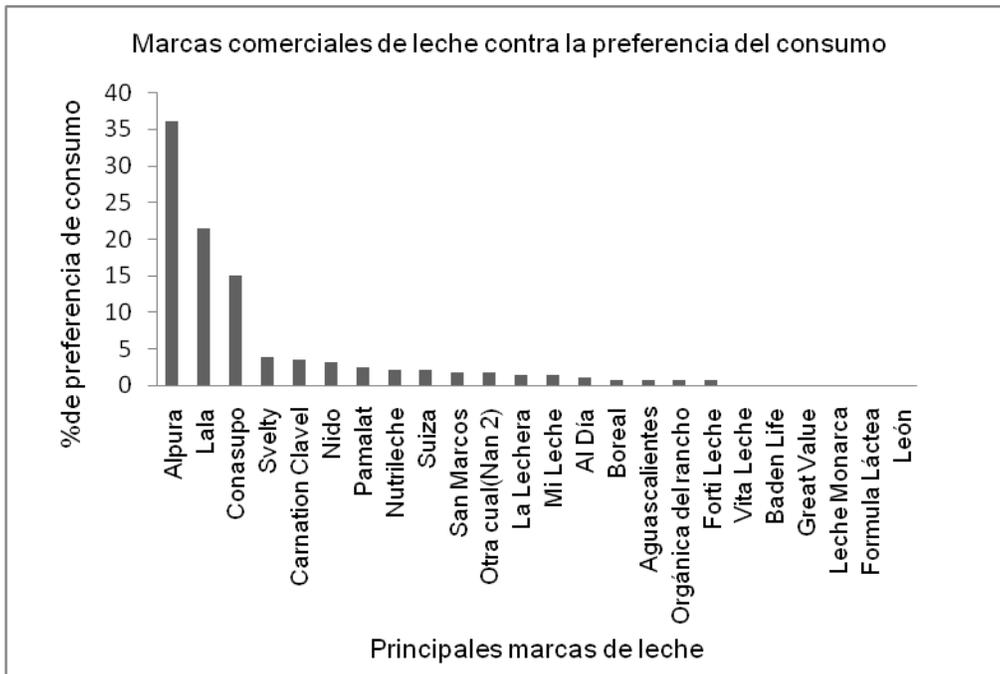
Se realizó la encuesta a 200 personas al azar y en base a esta se obtuvo la preferencia de la leche por marcas comerciales que se venden en el Distrito Federal ver cuadro 28.

En la figura 8 se graficó la preferencia del consumidor por las diferentes marcas de leches.

Cuadro 28.- Resultado de la preferencia de marcas comerciales por número de preferencia y frecuencia.

| Marcas comerciales  | ≠ de preferencia | Frecuencia |
|---------------------|------------------|------------|
| Alpura              | 103              | 36.14      |
| Lala                | 61               | 21.40      |
| Conasupo (liconsa)  | 43               | 15.09      |
| Svelty              | 11               | 3.86       |
| Carnation Clavel    | 10               | 3.51       |
| Nido                | 9                | 3.16       |
| Parmalat            | 7                | 2.46       |
| Nutrileche          | 6                | 2.10       |
| Suiza               | 6                | 2.10       |
| San Marcos          | 5                | 1.75       |
| otra cual (Nan 2)   | 5                | 1.75       |
| La lechera          | 4                | 1.40       |
| MI Leche            | 4                | 1.40       |
| Al Día              | 3                | 1.05       |
| Boreal              | 2                | 0.70       |
| Aguascalientes      | 2                | 0.70       |
| Orgánica del rancho | 2                | 0.70       |
| Forti Leche         | 2                | 0.70       |
| Vita leche          | 0                | 0          |
| Baden life          | 0                | 0          |
| Great Valué         | 0                | 0          |
| Leche Monarca       | 0                | 0          |
| formula Láctea      | 0                | 0          |
| León                | 0                | 0          |

Figura 8.- Preferencia por las diferentes marcas de leche



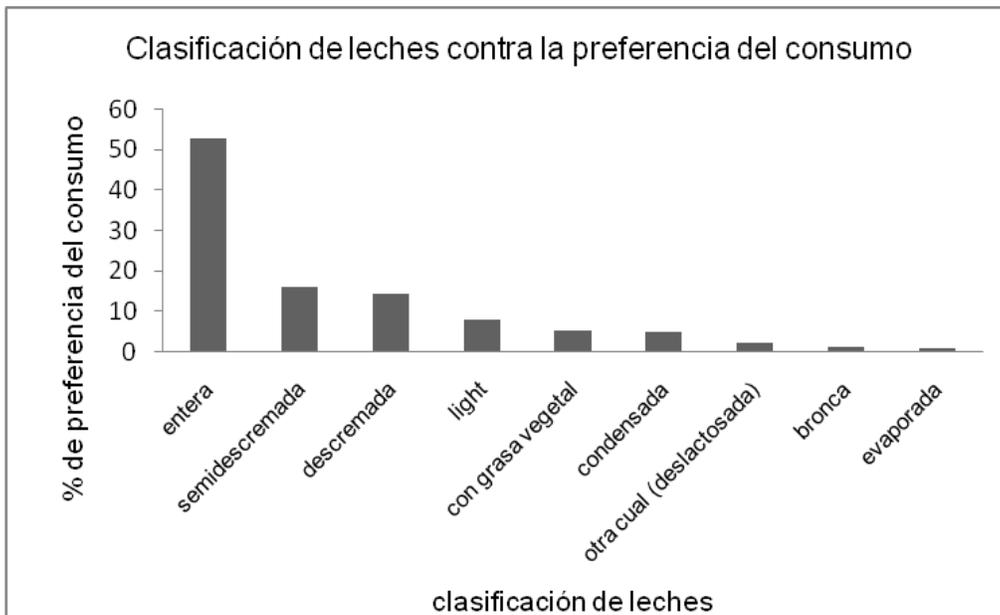
Nota: conasupo es liconsa

- De la encuesta se obtuvo, la preferencia por la clasificación de las leches que hay en el mercado ver cuadro 29.
- En la figura 9 se graficó la preferencia por la clasificación de la leche.

Cuadro 29.- Resultados de la preferencia de la clasificación de la leche por número de preferencia y frecuencia.

| Clasificación              | # de preferencia | frecuencia |
|----------------------------|------------------|------------|
| a)entera                   | 105              | 49.29      |
| b)semidescremada           | 32               | 15.02      |
| c)descremada               | 29               | 13.61      |
| d)Light                    | 16               | 7.51       |
| g)con grasa vegetal        | 11               | 5.16       |
| f)condensada               | 10               | 4.69       |
| i)otra cual (deslactosada) | 5                | 2.35       |
| h)bronca                   | 3                | 1.41       |
| e)evaporada                | 2                | 0.94       |

Figura 9.- Preferencia por la clasificación de la leche

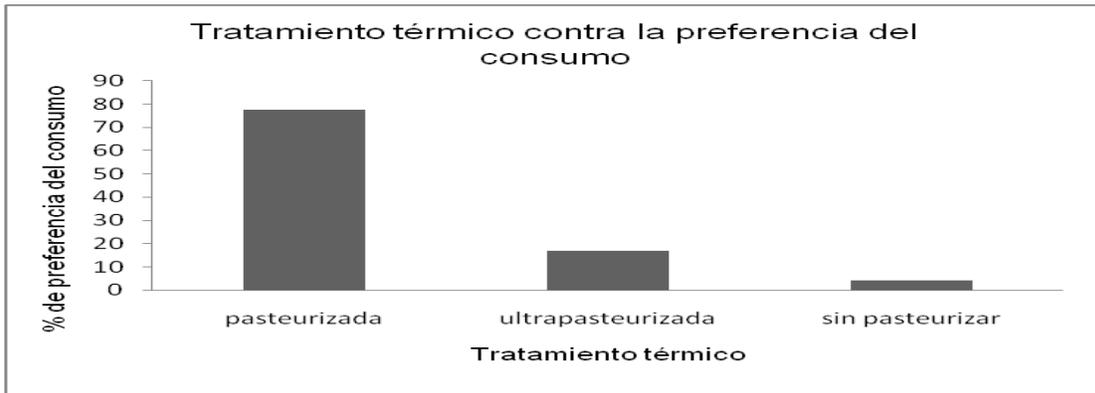


- En el cuadro 30, se obtuvo los resultados por preferencia del consumo al tratamiento térmico que se le da a la leche.
- En la figura 10 se graficó la preferencia por el tratamiento térmico.

Cuadro 30.- Resultados de la Preferencia del Tratamiento térmico de las leches por el número de preferencia y frecuencia de consumo.

| Tratamiento térmico | # de personas | Frecuencia |
|---------------------|---------------|------------|
| a)pasteurizada      | 155           | 78.68      |
| b)ultrapasteurizada | 34            | 17.25      |
| c)sin pasteurizar   | 8             | 4.07       |

Figura 10.- Preferencia por el tratamiento térmico.



En la cuadro 31 se presentan los resultados obtenidos en la encuesta sobre la preferencia de como se consume la leche líquida o en polvo.

Cuadro 31.- Preferencia de la leche líquida o en polvo.

| Tratamiento térmico | # de preferencia | Frecuencia |
|---------------------|------------------|------------|
| Líquida             | 166              | 86.46      |
| polvo               | 26               | 13.54      |

En la figura 11 se graficó la preferencia del consumidor por la leche líquida o en polvo.

Figura 11.- Preferencia por leche líquida o en polvo



## ANEXO 3

### Extracción de Lípidos

Se utilizó el método de Folch (AOAC 1981)

- Se pesaron 5 gramos o 5 mL de muestra de leche de diferentes clasificaciones y marcas en tubos de ensayo con tapón de rosca de vidrio de 50 mL.
- Con una pipeta de vidrio de 10 mL se añadió de 15 a 20 mL de la mezcla de cloroformo – metanol de grado analítico en una proporción 2:1.
- Se agitó durante 5 minutos en vórtex, después se dejó en reposo durante 12 horas aproximadamente.
- Pasado el tiempo de reposo, se agitó durante 2 minutos en vórtex, se dejó sedimentar la muestra y se filtró por gravedad en embudo de vidrio de talle corto con papel filtro No. 42, se utilizó un tubo de ensayo de vidrio de 50mL con tapón de rosca para recibir al extracto.
- Con una pipeta de 10mL al extracto lipídico se le añadió 5mL de hexano grado analítico y 3mL de agua destilada, se agitó por 2 minutos más en vórtex y se centrífugo a 3000 rpm por 10 minutos.
- Con pipeta pasteur se eliminó la fase acuosa y se volvió a filtrar por gravedad en embudo de vidrio de talle corto con papel filtro No. 42 que contiene 1 gramo de sulfato de sodio anhidro para recibir el extracto se utilizó un tubo de ensaye de 10 mL, que fue previamente pesado, para saber que cantidad se obtuvo de extracto orgánico.
- El extracto resultante se evaporó con nitrógeno hasta eliminar todo el disolvente

## ANEXO 4

Derivatización de los lípidos:

Se utilizó el método de Newkirk y Shepard AOAC 1981

- Al extracto orgánico obtenido se redisolvió en 2mL de hexano HPLC en un tubo de ensaye de vidrio.
- Con una pipeta de 1mL se le añadió 0.4mL de piridina y 0.2mL de cloruro de benzoilo se agitó durante 5 minutos en vórtex y se incubó a 80 °C durante 20 minutos.
- Pasado el tiempo de calentamiento con pipetas de 10mL, se añadió 1mL de HCl 0.1N y 5mL de éter etílico y se volvió a agitar manualmente.
- Se desechó la fase acuosa y se realizaron dos lavados con 2mL de HCl 0.1N.
- Con pipeta de 5 mL se añadió 1mL agua desionizada y 1mL de carbonato de sodio (saturado) se agitó nuevamente y se eliminó la fase acuosa.
- Al extracto obtenido con una pipeta de vidrio de 5mL, se le añadió 3mL de agua desionizada se hace este procedimiento 5 veces eliminando la fase acuosa en cada uno de los procesos.
- El extracto se desecó con 2 gramos de sulfato de sodio anhidro y se evaporó con nitrógeno hasta sequedad y finalmente se redisolvió en 1mL de cloroformo grado HPLC y se inyecta 10 µL al cromatógrafo.